



UNIVERSITE DU DROIT ET DE LA SANTE - LILLE 2  
**FACULTE DE MEDECINE HENRI WAREMBOURG**  
Année : 2017

THESE POUR LE DIPLOME D'ETAT  
DE DOCTEUR EN MEDECINE

**Signification de l'amylose intra-tubulaire au cours de la tubulopathie  
myélomateuse.**

Présentée et soutenue publiquement le 07 juin à 18h00  
au Pôle Recherche  
**Par Jean-Baptiste Gibier**

---

**JURY**

**Président :**

**Madame le Professeur Marie-Christine COPIN**

**Assesseurs :**

**Monsieur le Professeur Thierry FACON**

**Monsieur le Professeur François GLOWACKI**

**Madame le Docteur Viviane GNEMMI**

**Directeur de Thèse :**

**Monsieur le Docteur David BUOB**

**Institut de Pathologie**

---

## **Avertissement**

**La Faculté n'entend donner aucune approbation aux opinions émises dans les thèses : celles-ci sont propres à leurs auteurs.**

## Liste des abréviations

AINS :	Anti-inflammatoires non stéroïdiens
AMIT :	Amylose intra-tubulaire
ASK1 :	Apoptosis signal-regulating kinase 1
BGSA :	Biopsie de glandes salivaires accessoires
BJ :	Bence Jones
BOM :	Biopsie ostéo-médullaire
BMDex :	Bortezomib - Melphalan - Dexaméthasone
BNP:	Brain natriuretic peptide
CRAB :	Hypercalcémie (C) - insuffisance rénale (R) - anémie (A) - atteinte osseuse (B)
CDR :	Complementarity determining regions
CH :	Chaîne lourde
CL :	Chaîne légère
CTP :	Cellules tubulaires proximales
DFG :	Débit de filtration glomérulaire
dCL :	Différentiel entre les chaînes légères libres anormales et normales
ECG :	Electrocardiogramme
HCDD :	Maladie des dépôts de chaîne lourde
HCO :	High cut off
HES ;	Hématoxyline éosine safran
HSP47 :	Heat shock protein 47

IEC :	Inhibiteurs de l'enzyme de conversion
IF :	Immunofluorescence
Ig :	Immunoglobuline
IHC :	Immunohistochimie
IMiDs :	Immunomodulateurs
IMWG :	International Myeloma Working Group
IR :	Insuffisance rénale
IRA :	Insuffisance rénale aiguë
IRC :	Insuffisance rénale chronique
IRM :	Imagerie par résonance magnétique
IRT :	Insuffisance rénale terminale
LCDD :	Maladie des dépôts de chaîne légère
LHCDD :	Maladie des dépôts de chaîne lourde et légère
MAKP :	Mitogen-activated protein kinase
MBG :	Membrane basale glomérulaire
MCP-1 :	Monocyte chemoattractant protein 1
MDex :	Melphalan - Dexaméthasone
ME :	Microscopie électronique
MGRS :	Gammapathie monoclonale de signification rénale
MGUS :	Gammapathie monoclonale de signification indéterminée
MM :	Myélome multiple
Nf- $\kappa$ B :	Nuclear factor-kappa B
NT-proBNP :	N-terminal proBrain natriuretic peptide
NYHA :	New York Heart Association

PAS :	Acide Periodique de Schiff
PBR :	Ponction biopsie rénale
PCI :	Produit de contraste iodé
RC :	Rouge Congo
SAP :	Composant (ou pentamère) P amyloïde sérique
TCP :	Tubes contournés proximaux
TGF- $\beta$ :	Transforming growth factor $\beta$
PTH :	Protéine de Tamm-Horsfall
TM :	Tubulopathie myélomateuse
TRM :	Mortalité associée au traitement
UV :	Ultraviolet
VAD :	Vincristine - Adriamycine - Dexaméthasone
VMD :	Velcade - Melphalan - Dexamethasone

# Table des matières

Résumé .....	1
I. Introduction .....	2
A. Rein et gammopathies monoclonales .....	2
1. Histologie normale du rein .....	2
a) Généralités .....	2
b) Organisation du glomérule .....	3
c) Tubes, interstitium et vascularisation .....	4
2. Gammopathies monoclonales .....	4
a) Définition .....	4
b) Structure d'une immunoglobuline .....	5
3. Atteintes rénales associées aux gammopathies monoclonales .....	7
B. Tubulopathie Myélomateuse .....	13
1. Historique .....	13
2. Physiopathologie .....	13
a) Formation des cylindres .....	14
b) Autres déterminants de la formation des cylindres .....	15
c) Toxicité directe des chaînes légères .....	16
3. Anatomie pathologique .....	17
a) Microscopie optique .....	17
b) Immunofluorescence .....	21
c) Microscopie électronique .....	21
d) Indications de la biopsie rénale .....	22
4. Epidémiologie .....	24

5.	Caractéristiques clinico-biologiques de la tubulopathie myélomateuse .....	26
a)	Données démographiques et hématologiques .....	26
b)	Données néphrologiques .....	27
6.	Facteurs précipitants.....	28
a)	Hypercalcémie.....	29
b)	Iatrogènes .....	30
c)	Produits de contraste iodés.....	30
d)	Hypovolémie/Sepsis.....	31
7.	Facteurs pronostiques .....	31
a)	Facteurs histologiques .....	33
b)	Fonction rénale au diagnostic.....	33
c)	Réponse rénale et réponse hématologique .....	34
d)	Isotype de la chaîne légère .....	36
8.	Traitements de la tubulopathie myélomateuse .....	36
a)	Traitements étiologiques .....	36
b)	Traitements d'épuration des chaînes légères.....	40
c)	Traitements symptomatiques.....	42
C.	Amylose AL .....	43
1.	Définition et historique.....	43
a)	Définition .....	43
b)	Découverte de l'amylose .....	43
c)	Découverte de l'amylose AL.....	44
2.	Physiopathologie de l'amylose AL .....	44
a)	Structure et constitution des dépôts.....	44
b)	Rôle de la chaîne légère .....	46

c)	Rôle de la protéolyse .....	48
d)	Toxicité de l'amylose AL.....	49
3.	Examen anatomopathologique .....	50
a)	Diagnostic.....	50
b)	Précisions sur l'atteinte rénale.....	54
c)	Typage de l'amylose .....	57
d)	Site biopsique .....	61
4.	Epidémiologie .....	62
5.	Atteintes d'organes au cours de l'amylose AL .....	63
a)	Atteinte rénale .....	65
b)	Atteinte Cardiaque.....	65
6.	Bilan hématologique .....	66
7.	Facteurs pronostiques .....	67
a)	Atteintes d'organes.....	67
b)	Réponse au traitement .....	68
c)	Cytogénétique.....	68
8.	Traitements.....	69
a)	Traitements étiologiques .....	70
b)	Traitements symptomatiques.....	73
c)	Traitements en cours de développement .....	74
9.	Suivi du traitement .....	75
D.	Association amylose AL et myélome multiple .....	77
II.	Objectifs de l'étude .....	79
III.	Article de thèse (soumis pour publication) .....	80
IV.	Discussion .....	106

A.	Amylose intra-tubulaire.....	106
1.	Fréquence .....	106
2.	Caractéristiques clinico-biologiques .....	107
3.	Caractéristiques histologiques.....	109
4.	Physiopathologie .....	113
5.	Facteur prédictif de la survenue d'une amylose AL systémique.....	115
6.	Pronostic.....	116
7.	Limites de l'étude.....	117
B.	Facteurs pronostiques .....	118
1.	Facteurs pronostiques associés à la réponse rénale .....	118
2.	Facteurs pronostiques associés à la survie .....	119
V.	Conclusions et perspectives .....	121
VI.	Bibliographie.....	123

# Résumé

## **Introduction :**

La tubulopathie myélomateuse (TM) est la complication rénale la plus fréquente du myélome multiple. Dans certains cas, les cylindres myélomateux présentent les caractéristiques optiques de l'amylose c'est-à-dire une biréfringence jaune-verte sur la coloration du rouge Congo étudiée en lumière polarisée. Cette amylose intra-tubulaire (AMIT) est actuellement considérée comme une simple variante histologique de TM. Cependant, le lien entre l'AMIT et l'amylose AL systémique n'a pas été correctement investigué.

## **Matériel et Méthodes :**

Il s'agit d'une étude observationnelle, rétrospective et multicentrique. Le critère d'inclusion était un diagnostic de TM sur ponction biopsie rénale entre 2002 et 2012. L'ensemble des biopsies rénales et des prélèvements extra-rénaux des patients inclus ont fait l'objet d'une relecture avec réalisation systématique d'une coloration du rouge Congo. Parallèlement, les données cliniques néphrologiques et hématologiques ont été recueillies.

## **Résultats :**

Soixante cas de TM ont été inclus. Une AMIT était retrouvée chez 17/60 (28,3%) patients. Elle était plus fréquente chez les patients sécrétant une chaîne légère monoclonale d'isotype  $\lambda$  (13/17 dans le groupe AMIT vs. 19/43 dans le groupe sans AMIT,  $P = 0,024$ ). La présence d'AMIT était associée de manière significative à la mise en évidence d'une amylose AL extra-rénale (5/13 dans le groupe AMIT vs. 0/30 dans le groupe sans AMIT,  $P = 0,001$ ).

## **Discussion et conclusion :**

Nos résultats montrent que l'AMIT n'est pas rare au cours de la TM. Sa présence reflète le potentiel amyloïdogène de la chaîne légère monoclonale et entraîne un risque accru d'amylose AL systémique. L'AMIT devrait donc être recherchée systématiquement au cours de la TM et sa détection devrait déclencher un bilan à la recherche d'autres localisations d'une amylose AL systémique.

# I. Introduction

## A. Rein et gammopathies monoclonales

### 1. Histologie normale du rein

#### a) Généralités

Chaque rein est constitué de 0,6 à 1,2 millions de néphrons qui en sont les unités fonctionnelles. Ces néphrons sont composés de glomérules situés dans le cortex rénal et d'un système tubulaire cheminant dans le cortex et dans la médullaire en étroite association avec le système vasculaire. On distingue les tubes proximaux, qui émergent des glomérules, des tubes distaux et collecteurs qui vont rejoindre l'appareil excrétoire au niveau de la papille. Il est parfois possible de visualiser chacun de ces éléments sur une biopsie rénale :

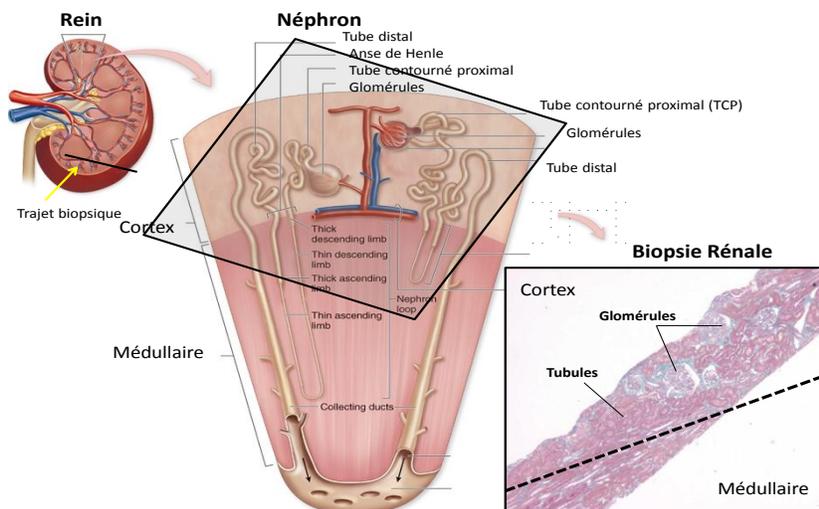


Figure 1 : Schéma récapitulatif des différentes structures d'un néphron (adapté à partir d'une image appartenant à McGraw-Hill Education)

## b) Organisation du glomérule

L'organisation particulière des glomérules a pour but d'assurer la filtration du sang et la production de l'urine primitive. Le sang arrive au niveau du pôle vasculaire du glomérule via l'artère afférente qui se divise en un réseau de capillaires anastomosés appelé flocculus. Ce dernier est suspendu dans la chambre urinaire qui est délimitée en périphérie par la capsule de Bowman et soutenu par un tissu conjonctif spécialisé : le mésangium (Figure 2). L'élévation de la pression au niveau des anses capillaires permet le passage de certaines substances du sang à travers l'endothélium fenêtré, la membrane basale glomérulaire (MBG) et les pédicelles des podocytes jusque dans la chambre urinaire (Figure 2). L'urine primaire ainsi formée rejoint le tube contourné proximal (TCP) au niveau du pôle urinaire du glomérule.

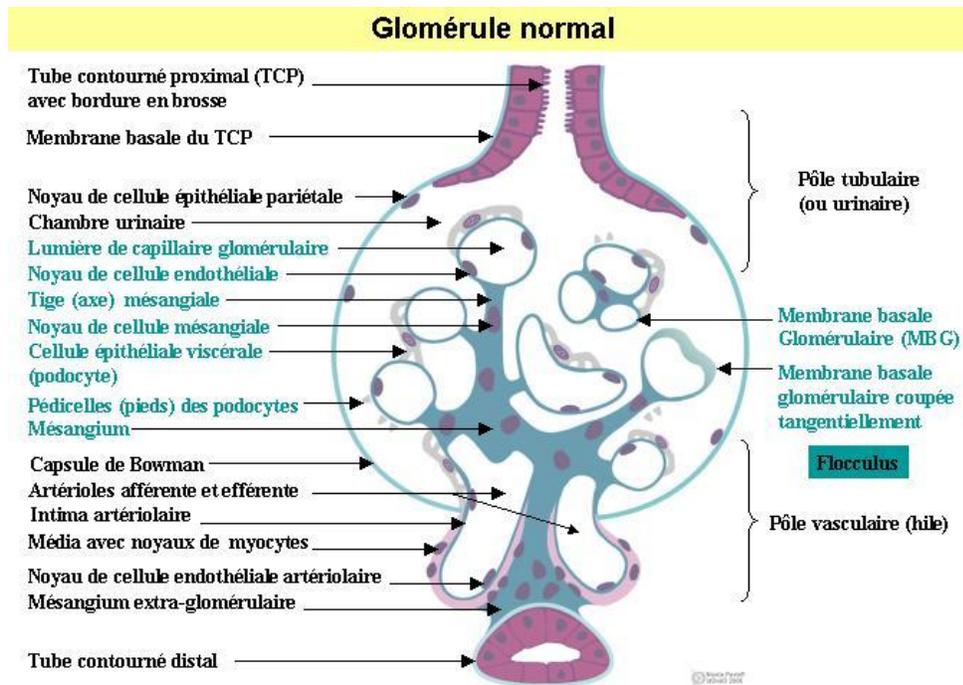


Figure 2 : Représentation schématique de l'organisation d'un glomérule (d'après le site Diagnos)

### c) Tubes, interstitium et vascularisation

Pendant son trajet dans les TCP puis dans les tubes distaux et collecteurs, la composition de l'urine va être modifiée par une succession de mécanismes complexes de réabsorption et de sécrétion qui dépendent des cellules épithéliales tubulaires.

L'interstitium (ou tissu interstitiel) contient principalement des cellules d'origine mésenchymateuse et joue un rôle de soutien des cellules épithéliales tubulaires. Sur une coupe de rein normal, les tubes sont très proches les uns des autres et l'interstitium est à peine visible.

Le réseau vasculaire est étroitement lié au réseau tubulaire et assure sa viabilité. Sur une biopsie rénale, on observe principalement des artérioles et des artères de petits calibres. Dans certain cas, une artère arquée est visible au niveau de la jonction cortico-médullaire.

## 2. Gammopathies monoclonales

### a) Définition

Les gammopathies monoclonales sont définies par la sécrétion d'une immunoglobuline (Ig) monoclonale, qu'elle soit présente dans sa forme complète ou tronquée.

Elles peuvent s'observer au cours de pathologies hématologiques malignes comme le myélome multiple (MM) ou certains lymphomes B mais le caractère monoclonal n'est pas synonyme de malignité. Ainsi, par définition, les « gammopathies monoclonales de signification indéterminée » (MGUS) surviennent en l'absence de MM ou de lymphome B ; les patients avec MGUS ont un risque faible mais accru par rapport à la population générale de développer une hémopathie maligne.

En fonction de diverses caractéristiques de l'Ig sécrétée, la protéine monoclonale peut être responsable de certaines atteintes cliniques ou rester asymptomatique.

Dans la suite de ce travail, nous détaillerons les atteintes rénales associées aux gammopathies monoclonales. Lorsqu'elles viennent compliquer l'évolution d'une MGUS, le terme de « gammopathies monoclonales de signification rénale » (MGRS) a été introduit afin de souligner l'importance de traiter le clone monoclonal responsable de l'atteinte rénale (1).

### b) Structure d'une immunoglobuline

Les Ig sont des glycoprotéines de forme membranaire ou circulante. Elles sont composées de 2 chaînes lourdes (CH) identiques et de 2 chaînes légères identiques (CL). Les chaînes lourdes et les chaînes légères comprennent chacune une région constante et une région variable qui sont codées par un ensemble de gènes différents (Figure 3).

On distingue deux isotypes de chaînes légères ( $\kappa$  et  $\lambda$ ) et cinq pour les chaînes lourdes ( $\mu$ ,  $\alpha$ ,  $\delta$ ,  $\epsilon$ , et  $\gamma$ ) définissant respectivement les cinq classes d'Ig (IgM, IgA, IgD, IgE et IgG). De plus, il existe quatre sous classes d'IgG (IgG 1 à 4) et deux d'IgA (IgA 1 et 2).

La séquence de la région variable est constituées de trois régions hypervariables dites « *complementary determining region* » (CDR1, CDR2 et CDR3) car elles contiennent les acides aminés responsables de la spécificité de la reconnaissance antigénique et de quatre régions stables appelées cadres ou « *framework* » dont les homologies de séquence permettent d'identifier des sous-groupes de variabilité (Figure 3).

La génétique des Ig est complexe. Les gènes codant les CH, les CL- $\lambda$  et les CL- $\kappa$  sont respectivement situés au niveau du locus IGH sur le chromosome 14, du locus IGL sur

le chromosome 22 et du locus IGK sur le chromosome 2. Il existe 4 gènes C fonctionnels codant pour la région constante de la CL- $\lambda$  et un seul gène pour la CL- $\kappa$ . Afin d'assurer la diversité des sites de reconnaissance, il existe un plus grand nombre de gènes V codant pour la majeure partie de la région variable. Ainsi, on dénombre 30-35 gènes V fonctionnels pour la CL- $\lambda$ , organisés en 10 sous-familles, et 34-37 gènes V fonctionnels pour la CL- $\kappa$  organisés en 5 sous-familles. De plus, lors de la maturation des cellules productrices d'Ig, il existe un mécanisme de réarrangement entre les gènes V et les gènes J, codant les régions jonctionnelles, ce qui accroît considérablement le nombre de combinaisons et donc la diversité du répertoire des Ig.

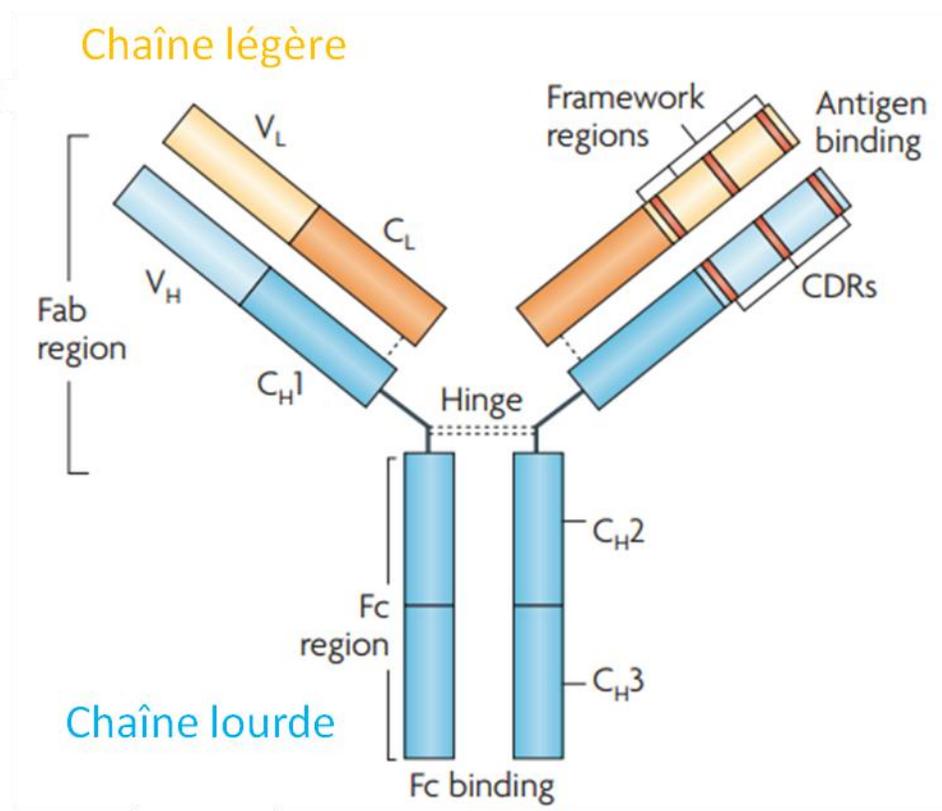


Figure 3 : Structure d'une immunoglobuline adaptée de Hansel et al., Nature 2010 (2)

### **3. Atteintes rénales associées aux gammopathies monoclonales**

Le spectre des atteintes rénales associées aux gammopathies monoclonales comprend de nombreuses entités, certaines ayant été récemment décrites. La liste présentée ci-après ne contient que les principales d'entre elles et n'est pas exhaustive. Elles sont résumées dans la Figure 4.

On peut distinguer deux catégories d'atteinte rénale en fonction du contexte hématologique:

#### **- Atteintes rénales associées à des proliférations tumorales de forte masse tumorale**

La survenue de ces atteintes ne dépend pas uniquement des propriétés de l'Ig monoclonale mais également de son abondance. Elles ne s'observent donc qu'en présence d'une masse tumorale élevée comme par exemple au cours d'un MM ou d'un lymphome. Le prototype de ce type d'atteinte est la tubulopathie myélomateuse (TM). Elle correspond à la précipitation des CL sous formes de cylindres au sein des lumières tubulaires. Ses caractéristiques seront détaillées par la suite.

Une autre manifestation rénale appartenant à cette catégorie est l'atteinte glomérulaire sous forme de bouchons intra-capillaires d'IgM monoclonales dans le cadre de la maladie de Waldenström.

**- Atteintes rénales associées à des proliférations tumorales de faible masse tumorale**

Si ces entités sont le plus souvent associées à un clone tumoral de faible abondance, elles peuvent aussi s'observer au cours d'un MM ou d'un lymphome. Elles peuvent toucher différents compartiments du néphron et il est habituel de les classer en fonction du site d'atteinte :

- Atteintes tubulo-interstitielles :

- **Tubulopathie proximale** : La forme classique est caractérisée par la présence de cristaux dans le cytoplasme des cellules épithéliales au niveau des TCP. Ces cristaux sont responsables d'une dysfonction des cellules proximales se traduisant cliniquement par un syndrome de Fanconi, présent dans environ 45 % des cas (3). Cette manifestation est secondaire à des mutations dans la partie variable (Vk1) de la CL la rendant résistante à la digestion par la cathepsine B intra-lysosomale (4). Depuis peu, on décrit des formes de tubulopathie proximale sans formation cristalline. Elles sont moins souvent responsables d'un syndrome de Fanconi et se manifestent sur le plan clinique par une protéinurie et à une dysfonction rénale progressive (3, 5-7).
- **Histiocytose cristalline de surcharge** : Elle est caractérisée par la présence de cristaux dans le cytoplasme des histiocytes interstitiels (donnant un aspect dit de « pseudo-Gaucher ») et occasionnellement au sein des cellules proximales et des podocytes (1). L'atteinte n'est pas limitée au rein. Elle se retrouve fréquemment au niveau médullaire et plus rarement au niveau d'autres sites extra-médullaires (poumon, orbite). Elle

est responsable d'une insuffisance rénale lentement progressive et peut être associée à un syndrome de Fanconi. La physiopathologie de la maladie n'est pas bien comprise.

- Atteintes glomérulaires : Elles sont divisées en fonction de la nature organisée ou non des dépôts en microscopie électronique (ME).

o Dépôts organisés :

- **Amylose** : Dans la majorité des cas, elle est composée de fragments de CL (Amylose AL) et plus rarement de CH isolées (Amylose AH) ou associées aux CL (Amylose ALH). En ME, les dépôts correspondent à des fibrilles de 7 - 12 nm disposées de façon aléatoire. Les caractéristiques de l'amylose AL seront traitées dans la partie C).
- **Glomérulonéphrite à dépôts organisés microtubulaires d'Ig monoclonales (GOMMID)**: En ME, l'étude des dépôts révèle la présence caractéristique de microtubules de 10 - 60 nm de diamètre disposés en faisceaux parallèles. La monotypie des dépôts et l'absence de cryoglobulinémie sont exigés pour retenir le diagnostic. Elle se présente le plus souvent comme une glomérulonéphrite extra-membraneuse ou comme une glomérulonéphrite membranoproliférative. Des manifestations extra-rénales sont possibles (notamment cutanées) mais rares.
- **Glomérulopathies des cryoglobulinémies de type I** : L'atteinte glomérulaire est présente dans 30 % des cas de cryoglobulinémies

de type I. Elle se manifeste comme une glomérulonéphrite membranoproliférative associée à de volumineux bouchons intracapillaires. Il est possible d'observer une organisation des dépôts en ME dans près de 50 % des cas. Celle-ci est variable même si la forme microtubulaire est la plus fréquente. A noter dans de rares cas, la présence d'une organisation cristalline (crystalcryoglobulinémie).

○ Dépôts non-organisés :

▪ **Maladie des dépôts d'Ig monoclonales de type Randall :**

Comme pour l'amylose, on subdivise cette catégorie en fonction de la partie de l'Ig impliquée dans la formation des dépôts : il s'agit le plus souvent de fragments de CL (*light chain deposition disease*, LCDD), plus rarement de CH (HCDD, *heavy chain deposition disease*). Elle se caractérise par la présence de dépôts non organisés au niveau des membranes basales du rein mais également d'autres organes (par exemple dans le poumon). Les dépôts glomérulaires s'accompagnent classiquement de nodules mésangiaux et sont associés dans la majorité des cas à des dépôts le long des membranes basales tubulaires. L'aspect en immunofluorescence (IF) obtenu avec un anticorps dirigé contre la CL ou la CH impliquée est caractéristique et se traduit par un signal intense, linéaire et diffus le long des membranes basales tubulaires et glomérulaires.

- **Glomérulonéphrite proliférative à dépôts non-organisés et non-Randall d'Ig monoclonales** (ou glomérulonéphrite proliférative à dépôts d'IgG monoclonale, PGNMID) : Elle se présente histologiquement comme une glomérulonéphrite membranoproliférative ou extramembraneuse. Les dépôts sont dans la majorité des cas constitués d'une Ig monoclonale complète (le plus souvent  $\gamma 3$ ). Ils sont de topographie exclusivement glomérulaire, à la différence de la LHCDD.
- **Glomérulopathies à dépôts de C3** : Les glomérulopathies à C3 constituent un ensemble de pathologies rénales qui sont secondaires à une dysfonction de la voie alterne du complément et qui se caractérisent par des dépôts glomérulaires exclusivement ou majoritairement constitués de C3. Dans certains cas de gammopathies monoclonales, l'Ig sécrétée interfère avec la voie alterne du complément et peut être responsable d'une glomérulopathie à dépôts de C3. Contrairement aux entités précédemment citées, l'atteinte rénale est indirectement liée à l'Ig monoclonale qui n'est donc pas détectée au niveau glomérulaire.

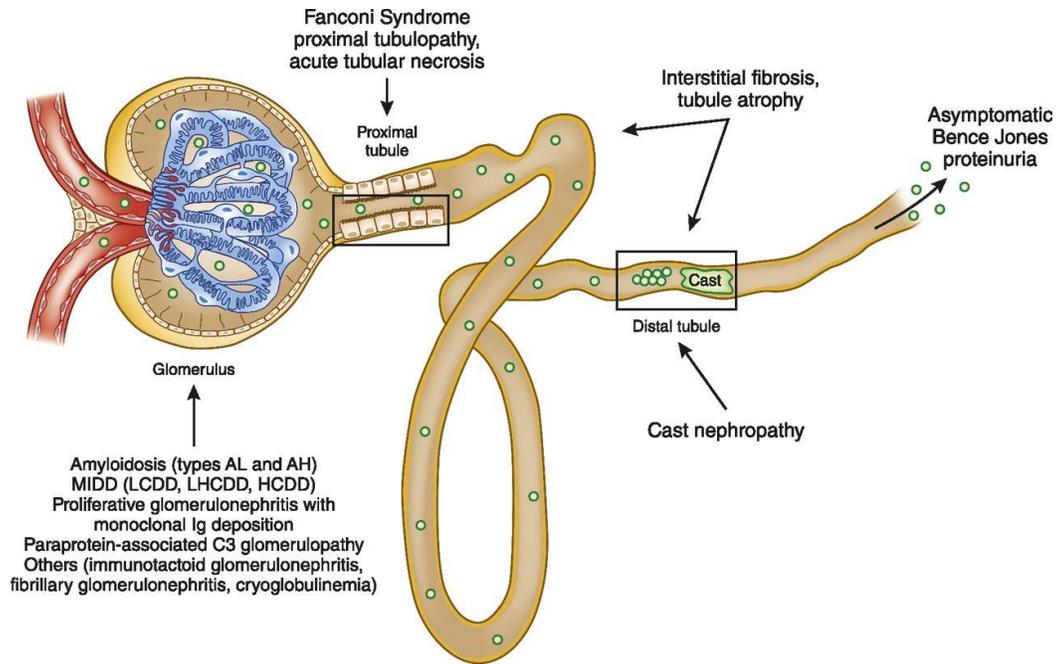


Figure 4: Représentation des différentes atteintes rénales associées aux gammopathies monoclonales d'après Doshi et al. CJASN 2016 (8)

## **B. Tubulopathie Myélomateuse**

### **1. Historique**

La première mention dans la littérature de cylindres au sein des tubules rénaux chez des patients souffrant d'un MM est attribuée à Ellinger en 1899 qui rapportait au cours d'une autopsie « la présence de masses fracturées et granuleuses dans les tubes contournés distaux et de simples cylindres hyalins dans les autres tubes ». En 1920, Thannhauser et Krauss suggérèrent que ces cylindres pouvaient être composés de protéines et de CL (9). Ce n'est toutefois qu'en 1962 qu'Edelman et Gally établirent un lien de causalité entre la présence de cylindres et la protéine de Bence Jones (BJ) des patients myélomateux (10). En 1933 puis en 1945, les Dr Bell et le Dr Oliver publièrent les premières séries descriptives de cas d'atteinte rénale du MM et imputèrent la dysfonction rénale à l'obstruction tubulaire par les cylindres chez les patients présentant une protéinurie de BJ. A la suite de ces descriptions, le terme de « *cast nephropathy* » ou « néphropathie à cylindres » remplaça progressivement l'appellation « *myeloma kidney* » utilisée jusqu'alors. Le terme de « néphropathie à cylindres » semble plus approprié, car cette lésion peut être associée à d'autres hémopathies que le MM, notamment certains lymphomes lymphoplasmocytaires (11). Malgré cela, en France, les termes « tubulopathie myélomateuse » ou « tubulopathie à cylindres myélomateux » demeurent couramment utilisés.

### **2. Physiopathologie**

Depuis le début des années 1990, d'importants progrès ont été fait dans la compréhension de la pathogénie de la TM. Les résultats de ces recherches, résumés

dans la Figure 5, permettront à l'avenir de développer de nouvelles approches thérapeutiques spécifiques de la tubulopathie myélomateuse et complémentaires des traitements anti-myélomateux disponibles actuellement.

#### a) Formation des cylindres

En conditions normales, le rein filtre les CL qui circulent dans le sang en majorité sous forme de dimères. Plus de 90 % des CL filtrées sont réabsorbées au niveau du TCP. Au cours de la TM, ce processus de réabsorption est saturé et les CL se retrouvent en concentration élevée au niveau des tubules distaux ce qui est à l'origine de la formation de cylindres. Ainsi, la perfusion de quantités élevées de CL purifiées à partir de l'urine de patients avec une TM dans les tubules rénaux de souris ou de rats suffit pour induire la formation de cylindres (12, 13). Cependant, certains patients avec un MM et de grandes quantités de CL dans les urines ne développent jamais de lésions de TM. Il a donc été supposé que la formation des cylindres dépendait d'autres facteurs et notamment de la nature de la CL sécrétée. Sanders *et al.* ont ainsi montré que seules les CL purifiées à partir de l'urine de patients avec une TM pouvaient former des cylindres chez le rat alors que des quantités similaires de CL issues de patients avec un MM et sans atteinte rénale ne permettaient pas de reproduire ce phénotype (14). Une explication possible de cette différence tiendrait à la capacité des CL responsables de TM à se lier à la protéine de Tamm Horsfall (PTH).

La PTH ou uromoduline est une protéine présente en grandes quantités dans l'urine et synthétisée de manière sélective par les cellules tubulaires au niveau de la partie ascendante de l'anse de Henle (15, 16). C'est aussi un des principaux constituants des cylindres myélomateux (15, 17). Par des techniques de digestion enzymatique, Huang

et Sanders ont isolé une séquence de 9 acides aminés sur la protéine PTH correspondant au site de liaison avec les CL (18). L'affinité de cette interaction dépend pour chaque CL de la composition en acides aminés de son domaine CDR3 (19). Quelques années plus tard, la même équipe a injecté chez le rat, en même temps que des CL purifiées à partir de l'urine d'un patient avec TM, un peptide avec une forte affinité pour le site de liaison identifié sur la protéine PTH. Par effet de compétition, ce peptide a permis de limiter la liaison des CL avec la protéine PTH et de prévenir la formation des cylindres validant ainsi les résultats *in vitro* (20).

#### b) Autres déterminants de la formation des cylindres

D'autres facteurs influencent la liaison CL-PTH et modulent donc dans la formation des cylindres. Par exemple, le furosémide favorise la formation des cylindres de façon dose-dépendante (13). De même, le pH urinaire influence la liaison PTH-CL via des modifications de la charge électrique de la protéine PTH (18). La composition ionique de l'urine doit aussi être prise en compte. En effet, il a été montré que la présence de cylindres entravait la réabsorption de chlorure et qu'il en résultait une forte concentration intra-luminale d'ions [Cl<sup>-</sup>] qui favorise à son tour la formation de cylindres (14).

D'autre part, il est possible que dans certains cas les cylindres se forment directement par agrégation de fragments de CL résistantes aux protéases macrophagiques (21), indépendamment de la présence de PTH. En faveur de cette hypothèse, il a été observé *in vivo* des cylindres non marqués avec des anticorps anti-PTH et des expériences *in vitro* confirment la capacité de certaines CL à s'auto-agrégier (22).

### c) Toxicité directe des chaînes légères

La formation de cylindres au niveau des tubes distaux est l'élément caractéristique de la TM mais il est maintenant établi qu'il existe également une toxicité directe des CL sur les TCP qui rend compte d'une part importante de la gravité du tableau clinique.

En condition normale, les CL se fixent au pôle apical des cellules épithéliales au niveau des zones inter-microvillositaires de la bordure en brosse par l'intermédiaire de deux récepteurs appartenant à la famille des récepteurs des lipoprotéines de faible densité : la megaline et la cubuline (23, 24). Les CL ainsi endocytées sont secondairement dégradées dans les lysosomes.

Lorsque les CL sont présentes en très forte concentration, l'exacerbation du processus d'endocytose entraîne l'apoptose des cellules épithéliales et favorise un environnement pro-inflammatoire et pro-fibrotique (25). Ainsi, il a été montré que lorsque l'on stimule des cellules tubulaires avec des fortes concentrations de CL, ces dernières libèrent de l' $H_2O_2$  et des espèces réactives de l'oxygène (26). Ceci conduit à : (1) l'activation de l'apoptose via la phosphorylation de l'*apoptosis signal-regulating kinase 1* (ASK1) (20); (2) la libération de cytokines pro-inflammatoires en particulier l'IL6 et IL8 via l'activation des voies *nuclear factor-kappa B* (NF- $\kappa$ B) (27) et *mitogen-activated protein kinase* (MAKP) (3) le recrutement de macrophages/monocytes via une libération de *monocyte chemoattractant protein 1* (MCP-1) (28). L'importance de ces événements dans la pathogénie de la TM a été confirmée *in vivo* par l'équipe d'Arimura *et al.* qui a montré que l'administration d'un peptide bloquant les voies MAKP et NF- $\kappa$ B permettait de prévenir les dégâts épithéliaux (29). Enfin, en plus de leur action pro-inflammatoire et pro-apoptotique, les CL favorisent la libération de facteurs pro-fibrosants comme le

*transforming growth factor beta* (TGF- $\beta$ ) et l'expression de marqueurs mésenchymateux (Snail,  $\beta$ -caténine, vimentine, *heat shock protein 47*(HSP47)) au niveau des cellules épithéliales tubulaires (30, 31). Elles interviennent donc dans le développement de la fibrose rénale et le passage à l'insuffisance rénale chronique (IRC).

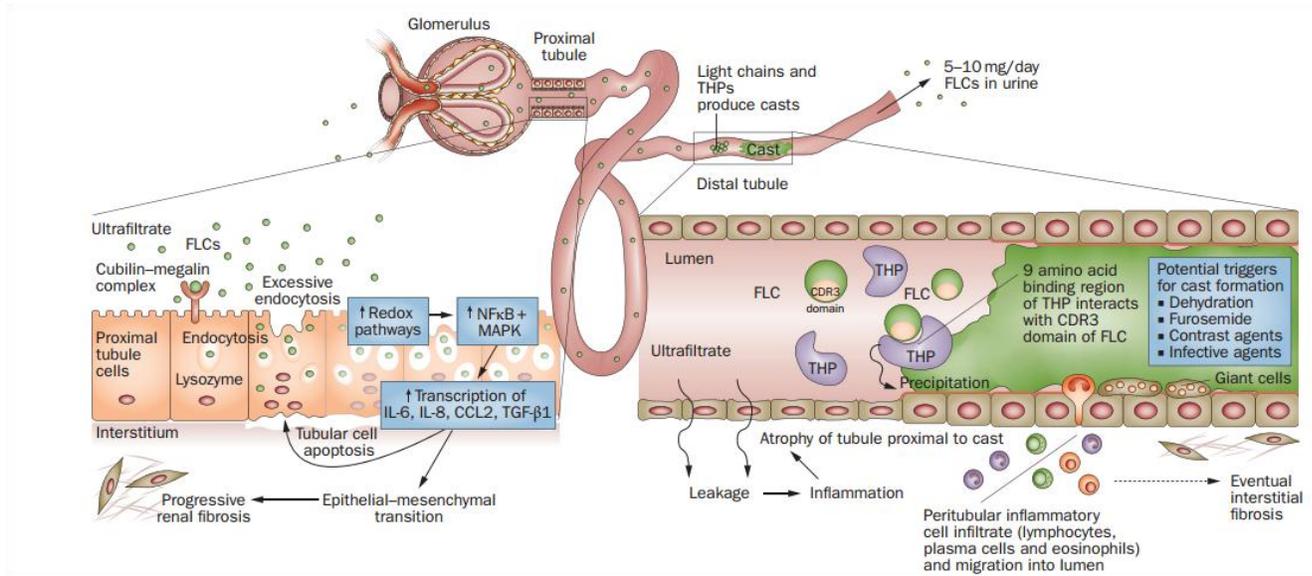


Figure 5 : Principaux mécanismes physiopathologiques au cours de la tubulopathie myélomateuse. D'après Hutchison et al., Nature Review 2011 (25)

### 3. Anatomie pathologique

#### a) Microscopie optique

En microscopie optique, le diagnostic repose donc sur la mise en évidence de cylindres dits « myélomateux » au sein des lumières tubulaires associés à des altérations de l'épithélium tubulaire et à un infiltrat inflammatoire. Ces cylindres myélomateux possèdent certaines caractéristiques morphologiques permettant de les distinguer de cylindres d'autre nature. Ainsi, les cylindres myélomateux apparaissent éosinophiles sur la coloration de l'hématoxyline éosine safran (HES) et polychromatophiles sur la

coloration du trichrome de Masson (Figure 6 A,B,C). A la différence des cylindres exclusivement constitués de PTH pouvant s'observer de manière relativement banale (au sein de tubes atrophiques notamment), les cylindres myélomateux ne sont pas colorés par l'acide périodique de Schiff (PAS). D'abondance variable, les cylindres sont le plus souvent de grande taille, striés par la lame du rasoir, denses et aux contours anguleux. Dans certains cas, ils sont fracturés et les différentes parties semblent alors pouvoir s'emboîter à la manière d'un puzzle (Figure 6 D).

Certaines variantes morphologiques ont été décrites. En particulier, des formes dans lesquelles la majorité ou la totalité des cylindres sont constitués de structures cristallines (32, 33). Ces cristaux peuvent être en forme d'aiguilles fines, à bords pointus ou bien de forme rhomboïde (Figure 6 F, G) (34).

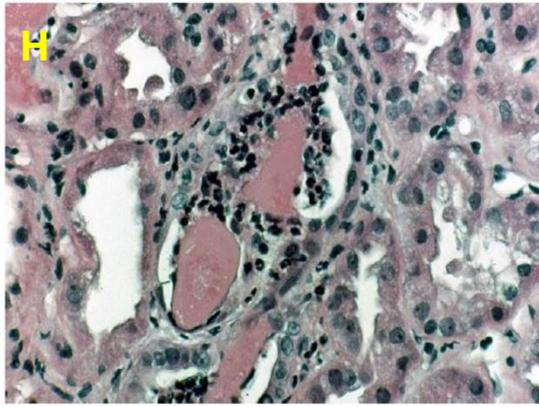
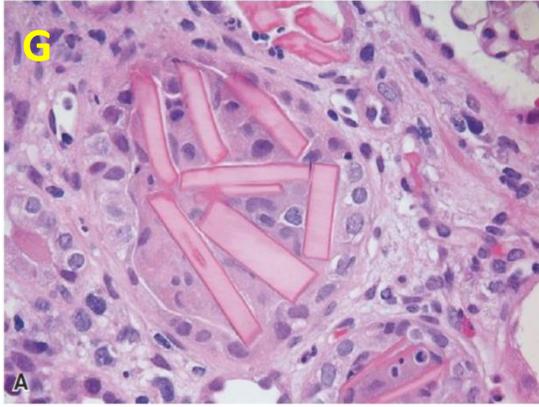
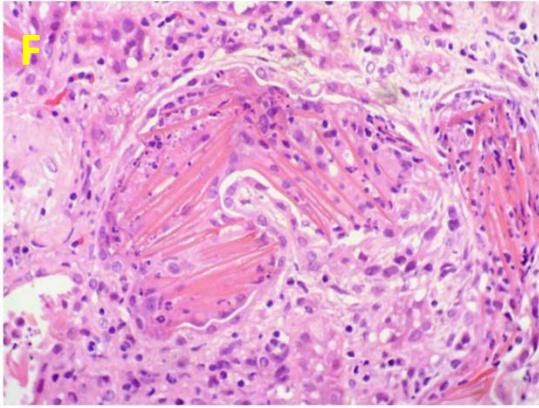
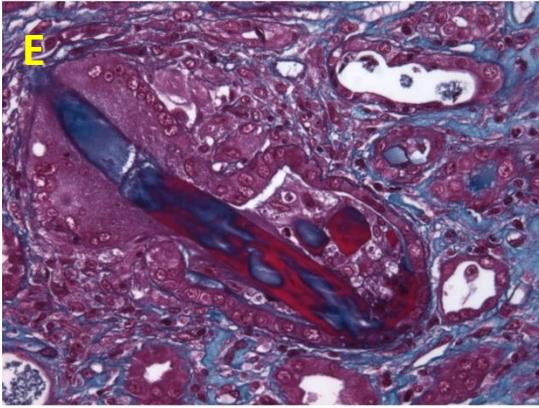
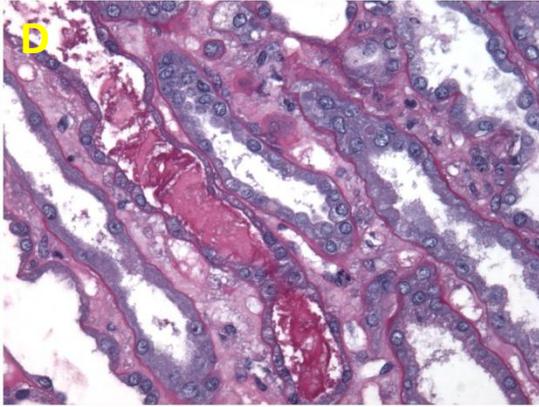
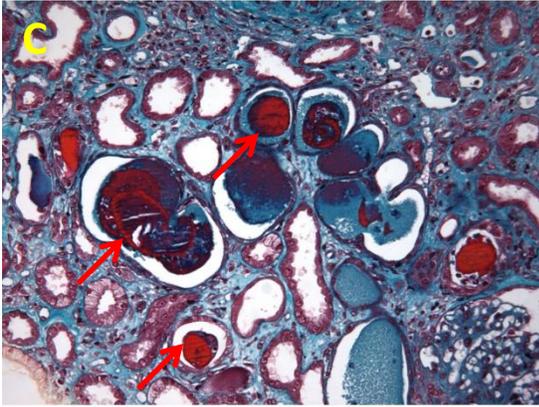
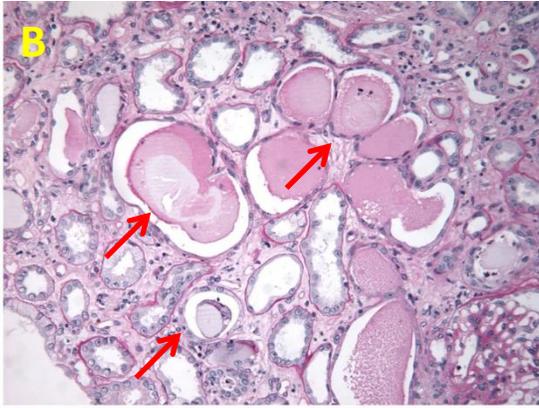
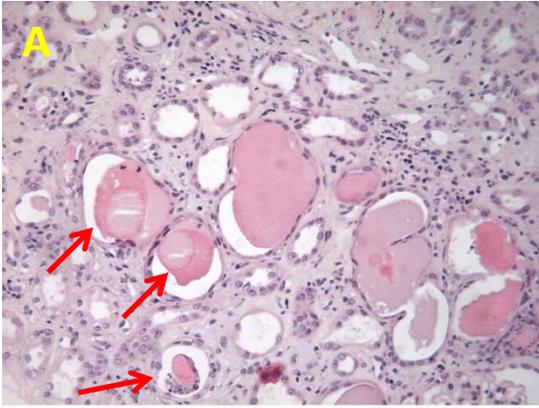
Par technique d'immunohistochimie à l'aide d'anticorps et de lectines spécifiques de certains segments du néphron, il a été montré que les cylindres se formaient principalement au niveau des tubes distaux et collecteurs (17). De manière exceptionnelle, il a été rapporté des cylindres au niveau des tubes proximaux voire même au niveau de la chambre urinaire. Ces cylindres sont probablement formés secondairement au reflux de la PTH dans les parties les plus proximales du néphron dans certaines formes extrêmement sévères de TM (17, 35).

Il est habituel de constater une réaction inflammatoire en périphérie des cylindres. Il peut s'agir d'éléments mononucléés mais la présence de cellules géantes multinucléées adhérentes aux cylindres est plus caractéristique (Figure 6 E). Ces cellules géantes ont des caractéristiques morphologiques (36) et phénotypiques (37, 38) de macrophages. Elles pourraient provenir de la migration des macrophages interstitiels ou bien de la différenciation des cellules épithéliales tubulaires vers un phénotype macrophagique

(39). Dans quelques cas, l'infiltrat inflammatoire est majoritairement constitué de polynucléaires neutrophiles (Figure 6 H) (34).

Une réaction inflammatoire interstitielle, à prédominance de cellules mononuclées, est souvent observée au cours de la TM. La sécrétion de cytokines pro-inflammatoires par les cellules épithéliales tubulaires en réponse à l'exposition aux CL (40) est une explication possible de l'inflammation interstitielle. Dans certains cas, la rupture de la membrane basale tubulaire aboutie à l'extravasation de fragments de cylindres dans l'interstitium et à une réaction inflammatoire résorptive gigantomégaocytaire.

Des signes de souffrance tubulaire sont classiquement associés à la présence de cylindres. Dans ce cas, les tubes apparaissent distendus, bordés par un épithélium aplati. Les cellules épithéliales meurent par nécrose et se détachent dans les lumières tubulaires. En plus des débris cellulaires on peut aussi observer des signes de dégénérescence tels qu'une vacuolisation cytoplasmique.



*Figure 6 (Page précédente) : Exemples de cylindres myélomateux (repérés par les flèches) sur les colorations de l'HES (A, Grossissement x100), du PAS (B, Grossissement x100) et du trichrome de Masson (C, Grossissement x100) ; Cylindre fracturé avec un aspect « puzzle-like » sur une coloration du PAS (D, Grossissement x400) ; Réaction gigantocellulaire en périphérie d'un cylindre myélomateux sur une coloration du trichrome de Masson (E, Grossissement x400); Variantes de cylindres composées de structures cristallines en forme d'aiguilles (F, HES Grossissement x400) ou de forme rhomboïde (G, PAS Grossissement x400) (Image issue du livre Practical renal pathology de Lois J Arend). Exemple de cylindre entouré d'une réaction inflammatoire à prédominance neutrophilique (H, HES Grossissement x400) (Image issue du livre Practical renal pathology de Lois J Arend).*

### b) Immunofluorescence

Dans la majorité des cas, l'IF met en évidence une restriction des cylindres à un type de CL traduisant leur caractère monotypique. Cependant, l'autre type de CL peut parfois se déposer passivement au niveau des cylindres et gêner l'interprétation. D'après certains auteurs (41), la monotypie est plus facilement mise en évidence si la formation des cylindres est récente et l'intensité du marquage tend à s'équilibrer entre les deux CL avec le temps. Un marquage des cylindres avec les anticorps anti-IgG, anti-albumine et anti-fibrinogène est possible (42).

### c) Microscopie électronique

En ME, en dehors de quelques cas rapportés (43, 44), seule l'étude de Pirani *et al.* en 1987 a décrit de manière systématique l'aspect ultrastructural des cylindres dans une série de 24 patients avec TM (45). Dans sa description, Pirani insiste sur la grande variabilité de l'aspect des cylindres au sein d'une même biopsie. Il décrit 4 types de cylindres :

1) Cylindres constitués de granules homogènes et électrons-denses

- 2) Cylindres correspondant à des dépôts globuleux et granuleux
  - 3) Cylindres constitués principalement de microsphères mesurant entre 100 et 200 nm, entourés d'une matrice granuleuse et souvent associés à des cristaux fins et longs en forme d'aiguille
  - 4) Cylindres constitués majoritairement ou totalement de structures cristallines et entourés d'un matériel granuleux, de débris cellulaires ou de particules microsphériques. (Les cristaux mesurent entre 400 nm et 26 µm de long, sont soit larges et rectangulaires, soit fins en formes d'aiguilles associés à de nombreux débris cellulaires)
- Seul les cylindres 3) et 4) sont spécifiques de la TM ce qui a été confirmé plus tard dans une étude de Uribe-Uribe et Herrera dans laquelle ces aspects ultrastructuraux ont une sensibilité de 100 % et une spécificité de 98 % pour le diagnostic de TM (46).

#### d) Indications de la biopsie rénale

La nécessité de réaliser une biopsie rénale pour le diagnostic de TM est controversée. En effet, la survenue, chez un patient atteint d'un MM, d'une insuffisance rénale aiguë (IRA) avec facteur favorisant (voir ci-dessous) clairement identifié, est, pour certains, suffisamment caractéristique pour porter un diagnostic de TM sans nécessiter de preuve histologique (d'autant plus que ce geste était considéré à risque hémorragique accru chez ces patients potentiellement atteints d'amylose AL).

A l'inverse, les partisans de la biopsie rénale en cas de suspicion de TM avancent que si la TM est l'atteinte rénale la plus fréquente, la présentation clinique n'est pas spécifique et l'insuffisance rénale chez les patients avec MM peut être secondaire à de nombreuses autres causes (hypercalcémie, LCDD, amylose AL...). D'ailleurs, dans la plupart des études avec des données histologiques, la TM n'explique que 30 - 65 % des

cas d'IR (Tableau 1). De plus, plusieurs lésions peuvent coexister sur une même biopsie ce qui peut modifier le pronostic (25). Ainsi *Ecotiere et al.* retrouvait par exemple 11,4 % de patients avec une atteinte combinée LCDD et TM et 4,3 % avec une TM et une amylose rénale (47). S'agissant du risque hémorragique lié au geste biopsique, plusieurs études ont démontré que celui-ci était finalement faible et équivalent à la population générale (~4 %) (48, 49).

Depuis quelques années, il apparaît de plus en plus nécessaire de caractériser avec le maximum de précision l'atteinte rénale des patients MM (50). Quelques méthodes non invasives peuvent aider à cette distinction. En particulier, le dosage des CL sériques et urinaires qui est plus élevé au cours de la TM que dans les autres types d'atteintes rénales (51, 52). Toutefois, il n'existe pas de seuils permettant d'affirmer la TM et en l'absence de biopsies il n'est pas possible d'exclure la présence d'une autre pathologie associée. D'autres critères clinico-biologiques peuvent être utiles pour suspecter certains types d'atteinte rénale en particulier une albuminurie significative orientera vers une amylose AL ou une MIDD. Là encore il s'agit de critères d'orientation et leur valeur est limitée.

En conclusion, la biopsie rénale est aujourd'hui le seul moyen pour avoir une certitude sur la nature de l'atteinte rénale. Ces données histologiques seront importantes dans l'avenir pour :

- Obtenir des populations homogènes et améliorer ainsi la qualité des études cliniques pronostiques et thérapeutiques.
- Evaluer avec précision l'influence pronostique des données histologiques

- Evaluer l'efficacité des nouvelles thérapies (épuration des CL, peptide compétitif anti-PTH, anticorps anti SAP...). dont le mécanisme d'action est spécifique de la nature de l'atteinte rénale.

#### **4. Epidémiologie**

Les données épidémiologiques de la TM au cours du MM sont pauvres car dans la majorité des études il est fait référence à l'atteinte rénale au sens large et les données histologiques manquent (Tableau 1). On évalue entre 20 - 40 % la proportion de cas de MM avec une atteinte rénale au diagnostic (53, 54). La survenue de la TM est corrélée au stade de la maladie ainsi les patients avec une atteinte rénale ont majoritairement une maladie à un stade avancé (53, 54). L'atteinte rénale peut également survenir dans 25 - 50 % des cas au décours de l'évolution de la maladie (55).

La TM est l'atteinte rénale du myélome conférant le plus mauvais pronostic. Toutefois, la survie s'est améliorée au cours des dix dernières années (56, 57) : elle était en moyenne de 20 mois avant 2009 et elle est de 40 mois dans les dernières études (Tableau 1). Cette amélioration illustre l'efficacité des nouvelles chimiothérapies anti-myélomateuses.

Comme précisé précédemment, la TM peut survenir au cours d'un lymphome lymphoplasmocytaire / maladie de Waldenström mais cela reste des cas exceptionnels et les données actuelles ne reposent que sur des descriptions de cas individuels (11, 58-61). De ce fait, dans la suite de ce travail, les données présentées concerneront uniquement la TM survenant au cours du MM.

Séries	Nombre de patients avec IR	Biopsies (n=)	MCN (n=)	Réponse rénale (%)	Survie médiane (mois)
Rota <i>et al.</i> 1987 (62)	34	30	26	47	19
Pozzi <i>et al.</i> 1987 (63)	50	24	16	46	NA
Misiani <i>et al.</i> 1987 (64)	10	9	9	50	9
Pasquali <i>et al.</i> 1990 (65)	37	30	25	38	29,7
Johnson <i>et al.</i> 1990 (66)	21	16	13	57	22
Alexanian <i>et al.</i> 1990 (67)	89	0	NA	51	17
Ganeval <i>et al.</i> 1992 (68)	80	30	19	38	20
Winearls <i>et al.</i> 1995 (69)	42	20	14	17	20
Irish <i>et al.</i> 1997 (70)	56	22	16	28,6	8
Bladé <i>et al.</i> 1998 (71)	94	0	NA	26	8,6
Magee <i>et al.</i> 1998 (72)	48	21	16	NA	11
Knudsen <i>et al.</i> 2000 (73)	225	0	NA	26	15
Sakhuja <i>et al.</i> 2000 (53)	56	26	17	NA	NA
Eleutherakis-Papaiakovou <i>et al.</i> 2007 (74)	160	0	NA	NA	20
Kastritis <i>et al.</i> 2007 (75)	41	0	NA	73	23
Dimopoulos <i>et al.</i> 2009 (76)	46	0	NA	57	NA
Haynes <i>et al.</i> 2010 (77)	107	15	10	30	10,2
Hutchison <i>et al.</i> 2011 (78)	39	39	39	66	21,5
Nasr <i>et al.</i> 2012 (79)	190	190	54	NA	44
Dimopoulos <i>et al.</i> 2013 (80)	133	0	NA	74	44
Park <i>et al.</i> 2014 (81)	69	0	NA	68,2	45,7
Gonsalves <i>et al.</i> 2015 (82)	192	0	NA	64	43
Ecotiere <i>et al.</i> 2016 (47)	70	70	70	46 et 51	42
C de Vries <i>et al.</i> 2017 (83)	131	0	NA	68	30

Tableau 1 : Atteintes rénales au cours du myélome, données de la littérature

## **5. Caractéristiques clinico-biologiques de la tubulopathie myélomateuse**

### a) Données démographiques et hématologiques

Les principales caractéristiques associées à la TM sont résumées dans le Tableau 2. Les patients ont un âge moyen de 60 - 65 ans avec une légère prédominance masculine (sexe ratio H/F : 1,25). La TM est associée à un stade avancé de la maladie et à des niveaux élevés de CL sériques et urinaires ce qui la distingue des autres types d'atteinte rénale au cours du MM (amylose, LCDD) où la masse tumorale est en général faible (53, 54). Parmi les cas de TM, les MM à CL représentent 30 - 60 % des patients (62, 64, 66, 84) contre seulement 20 % dans des populations de patients myélomateux sans atteinte rénale. Cette surreprésentation s'explique par une sécrétion urinaire de chaînes légères plus importante au cours des MM à CL comparativement aux MM à IgA / IgG (78, 85). Le ratio  $\kappa/\lambda$  est hétérogène en fonction des séries mais il est proche de 1 si on considère l'ensemble des données (Tableau 2).

Séries	N	% TM	Âge	H/F	Stade III (%)	CL (%)	IgG (%)	IgA (%)	κ(%)	λ(%)	Créatinine (μmol/L)
Rota <i>et al.</i> (62)	34	87	63	0,88	73	38,5	46	15,4	38,5	61,5	960
Misiani <i>et al.</i> (64)	10	100	66	NA	80	20	70	10	60	40	664,4
Pasquali <i>et al.</i> (65)	25	83	60	2,12	72	NA	NA	NA	NA	NA	891
Irish <i>et al.</i> (70)	56	72	67	1,33	78	NA	NA	NA	NA	NA	811
Hutchison <i>et al.</i> (78)	39	100	62	1,43	NA	41	36	20,5	48,7	51,3	504
Nasr <i>et al.</i> (79)	54	100	65	0,54	NA	29	38	27	64	36	475,2
Ecotiere <i>et al.</i> (47)	70	100	69	NA	63	53	29	17	46	54	484,5

Tableau 2 : Caractéristiques hématologiques de la TM (adapté de Schrier 9th edition).

### b) Données néphrologiques

Les signes cliniques extra-néphrologiques les plus fréquemment associés sont la fatigue, la perte de poids, les douleurs osseuses et les infections. Ces signes sont peu spécifiques, en particulier chez des sujets âgés, et ils conduisent donc rarement à la réalisation d'une électrophorèse des protéines sériques et à la mesure des CL sériques qui sont nécessaires pour évoquer le diagnostic. On ne retrouve pas de syndrome œdémateux ou d'hypertension artérielle sévère, ces manifestations étant plutôt associées à une atteinte glomérulaire.

L'insuffisance rénale secondaire à la TM est révélatrice du diagnostic de myélome dans plus de 70 % des cas (62, 63, 86). Elle s'installe généralement sur quelques jours. Elle est d'intensité variable pouvant nécessiter la mise en dialyse d'emblée (37 %) (79). On estime qu'environ 65 % des patients avec un TM développent une insuffisance rénale terminale (IRT) dans les 3 premiers mois suivant le diagnostic (68). Si le MM ne représente qu'1 % des tumeurs malignes, il rend compte de plus de la moitié des cas d'IRT associés au cancer (87). Aux Etats Unis, l'incidence de l'IRT secondaire à la TM a

diminué ces dernières années (56) ce qui n'est pas retrouvé en Europe où l'incidence continue d'augmenter (88). La mortalité des patients en IRT du fait d'une TM est en moyenne plus importante que pour les IRT secondaires à d'autres causes (56).

La principale caractéristique de la TM sur le bilan urinaire est la mise en évidence d'une protéinurie constituée à plus de 70 % de CL (62). Les autres constituants sont des protéines de bas poids moléculaires et de l'albumine non réabsorbées au niveau des TCP. Si la présence d'une albuminurie supérieure à 1 g/j est en faveur d'une pathologie glomérulaire associée tel que l'amylose ou le LCDD, elle peut être observée dans de rares cas de TM pure (47). Une hématurie microscopique est associée dans environ 20 % des cas.

## **6. Facteurs précipitants**

La survenue d'une TM est avant tout associée à une masse tumorale élevée et le premier facteur de risque est l'abondance de la sécrétion urinaire de CL (85). Toutefois d'autres facteurs peuvent favoriser la formation des cylindres. Ils sont présentés dans le Tableau 3.

Séries	Aucun	Hypercalcémie	Médicaments néphrotoxiques	Infections	Déshydratation	Produits de contraste
Rota <i>et al.</i> (62)	NA	44	26	44	65	0
Pozzi <i>et al.</i> (63)	44	34	0	8	24	4
Johnson <i>et al.</i> (66)	81	NA	0	19	NA	0
Ganeval <i>et al.</i> (68)	35	30	NA	9	10	11
Winearls <i>et al.</i> (69)	71	19	10	NA	NA	NA
Irish <i>et al.</i> (70)	57	23	11	2,5	2,5	0
Sakhuja <i>et al.</i> (53)	47	24	16	9	33	2
Haynes <i>et al.</i> (77)	65	16	18	5	6	NA
Rodrigues <i>et al.</i> (89)	66,8	17,5	5,2	10,5	NA	NA
Ecotiere <i>et al.</i> (47)	50	23	20	24	NA	NA

Tableau 3: Facteurs précipitants dans la littérature (Valeurs en %)

#### a) Hypercalcémie

Dans le MM, l'hypercalcémie est une cause fréquente d'IRA (90). L'hypercalcémie a des effets délétères directs sur la fonction rénale et entraîne une diminution de la filtration glomérulaire. Elle est aussi à l'origine d'une vasoconstriction rénale et de l'apparition de dépôts intratubulaires de calcium. De plus, l'hypercalcémie entretient un état de déshydratation lorsqu'elle entraîne des vomissements ou lorsqu'elle est responsable d'une résistance à l'hormone antidiurétique. Ces conditions favorisent la précipitation de cylindres chez les patients avec MM et l'hypercalcémie est d'ailleurs le principal facteur précipitant dans de nombreuses études. Elle est retrouvée entre 23 et 44 % des cas selon les séries (Tableau 3).

## b) Iatrogènes

Certains traitements favorisent directement la précipitation des cylindres et sont donc à proscrire chez les patients atteints de MM. En particulier, les diurétiques de l'anse qui augmentent la concentration intraluminaire de sodium chloride dans les tubes distaux ce qui renforce l'affinité de la liaison CL - PTH (voir physiopathologie) avec un effet dose-dépendant dans des modèles *in vitro* (14, 91). Par ailleurs, l'ensemble des traitements associés à une diminution du DFG favorisent *in fine* la formation de cylindres et doivent donc être évités ou utilisés avec prudence chez les patients souffrant de MM. En particulier, les AINS qui inhibent la production de prostaglandines vasodilatatrices nécessaires au maintien du débit de filtration glomérulaire et qui favorisent également la rétention hydrosodée en inhibant la réabsorption du chlore. Certains biphosphonates utilisés pour la prise en charge des lésions osseuses des patients MM sont néphrotoxiques (92, 93) et doivent donc être évités ou utilisés à dose adaptée à la fonction rénale. Enfin, les inhibiteurs de l'enzyme de conversion sont à risque chez ces patients souvent déshydratés.

## c) Produits de contraste iodés

L'utilisation de produits de contraste iodé (PCI) chez les patients souffrant de MM a longtemps été considérée comme un facteur de risque majeur de développer une IRA (94). Cette affirmation reposait sur quelques *case reports* (95, 96) et a conduit à une extrême prudence de la part des radiologues. Toutefois, que ce soit dans les séries issues des études de corrélation anatomo-cliniques (Tableau 3) ou bien dans les études cliniques ultérieures (97, 98), il a été montré que le risque de détérioration de la fonction rénale secondaire à l'utilisation de PCI est faible lorsque les patients sont correctement

hydratés. Ainsi, dans l'étude de McCarthy *et al.* la fréquence d'IRA après injection de PCI chez 476 patients MM était estimée à 0,6 - 1,25 % contre 0,15 % dans la population générale. Chez des patients avec une TM prouvée histologiquement, l'utilisation de PCI est un facteur favorisant retrouvé dans moins de 5 % des cas. Si le risque est plus faible qu'initialement suspecté, il n'est pas nul pour autant et il convient d'observer une certaine prudence chez les patients en particulier lorsqu'ils présentent d'autres facteurs de risque de TM (hypercalcémie, infection, hypovolémie, prise d'AINS...).

#### d) Hypovolémie/Sepsis

L'hypovolémie est un facteur précipitant de TM car elle augmente la concentration relative des CL dans les urines et diminue la filtration glomérulaire. Dans la littérature, la déshydratation est un facteur précipitant de TM retrouvé jusqu'à 60 % des cas dans certaines séries (62) (Tableau 3). Elle doit donc être systématiquement recherchée et corrigée chez les patients atteints de MM.

La présence d'un sepsis est également un facteur de risque via l'hypovolémie relative qui en résulte. Elle est retrouvée à l'origine de 10 - 20 % des cas de TM (Tableau 3). Certains auteurs ont suggéré que la présence d'une simple infection urinaire puisse jouer un rôle précipitant (62) mais ceci n'a pas été confirmé dans des études ultérieures.

## 7. Facteurs pronostiques

Les principaux facteurs pronostiques associés à la survie et à la réponse rénale sont résumés dans le Tableau 4.

Séries	Facteurs associés à la réponse rénale	Facteurs associés à la survie
Rota <i>et al.</i> (62)	Atrophie tubulaire, Lésions interstitielles	Réponse rénale
Pozzi <i>et al.</i> (63)	Niveau de la fonction rénale initiale. Nombre de cylindres.	Réponse rénale
Misiani <i>et al.</i> (64)	NA	Réponse hématologique
Pasquali <i>et al.</i> (65)	NA	Réponse rénale, Lésions tubulo-interstitielle, Infection
Johnson <i>et al.</i> (66)	NA	NA
Alexanian <i>et al.</i> (67)	Niveau de la fonction rénale initiale, Calcémie, Protéinurie	Réponse hématologique
Ganeval <i>et al.</i> (68)	NA	Réponse rénale, Réponse hématologique
Winearls <i>et al.</i> (69)	NA	NA
Irish <i>et al.</i> (70)	NA	Albuminémie, Taux de plaquettes
Bladé <i>et al.</i> (71)	Niveau de la fonction rénale initiale, Myélome à CL	Niveau de la fonction rénale initiale, Réponse hématologique
Magee <i>et al.</i> (72)	NA	NA
Knudsen <i>et al.</i> (73)	Myélome à CL	Réponse rénale
Sakhuja <i>et al.</i> (53)	NA	NA
Eleutherakis-Papaiakovou <i>et al.</i> (74)	NA	NA
Kastritis <i>et al.</i> (75)	Rien	NA
Dimopoulos <i>et al.</i> (76)	Myélome à CL, Réponse hématologique	NA
Haynes <i>et al.</i> (77)	NA	Réponse rénale, albuminémie,
Hutchison <i>et al.</i> (78)	Réponse hématologique	Isotype de la CL, Réponse rénale
Nasr <i>et al.</i> (79)	NA	NA
Dimopoulos <i>et al.</i> (80)	Réponse hématologique, Niveau de la fonction rénale initiale, Âge	Rien
Park <i>et al.</i> (81)	Rien	Rien
Rodrigues <i>et al.</i> (89)	Rien	Âge, CRP, Indépendance dialyse
Gonsalves <i>et al.</i> (82)	Myélome à CL	Cytogénétique, Âge
Ecotiere <i>et al.</i> (47)	Réponse hématologique	Réponse rénale
C de Vries <i>et al.</i> (83)	NA	Niveau de la créatinine initiale, Calcémie, Isotype de la CL, Utilisation du Bortezomib

Tableau 4 : Facteurs associés à la réponse rénale et à la survie dans le myélome.

#### a) Facteurs histologiques

Les résultats sur le rôle des facteurs histologiques dans le pronostic de la TM sont discordants dans la littérature. Dans certaines études, l'atrophie tubulaire et l'importance de l'infiltrat inflammatoire interstitiel sont les seuls critères associés à la réponse rénale (62, 65) alors que pour d'autres auteurs seul le nombre de cylindres est significatif (47, 63, 66).

Ces résultats contradictoires traduisent sans doute une hétérogénéité de méthodes entre ces différentes études en particulier en ce qui concerne la définition de l'atteinte rénale, la façon de compter les cylindres ou de grader l'infiltrat interstitiel. Par exemple, pour étudier la valeur du nombre de cylindres, certains ont pris en compte la moyenne du nombre de cylindres par champs (47) alors que d'autres ont considéré le pourcentage de tubes contenant des cylindres (62, 63).

#### b) Fonction rénale au diagnostic

La sévérité de l'atteinte rénale au diagnostic de TM a un impact sur la survie (71, 83) et sur les chances d'obtenir une réponse rénale (67, 80). La classification AKIN définissant différents grades de sévérité de l'IRA à partir de la valeur de la créatinine et du débit urinaire peut être utilisée dans la TM (Tableau 5) (80).

Stade	Créatinine	Débit urinaire
<b>Stade 1</b>	Augmentation de plus de 26,4 $\mu\text{mol/L}$ ou comprise entre 150 à 200% de la valeur de base	Moins de 0,5 mL/kg/h pendant plus de 6 h
<b>Stade 2</b>	Augmentation comprise entre 200 et 300% de la valeur de base	Moins de 0,5 mL/kg/h pendant plus de 12 h
<b>Stade 3</b>	Augmentation supérieure à 300% ou valeur de la créatinine supérieure à 354	Moins de 0,3 mL/kg/h pendant 24 h ou anurie pendant 12 h

Tableau 5 : Classification AKIN d'après Metha RL et al. 2007 (99).

### c) Réponse rénale et réponse hématologique

La réponse rénale et hématologique sont associées à la survie dans la plupart des études (Tableau 4) mais leurs définitions varient d'une étude à l'autre. Afin d'homogénéiser les pratiques cliniques, le groupe international de travail sur le myélome multiple (IMWG) a proposé des critères définissant la réponse rénale (Tableau 6) et hématologique (Tableau 7)

Réponse rénale (IMWG)	DFG (formule MDRD) en base (ml/min/1.73 m <sup>2</sup> )	Meilleur DFG après traitement (ml/min/1.73 m <sup>2</sup> )
<b>Complète</b>	< 50	>60
<b>Partielle</b>	< 15	30-59
<b>Mineure</b>	< 15 ou 15 - 29	15-29 30 - 59

Tableau 6 : Critères définissant la réponse rénale au cours du myélome multiple d'après Dimopoulos et al. 2010(100)

Catégorie de réponse	Critères
<b>Réponse complète stricte</b>	Réponse complète et Ratio FLC Normal, et Absence de cellules clonales dans la moelle osseuse par immunohistochimie ou immunofluorescence
<b>Réponse complète</b>	Immunofixation négative, et Disparition des plasmacytomes du tissu mou, et ≤5 % plasmocytes dans la moelle osseuse
<b>Très bonne réponse partielle</b>	Détection de la protéine monoclonale par immunofixation (et non par électrophorèse), ou Réduction d'au moins 90% de la protéine monoclonale sérique, la protéine monoclonale urinaire < 100 mg par 24 h
<b>Réponse partielle</b>	Réduction ≥50 % de la protéine monoclonale sérique et réduction de la protéine monoclonale urinaire ≥ 90 % ou de < 200 mg par 24 h Si la protéine monoclonale n'est pas mesurable, une baisse ≥50 % de la différence entre les taux de CL doit s'imposer Si ni la protéine monoclonale, ni le dosage de chaînes légères libres ne sont mesurables, une baisse ≥ 50 % des plasmocytes s'impose en lieu et place de la protéine monoclonale, pourvu que le pourcentage de plasmocytes dans la moelle osseuse soit ≥ 30 % En outre, si les plasmacytomes apparaissent, une réduction ≥ 50 % de leur taille dans le tissu mou s'impose
<b>Maladie stable</b>	Critère non valable pour réponse complète, très bonne réponse partielle, réponse partielle ou la progression de la maladie
<b>Progression de la maladie</b>	Augmentation de 25 % par rapport à la valeur la plus basse d'un ou plusieurs composants suivants : <ul style="list-style-type: none"> <li>• Ig monoclonale sérique (l'augmentation absolue doit être ≥ 0,5 g/dl)</li> <li>• Ig monoclonale urinaire (l'augmentation absolue doit être ≥ 200 mg/24h)</li> <li>• Si les Ig monoclonales ne sont pas mesurables dans le sang ou les urines : la dCL (l'augmentation absolue doit être &gt; 10 mg/dl)</li> <li>• Si, ni les Ig monoclonales sériques et urinaires, ni le dosage des chaînes légères libres ne sont mesurables : le pourcentage d'infiltration plasmocytaire (le pourcentage absolu doit être ≥ 10 %)</li> </ul> OU Développement de nouvelles lésions osseuses ou de plasmacytomes des tissus mous ou augmentation de la taille des lésions osseuses existantes ou des plasmacytomes des tissus mous OU Hypercalcémie (calcium sérique corrigé > 11,5 mg/dl ou 2,65 mmol/l) qui peut être uniquement attribuée à la prolifération des plasmocytes.

Tableau 7 : Définition de la réponse hématologique au cours du myélome d'après Kumar et al.

2016 (101)

d) Isotype de la chaîne légère

L'influence de l'isotype de la CL sur le pronostic a été rapportée plusieurs fois dans la littérature. En général, l'isotype  $\lambda$  est associé à une moins bonne réponse rénale et à une moins bonne survie (78). Cet effet est secondaire au débit urinaire des CL qui est plus important dans le cas des CL- $\lambda$  que des CL- $\kappa$ . Ainsi, lorsque les résultats sont ajustés sur le débit urinaire, la différence entre les deux types de CL est non significative (85).

## 8. Traitements de la tubulopathie myélomateuse

a) Traitements étiologiques

Au cours des 10 dernières années, la prise en charge du MM a été transformée par l'introduction de nouvelles thérapies. Elles ont permis d'améliorer significativement la survie des patients. Toutefois qu'ils s'agissent des chimiothérapies dites conventionnelles ou des molécules d'introduction plus récentes, la stratégie est identique: il faut obtenir le plus rapidement possible un contrôle de la maladie en diminuant efficacement le taux de CL et en évitant les toxicités liées aux traitements.

### (1) *Chimiothérapies classiques*

Le melphalan, un agent alkylant, a été un des premiers traitements du MM avec insuffisance rénale. Il a pendant longtemps été utilisé en association avec des corticostéroïdes comme traitement de première ligne. Il permet d'obtenir une réponse hématologique dans environ 60 % des cas (54, 71, 102, 103). Ce traitement a plusieurs

inconvenients : nécessité d'adapter les doses à la fonction rénale, cytotoxicité vis-à-vis des cellules souches, action anti-tumorale lente et impact limité sur la survie.

Dans les années 1990, des schémas thérapeutiques combinant des drogues anti-myélomateuses avec des corticoïdes comme l'association vincristine, adriamycine et dexaméthasone (VAD) se sont imposés dans le traitement du MM (67). Ces associations sont moins toxiques que le melphalan pour les cellules souches, ne nécessitent pas d'adaptation des doses à la fonction rénale et ont une action cytoréductrice plus marquée (104, 105).

A partir du début des années 2000, il est apparu que les sujets jeunes et en bon état général avec une TM pouvaient bénéficier d'un traitement d'induction par VAD puis d'un conditionnement par melphalan haute dose avant autogreffe de cellules souches. Jusqu'alors, cette stratégie thérapeutique était réservée aux patients sans atteinte rénale en raison de sa toxicité mais une série d'étude a permis de confirmer son efficacité dans cette population de patients (104, 106-108).

## (2) *Les immunomodulateurs (IMiDs)*

Le thalidomide est un agent immunomodulateur avec un mécanisme d'action complexe. Il inhibe l'angiogenèse, la croissance des cellules tumorales et il rehausse l'immunité à médiation cellulaire. La pharmacocinétique du thalidomide n'est pas modifiée par l'IR (109). Il a été rapporté quelques cas d'hyperkaliémie fatale chez des patients MM avec IR traités avec des doses de 100 - 400 mg (110) mais cette toxicité n'a pas été confirmée dans des études ultérieures (111, 112). En ce qui concerne son efficacité, en association avec des corticoïdes, il permet d'obtenir de meilleurs taux de réponse rénale

comparativement aux chimiothérapies classiques (80, 113). En revanche, les résultats sont moins bons qu'avec le bortezomib (80).

Contrairement au thalidomide, le lenalidomide est majoritairement excrété au niveau rénal. Son utilisation au cours de l'IR est donc délicate car même s'il n'est pas néphrotoxique, son accumulation potentialise sa toxicité extra-rénale en particulier myelosuppressive. En conséquence, l'IR a longtemps été considérée comme un critère d'exclusion de la plupart des études cliniques incluant une branche lenalidomide et il existe peu de données sur son efficacité pour cette catégorie de patients (114). Malgré cela, il a été montré qu'en ajustant les doses, le lenalidomide pouvait être utilisé avec une bonne sécurité et efficacité chez ces patients (115). Après adaptation des doses, le lenalidomide n'est pas inférieur en termes de pourcentage de réponse rénale par rapport au thalidomide chez des patients avec une atteinte rénale et un MM nouvellement diagnostiqué (80). En revanche, comme le thalidomide, il est moins efficace que le bortezomib.

Un IMID d'introduction plus récente semble également avoir une bonne efficacité chez les patients avec une atteinte rénale modérée : le pomalidomide (116). Ce dernier est métabolisé à 98 % avant son élimination rénale et ne nécessite pas d'adaptation des doses chez les patients avec une clairance de la créatinine supérieure à 45 mL/min.

### (3) *Inhibiteurs du protéasome*

Le bortezomib en est le chef de file. En plus de son rôle d'inhibiteur du protéasome, le bortezomib a aussi une action inhibitrice sur la voie NF- $\kappa$ B. Son utilisation dans la TM est donc d'autant plus intéressante qu'en plus de son action anti-myélomateuse, il agit directement sur la physiopathologie de la maladie (voir partie physiopathologie). Il est

dépourvu de toxicité rénale et peut être utilisé sans adaptation de dose, même chez les patients en dialyse, avec une efficacité comparable. Ses effets secondaires sont principalement des troubles digestifs, des thrombocytopénies et des atteintes du système nerveux périphérique.

Le bortezomib est efficace en association avec le melphalan et la prednisone (VMD) en particulier dans les MM avec une atteinte rénale faible à modérée (100). L'association bortezomib-prednisone a permis une amélioration des taux de réponse rénale par rapport au VAD en traitement d'induction suivi ou non par une transplantation (113, 117). Par rapport aux IMiDs, le bortezomib permet l'obtention d'un taux de réponse rénale complète plus important et dans un délai plus court que le lénalidomide ou le thalidomide (80). Actuellement, le bortezomib, en injection sous cutanée, associé à la dexaméthasone haute dose est recommandé en première ligne pour le traitement des patients avec un MM et une IR. En vue d'une autogreffe, il peut être combiné avec le cyclophosphamide ou bien le thalidomide. Chez les patients inéligibles à la greffe, il peut être associé au melphalan et à la prednisone (115)

Le carfilzomib est un autre inhibiteur du protéasome qui peut être administré sans adaptation des doses chez les patients avec un MM et une atteinte rénale (118). Dans une étude de phase III, chez des patients avec une clairance supérieure à 15 mL/min, le traitement combiné carfilzomib + dexaméthasone améliore la survie sans progression par rapport au bortezomib + dexaméthasone (119).

A noter l'introduction récente de l'ixazomib, un inhibiteur du protéasome administré par voie orale. Si ce dernier semble pouvoir être administré avec sécurité chez les patients avec une atteinte rénale modérée, les données sur son efficacité sont peu nombreuses.

## b) Traitements d'épuration des chaînes légères

### (1) *Plasmaphérèse*

En théorie, l'association de la plasmaphérèse avec les chimiothérapies cytoréductrices est séduisante pour le traitement de la TM. En effet, il s'agit d'une méthode efficace pour éliminer les CL lors des phases aiguës en attendant les effets de la chimiothérapie à plus long terme. En pratique, les résultats sont controversés. Une des premières séries s'intéressant à cette question a montré que l'ajout de la plasmaphérèse à un traitement par corticoïde et cyclophosphamide permettait d'obtenir des taux de réponses rénales significativement plus importants à 2 mois (120). Cependant, une étude ultérieure ne retrouvait pas de gain significatif en termes de survie ou de réponse rénale du traitement associé à la plasmaphérèse (66). Par la suite, deux études contrôlées, randomisées portant sur respectivement 58 et 79 patients séparés en deux groupes « chimiothérapies seules » (Melphalan prednisone ou VAD) vs « chimiothérapies et plasmaphérèse » n'ont pas non plus permis de retrouver de bénéfice de la stratégie avec plasmaphérèse (121, 122).

Récemment, une correspondance dans le NEJM à propos de 14 cas de patients ayant très bien répondu à un traitement par plasmaphérèse en association avec le bortezomib a relancé l'intérêt autour de cette technique (123).

### (2) *High Cut Off Dialysis*

Les techniques de dialyse permettent une clairance efficace des solutés de petite taille mais le rendement est moindre pour ceux de grande taille. L'introduction de membranes de plus haute perméabilité a amélioré l'élimination des composés de plus

forte masse moléculaire (124). Récemment, il a été introduit des membranes de nouvelles générations, désignées sous l'appellation « *high cut off dialysis* » (HCO), dotées de pores d'environ 10 nm (2 - 3 fois plus grand que ceux présents dans les membranes de haute perméabilité) ce qui leur confèrent un coefficient de perméabilité autour de 45 - 50 kDa (proche de celui des glomérules ~ 65kDa). Ces membranes HCO permettent d'épurer le sang des CL (125). Plusieurs études rétrospectives et prospectives ont montré que cette technique, en association avec la chimiothérapie, est associée à une diminution rapide des CL et un sevrage de la dialyse dans 63 - 76 % des cas (25, 126). Toutefois, ces bons résultats sont à mettre en perspective avec ceux obtenus avec les nouveaux traitements (et notamment le bortezomib) qui permettent d'obtenir des pourcentages de réponse rénale similaire (80). Récemment une étude rétrospective retrouvait une amélioration significative de la réponse rénale dans le groupe dialyse avec membrane HCO vs dialyse standard mais avec une répartition des traitements de dernière génération déséquilibrée entre les groupes (127). Deux grandes études randomisées et multicentriques (EuLITE et MYRE) ont été conduites en Europe pour évaluer l'association « bortezomib et dialyse HCO » vs « bortezomib et dialyse standard ». Les premiers résultats de ces deux études sont controversés : EuLITE n'a pas mis en évidence de différence du pourcentage de réponse rénale entre les deux groupes avec un nombre plus important de complications infectieuses dans le groupe HCO (Cockwell *et al.*, données non publiées) alors que l'étude MYRE retrouve un taux de réponse rénale significativement plus important dans ce groupe (128).

### (3) *Autres méthodes*

D'autres méthodes d'épuration des CL ont été proposées, notamment certaines techniques spécifiques d'hémodiafiltration (129) (130) mais elles ne sont pas utilisées en pratique clinique.

#### c) Traitements symptomatiques

Les mesures de néphroprotection des patients atteints de TM sont essentielles. En effet, la correction de la volémie, l'éviction des médicaments néphrotoxiques (en particulier AINS, IEC), la correction de l'hypercalcémie et la prise en charge rapide des infections sont non seulement nécessaires pour éviter l'apparition de lésions rénales surajoutées mais aussi pour éviter d'entretenir la formation des cylindres. De même les diurétiques de l'anse doivent être proscrits car en augmentant la concentration intraluminale de sodium ils diminuent la solubilité de la PTH (14). L'hydratation doit être suffisante avec un objectif de diurèse supérieure à 3 litres par jour (131). Il n'y a pas d'études cliniques qui prouvent le bénéfice de l'alcalinisation des urines au cours de la TM même si certaines expériences *in vitro* indiquent que le pH urinaire influence l'agrégation de la protéine PTH et des CL (14).

## C. Amylose AL

### 1. Définition et historique

#### a) Définition

Les amyloses sont un groupe de maladies conformationnelles aboutissant à la précipitation d'une protéine instable sous forme de fibrilles insolubles dans les tissus. Il a été décrit une trentaine de protéines amyloïdogènes correspondant à autant de types différents d'amylose. Lorsque la protéine précurseur à l'origine des dépôts est une CL monoclonale on parle d'amylose à chaîne légère (Amylose AL).

#### b) Découverte de l'amylose

Plusieurs descriptions macroscopiques d'organes avec un aspect « lardacé » ou « cireux » évoquant une localisation d'amylose ont été rapporté durant les XVIIe et XVIIIe siècles notamment par Nicolaus Fontanus (1659) et Antoine Portal (1789) (132). Le terme « amyloid » a été introduit en 1849 par le botaniste allemand Matthias Schleiden pour désigner un constituant naturel des plantes. Ce terme fut repris dans le domaine médicale pour la première fois, en 1854, par le médecin allemand Rudolph Virchow pour désigner les propriétés tinctoriales, proches de celles de la cellulose, des corps amylicés dans le cerveau après application d'iode et d'acide sulfurique. Bien que ces corps amylicés n'appartiennent pas au spectre actuel des lésions d'amylose, l'utilisation de ce terme a perduré d'autant que Virchow a décrit, dans la foulée de ces premières observations erronées, des véritables cas d'amylose systémique. P. Schwartz fit d'ailleurs remarquer que Virchow, tel Christophe Colomb qui chercha les Indes et

découvrit l'Amérique, chercha de la cellulose et découvrit un autre domaine de la médecine, l'amylose (133).

### c) Découverte de l'amylose AL

Les premier cas d'amylose chez un patient avec MM furent publiés par Adams et par Weber en 1867 (132). Dès 1931, Magnus Levy suggéra que la protéine de Bence Jones était à l'origine de l'amylose chez les patients avec un MM (134). Il fallut toutefois attendre 1971 et l'introduction de techniques d'extraction des protéines à partir des dépôts d'amylose pour le prouver. Grâce à cette technique, l'équipe de Glenner parvint à montrer la similitude entre la séquence d'acides aminés des fibrilles d'amylose et celle de la séquence variable des CL (135). Ces données furent confirmées par la suite (136, 137) et notamment par l'étude de Klafki *et al.* qui montre la similitude de séquence entre la protéine de BJ d'un patient MM et celle de la protéine contenue dans ses dépôts d'amylose (138).

## 2. Physiopathologie de l'amylose AL

### a) Structure et constitution des dépôts

Il a rapidement été suggéré que tous les types d'amylose partageaient une même structure interne. La ME en a apporté la preuve en montrant que les dépôts d'amylose étaient constitués de fibrilles allongées et non cohésives (139). Quelques années plus tard, Eanes et Glenner ont montré, à l'aide de techniques de diffraction des rayons X, que ces fibrilles contenaient des protéines organisées en feuillets  $\beta$  plissés (140) (Figure 7).

Depuis quelques années l'étude de la structure des dépôts amyloïdes a connu des avancées remarquables liées à l'introduction de nouvelles techniques d'études comme la résonance magnétique nucléaire (RMN) et la radiocristallographie protéinique de haut rendement (141). Celles-ci permettent d'étudier les dépôts à un niveau moléculaire et même atomique (142). Ces analyses de haute résolution ont permis d'identifier des différences dans l'organisation des dépôts entre les différents types d'amylose (141). Les progrès dans ce domaine permettront probablement d'avancer dans nos connaissances sur la physiopathologie de la maladie et sur les mécanismes de l'amyloidogenèse.

Si l'amylose AL est principalement constituée de CL monoclonale, d'autres éléments sont retrouvés en proportion variable dans les dépôts. Il s'agit de protéoglycanes (143), de glycosaminoglycanes (144) et du composant amyloïde P (SAP) (145). Ce dernier est présent dans tous les types d'amylose (145) et joue un rôle dans la formation et la stabilité des dépôts (146). L'importance de cette protéine dans la formation de l'amylose a été illustrée dans un modèle murin d'amylose chez des souris inactivées pour le gène codant la SAP (147). Chez ces souris KO la formation de l'amylose était retardée par rapport aux souris sauvages. Ces observations ont abouti au développement d'études thérapeutiques ciblant la SAP pour le traitement de l'amylose.

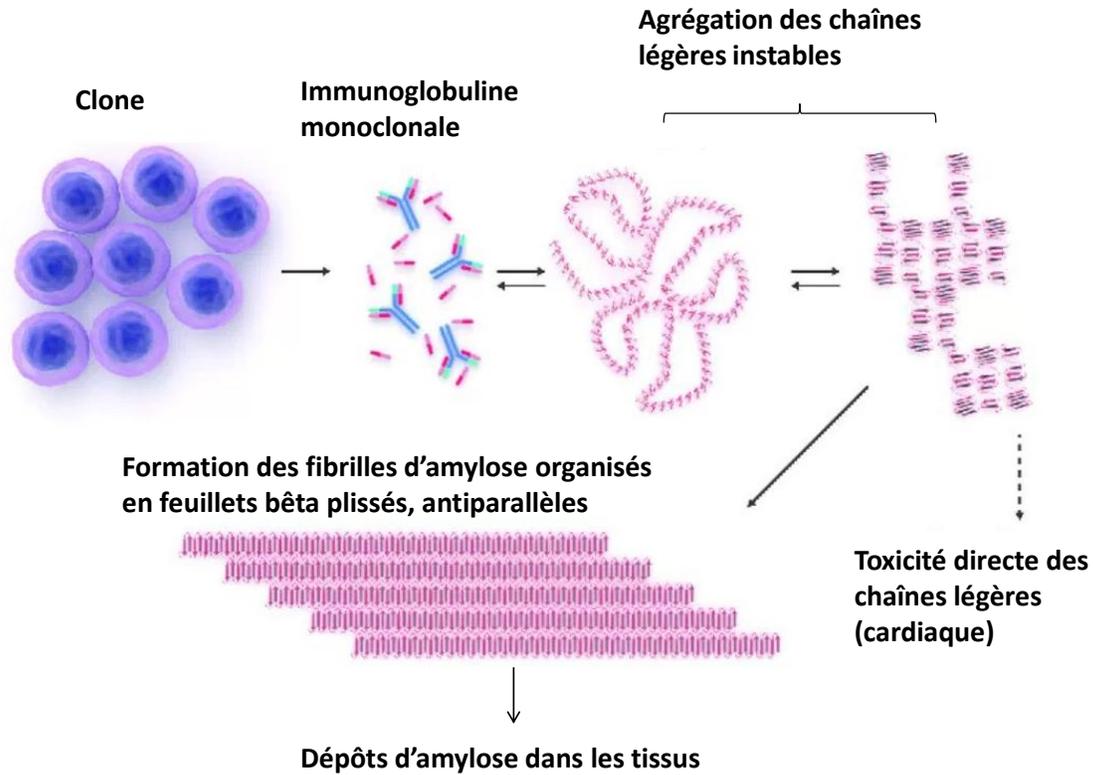


Figure 7 : Structure des dépôts d'amylose, adaptée de Mahmood et al. 2014 (148)

### b) Rôle de la chaîne légère

Toutes les CL ne sont pas amyloïdogènes. Seul 10 - 15 pourcent des patients avec un MM (149) développeront une amylose AL et cette proportion est moindre chez les patients avec une MGUS (150). Contrairement à la TM, il n'y a pas d'association entre le titre de CL circulantes et l'apparition de la maladie. Les propriétés intrinsèques de la CL sont donc les seuls déterminants du développement de l'amylose AL. L'isotype  $\lambda$  est une des caractéristiques associées à une plus forte amyloïdogénicité de la CL (151). Afin de préciser les autres spécificités des CL dans l'amylose AL, l'étude de Bellotti *et al.* a comparé les caractéristiques physico-chimiques des CL issues de patients avec une

amylose AL par rapport à celles de patients avec MM. Ils ont montré qu'au cours de l'amylose, les CL ont un point isoélectrique plus faible et que la proportion de CL avec un bas poids moléculaire est plus importante que dans le MM.

Quelques années plus tard, la technique de séquençage des CL a permis d'apporter de nouveaux résultats. En particulier, il a été décrit une restriction du répertoire des gènes codant pour la partie variable de la CL- $\lambda$  dans l'amylose AL (152-154). Dans une série de 55 cas d'amylose AL, les gènes appartenant aux familles germinales LV3 et LV6 rendaient compte de 42 % des régions variables de la CL  $\lambda$  (152). Une étude récente a montré que 50 % du répertoire des CL dans l'amylose AL est constitué pour la chaîne  $\lambda$  des gènes LV6-57, LV3-01 et LV2-14 (155).

En ce qui concerne les amyloses AL- $\kappa$ , les données sont moins claires : certains auteurs retrouvent une surreprésentation des familles de gènes germinales KV1 et KV3 (156) alors que d'autres rapportent une sous représentation des familles de gènes KV2 et KV3 (155).

Au-delà de son intérêt physiopathologique, le séquençage de la CL peut apporter des renseignements cliniques. Certains gènes sont ainsi associés à un tropisme particulier de l'amylose AL : par exemple le gène LV6-57 avec l'atteinte rénale, le gène LV3-1 avec l'atteinte des tissus mous, les gènes de la famille LV2 avec l'atteinte cardiaque et le gène LV2-14 avec l'atteinte des nerfs périphériques. Lorsque l'amylose est le fait d'une CL- $\kappa$ , l'atteinte hépatique est plus fréquente que pour les CL- $\lambda$  en particulier si la CL est codée par le gène KV1-33. (152, 155-157).

Le séquençage a aussi été effectué au niveau protéique afin de déterminer s'il était possible d'identifier des positions de certains acides aminés ou des modifications post traductionnelles spécifiques de la région variable des CL de l'amylose AL. Avec cette

méthode, il a été montré l'existence d'une substitution récurrente de certains acides aminés dans l'amylose AL-κ à l'origine d'une glycosylation altérée de la CL-κ (158). Ces résultats valident la faisabilité de cette approche mais à l'heure actuelle les conclusions restent limitées en particulier pour la CL-λ. Ceci pourrait changer avec la mise en place de banques, librement accessibles aux chercheurs, créées dans l'optique de recenser un maximum de séquences de CL afin d'augmenter la puissance de ce type d'études (159).

### c) Rôle de la protéolyse

L'analyse des fibrilles grâce à la méthode de purification protéique des dépôts d'amylose développée par M. Pras montre que le domaine variable des CL en est le principal constituant (160). L'absence du domaine constant dans la composition des fibrilles suggère un rôle de la protéolyse dans la physiopathologie de l'amylose AL. Bellotti *et al.* a ainsi proposé que l'agrégation des CL débutait par la dé-dimérisation des CL secondaire à la perte du fragment constant (161). Cette hypothèse a été étayée par plusieurs observations en particulier celles de Glenner *et al.* et de Linke *et al.* qui montrèrent que des dépôts amyloïdes pouvaient être formés *in vitro* à partir de la protéolyse des CL (162, 163). Ces résultats *in vitro* doivent toutefois être interprétés avec précaution car : cette technique permet d'obtenir des dépôts amyloïdes à partir de n'importe quel CL (issues de patients avec une AL ou non), les fibrilles ainsi formées sont de plus petite taille et les dépôts sont composés exclusivement de CL alors *qu'in vivo* on retrouve dans la grande majorité des cas de la SAP et des protéoglycanes associés.

D'autres observations sont en faveur d'un lien entre protéolyse et formation de l'amylose. Par exemple, on retrouve souvent des macrophages à proximité de petits dépôts d'amylose d'AL suggérant un lien de causalité entre les deux (164). Plus récemment, il a été montré que les CL de patients AL induisaient une expression de marqueurs macrophagiques par les cellules mésangiales. Ce changement est spécifique de l'amylose AL glomérulaire (165). L'adaptation de ce phénotype qui témoigne d'une activité protéolytique intense suggère que les cellules mésangiales pourraient être le lieu de formation de l'amylose glomérulaire (166).

#### d) Toxicité de l'amylose AL

L'accumulation de dépôts d'amylose dans les tissus aboutit à des dysfonctions d'organes à cause des contraintes mécaniques qu'il en résulte. Par exemple, l'épaississement du myocarde peut conduire à des troubles de la contractilité cardiaque. Cependant, la corrélation entre l'étendue des dépôts et la dysfonction d'organe n'est pas parfaite dans l'amylose AL. En effet, pour une extension de dépôts équivalente, l'amylose AL entraîne une atteinte cardiaque plus rapide et plus sévère comparativement à une amylose sénile (167). En 2001, Liao *et al.* a montré que les CL purifiées à partir de patients souffrant d'une amylose AL cardiaque étaient capables d'induire une dysfonction diastolique indépendamment de la formation de dépôts (168). Des expériences *in vitro* ont confirmé la toxicité directe des CL sur les cardiomyocytes via l'activation de la voie p38/MAPK aboutissant à un stress oxydatif et à l'apoptose des ces cellules (169-171).

La toxicité directe des CL dans les autres organes reste encore à être démontrée même si elle est suggérée par certaines observations cliniques. Par exemple, les rémissions

rapides des neuropathies périphériques à l'introduction du traitement qui sont en faveur d'une toxicité non médiée par les dépôts (172).

### 3. Examen anatomopathologique

#### a) Diagnostic

En microscopie optique, l'amylose correspond à une substance amorphe de localisation extracellulaire. Les dépôts sont éosinophiles sur la coloration de l'HES. La richesse en mucopolysaccharides des dépôts d'amylose est à l'origine d'une réaction métachromatique avec certaines colorations (méthyl violet, violet de Paris, crystal violet, crazy violet, methyl green...). Avant l'introduction du Rouge Congo (RC), ces colorations étaient fréquemment utilisées pour la détection de l'amylose (Figure 8, A) (173, 174). La thioflavine T est une autre coloration parfois utilisée pour la détection de l'amylose car elle très sensible lorsqu'elle est étudiée en IF (175). En effet, les molécules de ce colorant se lient aux fibrilles amyloïdes et donnent aux dépôts une fluorescence verte (Figure 8, B). A l'heure actuelle, certaines de ces colorations sont encore utilisées en raison de leur facilité de lecture dans des contextes particuliers. Par exemple le Bleu alcian sulfaté pour la détection de l'amylose cardiaque (Figure 8, C) (176).

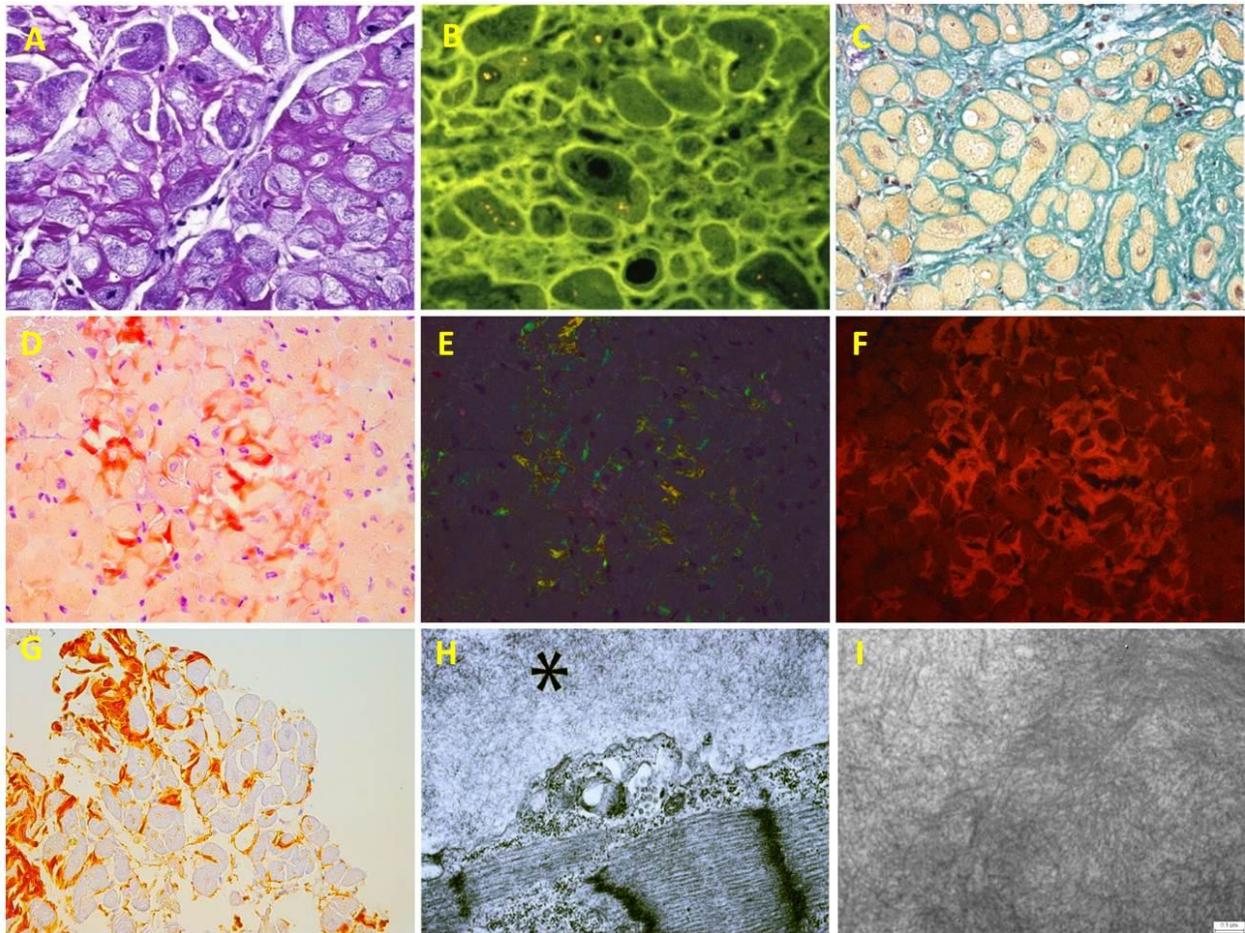
En 1922, la forte affinité du RC pour l'amylose fut rapportée pour la première fois par Bennhold. Il colore en rouge brique les dépôts d'amylose (Figure 8, D). Ce colorant était jusqu'alors utilisé dans l'industrie textile. Son appellation découle d'ailleurs de considérations « *marketing* » et n'a aucun rapport avec son origine géographique. En 1927, la biréfringence jaune-verte de l'amylose colorée par le RC en lumière polarisée fut découverte (Figure 8, E) (177). Cette biréfringence est très spécifique de l'amylose et

le RC s'imposa donc comme la coloration de référence pour le diagnostic de l'amylose. La biréfringence est liée à la manière dont les molécules du RC se déposent au niveau des dépôts d'amylose : du fait de leur structure interne en feuillets  $\beta$ -plissés, le RC se dépose de façon orientée le long des fibrilles (178). Le terme de biréfringence signifie que les dépôts ainsi marqués sont capables de dévier la lumière. Lorsque l'on utilise un système pour polariser celle-ci, en plaçant le polariseur et le filtre en position croisée, si la lumière n'est pas déviée elle sera totalement éteinte par le filtre et invisible pour l'observateur. En revanche, si la lumière traverse un milieu biréfringent alors la partie de la lumière déviée deviendra visible. C'est pourquoi ces dépôts apparaissent brillants en lumière polarisée. L'apparition d'une couleur jaune-verte est plus complexe et découle du fait que le RC va absorber certaines longueurs d'onde qui ne seront donc pas déviées en même temps que le reste du spectre lumineux.

La réalisation d'un RC nécessite un contrôle du pH et une épaisseur de coupe comprise entre 4 et 8  $\mu\text{m}$  afin de détecter des dépôts de petite taille (179). Même lorsque la technique est parfaitement réalisée, certains points sont à connaître pour l'interpréter correctement. Comme nous l'avons précisé précédemment, seule la biréfringence jaune-verte en lumière polarisée est spécifique du diagnostic. D'autres structures sont marquées par le RC comme par exemple les limitantes élastiques des vaisseaux, les granules des éosinophiles, les globules rouges, certains tissus fibreux et la colloïde dans la thyroïde (180). Même quand le RC est interprété par un pathologiste expérimenté, la sensibilité n'est pas parfaite en particulier lorsque les dépôts sont de petite taille. Ainsi, dans l'amylose AA pour laquelle il existe un anticorps performant pour le marquage des dépôts, l'équipe de Linke *et al.* a montré que l'examen immunohistochimique permettait de rattraper un nombre significatif de cas non vus avec

le RC. Pour améliorer la sensibilité, la coloration du RC peut être lue sous une lampe à UV avec un filtre Texas red (Figure 8, F). Cette technique assez ancienne (181) a connu un regain d'intérêt depuis les années 2000 (180, 182). Elle permet d'améliorer la sensibilité et de détecter des dépôts amyloïdes de petite taille. Dans l'amylose AA, avec cette méthode de lecture, la sensibilité du RC est similaire à celle de l'immunohistochimie anti-SAA (183). Son utilisation a été validée dans le rein (182, 184) et dans les aspirations de graisse abdominales mais des auteurs rapportent une moins bonne efficacité dans d'autres sites biopsiques en particulier dans la peau (185). A noter que l'immunohistochimie avec l'anticorps anti SAP peut aussi aider en cas de doutes avec les colorations (Figure 8, G)

En ME, l'organisation des dépôts amyloïdes sous forme de fibrilles de 7 à 12 nm de diamètre disposées de manière aléatoire permet de porter le diagnostic (Figure 8, H-I). Avec cette technique, il est possible de détecter des dépôts de petite taille mais ce n'est pas un outil de dépistage utilisable en routine. Au delà des problèmes de coût et de temps, cela serait une approche peu rentable avec un risque important de faux positif lié à la présence physiologique de structures fibrillaires en particulier dans le rein (glomérules scléreux, cylindres protéiques etc...).



*Figure 8 : Localisation cardiaque de l'amylose. Les dépôts sont colorés en violet sur la coloration du methyl violet (A, grossissement x200), présentent une fluorescence verte avec la coloration par la thioflavine T (B, grossissement x200) et sont de couleur vert d'eau sur la coloration du bleu alcian sulfaté (C, grossissement x200) (images issues de Maleszewski et al. 2015 (186)). Sur la coloration du rouge Congo, ils sont de couleur rouge brique (D, grossissement x400), présentent une biréfringence jaune-verte en lumière polarisée (E, grossissement x400) et sont brillants lorsque le rouge Congo est étudié à la lumière UV (F, grossissement x400). Les dépôts sont marqués par l'anticorps anti-SAP (G, grossissement x400). En microscopie électronique, on met en évidence l'organisation en fibrilles de 7 à 12 nm de diamètre disposées de manière aléatoire (H, grossissement x10.000 ; I, grossissement x 27800)*

## b) Précisions sur l'atteinte rénale

Contrairement à d'autres types d'amylose, l'amylose AL peut intéresser quasiment tous les compartiments du rein avec un tropisme particulier pour les glomérules (187). Dans une étude portant sur 407 biopsies rénales avec AL, on retrouvait la répartition des dépôts suivante : présence d'une atteinte glomérulaire dans 97 % des cas (Figure 9, A-C), d'une atteinte vasculaire dans 85 % des cas (Figure 9, D-F), d'une atteinte interstitielle dans 58 % des cas et d'une atteinte des membranes basales tubulaires dans 8 % des cas (Figure 9, G-I) (188). L'atteinte glomérulaire peut être diffuse (le plus souvent (188, 189)) ou focale et peut intéresser le mésangium et/ou la MBG. Les dépôts mésangiaux sont parfois responsables de formations nodulaires semblables à ce que l'on peut observer dans la glomérulosclérose diabétique ou la LCCD (Figure 9, J, flèche verte). Certains auteurs, distinguent différents « *pattern* » de l'atteinte de la MBG : parfois les dépôts d'amylose sont dits « en spicules » lorsque qu'ils sont disposés perpendiculairement sur le versant externe de la MBG (Figure 9, K-L) alors que dans d'autres cas ils sont intramuraux entraînant la formation d'une néo-membrane basale responsable d'un aspect en double contour (Figure 9, J, flèche rouge) (190). L'aspect « en spicules » est fréquent au cours de l'amylose AL et pour certains auteurs il est le témoin d'une forme agressive d'atteinte rénale (190). Cette théorie est basée sur les observations suivantes : lorsque cet aspect est présent, même discrètement, les patients ont une protéinurie abondante (191); il est souvent accompagné d'anomalies marquées des podocytes avec fusion extensive et diffuse des pédicelles en ME; il n'y a pas de néomembrane basale au sommet des spicules suggérant que la formation des dépôts a été très rapide (192) et enfin il a été rapporté quelques cas de régression

clinique associés à la disparition de cet aspect histologique malgré la persistance de dépôts dans le mésangium (193, 194). Au contraire, les formes nodulaires et ou avec double contours correspondraient plutôt à des formes traitées ou d'évolution progressive.

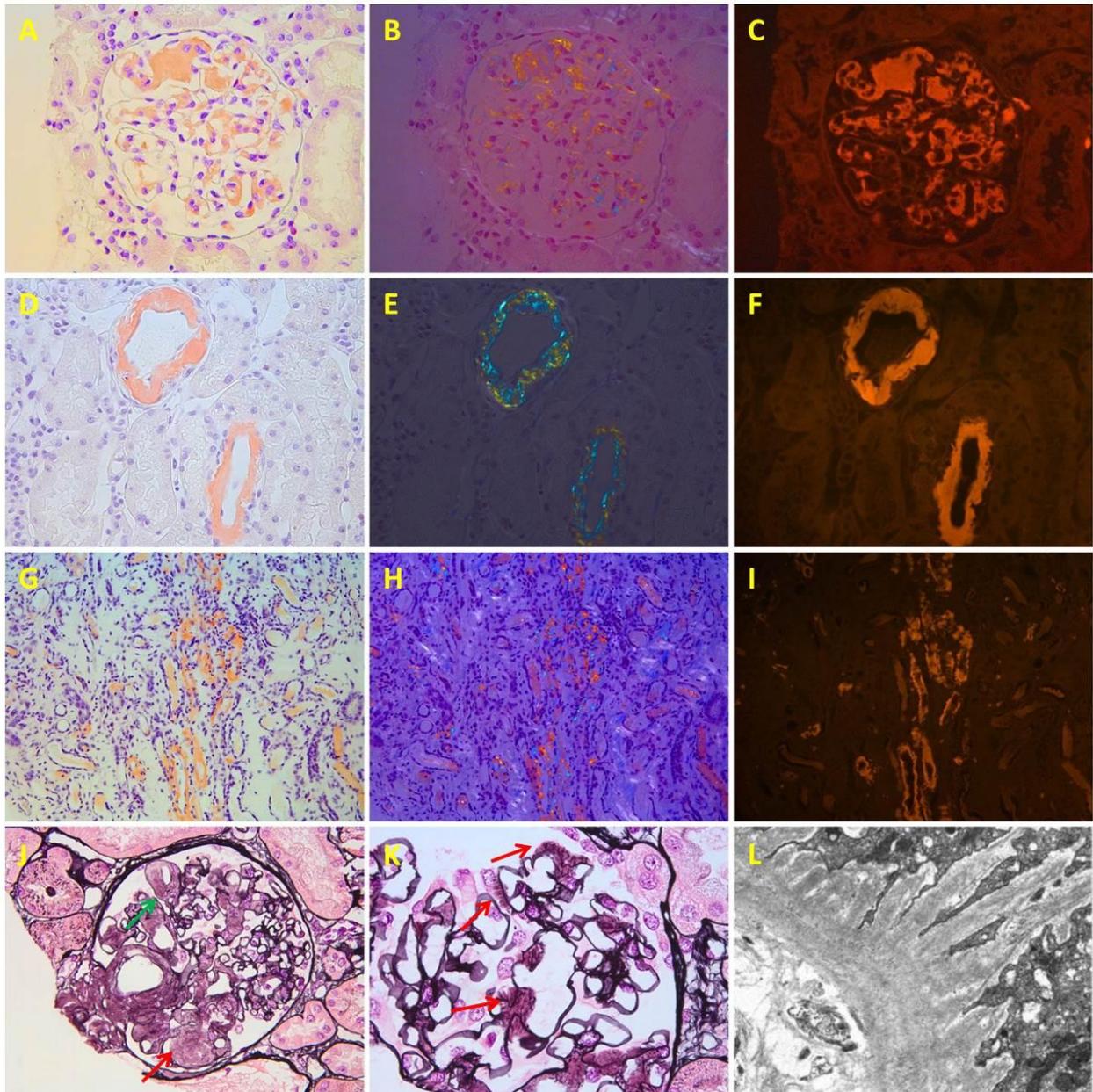


Figure 9 : Amylose AL glomérulaire sur la coloration du rouge Congo avec étude en lumière polarisée et en immunofluorescence (A-C, grossissement x500), vasculaire (D-F, grossissement x500), et tubulo-interstitielle (G-I, grossissement x500). Atteinte glomérulaire d'une amylose AL avec double contours (flèche verte) et aspect nodulaire (flèche rouge) sur la coloration de Jones (J, grossissement x500). Dépôts glomérulaires, subépithéliaux d'amylose AL avec aspect en «spicules ou en flammèche » sur la coloration de Jones (K, grossissement x1000). Aspect en microscopie électronique (L, image issue du site de la National Kidney Foundation)

### c) Typage de l'amylose

Le typage est un temps essentiel de la démarche diagnostique avec d'importantes implications pour la prise en charge des patients. Les principales techniques sont résumées dans le Tableau 8.

C'est une étape qui doit être rigoureuse et qui ne doit pas reposer sur le seul contexte clinique. Il a ainsi été démontré que le diagnostic d'amylose AL pouvait être porté avec excès chez les patients avec une MGUS : presque 10 % de cas étiquetés amylose AL étaient en réalité des cas d'amylose héréditaire et l'association à une MGUS était fortuite. (195). Une connaissance des limites des techniques de routine et une meilleure accessibilité des nouveaux outils permettront d'améliorer le typage à l'avenir.

Techniques	Avantages	Limites	Permet d'aboutir au typage (%)
Immunohistochimie	Coût Accessibilité	Peu d'anticorps commerciaux Masquage des épitopes Important bruit de fond Examen limité aux Acs testés	70
Immunofluorescence	Coût Accessibilité Moins de bruit de fond qu'en IHC Pas de masquage des épitopes	Peu d'anticorps commerciaux Nécessité de tissu congelé Examen limité aux Acs testés	80-87
Microscopie Electronique	Spécificité Pas de bruit de fond	Coût Accessibilité Temps technique Peu d'anticorps commerciaux	85
Protéomique	Ne nécessite pas de connaître la protéine <i>a priori</i>	Accessibilité Temps technique	90-100

Tableau 8 : Comparaison des principales méthodes de typage

### **(1) En immunohistochimie**

Le typage de l'amylose par des méthodes immunohistochimiques sur des prélèvements inclus en paraffine a des limites assez importantes. Un premier obstacle est le peu d'anticorps commerciaux disponibles en comparaison du nombre toujours croissant de protéines amyloïdes décrites. Deuxièmement, même lorsque des anticorps existent, ils sont souvent spécifiques de la protéine native et celle-ci est parfois très éloignée de celle que l'on retrouve dans les dépôts du fait des importants changements conformationnels. En particulier, dans le cas de l'amylose AL, les anticorps commerciaux sont dirigés contre le domaine constant des CL or comme nous l'avons discuté précédemment les dépôts contiennent principalement des fragments de domaines variables. Enfin, il y a souvent un marquage non spécifique ou « bruit de fond » assez important du fait de la présence de protéines sériques « piégées » au moment de la fixation. Pour toutes ces raisons, l'utilisation d'anticorps commerciaux anti CL en immunohistochimie ne permet d'aboutir à un diagnostic de certitude que dans 70 % des cas d'AL (179).

Malgré toutes ces limites, en pratique diagnostique, l'étude immunohistochimique est souvent la seule option disponible et doit comprendre le panel minimum suivant : anticorps anti-CL ( $\kappa$  et  $\lambda$ ), anti-SAA, anti-transthyretine, anti-SAP et  $\pm$  anti-fibrinogène et  $\pm$  anti- $\beta$ 2-microglobuline (en fonction du contexte). Quelques astuces permettent de réduire le bruit de fond comme par exemple l'utilisation d'anticorps polyclonaux dirigés exclusivement contre les CL libres et ne fixant donc pas les immunoglobulines complètes (196). L'utilisation d'anticorps « maison » requiert une plateforme dédiée mais permet d'obtenir de très bonne sensibilité et spécificité (183, 197). Enfin,

l'utilisation de résines à la place de la paraffine pourrait également permettre d'améliorer le typage des dépôts (198).

### **(2) En immunofluorescence**

Lorsque du matériel congelé est disponible, le typage en IF doit être préféré à l'immunohistochimie. En effet, la plupart des anticorps (en particulier ceux dirigés contre les CL) fonctionnent mieux sur matériel congelé car il n'y a pas de masquage des sites antigéniques lors de la fixation. De plus, le bruit de fond est moins fort car les étapes de lavage permettent d'éliminer les protéines plasmatiques plus efficacement (199). Le marquage anti-SAP fonctionne en immunofluorescence et peut être utilisé comme contrôle positif. Malgré cela, cette technique reste limitée par les problèmes liés à la disponibilité et à la faible spécificité des anticorps vis-à-vis de la protéine amyloïde. Interprétée par des pathologistes expérimentés, l'étude en IF sur matériel congelé permet un typage adéquat dans environ 87 % des cas (200).

### **(3) En microscopie électronique**

L'utilisation d'anticorps couplés à des billes d'or permet de visualiser en ME un signal électron dense en cas de fixation de l'anticorps. Cette méthode de marquage appelée « *immunogold* » peut être utilisée pour le typage des dépôts d'amylose. Il est rapporté une sensibilité de l'ordre de 80 % et une spécificité proche de 100 % avec cette technique (201). Elle est réalisable sur tissu inclus en paraffine, bien que de moins bonne qualité, à partir du moment où la durée de la fixation formolée a été bien contrôlée (202). Cette technique est actuellement réservée à quelques centres

spécialisés et aux cas difficiles car elle est couteuse, chronophage et assez lourde à mettre en place sur le plan technique.

#### **(4) Techniques protéomiques**

Devant les difficultés inhérentes au typage de l'amylose avec les méthodes d'immunohistochimie et d'IF, des techniques alternatives reposant sur l'extraction des protéines à partir des tissus frais ou inclus en paraffine ont été développées (203-205). Si des premiers résultats avaient été obtenus en Western Blot ou en chromatographie liquide, l'introduction de la spectrométrie de masse pour l'analyse des protéines constitutives des dépôts d'amylose (206, 207) a été une véritable révolution. D'autant plus que de nouvelles techniques d'enrichissement telle que la microdissection laser et l'amélioration des techniques de chromatographie en phase liquide ont permis de s'affranchir des problèmes liés à la faible abondance des dépôts. Grace à ces avancées, la protéomique s'est imposée comme le *gold standard* pour le typage de l'amylose (208, 209). La sensibilité et la spécificité de cette méthode sont de l'ordre de 98 % (210). Comparativement à l'immunohistochimie, l'analyse protéomique est concordante avec cette dernière dans 100 % des cas et permet d'aboutir au typage dans 94 % des cas contre 76 % avec l'immunohistochimie seule (211).

Surtout, l'analyse protéomique a l'immense avantage de permettre la détection de tous les types d'amylose y compris les plus rares, voire même d'en découvrir de nouveaux. Son utilisation a d'ailleurs permis d'agrandir le spectre des amyloses et de mettre en évidence que certains types d'amylose étaient plus fréquents qu'escompté (212).

Bien entendu, elle n'est pas exempte de défauts et certaines limites sont communes avec le typage conventionnel (présence de protéines plasmatiques, protéines amyloïdes

dénaturées par rapport aux protéines natives) (213). De plus, sa mise en place est onéreuse et le fonctionnement de la plateforme nécessite un personnel spécialisé, si bien qu'actuellement en France il est parfois difficile d'en bénéficier. Malgré cela, il est probable que son utilisation va se généraliser et aux Etats Unis c'est d'ailleurs la seule technique de protéomique ayant reçu une autorisation favorable pour un usage en routine (208). Enfin, signalons que d'autres techniques sont en cours de développement notamment la désorption/ionisation par laser assistée par matrice (MALDI) couplée à l'imagerie par spectrométrie de masse (IMS) qui permettra d'obtenir une cartographie des protéines contenues dans un tissu sans le dénaturer (214, 215).

#### d) Site biopsique

Le diagnostic de l'amylose AL systémique et son typage requièrent un prélèvement histologique. Si la biopsie de l'organe atteint est le plus souvent rentable, il est actuellement recommandé de débiter par des biopsies de sites dont l'exploration est aisée. Plusieurs études ont montré que les prélèvements de graisse abdominale (aspiration ou biopsie), la biopsie de glandes salivaires accessoires (BGSA), la biopsie ostéo-médullaire (BOM) et les biopsies de la sphère gastro-intestinale avaient toutes une très bonne sensibilité pour le diagnostic d'amylose AL avec peu de complications (216, 217).

Initialement, la biopsie rectale a été recommandée pour le diagnostic de l'amylose AL systémique avec une sensibilité d'environ 80 % (218) puis remplacée au début des années 1970 par le prélèvement de graisse abdominale moins invasif. Cette technique permet d'aboutir au diagnostic dans 57 - 72 % (219, 220). Sa sensibilité peut être améliorée par la réalisation de plusieurs lames (221, 222). D'autres auteurs

recommandent la réalisation d'une biopsie au scalpel ou au punch de 3 mm à la place de l'aspiration (223) avec des sensibilités rapportées autour de 73 % (224). Les facteurs associés à la rentabilité du prélèvement de graisse abdominale ont été étudiés. Lorsque l'amylose AL survient dans un contexte de faible masse tumorale, les aspirations de graisse abdominale sont moins rentables (222, 225). Le sexe masculin et l'isotype  $\kappa$  sont aussi prédictifs d'une aspiration négative. Au contraire, la présence d'une amylose cardiaque est plus souvent associée à une aspiration positive (217).

La BGSA est une autre technique fréquemment utilisée pour le dépistage de l'amylose AL dans la littérature (226). Sa sensibilité est comprise entre 80 et 89 % (227-229).

En ce qui concerne la BOM, la sensibilité est légèrement inférieure, comprise entre 55 et 70 % (216, 217, 230).

D'autres sites ont été proposés comme par exemple les biopsies gingivales, de peau avec des résultats contrastés bien que certains auteurs retrouvent de très bonne sensibilité avec la biopsie de peau (231).

Actuellement, il n'y pas de recommandations en faveur de l'un ou l'autre de ces prélèvements et il est d'usage d'en associer plusieurs afin d'améliorer la sensibilité. Ainsi, sur une série de plus de 600 cas d'amylose AL, il a été montré que débiter par l'association d'une aspiration de graisse abdominale et d'une BOM permettait d'éviter la biopsie d'un organe solide dans 89 % des cas (217).

#### **4. Epidémiologie**

Il n'existe pas de données en Europe sur l'incidence de l'amylose AL. On considère à défaut qu'elle doit être proche de celle aux Etats Unis qui est stable aux alentours de 9 cas par million d'habitants par an (232). Dans les pays développés, c'est le type

d'amylose le plus fréquent depuis la diminution de l'incidence de l'amylose AA suite à la meilleure prise en charge des maladies inflammatoires chroniques (233). On estime que l'incidence de l'amylose AL est 5 à 10 fois inférieure à celle du MM (234). Environ 10 à 15 % des patients atteints de MM ont une amylose AL et cette fréquence est plus proche de 20 % si l'on ne considère que les myélomes à CL (235-237). En revanche, les patients avec un amylose AL ont peu de chances de développer un MM. Ainsi, sur une série de 1596 patients avec une AL, 6 patients seulement ont développés un MM au cours du suivi de leur maladie (236). A noter que l'amylose AL peut également survenir dans le cadre d'une autre hémopathie telle qu'une maladie de Waldenström (238) ou d'autre lymphome (239).

## **5. Atteintes d'organes au cours de l'amylose AL**

Les patients sont en majorité âgés de plus 50 ans avec une légère prédominance masculine. Des critères consensuels définissant les différentes atteintes d'organes ont été publiés en 2005 (240) et mis à jour en 2010 (241). Ils sont présentés dans le Tableau 9.

Organes atteints	Critères
<b>Rein</b>	Protéinurie des 24h > 0,5 g/j à prédominance d'albumine
<b>Cœur</b>	NT-proBNP > 332 ng/l (en l'absence d'insuffisance rénale et de fibrillation auriculaire)  ou épaisseur moyenne du myocarde en diastole > 12 mm sans autre cause de souffrance cardiaque
<b>Foie</b>	Flèche hépatique > 15 cm en l'absence de défaillance cardiaque  ou phosphatases alcalines > 1,5 fois limite supérieure
<b>Nerf</b>	<b>Périphérique:</b> Neuropathie périphérique sensitivomotrice, symétrique, des extrémités inférieures  <b>Autonome:</b> Trouble de la vidange gastrique et vésicale, pseudo-obstruction
<b>Sphère Gastro-intestinale</b>	Confirmation biopsique + atteintes cliniques (diarrhées, constipation, saignements occultes...)
<b>Poumon</b>	Confirmation biopsique + atteintes cliniques  Pneumopathie interstitielle en imagerie
<b>Tissus Mous</b>	Macroglossie, arthropathies, syndrome du canal carpien, lésions cutanées, adénopathies, myopathie (pseudohypertrophie ou preuve histologique), claudication.

Tableau 9 : Critères définissant les principales atteintes d'organe au cours de l'amylose AL d'après Gertz et al, 2005 (240, 241)

#### a) Atteinte rénale

Le rein est l'organe le plus souvent atteint au cours de l'amylose AL avec une fréquence proche de 70 % (187). L'amylose AL représente 80 - 86 % des cas d'amylose rénale aux Etats-Unis (188, 242) et 53 % en Europe (243). Si l'atteinte rénale n'est pas présente au diagnostic, elle ne survient que dans 2 % des cas au cours de l'évolution de la maladie (244). L'atteinte rénale se manifeste dans la majorité des cas par une protéinurie supérieure à 1 g/24 h à prédominance d'albumine (245, 246). Un syndrome néphrotique complet est retrouvé dans 40 % des cas (247). Comparativement aux autres types d'amylose, l'amylose AL est associée à une protéinurie plus élevée et à un degré moindre de dysfonction rénale au moment du diagnostic (188). Lorsque l'amylose AL touche principalement le compartiment tubulo-interstitiel, l'atteinte rénale est plus lentement progressive et la protéinurie moindre. Enfin, lorsque les dépôts vasculaires sont au premier plan, la présence d'une hypertension associée n'est pas rare (187). L'augmentation de la taille des reins en échographie est classique mais elle n'est pas retrouvée de façon constante (248).

#### b) Atteinte Cardiaque

En raison de son pronostic effroyable, elle doit être systématiquement recherchée. L'amylose AL entraîne le plus souvent une cardiopathie restrictive mais elle peut être révélée par des troubles de la conduction, du rythme ou même par un syndrome coronarien.

L'électrocardiogramme (ECG) peut mettre en évidence un microvoltage dans les dérivations inférieures ainsi qu'un aspect de pseudo infarctus. Cet aspect ECG est assez spécifique de l'amylose AL et a une bonne valeur prédictive positive (249). Sur le

plan biologique, les troponines cardiaques (I et T) et la NT-pro BNP sont des marqueurs de souffrance myocardique dont l'élévation est bien corrélée à l'importance de l'atteinte cardiaque (250, 251).

Sur le plan morphologique, l'échocardiographie permet de visualiser l'épaississement du myocarde témoignant de son infiltration par les dépôts d'amylose. Cet examen n'est sensible que pour les stades avancés de la maladie (252, 253). L'hypertrophie intéresse les parois ventriculaires mais elle n'est parfois visible qu'au niveau du septum interventriculaire dans les formes précoces (254). L'examen Doppler est nécessaire pour mettre en évidence la dysfonction diastolique qui survient alors que la fonction systolique est conservée. Le myocarde a parfois un aspect scintillant ou granité mais ce signe est peu spécifique (255).

L'imagerie en résonance magnétique (IRM) s'est imposée depuis quelques années comme un moyen très efficace pour l'évaluation de la cardiopathie amyloïde. En séquence T1 après injection de gadolinium, elle permet de détecter un rehaussement tardif de topographie sous endocardique ou transmural dont la sensibilité est très élevée (256).

Parmi les techniques d'avenir, citons l'analyse de la contractilité par les indices de déformation (2D-strain) (257), le Doppler tissulaire (258) et les techniques de scintigraphie (traceurs diphosphonates et SAP en particulier) qui devraient permettre d'optimiser la détection et le suivi de l'amylose cardiaque.

## **6. Bilan hématologique**

Des explorations hématologiques sont nécessaires pour caractériser la population clonale responsable de l'amylose AL. Le bilan doit comprendre une exploration

médullaire (myélogramme ou biopsie ostéo-médullaire), une électrophorèse des protéines sériques et urinaires et un dosage des CL sériques. L'électrophorèse sera contributive dans environ 73 % des cas (35). Le dosage sérique des CL est plus sensible permettant de détecter une anomalie dans 90 % des cas (259). Il est important de souligner que dans de très rares cas le bilan hématologique ne permet pas de détecter de gammopathie monoclonale ; cependant, dans ces situations, des techniques plus sensibles peuvent mettre en évidence la prolifération monoclonale au niveau médullaire (260, 261).

Il faut rappeler que la détection d'une gammopathie monoclonale ne permet pas de se passer du typage histologique des dépôts car, étant donné la fréquence des MGUS dans la population, la possibilité d'une association fortuite n'est pas négligeable et peut conduire à des erreurs diagnostiques (cf typage) (195).

## **7. Facteurs pronostiques**

Le pronostic de l'amylose AL est très sombre. Chez les patients non traités, l'amylose AL évolue vers le décès avec une médiane de survie de 13 mois (262). Cependant, les traitements actuels ont permis une amélioration significative du pronostic avec des survies pouvant atteindre plus de 5 ans.

### a) Atteintes d'organes

Le pronostic de l'amylose AL dépend du nombre d'organes atteints mais aussi et surtout du type d'organe atteint. L'atteinte cardiaque, en particulier, est associée à une survie médiane catastrophique de 6 mois chez les patients non traités (245). C'est pourquoi, les biomarqueurs de l'atteinte cardiaque (la BNP, la NT-proBNP et les troponines

cardiaques) sont des facteurs prédictifs majeurs de la survie globale (251, 263). Un score basé sur les valeurs de la NT-proBNP et des troponines cardiaques a été proposé par la Mayo Clinic pour séparer les patients souffrant d'amylose AL en 3 catégories pronostiques (263).

D'autres localisations de l'amylose AL comme le rein, le foie et le système nerveux autonome sont aussi associées à un plus mauvais pronostic (264).

#### b) Réponse au traitement

La valeur du dosage sérique de la CL monoclonale libre à laquelle l'on soustrait celle de l'autre CL (dCL) est un autre facteur pronostique significativement associé à la survie des patients (265). La valeur de ce différentiel a d'ailleurs été incorporée dans la dernière révision du score de la Mayo Clinic en association avec les biomarqueurs cardiaques (266). Le dosage des CL sériques est essentiel pour le suivi de la réponse au traitement (267). Il doit être répété après chaque cycle de chimiothérapie. En l'absence d'une réduction de plus de 50 % de la dCL sous traitement, le pronostic est sombre (259). Comme pour le MM, on distingue différents niveaux de réponse hématologique : la réponse complète définie par un ratio de CL normal, une exploration médullaire normale et une absence de composant monoclonal ; la très bonne réponse partielle définie par une réduction de la dCL < 40 mg/L et la réponse partielle définie par une diminution de la dCL de plus de 50 % (268).

#### c) Cytogénétique

Dans l'amylose AL, les anomalies cytogénétiques sont fréquentes et la plupart sont communes avec celles décrites dans le MM et dans les MGUS (269, 270). Ces

similitudes suggèrent des évènements pathogéniques communs à cet ensemble de maladies. En revanche, la distribution diffère avec notamment une plus grande fréquence de la translocation t(11;14) et un moindre occurrence de l'hyperdiploïdie ainsi que de certaines anomalies à un haut risque t(4;14), t(14;16) et del(17p13) dans l'amylose AL comparativement au MM (271).

En ce qui concerne l'impact pronostique de ces anomalies dans l'amylose AL, la présence d'une translocation t(11 ;14) est dans l'ensemble associée à une moins bonne survie en particulier en cas d'infiltration plasmocytaire médullaire inférieure à 10 % (269, 271). Ce résultat contraste avec ce qui est connu dans le MM. L'étude de Bochtler *et al.* suggère que l'impact pronostique de cette translocation au cours de l'amylose AL dépend en réalité du traitement. Ainsi, dans une série de patients sélectionnés pour bénéficier d'un traitement par melphalan haute dose et autogreffe, la présence de la t(11 ;14) était associée à un meilleur pronostic (272) alors que chez des patients inéligibles à l'autogreffe et traités par bortezomib–cyclophosphamide-dexaméthasone, la présence d'une t(11;14) avait un impact défavorable (273).

Pour les autres anomalies cytogénétiques, les résultats sont semblables à ce qui est observé dans le MM notamment pour les anomalies t(4;14), t(14;16), ou del(17p13) qui sont associées à une moins bonne survie (274).

## **8. Traitements**

La démarche thérapeutique doit combiner deux types de traitements : un traitement étiologique pour éliminer le clone monoclonal à l'origine de la maladie et un traitement symptomatique des différentes atteintes d'organes.

## a) Traitements étiologiques

### (1) *Chimiothérapies classiques*

L'association melphalan-prednisone a d'abord été utilisée dans l'amylose AL pour la prise en charge des patients les moins graves et sans atteinte cardiaque (216, 262, 275, 276). Mais ce traitement est peu satisfaisant car la réponse hématologique est obtenue avec un délai trop long (9 - 12 mois) comparativement à l'espérance de vie des malades. L'introduction de « *pulse* » de hautes doses de dexaméthasone à la place de la prednisone en association avec le melphalan (MDex) par voie orale a permis d'obtenir 67 % de réponses hématologiques partielles ou complètes en seulement 4-5 mois mais au prix d'une toxicité accrue (277). L'efficacité de ce traitement a été confirmée par d'autres équipes (278) avec des bons résultats à long terme et avec une toxicité qui reste acceptable (279). Malheureusement, les patients avec une atteinte cardiaque sévère en particulier ceux avec une NT-proBNP > 8500 - 9500 bénéficient moins de cette stratégie thérapeutique et dans cette catégorie la survie médiane sous traitement n'est que de 17 mois (280).

### (2) *Autogreffe*

L'autogreffe de cellules souches périphériques après traitement d'induction par melphalan haute dose est un traitement efficace de l'amylose AL permettant d'obtenir une réponse hématologique dans 65 % des cas avec une très bonne efficacité à long terme (172, 281). Toutefois ce traitement s'accompagne d'une toxicité importante chez ces patients très fragiles. Ainsi la mortalité liée au traitement (TRM) est de l'ordre de 11 % dans l'amylose AL alors qu'avec des modalités similaires elle est seulement de 1 %

dans d'autres pathologies (par exemple dans le MM) (282). Cette thérapeutique est donc réservée aux patients en bon état général et sans atteinte cardiaque grave (283). Une étude randomisée contrôlée française a comparé le MDex au traitement d'induction couplé à l'autogreffe sans retrouver d'avantage du traitement intensif (278). Etant donné la moindre morbi-mortalité dans le groupe MDex, l'autogreffe a été largement abandonnée en première ligne de traitement en France.

Aux Etats Unis, en revanche, l'autogreffe de cellules souches est restée le *gold standard* pour les patients avec une atteinte cardiaque légère à modérée car il a été jugé que les résultats de l'étude française étaient liés à une mauvaise sélection des patients dans le groupe autogreffe. La TRM dans le groupe de patients greffés était de 19 % ce qui contraste nettement avec les valeurs retrouvées dans les dernières études américaines qui sont autour de 4 à 7 % (284, 285). Depuis la polémique persiste et il n'y a pas eu de consensus international en faveur de l'une ou l'autre des méthodes.

### (3) *IMiDs*

L'association du thalidomide avec le cyclophosphamide et la dexaméthasone n'est pas inférieure au MDex avec, en plus, une réponse hématologique plus rapide (286). En revanche, le thalidomide a une importante toxicité cardiaque restreignant son utilisation aux classes I et II de la Mayo et imposant de débiter avec des doses faibles.

En ce qui concerne le lénalidomide, il a été essayé en première ligne en association avec le melphalan et la dexaméthasone dans quelques études avec une bonne efficacité (287, 288). Mais sa toxicité est exacerbée chez les patients avec une amylose AL par rapport aux patients avec un MM ce qui oblige une diminution des doses (289).

C'est malgré tout un traitement intéressant chez les patients réfractaires ou en rechute d'autant plus qu'il est dépourvu de toxicité neurologique.

#### (4) *Inhibiteur du protéasome*

Le bortezomib permet l'obtention d'une réponse hématologique avec un délai court (1 - 2 mois) chez les patients avec une amylose AL en rechute ou réfractaire au traitement (290, 291). En France, il est pour l'instant recommandé de l'ajouter au MDex chez les patients avec une atteinte cardiaque légère à modérée qui ne répondent pas assez rapidement au traitement. Des études évaluent actuellement l'efficacité de la combinaison Bortezomib-MDex (ou BMDEx) en première ligne de traitement à la place du MDex. Les premiers résultats par Kastritis *et al.* semblent indiquer que le BMDex va devenir le nouveau standard en première ligne. En effet, l'association BMDex chez les patients avec une atteinte cardiaque de stade de la Mayo I, II et IIIa (avec NT proBNP < 8500) fait mieux que le MDex en terme de pourcentage de réponse hématologique, de pourcentage de réponse complète et, pour la première fois dans ce type d'étude, de réponse cardiaque.

L'association cyclophosphamide, bortezomib et dexaméthasone est une autre alternative thérapeutique efficace dans le traitement de l'amylose AL (292, 293). Cette stratégie thérapeutique a une bonne efficacité en particulier chez les patients avec une atteinte cardiaque stade III de la Mayo (294). En France, pour cette catégorie de patients, ce schéma thérapeutique est donc actuellement indiqué en première intention même s'il reste malheureusement peu efficace sur la catégorie de patients les plus graves (Stade IIIb, avec NT-proBNP > 8500) (295).

Enfin, le bortezomib peut être utilisé en association avec l'autogreffe de cellules souches soit avant l'autogreffe (296) soit après comme traitement de consolidation (297). La toxicité neurologique du bortezomib peut imposer son arrêt lorsqu'elle est trop sévère (75, 298). Les injections sous cutanées permettent de réduire cette toxicité sans diminuer l'efficacité du traitement (299). Une autre limite à son utilisation est sa possible toxicité cardiaque chez les patients avec le risque cardiaque le plus élevé (stade IIIb) même si l'imputabilité de la dexaméthasone dans ces cas de mort subite est également suspectée (294).

#### b) Traitements symptomatiques

Les patients avec une AL ont souvent des défaillances viscérales multiples qui doivent être prises en charge au même titre que l'hémopathie sous jacente. Nous détaillerons rapidement les grands principes de prise en charge pour les atteintes les plus fréquentes

##### *(1) Prise en charge néphrologique*

La prise en charge du syndrome néphrotique nécessite de fortes doses de diurétiques et une restriction hydrosodée ainsi que la mise en place de mesures de néphroprotection. En cas d'IRT, le recours à la dialyse est possible et recommandé en particulier chez les patients sans insuffisance cardiaque (246). En cas de réponse hématologique complète et durable une transplantation rénale pourra être considérée par la suite.

##### *(2) Prise en charge cardiaque*

Les diurétiques de l'anse sont à la base du traitement de l'insuffisance cardiaque congestive. Les autres médicaments traditionnellement utilisés dans l'insuffisance

cardiaque sont soit contre-indiqués (inhibiteurs calciques) ou bien à risque d'effets secondaires graves (bêtabloquants, IEC) (244). Les digitaliques et l'amiodarone peuvent être utilisés pour la prise en charge de troubles du rythme mais les digitaliques sont toxiques chez ces patients même à dose faible. Le recours aux défibrillateurs implantables chez les patients avec des troubles du rythme fréquent n'a pas fait la preuve de son efficacité. Actuellement, la transplantation cardiaque est envisagée chez les patients de moins de 65 ans, en rémission hématologique, avec une atteinte cardiaque sévère. Elle pourrait être discutée d'emblée pour les patients avec le plus fort risque de mort subite cardiaque (stade IIIB) chez lesquels il ne sera pas toujours possible d'attendre l'obtention d'une réponse complète.

### **(3) *Prise en charge de l'hypotension orthostatique***

La midodrine est le traitement le plus efficace pour la prise en charge de l'hypotension orthostatique. La fludrocortisone associée au port de bas de contention est une alternative mais chez des patient sélectionnés car elle entraîne rétention hydrosodée.

#### **c) Traitements en cours de développement**

De nouvelles drogues, issues de la recherche fondamentale, sont en cours d'essai clinique. On citera en particulier l'anticorps monoclonal NEOD001 dirigé contre les CL contenues dans les fibrilles amyloïdes qui est actuellement en cours d'évaluation dans une étude de phase I/II et dont l'efficacité, chez quelques patients avec une atteinte cardiaque et rénale, a été récemment rapportée (244, 300). Cet anticorps a l'avantage d'être efficace chez les patients qui répondent du point de vue hématologique mais qui conservent une atteinte d'organe. Un autre anticorps monoclonal visant la SAP

(GSK2398852) est en cours de phase I. En association à un chélateur de SAP (GSK2315698) il semble bien toléré et associé à une diminution de l'atteinte cardiaque et hépatique (301).

## **9. Suivi du traitement**

Le traitement ayant le double objectif d'être actif à la fois sur le clone tumoral et les atteintes d'organes, son efficacité doit être évaluée sur ces deux critères.

Comme nous l'avons vu, le meilleur indicateur de la réponse hématologique est la baisse de la dCL permettant de distinguer plusieurs niveaux de réponse hématologique (279).

Pour suivre la régression de l'atteinte d'organe, des critères consensuels ont été définis pour chaque organe Tableau 10. A noter que la scintigraphie SAP permet un suivi global de l'extension des dépôts et constitue donc une approche complémentaire aux autres marqueurs biologiques qui ne reflètent que l'évolution de la fonction des organes atteints. Celle-ci n'est actuellement pas disponible en France.

Dans certains cas, la mise en place du traitement permet une amélioration clinique extrêmement rapide ce qui contraste avec la clairance des dépôts amyloïdes qui est d'environ 3 - 4 mois dans le foie et de plusieurs années dans le myocarde (302). Ce décalage traduit probablement l'importance de la toxicité directe de la CL en particulier sur la fonction cardiaque (voir partie physiopathologie)

<b>Organes</b>	<b>Définition de la réponse</b>
<b>Rein</b>	Diminution > 50 % de la protéinurie / 24h  sans réduction ≥ 25 % du DFG estimé ou d'augmentation de la créatinine ≥ 0,5 mg/dL
<b>Cœur</b>	Diminution de l'épaisseur septale de plus de 2 mm Amélioration de plus de 20 % de la fraction d'éjection Amélioration de plus de 2 classes de la NYHA sans augmentation des diurétiques ou amélioration d'une classe NYHA avec une réduction de plus de la moitié des besoins en diurétiques et sans augmentation de l'épaisseur du myocarde  Réduction (≥ 30 % ou ≥ 300 ng/L) du taux de NT-proBNP
<b>Foie</b>	Diminution de plus de 50 % du taux de phosphatase alcaline Diminution d'au moins 2 cm de la taille du foie en imagerie
<b>Nerf</b>	Amélioration de la conduction nerveuse sur l'E.M.G

*Tableau 10 : Critères de réponse pour les principaux organes d'après Gertz et al.2005 (240)  
(mis à jour en 2010)*

## **D. Association amylose AL et myélome multiple**

Il est parfois difficile d'affirmer la présence d'un MM associé à une amylose AL. En effet, au cours de l'amylose AL, certains critères CRAB (hypercalcémie, insuffisance rénale, anémie et lésions lytiques osseuses) peuvent être présents et la plasmocytose médullaire est souvent supérieure à 10 %. Dans la littérature, on considère qu'il existe un MM associé à l'amylose AL en cas de « présence d'une plasmocytose médullaire supérieure à 30 % et de lésions lytiques osseuses » (303). C'est à partir de cette définition qu'il a été établi que l'amylose AL et le MM survenait conjointement dans environ 15 % des cas.

Cependant, la recherche systématique de dépôts d'amylose chez les patients avec MM suggère que la survenue d'une amylose AL chez ces patients est plus fréquente et oscille plutôt entre 20 et 35%. Lorsque ces dépôts ne sont pas associés à des manifestations cliniques d'amylose AL, leur signification est incertaine (correspondant au concept d' « amylose occulte »). Ces dépôts sont notamment retrouvés au niveau médullaire et sur les aspirations de graisse abdominale. Sur des étalements médullaires, ils sont rapportés chez 20 - 40 % des patients avec un MM (237, 304, 305). Une proportion similaire est retrouvée en utilisant la technique d'aspiration de moelle osseuse (qui permet d'obtenir un culot inclus en paraffine sans étape de décalcification) (306). Ces valeurs contrastent avec la fréquence des dépôts sur les BOM de patients MM qui est seulement de 1 - 10 % (237, 305, 307). Une explication possible est que l'étape de décalcification des BOM altère les dépôts d'amylose (305). Dans les aspirations de graisse abdominale réalisés systématiquement chez des patients avec MM, la fréquence des dépôts d'amylose AL est de l'ordre de 30 % (237, 308).

Récemment, Chakraborty *et al.* ont rapporté l'évolution de 111 patients avec dépôts « occultes » dans la moelle osseuse ou dans le tissu adipeux abdominal : seuls 3 d'entre eux ont présenté une amylose systémique au cours du suivi (2 avec MM, 1 avec maladie de Waldenström) (309). L'interprétation de cette étude est cependant rendue difficile par, premièrement, le fait que des patients avec amylose non-AL ont été inclus, et, deuxièmement, par l'absence de définition claire de l'amylose systémique. La signification pronostique de cette amylose « occulte » reste donc débattue dans la littérature (237, 308).

Sur les biopsies rénales de patients souffrant de MM, la mise en évidence d'une amylose AL parenchymateuse ne survient que dans 6 % des cas de TM (79). En revanche, il est moins rare d'observer des cylindres ayant les propriétés optiques de l'amylose (175). Dans la littérature, cette amylose purement « intra-tubulaire » est considérée comme une simple variante histologique et ne permet pas de retenir le diagnostic d'amylose AL (310). Cependant, le lien éventuel entre l'amylose intra-tubulaire détectée au cours d'une tubulopathie myélomateuse et l'amylose AL systémique n'a pas été correctement étudié jusqu'à présent.

## II. Objectifs de l'étude

**Objectif principal** : Etudier la relation entre l'AMIT rénale et la survenue d'une amylose AL systémique dans une cohorte rétrospective et multicentrique de patients avec un diagnostic de TM.

**Objectifs secondaires** :

- Préciser la fréquence de l'AMIT au cours de la TM et ses caractéristiques histologiques.
- Comparer les caractéristiques démographiques, hématologiques et néphrologiques des patients avec ou sans AMIT.
- Etablir l'impact pronostique de l'AMIT sur la survie et la réponse rénale.
- Etudier les autres facteurs associés à la réponse rénale et à la survie au cours de la TM

### **III. Article de thèse (soumis pour publication)**

#### **INTRODUCTION**

Cast nephropathy (CN) consists of the precipitation of monoclonal immunoglobulin light chains (LC) in the lumen of distal tubules, and is the most common paraprotein-associated pattern of kidney injury found during the course of multiple myeloma (MM).<sup>1</sup> Much more rarely, CN may occur with other monoclonal gammopathies, such as Waldenström macroglobulinemia (WM).<sup>2</sup> Amyloid light-chain (AL)-amyloidosis is another well-known complication of MM, defined by the deposition of Congo red-positive, fibrillary monoclonal LC complexes in renal parenchyma, as well as other vital organs, in particular, the heart. Coexistent AL amyloid deposits are identified either at presentation or during the course of the disease in approximately 10-15% of MM patients.<sup>3</sup> Importantly, the occurrence of AL in MM patients has been shown to be an adverse prognostic factor.<sup>4</sup>

The observation that the tubular casts of CN may show staining and ultrastructural characteristics of amyloid is a feature that has long been recognized.<sup>5,6</sup> Purely intratubular amyloid (ITA) is viewed as an unusual variant of CN with no clinical significance and, accordingly, “does not merit the diagnosis of renal amyloidosis since the amyloid is exclusively intratubular and not deposited in the renal parenchyma”.<sup>7</sup> However, the literature on this point only relies upon case reports<sup>5,8-13</sup> and old clinicopathological studies<sup>6,14-19</sup>, which did not properly assess the clinical significance of ITA, in particular its relationship with the occurrence of systemic AL in extra-renal sites. Thus, we designed this retrospective study to evaluate the frequency of ITA in CN biopsy

specimens seen at a single academic institution, and to assess whether ITA was associated with extra-renal systemic AL

## **METHODS**

### ***Patient selection***

Computerized records of the Department of Pathology, Lille University Hospitals, were searched to identify all kidney biopsy specimens with CN from January 1, 2002, to December 31, 2012. Clinical data, including hematological disease, gammopathy characteristics, renal presentation, serum creatinine and urinalysis (proteinuria, hematuria), treatment, and outcome data after kidney biopsy were obtained from patient electronic medical records. This study was done in accordance with the Declaration of Helsinki. The referring physician obtained informed consent from each patient for use of the biopsy data, clinical data, and leftover histological material for research. AKI was classified using the Acute Kidney Injury Network (AKIN) criteria. Renal response was defined by eGFR  $\geq 30$  mL/min/1.73 m<sup>2</sup> and/or dialysis independence at 3 months after biopsy.<sup>21</sup>

### ***Kidney biopsies***

Two biopsy specimens were obtained from each patient: one was used for light microscopy and the other was snap-frozen for immunofluorescence (IF). Kidney biopsy samples for light microscopy were fixed in alcohol-formalin-acetic acid, embedded in paraffin, and stained with Masson's trichrome, Jones methenamine silver, periodic acid-Schiff, hematoxylin-eosin-saffron, and Congo red. The direct IF assays for detection of IgA, IgG, IgM, kappa, lambda, C1q, and C3 were performed on 3- $\mu$ m cryostat sections according to standard procedures.

All slides were reviewed by two pathologists. CN was defined by the presence of typical fractured and polychromatophilic casts by light microscopy with staining by anti- $\kappa$  or anti-

$\lambda$  conjugate by IF. The abundance of casts was estimated semi-quantitatively as the ratio of the number of casts/number of fields at a magnification of 200x. Interstitial fibrosis and tubular atrophy were graded on a semiquantitative scale, based on an estimate of the percentage of the renal cortex affected: 0%-25% (mild), 26%-50% (moderate), or > 50% (severe). The diagnosis of ITA was based on the visualization of intratubular casts showing typical apple-green birefringence in polarized light after Congo red staining, either on formalin or frozen sections. Congo red sections were also systematically examined under fluorescent light, which is more sensitive than light microscopy for the detection amyloid.<sup>37</sup> The finding of amyloid, within renal parenchyma (glomeruli, vessels, and/or interstitium) was an exclusion criterion.

For electron microscopy, kidney tissue specimens were fixed in Carson fixative and postfixed in 1% osmium tetroxide, dehydrated with acetone, and embedded in Epon 812. The ultrathin sections were contrasted with uranylacetate and lead citrate, and studied using a LEO EM 906 electron microscope (Zeiss, Oberkochen, Germany).

### ***Extra-renal amyloid detection***

For each patient, all available histological material of extrarenal origin was systematically reviewed, with special attention to Congo red staining. When amyloid was detected, immunohistochemical typing on formalin-fixed and paraffin-embedded tissue was performed using anti-kappa (polyclonal, 1/20 000, A0192; Dako, Trappes, France), anti-lambda (polyclonal, 1/20 000, A0193; Dako), anti-SAA (monoclonal, 1/100, MC1; Dako), and anti-transthyretin (polyclonal, 1/500, A0002; Dako) antibodies. All immunohistochemical studies were performed according to a standard automated

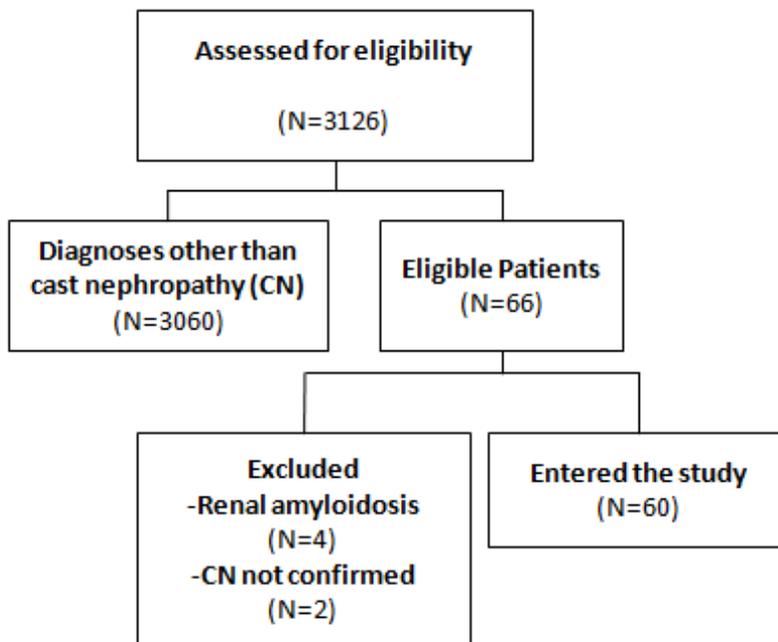
immunohistochemical procedure (Ventana XT autostainer; Ventana Medical Systems®, Benchmark XT, Strasbourg, France).

### ***Statistical analysis***

Statistical analyses were performed using SAS® software (SAS 9.4, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA). Continuous variables are expressed as the means ± standard deviations or medians (interquartile ranges), as appropriate. Categorical variables are presented as absolute numbers and percentages. Comparisons between patients presenting with or without ITA were made using Chi-square or Fisher's tests for categorical variables, according to theoretical group numbers. The Student's t test was used for continuous variable comparisons, after verification of normal distribution and variance equality by Shapiro & Wilk's and Levene's tests. Predictive factors of renal response were identified by means of logistic models (PROC LOGISTIC in SAS®), using Firth's penalized maximum likelihood estimator for small sample sets. Continuous variables were tested for linearity and were dichotomized in case of violation. Multivariate models were built by including all covariates that were associated in univariate analyses, using a threshold of  $p < 0.10$  for selection, and suppressing redundant covariates. Interactions were systematically tested. Collinearity issues were assessed using the variance inflation factor calculation. The median overall survival and median follow-up times were estimated using Kaplan-Meier and inverse Kaplan-Meier methods, respectively (PROC LIFETEST). Univariate followed by multivariable Cox analyses were performed to identify independent predictors of survival (PROC PHREG). The log-linearity assumption for continuous variables and the proportional hazard assumption were tested by supremum tests. Multivariate Cox model types were built

by including all covariates that were associated in univariate analyses, using a threshold of  $p < 0.10$  for selection, and suppressing redundant covariates. Interactions were systematically tested. All tests were two-sided, and the criterion for statistical significance was a p-value of  $< 0.05$ .

**Figure S1 Flowchart**



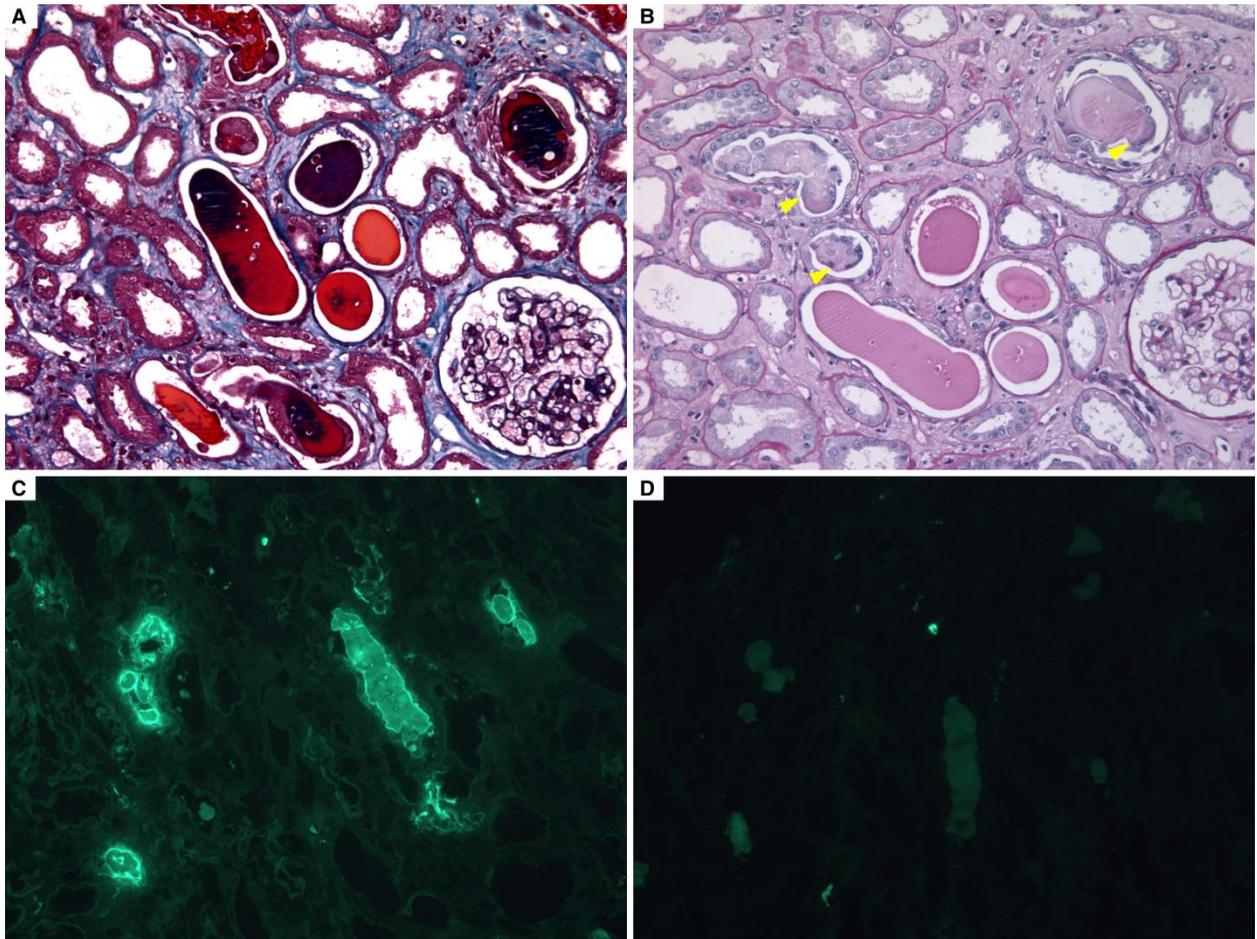
## RESULTS

### *Patient baseline characteristics*

We analyzed 3,126 consecutive native kidney biopsies performed in our center between January 1, 2002, and December 31, 2012. Sixty-six showed CN and were eligible. In accordance with the exclusion criteria, four patients were excluded because of amyloid detected in the renal biopsy specimen (in glomeruli (n = 1), renal vessels (n = 2), or perirenal fat (n = 1)). Two other patients were excluded because the pathological findings were not convincing and the clinical records ruled out a hematological disease. Therefore, 60 patients were included in the current study (Supplementary figure S1). The clinical and biological characteristics of the patients at the time of the renal biopsy are summarized in Table 1. The cohort included 33 males (55.0%) and 27 (45.0%) females. The mean age was 66.1 years (range, 38-87). The underlying hematological disease was MM (n = 56), WM (n = 2), or MALT (mucosa-associated lymphoid tissue) lymphoma (n = 2). One of the CN associated with WM has been previously reported.<sup>20</sup> Monoclonal LC were of the  $\lambda$  isotype in 32 cases and the  $\kappa$  isotype in 28. Acute renal failure was the most frequent biopsy indication (n = 54), followed by progressive renal failure (n = 4) and isolated proteinuria (n = 2). A potential precipitating factor (hypercalcemia, drugs, and dehydration/sepsis) was identified in 23 patients (Table 1). The pathological features of CN are summarized in Table 2 and illustrated in Figure 1. A median of 53 (95%CI 28 to 76) LC-casts were observed in 10 fields at a magnification of 200x by light microscopy. By immunofluorescence (IF), the casts invariably matched the serum LC isotype ( $\lambda$ : n = 32,  $\kappa$ : n = 28). Interstitial fibrosis was graded as mild in 19 (31.7%), moderate in 28 (46.7%), and severe in 13 (21.7%) cases. Seven patients had concomitant LC deposition disease (LCDD), characterized by linear LC deposits by IF

( $\kappa$ : n = 7) and amorphous deposits by electron microscopy (EM). Two patients had LC proximal tubulopathy ( $\lambda$ : n = 2) with intracytoplasmic crystals by EM.

**Figure 1. Cast nephropathy histopathology.**



(a) Dense and fractured casts in the lumen of distal tubules (Masson trichrome, original magnification x200). (b) Weak staining of casts by periodic acid-Schiff with surrounding multinucleated giant cells (arrowheads) (periodic acid-Schiff, original magnification x200). (c) Staining of the casts with anti-kappa antibody (immunofluorescence x200). (d) No staining with anti-lambda antibody (immunofluorescence x200).

**Table 1. Baseline clinical and biological characteristics.**

	Total (n=60)
Age (range)	66.1 (38-87)
Sex (F/M)	27/33
Precipitating factors	
# Hypercalcemia	10
# Drugs	9
# Sepsis/Dehydration	4
AKIN stage 3 (%)	41 (68.3%)
Serum creatinine (mg/dL)	5.2 ± 2.4
MDRD eGFR (mL/min/1.73m <sup>2</sup> )	10.8 (7.8-17.6)
Hemodialysis required*	18 (30%)
Albuminemia (g/L)	34.1 ± 6.7
Proteinuria (gr/day) (n=54)	2.56 (1.5-4.4)
Bence Jones proteinuria	60 (100%)
Hematuria	16 (26.7%)
Hematological disease	
# Multiple myeloma	56
# Waldenström macroglobulinemia	2
# Non-Hodgkin lymphoma	2
% Plasma cell bone marrow infiltration (n=56)	32.0 (17.5-49)
β <sub>2</sub> -microglobulin level (mg/L) (n=43)	14.2 ± 8.4
Serum monoclonal protein (g/dl)	1.3 ± 1.6
Heavy chain isotype (no/IgG/IgA/other)	21/16/18/5
Light chain isotype (kappa/lambda)	28/32
Free light chain level (mg/dL)	371 (131-752)

**Table 2. Pathological characteristics**

	n
# glomeruli	13.5 (10-20)
Mean % sclerotic glomeruli	16.7 ± 19.7
# casts	53.0 (28-76)
Interstitial fibrosis/tubular atrophy	
Mild	19 (31.7%)
Moderate	28 (46.7%)
Severe	13 (21.7%)
Associated pathology	
Light chain deposition disease	7 (κ: n = 7)
Light chain proximal tubulopathy	2 (λ: n = 2)

***Intratubular amyloid***

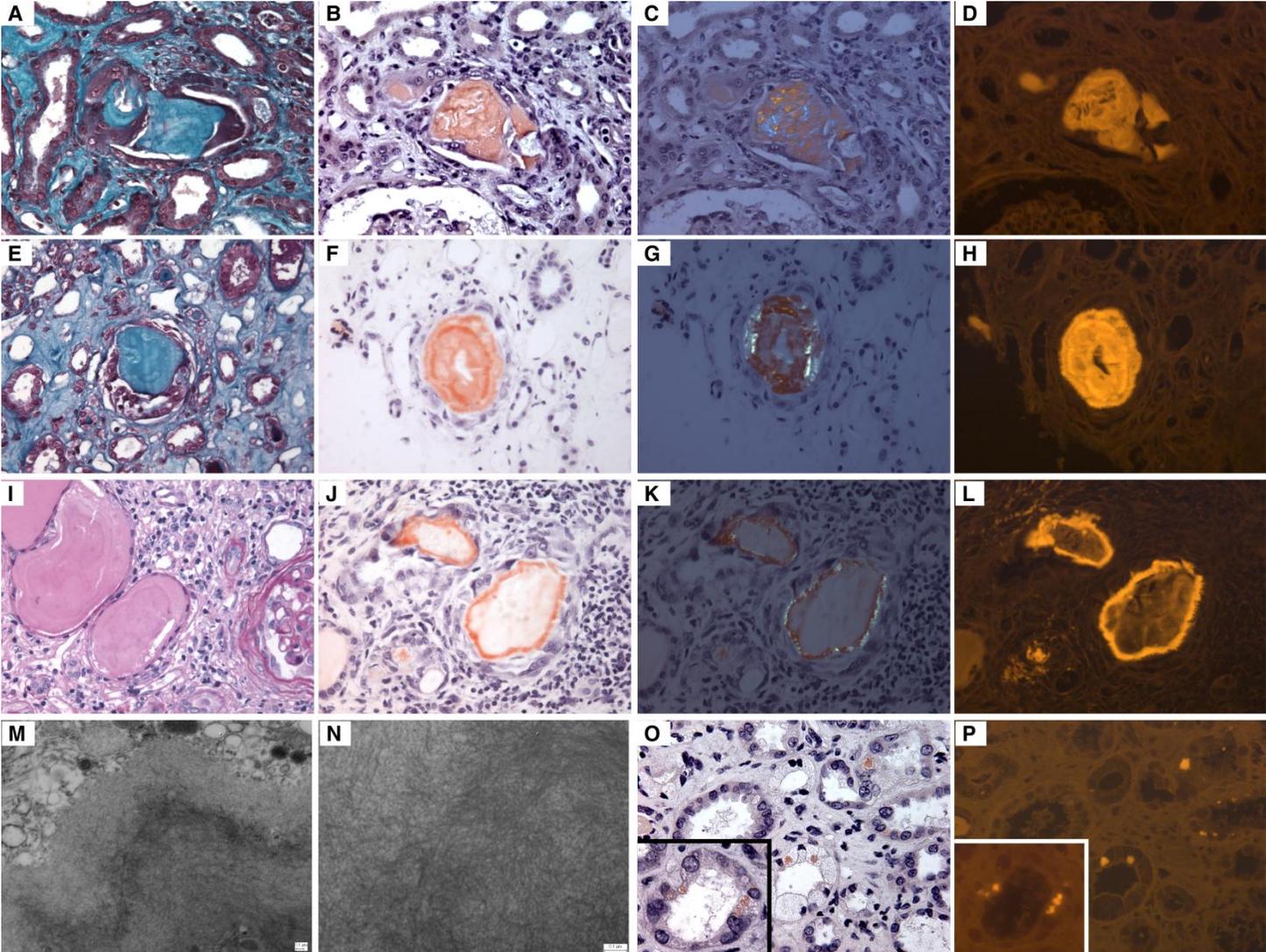
We found ITA in 17 (28.3%) of the 60 CN cases after systematic examination of Congo red-stained slides by light microscopy, polarized light, and fluorescence (Figure 2). By definition, all 17 cases had at least one cast showing amyloid features (Figures 2a to d). The ratio of ITA-positive/total casts was < 5%, 5-25%, and > 25% for nine, three, and five cases, respectively. We observed a “rimmed” appearance of the ITA, i.e. with more Congo red staining at the periphery of the cast, in 11/17 (64.7%) cases (Figures 2e to l). Ultrastructural analysis of amyloid casts was performed in one case showing a rimmed pattern at light microscopy and revealed the presence of numerous non-branching fibrils randomly arrayed at the periphery of the cast (Figures 2m and n). Amyloid was also detected as intracytoplasmic vacuoles in tubular cells in 4/17 cases (Figures 2o and p). These four cases did not show associated LC proximal tubulopathy.

The clinico-biological characteristics at the time of the renal biopsy of the ITA and “No ITA” patients are shown in Table 3. There was no statistical difference between the two groups for the mean level of serum creatinine, as well as other nephrological parameters. ITA was associated with the  $\lambda$  LC isotype (13/17 with  $\lambda$  isotype in the ITA group vs. 19/43 in the No ITA group,  $P = 0.024$ ).

**Table 3. Comparison of the ITA group and the No ITA group**

	ITA (n = 17)	No ITA (n = 43)	<i>P</i>
Mean age (range)	67.2 (47-87)	65.7 (38-85)	0.600
Sex (F/M)	7/10	20/23	1.00
Precipitating factors			
# Hypercalcemia	2	8	0.710
# Drugs	3	6	0.700
# Sepsis/Dehydration	1	3	1.00
AKIN stage 3 (%)	11 (64.7%)	30 (69.7%)	0.700
Serum creatinine (mg/dL)	5.4 ± 2.7	5.2 ± 2.3	0.720
MDRD eGFR (mL/min/1.73m <sup>2</sup> )	11.1 (7.6-17.5)	10.3 (7.9-17.6)	0.940
Hemodialysis required*	4 (23.5%)	14 (32.6%)	1.00
Albuminemia (g/L)	34.1 ± 6.6	34.2 ± 6.8	0.960
Proteinuria (gr/day)	2.50 (1.40-3.76)	2.77 (1.68-4.50)	0.168
Bence-Jones proteinuria	18 (100%)	46 (100%)	1.00
Hematuria	6 (35.3%)	10 (23.3%)	0.340
Hematological disease			
# Multiple myeloma	16	40	1.00
# Waldenström macroglobulinemia	1	1	1.00
# Non-Hodgkin lymphoma	0	2	1.00
% Plasma cell bone marrow infiltration (n=56)	35.0 (24.0-60.0)	29.5 (14.7-42.2)	0.440
β2-microglobulin level (mg/L)	14.2 ± 9.1	14.3 ± 6.6	0.990
Serum monoclonal protein (g/dl)	1.2 ± 1.8	1.4 ± 1.5	0.210
Heavy chain isotype (no/IgG/IgA/other)	5/3/8/1	16/13/10/4	0.76/0.51/0.12/1
Light chain isotype (kappa/lambda)	4/13	24/19	<b>0.024</b>
Free light chain level (mg/dL)	361 (217.3-541.4)	406 (50-791.1)	0.860

Figure 2. Examples of intratubular amyloid.



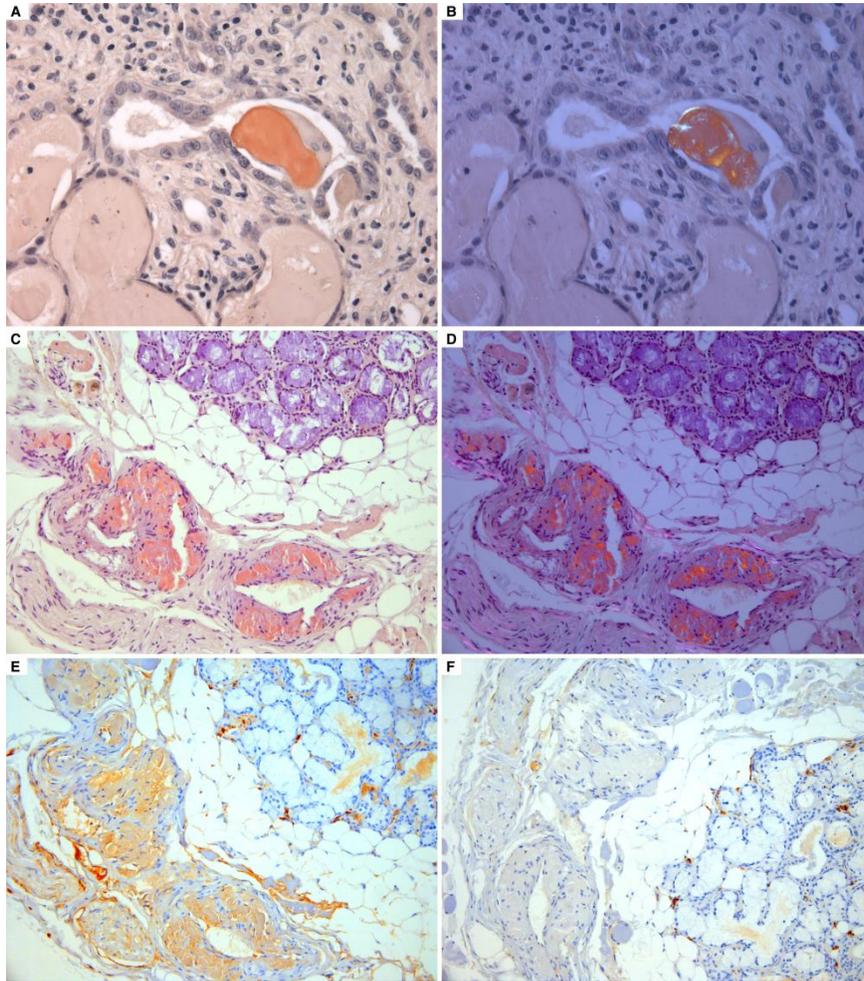
Case 1: (a) intratubular casts (Masson trichrome, original magnification x400), (b) homogeneously stained by Congo red (Congo red under nonpolarized light, original magnification x400), (c) apple-green birefringence (Congo red under polarized light, original magnification x400), and (d) Congo red-fluorescence (Congo red under fluorescence, original magnification x400). Case 2: (e) intratubular casts (Masson trichrome, original magnification x400), (f) rimmed pattern stained by Congo red (Congo red under nonpolarized light, original magnification x400), (g) apple-green birefringence (Congo red under polarized light, original magnification x400), and (h) Congo red-fluorescence (Congo red under fluorescence, original magnification x400). Case 3: (i) intratubular casts (periodic acid-Schiff, original magnification x400), (j) plurilamellar rimmed pattern stained by Congo red (Congo red under nonpolarized light, original magnification x400), (k) apple-green birefringence (Congo red under polarized light, original magnification x400), (l) Congo red-fluorescence (Congo red under fluorescence, original magnification x400), and fibrillar organization of amyloid at the periphery of the cast (electron microscopy, original magnification x10,000 (m) and x27,800 (n)). Amyloid within the cytoplasm of epithelial tubular cells stained with Congo red (Congo red under nonpolarized light, original magnification x400 (o) and Congo red fluorescence, original magnification x400 (p)).

### ***Extrarenal systemic AL and correlation with ITA***

Extra-renal pathological specimens were available for 43 patients (71.7%). They consisted mostly of bone marrow trephine biopsies, minor salivary gland biopsies, and digestive tract biopsies and/or surgical specimens (Table 4). The number and the type of pathological specimens available did not differ between the ITA group and the No ITA group (13/17 patients with at least one extra-renal specimen in the ITA group vs. 30/43 in the No ITA group,  $P = 0.6$ ). Moreover, the median period separating kidney biopsy from the collection of extra renal samples did not differ between the two groups.

Congo red staining and immunohistochemistry revealed AL amyloid in five (AL- $\lambda$  in four cases, AL- $\kappa$  in one case) specimens corresponding to five patients. All five patients had ITA on the renal biopsy. Conversely, no patient in the No ITA group was found to have extrarenal AL amyloid, i.e. ITA correlated significantly with the occurrence of extrarenal AL amyloid (5/13 with extrarenal AL amyloid in the ITA group vs. 0/30 in the No ITA group,  $P = 0.001$ ) (Figure 3). In logistic regression analysis, ITA was the only predictive factor for the occurrence of systemic AL amyloidosis (odds ratio [OR] 38.3; 95% confidence interval [95%CI], 1.9 to 771.1,  $P=0.017$ ). We found extra-renal amyloid in minor salivary gland ( $n = 2$ ), digestive tract ( $n = 1$ ), bone marrow ( $n = 1$ ), and muscle biopsies ( $n = 1$ ). Extra-renal specimens containing amyloid were obtained after a mean period of 294 days (range +9; +607) after the diagnosis of CN on kidney biopsy.

**Figure 3. Example of an association between intratubular amyloid on kidney biopsy and systemic AL amyloidosis.**



(a): intratubular amyloid (Congo red under nonpolarized light, original magnification x400) with (b) apple-green birefringence (Congo red under polarized light, original magnification x400). (c) Minor salivary gland biopsy showing amyloid within vessels walls (Congo red under nonpolarized light, original magnification x200) with (d) apple-green birefringence (Congo red under polarized light, original magnification x200), (e) amyloid staining with anti-lambda antibody (anti-lambda immunohistochemistry, original magnification x200) and (f) no staining with anti-kappa antibody (anti-kappa immunohistochemistry, original magnification x200).

**Table 4. Extrarenal pathological specimens assessed for AL amyloidosis.**

	ITA	No ITA	<i>P</i>
Pathological specimens			
Bone marrow biopsies (n=)	4	15	0.510
Minor salivary gland biopsies	5	11	0.730
Digestive tract biopsies/surgical specimens	7	13	0.330
Other	6	11	0.490
Patients with $\geq 1$ specimen	13/17	30/43	0.600
Time between procurement of extrarenal specimen and renal biopsy, <i>months (median, ranges)</i>			
Before kidney biopsy	9.0 (0-91) (n=11)	14.0 (0-191) (n=20)	0.850
After kidney biopsy	11.0 (0-52) (n=10)	8.0 (0-60) (n=25)	0.940
AL amyloidosis	5/13	0/30	<b>0.001</b>

**Treatments and outcome**

Follow-up data was available for 59 of the 60 patients. The median duration of follow-up was 64 months (95%CI 57 to 120) from the kidney biopsy. During the follow-up period, 78.3% of patients died. The median overall survival (OS) calculated from the time of kidney biopsy was 21.4 months (95%CI 15.1 to 38.0). CN was inaugural in 43 patients (71.7%). There was no difference in the hematological treatment received between the ITA and No ITA groups. In particular, Bortezomib and immunomodulatory drug (IMiD)-based (lenalidomide or thalidomide) therapies were equally distributed between the two groups (Table 5). A hematological response (at least partial response) was achieved in 40/59 (67.8%) patients and was similar for the two groups. On multivariate analysis, obtainment of renal or hematological responses and inaugural CN significantly correlated with OS, but not the presence of ITA (hazard ratio [HR] 0.54; [95%CI], 0.26 to 1.12; P=0.10) (Table 5).

Renal response was achieved in 19/59 (32.2%) patients (Table 5). Among the clinical data, baseline eGFR, AKIN stage 3, initial requirement for hemodialysis (within one month after the kidney biopsy) and lambda isotype were predictive of renal response on univariate analysis (Supplementary table S2). The number of casts (>30 or <30) and percentage of sclerotic glomeruli (> 10% or < 10%) were associated with renal response, whereas the presence or absence of ITA was not (OR 1.24; 95% CI 0.38 to 4.04, P=0.7). On multivariate analysis, only the requirement for hemodialysis at diagnosis and lambda isotype remained predictive (Table S2).

**Table 5. Treatments and overall survival**

<b>Characteristics</b>	<b>Total (n = 59)</b>	<b>ITA (n = 17)</b>	<b>No ITA (n = 42)</b>	<b>P Value</b>
Bortezomib based (n=)	41	11	30	0.84
IMiD based	30	9	21	0.92
Both Bortezomib and IMiD	23	6	17	0.78
Neither	11	3	8	0.97
Autologous stem cell transplant	14	3	11	0.72
Hematological response	40	11	29	0.75
Renal response*	19	6	13	0.75
Inaugural CN	43	14	29	0.35
<b>Prognostic indicators of OS (multivariate analysis)</b>	<b>Hazard ratio</b>	<b>95% confidence interval</b>	<b>P Value</b>	
<b>Hematological response</b>	0.39	[0.20 to 0.76]	<b>0.005</b>	
<b>Renal response*</b>	0.43	[0.21 to 0.90]	<b>0.02</b>	
Presence of ITA	0.54	[0.26 to 1.12]	0.10	
<b>Inaugural CN</b>	0.38	[0.20 to 0.75]	<b>0.005</b>	

**Table S2. Clinical and pathological prognostic indicators of renal response.**

<b>Prognosis indicators of RR (univariate analysis)</b>	<b>Odds ratio</b>	<b>95% confidence interval</b>	<b>P value</b>
<b>Clinical items</b>			
<b>AKIN stage 3</b>	<b>0.19</b>	<b>[0.06 to 0.63]</b>	<b>0.007</b>
<b>Median eGFR</b>	<b>1.12</b>	<b>[1.03 to 1.21]</b>	<b>0.005</b>
<b>Hemodialysis required</b>	<b>0.11</b>	<b>[0.02 to 0.67]</b>	<b>0.02</b>
<b>Lambda isotype</b>	<b>4.63</b>	<b>[1.34 to 15.98]</b>	<b>0.02</b>
<b>Pathological items</b>			
<b>Number of casts (&gt;30 vs. &lt;30)</b>	<b>0.29</b>	<b>[0.088 to 0.945]</b>	<b>0.04</b>
<b>Sclerotic glomeruli (&gt;10% vs. &lt;10%)</b>	<b>0.29</b>	<b>[0.093 to 0.922]</b>	<b>0.04</b>
Interstitial Fibrosis (Stade 2/3 vs. 1)	0.81	[0.248 to 2.648]	0.73
Associated LCDD	0.92	[0.168 to 5.044]	0.92
Presence of ITA	1.23	[0.378 to 4.04]	0.73
<b>Prognosis indicators of RR (multivariate analysis)</b>	<b>Odds ratio</b>	<b>95% confidence interval</b>	<b>P value</b>
<b>Hemodialysis required</b>	<b>0.13</b>	<b>[0.02 to 1.00]</b>	<b>0.049</b>
Median eGFR	1.01	[0.93 to 1.10]	0.79
<b>Lambda isotype</b>	<b>5.99</b>	<b>[1.18 to 32.1]</b>	<b>0.04</b>
Number of casts (>30 vs <30)	0.22	[0.04 to 1.15]	0.07
% SG (>10 vs <10)	0.21	[0.04 to 1.01]	0.052

## DISCUSSION

We undertook this investigation to determine the frequency of ITA in 60 CN biopsy specimens, with the aim of correlating ITA with the existence of extrarenal AL. The primary result of our study is the finding of a significant association between ITA and systemic AL.

ITA was not rare in our series as we found Congo red-stained casts in 28.3% (17/60) of biopsy specimens with CN, regardless of their abundance. This prevalence is slightly less than in the three previously published clinico-pathological studies of CN containing more than 10 cases, which reported the characteristics of the casts after using amyloid stains: 39.4% (13/33) in the study by Hill *et al*,<sup>17</sup> 42.9% (15/35) in the study of Limas *et al*,<sup>14</sup> and 57.9% (33/57) in the study by Vassar *et al*.<sup>6</sup> Thioflavin T staining, which is less specific than Congo red, was used in the latter study for amyloid detection (Table 6). More recent CN clinicopathologic studies paid no attention to the amyloid staining properties of casts, emphasizing that ITA is not currently considered to be clinically significant.<sup>1,21</sup> In our study, ITA casts frequently (11/17, 64.7%) showed a peculiar rimmed morphology consisting of a concentric organization and peripheral Congo red staining. Formerly reported ITA cases also mentioned a similar morphology (Table 6).

The main result of our study is the finding of an association between ITA and systemic AL amyloidosis. Indeed, we found AL in 5/13 cases in the ITA group whereas no patient was found to have AL in the No ITA group (5/13 vs. 0/30, P = 0.001). These results suggest that LC that form amyloid in tubular lumens can also form systemic amyloid deposits within tissues. This is supported by the finding that we observed ITA more frequently in cases with  $\lambda$  rather than  $\kappa$  LC (13/17 with  $\lambda$  isotype in the ITA group vs.

19/43 in the No ITA group,  $P = 0.024$ ), in accordance with the well-known greater amyloidogenicity of  $\lambda$  than  $\kappa$  chains.<sup>22</sup> In the literature (reviewed in Table 6), the autopsy study by Melato *et al.* is, to our knowledge, the only one to have systematically looked for a relationship between ITA and AL based on the analysis of extrarenal tissues; they found no statistical association between ITA and AL.<sup>16</sup> However, the study had important limitations, including the low number of ITA cases ( $n = 4$ ) and the fact that organs frequently targeted by AL such as bone marrow, the digestive tract, and salivary glands, were not analyzed.

**Table 6. Review of the literature of intratubular amyloid**

References	Nb of cases with ITA <sup>a</sup>	Rimmed pattern	Cytoplasmic amyloid	Ultrastructural amyloid	Extrarenal amyloid
Azzopardi <i>et al.</i> <sup>5</sup>	1	Yes	ND	ND	No
Azzopardi <i>et al.</i> <sup>23</sup>	1	Yes	ND	ND	Yes
Vassar <i>et al.</i> <sup>6b</sup>	33 (57)	Yes	Yes	ND	ND
Friman <i>et al.</i> <sup>8</sup>	1	Yes	ND	ND	Yes
Limas <i>et al.</i> <sup>14c</sup>	15 (35)	Yes	3/15	Yes	ND
Defronzo <i>et al.</i> <sup>15</sup>	4 (8)	Yes	ND	ND	ND
Melato <i>et al.</i> <sup>16</sup>	4	Yes	ND	ND	No
Hill <i>et al.</i> <sup>17</sup>	13 (33)	ND	ND	ND	ND
Pirani <i>et al.</i> <sup>18</sup>	ND	Yes	ND	No	ND
Rota <i>et al.</i> <sup>19</sup>	1 (26)	ND	ND	ND	ND
ElZoghby <i>et al.</i> <sup>9</sup>	1	Yes	Yes	Yes	Yes
Nasr <i>et al.</i> <sup>10</sup>	1	Yes	ND	Yes	ND
Sethi <i>et al.</i> <sup>11</sup>	1	Yes	No	Yes	No
Hemminger <i>et al.</i> <sup>24</sup>	No <sup>d</sup>	NA	Yes	Yes	ND
Larsen <i>et al.</i> <sup>38</sup>	No <sup>d</sup>	NA	Yes	Yes	ND
Kato <i>et al.</i> <sup>12</sup>	1	Yes	No	Yes	ND
Iliuta <i>et al.</i> <sup>13</sup>	1	No	Yes	Yes	ND
<b>Current study</b>	<b>17/60</b>	<b>Yes</b>	<b>Yes</b>	<b>Yes</b>	<b>5/13</b>

ND: not determined; NA: not applicable.

<sup>a</sup> number of cases with ITA (total number of cases with cast nephropathy)

<sup>b</sup> use of thioflavin T for amyloid staining

<sup>c</sup> series of 35 patients with a diagnoses of myeloma without data on the presence of CN

<sup>d</sup> purely intracytoplasmic amyloid

Our study reports the association of ITA with systemic AL cases diagnosed in extrarenal specimens (digestive tract, salivary glands, bone marrow, and muscle) without renal parenchymal AL at the time of the kidney biopsy. Such an association of ITA with extrarenal amyloid, but without renal parenchymal amyloid, has been reported in three case reports: one case with subcutaneous amyloid tumors;<sup>8</sup> one case with skin, joint and omental fat involvement<sup>23</sup> and one with bone marrow, joint, and peripheral nerve involvement.<sup>9</sup> This intriguing observation, in conjunction with the fact that AL was diagnosed, on average, 294 days after the renal biopsy, may indicate that ITA is an early phenomenon during CN-associated amyloidosis and precedes the formation of AL within tissues, either renal or extrarenal.

Although the exact pathophysiology of ITA remains unclear, its possible association with amyloid found within the cytoplasm of tubular epithelial cells suggests that ITA was formed intracytoplasmically from reabsorbed LC and subsequently secreted into the lumen.<sup>24</sup> This hypothesis is in agreement with studies suggesting that proteolytic enzyme processing of immunoglobulin LC within lysosomes is central to amyloid fibril formation.<sup>25</sup> Experimental models of renal AL amyloidosis have shown that mesangial cells play a central role in amyloidogenesis through endocytosis and subsequent intralysosomal proteolysis of LC.<sup>26-27</sup> It is possible that a similar mechanism may occur in tubular epithelial cells and lead to the production of ITA. The formation of amyloid in the urinary space, secondarily endocytosed by proximal tubular cells, is an alternative possibility.<sup>13</sup>

In the current study, we found that AKIN stage 3, baseline eGFR, requirement for hemodialysis were prognostic factors of renal response, by univariate analysis, as reported in other studies.<sup>21,28</sup> The good prognosis associated with lambda isotype is

difficult to interpret in the absence of available urinary LC excretion levels.<sup>29</sup> The number of casts was also predictive of renal response; this pathological factor has been recently highlighted in a previous study.<sup>21</sup> We could find no difference in the prognosis between CN patients with or without ITA, either for renal response or OS. It is possible that potential prognostic differences related to the amyloidogenicity of LC in ITA patients could have been obscured by the generally bad outcome of CN. However, it should be noted that the renal prognosis of MM patients is improving,<sup>30-31</sup> likely due to more effective chemotherapy molecules, such as thalidomide and bortezomib,<sup>32</sup> and the use of new dialysis techniques to remove free LC.<sup>33</sup>

Our results suggest that the detection of ITA could help to identify CN patients at risk of developing AL. This point is of importance, as the recognition of AL associated with MM helps to determine prognosis and treatment.<sup>34-35</sup> Indeed, the occurrence of AL in patients with MM has been shown to be an adverse prognostic factor.<sup>4</sup> Thus, we believe that renal biopsy specimens showing CN should be systematically screened for ITA through the examination of casts after Congo red staining. Patients with ITA should be considered to be at risk for the development of AL and, subsequently, a specific work up and surveillance for AL may be necessary for these patients. Finally, our results can be viewed as a supplementary justification to perform kidney biopsy in patients suspected to have CN.<sup>36</sup>

This study has important limitations inherent to its retrospective design. In particular, extra-renal specimens were available for the assessment of amyloid for only 71.7% of patients. However, our results suggest, for the first time, that ITA is not a histological peculiarity with no clinical significance, but conversely reflects the amyloidogenic

capacity of LC that can manifest as systemic AL. The routine pathological examination of casts with Congo red to identify ITA should be mandatory in all patients with CN. From a clinical point of view, the detection of ITA should trigger the search for systemic AL amyloidosis.

## REFERENCES

1. Nasr SH, Valeri AM, Sethi S, et al. Clinicopathologic correlations in multiple myeloma: a case series of 190 patients with kidney biopsies. *Am J Kidney Dis.* 2012;59(6):786-794.
2. Vos JM, Gustine J, Rennke HG, et al. Renal disease related to Waldenstrom macroglobulinaemia: incidence, pathology and clinical outcomes. *Br J Haematol.* 2016;175(4):623-630.
3. Rajkumar SV, Gertz MA, Kyle RA. Primary systemic amyloidosis with delayed progression to multiple myeloma. *Cancer.* 1998;82(8):1501-1505.
4. Vela-Ojeda J, Garcia-Ruiz Esparza MA, Padilla-Gonzalez Y, et al. Multiple myeloma-associated amyloidosis is an independent high-risk prognostic factor. *Ann Hematol.* 2009;88(1):59-66.
5. Azzopardi JG. Clinicopathologic Conference. A case of plasma cell leukemia. *Bmj.* 1962;1(169).
6. Vassar PS, Culling CF. Fluorescent amyloid staining of casts in myeloma nephrosis. *Arch Pathol.* 1962;73:59-63.
7. D'Agati VD, Jennette JC, Silva FG, eds. *Non-Neoplastic Kidney Diseases.* . Vol 4: ARP Press; 2005.
8. Friman C, Tornroth T, Wegelius O. IgD myeloma associated with multiple extramedullary amyloid-containing tumours and amyloid casts in the renal tubules. *Ann Clin Res.* 1970;2(2):161-166.
9. El-Zoghby Z, Lager D, Gregoire J, Lewin M, Sethi S. Intra-tubular amyloidosis. *Kidney Int.* 2007;72(10):1282-1288.
10. Nasr SH, Alobeid BB, Otrakji JA, Markowitz GS. Myeloma cast nephropathy, direct renal infiltration by myeloma, and renal extramedullary hematopoiesis. *Kidney Int.* 2008;73(4):517-518.
11. Sethi S, Hanna MH, Fervenza FC. Unusual casts in a case of multiple myeloma. *Am J Kidney Dis.* 2009;54(5):970-974.
12. Kato H, Fujigaki Y, Asakawa S, et al. Rapid Deterioration of the Renal Function Caused by the Coexistence of Intratubular Amyloidosis and Myeloma Cast Nephropathy. *Intern Med.* 2015;54(23):3023-3028.
13. Iliuta IA, Garneau AP, Latulippe E, Isenring P. Amyloid cast tubulopathy: a unique form of immunoglobulin-induced renal disease. *Blood Cancer Journal.* 2016;6(9):e474.
14. Limas C, Wright JR, Matsuzaki M, Calkins E. Amyloidosis and multiple myeloma. A reevaluation using a control population. *Am J Med.* 1973;54(2):166-173.
15. Defronzo RA, Humphrey RL, Wright JR, Cooke CR. Acute renal failure in multiple myeloma. *Medicine (Baltimore).* 1975;54(3):209-223.
16. Melato M, Falconieri G, Pascali E, Pezzoli A. Amyloid casts within renal tubules: a singular finding in myelomatosis. *Virchows Arch A Pathol Anat Histol.* 1980.
17. Hill GS, Morel-Maroger L, Mery JP, Brouet JC, Mignon F. Renal lesions in multiple myeloma: their relationship to associated protein abnormalities. *Am J Kidney Dis.* 1983;2(4):423-438.
18. Pirani CL, Silva F, D'Agati V, Chander P, Striker LM. Renal lesions in plasma cell dyscrasias: ultrastructural observations. *Am J Kidney Dis.* 1987;10(3):208-221.
19. Rota S, Mougenot B, Baudouin B, et al. Multiple myeloma and severe renal failure: a clinicopathologic study of outcome and prognosis in 34 patients. *Medicine (Baltimore).* 1987;66(2):126-137.
20. Gnemmi V, Leleu X, Provot F, Moulonguet F, Buob D. Cast nephropathy and light-chain deposition disease in Waldenstrom macroglobulinemia. *Am J Kidney Dis.* 2012;60(3):487-491.
21. Ecotiere L, Thierry A, Debais-Delpech C, et al. Prognostic value of kidney biopsy in myeloma cast nephropathy: a retrospective study of 70 patients. *Nephrol Dial Transplant.* 2016;31(1):64-72.
22. Solomon A WD. Protein host factors implicated in the pathogenesis of light chain amyloidosis (AL amyloidosis). *Amyloid.* 1995;2:269-279.
23. Azzopardi JG, Lehner T. Systemic amyloidosis and malignant disease. *J Clin Pathol.* 1966;19(6):539-548.

24. Hemminger J, Satoskar A, Brodsky SV, et al. Unique pattern of renal kappa light chain amyloid deposition with histiocytic transdifferentiation of tubular epithelial cells. *Am J Surg Pathol.* 2012;36(8):1253-1257.
25. Shirahama T, Cohen AS. Intralysosomal formation of amyloid fibrils. *Am J Pathol.* 1975;81(1):101-116.
26. Keeling J, Teng J, Herrera GA. AL-amyloidosis and light-chain deposition disease light chains induce divergent phenotypic transformations of human mesangial cells. *Lab Invest.* 2004;84(10):1322-1338.
27. Tagouri YM, Sanders PW, Picken MM, Siegal GP, Kerby JD, Herrera GA. In vitro AL-amyloid formation by rat and human mesangial cells. *Lab Invest.* 1996;74(1):290-302.
28. Dimopoulos MA, Roussou M, Gkatzamanidou M, et al. The role of novel agents on the reversibility of renal impairment in newly diagnosed symptomatic patients with multiple myeloma. *Leukemia.* 2013;27(2):423-429.
29. Drayson M, Begum G, Basu S, et al. Effects of paraprotein heavy and light chain types and free light chain load on survival in myeloma: an analysis of patients receiving conventional-dose chemotherapy in Medical Research Council UK multiple myeloma trials. *Blood.* 2006;108(6):2013-2019.
30. Reule S, Sexton DJ, Solid CA, Chen SC, Foley RN. ESRD due to Multiple Myeloma in the United States, 2001-2010. *J Am Soc Nephrol.* 2016;27(5):1487-1494.
31. Decourt A, Gondouin B, Delaroziere JC, et al. Trends in Survival and Renal Recovery in Patients with Multiple Myeloma or Light-Chain Amyloidosis on Chronic Dialysis. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2016;11(3):431-441.
32. Dimopoulos MA, Delimpasi S, Katodritou E, et al. Significant improvement in the survival of patients with multiple myeloma presenting with severe renal impairment after the introduction of novel agents. *Ann Oncol.* 2014;25(1):195-200.
33. Hutchison CA, Cockwell P, Reid S, et al. Efficient removal of immunoglobulin free light chains by hemodialysis for multiple myeloma: in vitro and in vivo studies. *J Am Soc Nephrol.* 2007;18(3):886-895.
34. Bahlis NJ, Lazarus HM. Multiple myeloma-associated AL amyloidosis: is a distinctive therapeutic approach warranted? *Bone Marrow Transplant.* 2006;38(1):7-15.
35. Madan S, Dispenzieri A, Lacy MQ, et al. Clinical Features and Treatment Response of Light Chain (AL) Amyloidosis Diagnosed in Patients With Previous Diagnosis of Multiple Myeloma. *Mayo Clin Proc.* 2010;85(3):232-238.
36. Leung N. To biopsy or not to biopsy, that is the question in myeloma cast nephropathy. *Nephrol Dial Transplant.* 2016;31(1):1-3.
37. Linke RP. Highly sensitive diagnosis of amyloid and various amyloid syndromes using Congo red fluorescence. *Virchows Arch.* 2000;436(5):439-448.
38. Larsen CP, Borrelli GS, Walker PD. Amyloid proximal tubulopathy: a novel form of light chain proximal tubulopathy. *Clinical Kidney Journal.* 2012;5(2):130-132.

## IV. Discussion

### A. Amylose intra-tubulaire

#### 1. Fréquence

Les principales études sur l'AMIT sont résumées dans le Tableau 11. Les premières descriptions de cas d'AMIT sont assez anciennes mais à l'exception des quelques études autopsiques et de cas rapportés les données disponibles sont pauvres. La fréquence de l'AMIT est variable entre les séries allant de 3,8 % dans l'étude de Rota *et al.* à 57,9 % dans l'étude de Vassar *et al.* Pour cette dernière, la thioflavine T avait été utilisée comme méthode de détection de l'amylose. Comme nous l'avons discuté dans l'introduction, cette méthode est sensible mais moins spécifique que le RC, il est donc possible que la fréquence de l'AMIT dans cette étude ait été surévaluée. Si l'on ne considère que les études pour lesquelles le diagnostic a été posé sur la coloration du RC, la fréquence de l'AMIT au cours de la TM est en moyenne de 34 % [3,8 - 50 %]. Avec la même méthode de détection, nous avons retrouvé 17 cas d'AMIT parmi les 60 biopsies de TM soit une fréquence de 28,3 %.

Références	Nb de cas avec AMIT	Aspect plurilamellaire	Amylose intra-cytoplasmique	ME	Amylose Extra-rénale
Azzopardi <i>et al.</i> (311, 312)	2	Oui	ND	ND	Oui
Vassar <i>et al.</i> (175)	33 (57)	Oui	Oui	ND	ND
Friman <i>et al.</i> (313)	1	Oui	ND	ND	Oui
Limas <i>et al.</i> (314)	15 (35)	Oui	3/15	Oui	ND
Defronzo <i>et al.</i> (315)	4 (8)	Oui	ND	ND	ND
Melato <i>et al.</i> (316)	4	Oui	ND	ND	Non
Hill <i>et al.</i> (317)	13 (33)	ND	ND	ND	ND
Pirani <i>et al.</i> (45)	ND	Oui	ND	Non	ND
Rota <i>et al.</i> (62)	1 (26)	ND	ND	ND	ND
ElZoghby <i>et al.</i> (318)	1	Oui	Oui	Oui	Oui
Nasr <i>et al.</i> (319)	1	Oui	ND	Oui	ND
Sethi <i>et al.</i> (320)	1	Oui	No	Oui	Non
Hemminger <i>et al.</i> (39)	Non	NA	Oui	Oui	ND
Larsen <i>et al.</i> (321)	Non	NA	Oui	Oui	ND
Kato <i>et al.</i> (322)	1	Oui	Non	Oui	ND
Iliuta <i>et al.</i> (323)	1	Non	Oui	Oui	ND

Tableau 11 : Amylose intra-tubulaire dans la littérature

## 2. Caractéristiques clinico-biologiques

Dans les premières études autopsiques (314, 324), il a été montré que l'AMIT à l'instar de la TM, était une lésion définissant le MM c'est-à-dire qu'elle n'est jamais observée dans un contexte de MGUS. Elle rentre donc dans la catégorie des atteintes rénales des gammopathies monoclonales survenant dans un contexte hématologique de forte masse tumorale. Dans notre étude, nous décrivons pour la première fois un patient avec une AMIT et une maladie de Waldenström. Cette association n'est pas surprenante puisqu'il est connu que la TM peut survenir dans ce contexte hématologique. Toutefois cela illustre le rôle central des propriétés de la CL monoclonale dans la survenue de l'AMIT.

Sur le plan démographique, les patients avec AMIT ont un âge moyen de 67 ans avec une très légère prédominance masculine. La TM était révélatrice du diagnostic de MM dans la majorité des cas. Lorsque nous comparons les caractéristiques néphrologiques et hématologiques des patients avec ou sans AMIT, la seule différence significative est la répartition des isotypes de CL. Dans le cas des patients avec AMIT, l'isotype  $\lambda$  est surreprésenté avec un ratio  $\lambda : \kappa$  de 3,25 (13 : 4) alors qu'il est de 0,79 chez les patients sans AMIT (P : 0,024). Malheureusement, dans aucune des 3 séries d'AMIT comportant plus de 10 patients, l'isotype de la CL n'est mentionné. Le Tableau 12 illustre la distribution entre les deux isotypes  $\lambda$  et  $\kappa$  dans les autres études et cas rapportés :

Références	Nb de cas avec AMIT	$\lambda : \kappa$
Azzopardi <i>et al.</i> (311, 312)	1	ND
Vassar <i>et al.</i> (175)	33	ND
Friman <i>et al.</i> (313)	1	1 : 0
Limas <i>et al.</i> (314)	15	ND
Defronzo <i>et al.</i> (315)	4	2 : 1 (1 ND)
Melato <i>et al.</i> (316)	4	1 : 3
Hill <i>et al.</i> (317)	13	ND
Rota <i>et al.</i> (62).	1	1 : 0
ElZoghby <i>et al.</i> (318)	1	1 : 0
Nasr <i>et al.</i> (319)	1	1 : 0
Sethi <i>et al.</i> (320)	1	1 : 0
Kato <i>et al.</i> (322)	1	1 : 0
Iliuta <i>et al.</i> (323)	1	1 : 0

Tableau 12 : Répartition des isotypes de chaînes légères au cours de l'AMIT

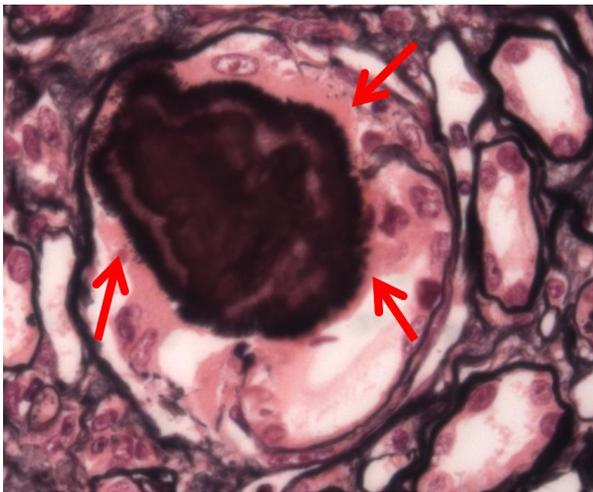
En ajoutant à ces données les cas d'AMIT de notre étude, on obtient un ratio  $\lambda : \kappa$  global de 2,87 (23 : 8) ce qui est proche de celui rapporté dans les cohortes d'amylose AL systémique. Ce résultat suggère que les CL ayant la capacité de former de l'AMIT pourraient être les mêmes que celles responsables du développement de l'amylose AL.

### 3. Caractéristiques histologiques

L'aspect de l'AMIT sur la coloration du RC varie entre les individus et plusieurs types de cylindres peuvent cohabiter au sein de la même biopsie. Les cylindres sont parfois colorés de manière homogène ou bien seulement de manière partielle. En cas de coloration partielle, toutes les configurations ont été décrites mais un aspect morphologique est particulièrement évocateur : il s'agit de cylindres ayant un aspect plurilamellaire avec plusieurs couches disposées de façon concentrique. Parfois, seule la couche la plus externe est visible. Au niveau de ces couches, il est possible de mettre en évidence les dépôts fibrillaires caractéristiques en ME (314, 319, 320, 322, 325). Par ailleurs, au niveau de ces cylindres, il n'est pas rare d'observer des formations en spicules sur le versant externe des strates (320, 322) ce qui rappelle l'aspect des dépôts d'amylose AL glomérulaire au niveau de la MBG. L'aspect plurilamellaire au cours de l'AMIT a été rapporté dans la quasi-totalité des études (Tableau 11). Dans notre série, nous avons pu confirmer que cette présentation était majoritaire dans le groupe AMIT avec une fréquence de 64,7 %. Lorsqu'elle était manquante, il s'agissait essentiellement de formes d'AMIT avec peu de cylindres colorés par le Rouge Congo.

Contrairement à ce qui a été rapporté par Melato *et al.*, nous avons observé que les cylindres d'AMIT sont difficiles à distinguer des cylindres myélomateux conventionnels sur les autres colorations utilisées en pratique diagnostique (PAS, HES, TM, coloration argentique de Jones), En effet, dans notre expérience, lorsque les dépôts forment un fin liseré périphérique, ils sont en général visibles uniquement sur le RC. C'est seulement quand les dépôts sont plus importants qu'il est parfois possible d'identifier les cylindres d'AMIT sur la coloration argentique de Jones car les couches amyloïdes sont

argyrophiles tandis que les cylindres myélomateux conventionnels sont le plus souvent non argyrophiles (Figure 10) (320, 326). Dans ces cas, la coloration argentique de Jones permet également de mieux visualiser les spicules au niveau des cylindres d'AMIT (Figure 10). L'intensité de coloration du PAS est assez variable que ce soit au niveau des cylindres d'AMIT ou des cylindres myélomateux conventionnels. En général elle est de peu d'aide pour faire la distinction entre les deux même si certains auteurs rapportent un marquage de la partie centrale de certains cylindres d'AMIT par le PAS (322).

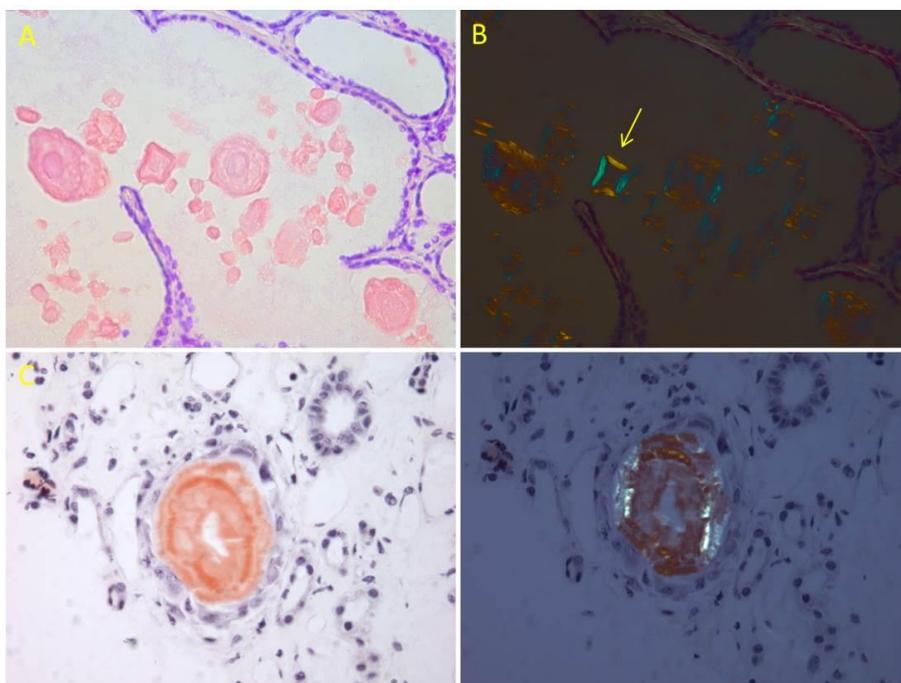


*Figure 10 : AMIT sur une coloration argentique de Jones. Les flèches rouges indiquent les endroits où les spicules (responsable de l'aspect chevelu) sont le plus visibles.*

En ce qui concerne l'abondance des lésions, il faut insister sur le fait que dans la majorité des cas les cylindres d'AMIT sont très largement minoritaires par rapport aux autres cylindres myélomateux. Ainsi, dans plus de la moitié des cas de notre étude, les lésions d'AMIT représentaient moins de 5 % de la totalité des cylindres. Ces résultats contrastent avec certaines descriptions dans la littérature où il n'est rapporté que des

cylindres d'AMIT sans cylindres myélomateux conventionnels associés (318, 319, 325). Dans notre expérience, les lésions d'AMIT étaient majoritaires dans seulement 3 cas et dans seulement un cas elles représentaient plus de 80 % des cylindres. Nous n'avons jamais observé de formes où il n'était pas possible de retrouver au moins quelques cylindres myélomateux conventionnels associés.

On considère, par définition, que l'amylose est extracellulaire et qu'elle se dépose dans les tissus. Or si l'AMIT est extracellulaire, elle se dépose au sein d'une cavité et non, au sens strict, dans un tissu. En ce sens, L'AMIT ne remplit pas tous les critères de l'amylose (310). Ceci a probablement contribué à minimiser l'intérêt et les recherches autour de l'AMIT. De plus, la ressemblance de l'AMIT dans sa forme plurilamellaire avec les corps amyloïdes (CA), fréquents au niveau de la prostate (327) et du poumon (328), a pu également participer à négliger l'AMIT (Figure 11). Ces CA sont des agrégats localisés qui se forment au cours de processus dégénératifs ou inflammatoires, le plus souvent au sein de cavités. Ils ont une forme ovale ou ronde avec une structure interne en strates concentriques disposées autour d'un nidus central, de couleur clair et de nature protéique. Ils sont colorés par le RC et ont une biréfringence jaune-verte particulière en lumière polarisée laissant apparaître un aspect dit en « croix de malte » (Figure 11).



*Figure 11 Comparaison entre l'amylose intra-tubulaire et les corps amyloïdes dans la prostate. Les corps amyloïdes ont une forme ronde avec un aspect pluristratifié (A, rouge Congo grossissement x200). A noter l'aspect particulier de la biréfringence en croix de Malte de certains corps amyloïdes étudiés en lumière polarisée (B, rouge Congo en lumière polarisée grossissement x200) qui diffère de celle de l'amylose intra-tubulaire (C-D)*

Une autre caractéristique habituellement associée à la définition de l'amylose est sa localisation extracellulaire ce qui contraste avec nos résultats où nous rapportons la présence de dépôts intra-cytoplasmiques tubulaires chez 23,5 % (4/17) des patients avec AMIT. Ces dépôts ont également été notés pas d'autres en association avec des lésions d'AMIT (Tableau 11). Ainsi dans une étude autopsique de 35 patients avec MM, des dépôts intra-cytoplasmiques d'amylose au niveau des cellules tubulaires proximales étaient retrouvés chez 3 patients qui avaient tous des lésions d'AMIT associées (314). La restriction de l'amylose à la localisation extracellulaire a

possiblement été introduite afin de faire la distinction entre l'amylose systémique et certains dépôts intracellulaires qui sont fréquents au cours des processus dégénératifs. En effet, au cours du vieillissement, on peut observer des dépôts intracellulaires avec des propriétés similaires à l'amylose au niveau du système nerveux central (329), de la prostate en association avec les CA (327) et au niveau de certaines cellules endocrines (330). Cependant, d'authentiques dépôts d'amylose peuvent aussi être de localisation intracellulaire. Ainsi des dépôts ont par exemple été rapportés au sein des macrophages dans l'amylose AA (331) et dans les cardiomyocytes au cours de l'amylose à apolipoprotéine A-IV (332). En ce qui concerne l'amylose AL, la mise en évidence de dépôts intracytoplasmiques en ME a été décrite il y a longtemps au niveau des plasmocytes et des histiocytes (333). Plus récemment, ils ont été décrits au niveau des cellules mésangiales au cours de l'AL glomérulaire (165) et au niveau des cellules épithéliales tubulaires (39, 45, 318, 323). A la lumière de ces résultats, il est clair que l'amylose AL peut être intracellulaire.

#### **4. Physiopathologie**

La physiopathologie de l'AMIT n'est pas bien comprise à l'heure actuelle. Néanmoins, la présence de dépôts d'amylose intra-cytoplasmiques associés à ces lésions peut faire envisager deux hypothèses principales:

- les cellules tubulaires sont capables d'endocyter des dépôts d'amylose formés directement dans la lumière urinaire ;
- l'amylose se forme dans les lysosomes des cellules tubulaires avant d'être excrétée dans la lumière.

Sachant que les fibrilles amyloïdes sont de trop grande taille pour être librement filtrées par les glomérules, il a été proposé que l'amylose se forme dans la lumière urinaire (318). En faveur de cette hypothèse, il a été montré que les conditions de pH et les concentrations d'urée dans la chambre urinaire sont propices *in vitro* à l'agrégation des CL en dépôts d'amylose (334, 335). Les dépôts d'amylose ainsi formés seraient endocytés au niveau des TCP (322, 323) et lorsqu'ils s'accumulent au niveau des tubes distaux seraient responsables de l'AMIT.

Dans la seconde hypothèse, les CL seraient d'abord endocytées au niveau des TCP et l'amylose se formerait secondairement à la protéolyse des CL dans les lysosomes des cellules proximales avant d'être excrétée dans la lumière tubulaire. En faveur de cette hypothèse, il a été observé l'expression des marqueurs CD68 et CD163 au niveau des cellules tubulaires proximales contenant des dépôts intra-cytoplasmiques d'amylose ce qui traduirait une transition épithélio-macrophagique et l'accumulation de lysosomes (39). Un phénomène similaire a d'ailleurs été décrit au niveau des cellules mésangiales chez des patients avec une localisation glomérulaire d'AL (336). Cependant, contrairement à l'endocytose des CL par les cellules mésangiales qui ne survient que dans un contexte d'AL, le mécanisme de captation des CL au niveau des TCP est physiologique. La précipitation intra-cytoplasmique des CL devrait donc être une constatation fréquente au cours de l'amylose AL, ce qui n'est pas observé en pratique.

A ce stade, il n'est donc pas possible de privilégier l'une de ces deux hypothèses. D'autant plus qu'il a été rapporté des dépôts intra-cytoplasmiques d'amylose dans des contextes de tubulopathie proximale sans AMIT associée (39, 321) ce qui remet en cause l'existence même d'un mécanisme commun à ces deux entités.

## **5. Facteur prédictif de la survenue d'une amylose AL systémique**

Le principal résultat de notre étude est la mise en évidence d'une association entre l'AMIT et l'amylose AL systémique. Sur les 60 patients avec une TM, nous avons retrouvé 5 patients qui ont développé une amylose AL au cours de leur suivi. Ces 5 patients avaient une AMIT sur leur PBR. La présence d'AMIT était le seul facteur significativement associé au développement d'une amylose AL systémique. Dans la littérature, le lien entre AMIT et amylose AL a été très peu investigué. La seule étude s'étant intéressée spécifiquement à cette question est le travail autopsique de Melato *et al.* Dans ce dernier, il n'était pas retrouvé d'association entre la présence d'AMIT et de dépôts d'amylose rénale ou extra-rénale. Cependant cette étude souffre de certaines limites méthodologiques. La principale est le nombre très restreint de patients avec AMIT (n = 4). Une autre limite est l'absence de données concernant les organes fréquemment atteints par l'amylose AL tels que la moelle osseuse, le tube digestif et les glandes salivaires accessoires.

Dans notre revue de la littérature, nous avons trouvé 3 cas mentionnant l'association d'AMIT et d'une amylose systémique : 1 patient avec dépôts d'amylose au niveau de la peau, du canal carpien et de la graisse péritonéale (312), 1 patient avec dépôts au niveau médullaire, articulaire et des nerfs périphériques (318) et 1 patient avec plusieurs localisations sous cutanées d'amylose dans une forme pseudo-tumorale (313). Au vu de ces quelques cas et de nos résultats, nous pensons donc que l'AMIT reflète effectivement l'amyloïdogenité de la CL monoclonale sécrétée et que sa présence traduit un risque accru de développer une AL systémique au cours du suivi.

Dans cette étude nous avons fait le choix d'exclure les patients présentant des lésions d'amylose AL glomérulaire, vasculaire ou interstitiel. En effet, notre objectif était de déterminer si la présence d'AMIT sur la PBR était un signe en faveur d'une amylose AL systémique. Pour les patients avec une amylose AL rénale, cette question ne se posait donc plus. Trois patients ont été ainsi exclus. Un seul d'entre eux avait de l'AMIT. Dans la littérature, la coexistence d'AMIT et de dépôts d'amylose dans le parenchyme n'a été rapportée que par l'équipe de Hill *et al.* Dans ce travail, 10 des 13 patients avec AMIT avaient également des dépôts d'amylose AL dans d'autres compartiments du rein (317). Des études portant sur un plus grand nombre de patients avec une amylose AL et une TM sont requises pour préciser le lien entre amylose AL rénale et AMIT.

## **6. Pronostic**

La mise en évidence d'AMIT dans notre étude est associée à un risque plus important de développer une amylose AL mais cela ne s'accompagne pas d'une différence significative de survie entre les patients avec ou sans AMIT. Ce résultat est potentiellement lié au pronostic très sombre de la TM dans notre série. En effet, il est probable que beaucoup de patients décèdent avant de développer une amylose AL qui menace leur pronostic vital. D'autant plus que nos données montrent que l'AMIT précède toujours la mise en évidence d'amylose dans une autre localisation. L'AMIT pourrait donc correspondre à une forme débutante d'amylose AL dont la progression est lente chez ces patients qui reçoivent une thérapeutique anti-myélomateuse. L'identification de ces patients reste malgré tout intéressante car elle permet de détecter précocement la survenue d'une amylose AL qui est un facteur pronostic péjoratif au cours du MM (308).

Dans l'avenir, il est possible que l'introduction de nouvelles molécules et techniques d'épuration des CL améliore considérablement la survie des patients atteints de MM. Il sera alors intéressant de réévaluer l'impact de la l'AMIT sur la survie et la réponse rénale des patients. D'autant plus que des traitements spécifiques de l'amylose seront peut être disponibles (anti-SAP) et qu'ils pourraient bénéficier aux patients dès la mise en évidence d'AMIT.

## 7. Limites de l'étude

La principale limite de notre étude, liée à son caractère rétrospectif, est le manque d'informations cliniques et paracliniques pour documenter l'existence d'une atteinte d'organe secondaire à l'AL. Pour la plupart des patients, l'absence de signe d'AL est mentionnée au moment du bilan du MM mais ils ne sont pas réévalués au cours du suivi. Nous avons considéré qu'il y avait une amylose AL systémique à partir de la découverte d'une localisation extrarénale d'amylose mais nous n'avons pas de données cliniques permettant d'affirmer le caractère symptomatique ou non de cette amylose pour tous les patients.

Parmi les 5 patients chez qui nous avons retenu le diagnostic d'amylose AL, les renseignements transmis avec le prélèvement extra-rénal mentionnaient une suspicion clinique forte d'amylose pour un seul d'entre eux. Pour un autre patient, souffrant d'amylose digestive, le prélèvement avait été effectué dans le cadre d'un bilan de méléna qui, *a posteriori*, peut être imputé à l'amylose. En revanche, pour les 3 autres patients, les dépôts étaient retrouvés sur des prélèvements effectués dans le cadre du bilan de MM (BGSA et BOM) et ils n'étaient pas *a priori* associés à des manifestations cliniques évocatrices. Pour ces 3 patients, les données permettant d'objectiver la

survenue d'une atteinte clinique secondaire à leur AL sont manquantes et il n'est pas possible d'exclure que ces dépôts correspondent à une forme d'amylose occulte.

Un autre problème de notre étude est le pourcentage restreint de patients avec un prélèvement extra-rénal. Nous disposions de suffisamment de matériel pour rechercher et typer une amylose extra-rénale pour seulement 71,7 % des patients inclus. Ce résultat est partiellement lié à la destruction des prélèvements anatomopathologiques archivés au bout d'une période de 10 ans conformément aux dispositions légales. Pour les cas les plus anciens, un certain nombre de prélèvements n'ont ainsi pas pu être récupérés. Toutefois nous nous sommes assurés que le pourcentage de prélèvements entre les groupes avec ou sans AMIT ne différait pas de manière significative (P : 0,6). De même, les prélèvements des localisations les plus « sensibles » pour la mise en évidence d'AL étaient également répartis entre les deux groupes. La perte de certains prélèvements a donc pu diminuer la puissance de l'étude mais n'a, *a priori*, pas introduit de biais entre les deux groupes.

## **B. Facteurs pronostiques**

### **1. Facteurs pronostiques associés à la réponse rénale**

En ce qui concerne les données néphrologiques au moment de la biopsie, nous avons observé qu'une valeur basse du DFG (estimé par la formule MDRD), la mise en dialyse dans le mois entourant le diagnostic et un stade 3 selon la classification AKIN sont des facteurs prédictifs d'une mauvaise réponse rénale en analyse univariée. La valeur du DFG estimé et le grade AKIN sont des critères classiquement associés à la réponse rénale car ils reflètent la profondeur de l'atteinte rénale initiale et ils ont été rapportés par

d'autres (47, 80). En revanche, l'impact pronostique de la mise en dialyse précoce n'était pas significatif dans une autre étude à la méthodologie proche (47) alors qu'elle a une valeur pronostique même en analyse multivariée dans notre série.

Au niveau histologique, le nombre de cylindres (avec un seuil à 50) et le pourcentage de glomérules scléreux (avec un seuil à 10 %) sont statistiquement corrélés à la réponse rénale en analyse univariée et à la limite de la significativité dans le modèle multivarié. Pour évaluer l'abondance des cylindres nous avons utilisé la formule proposée par *Ecotiere et al.* : (nombre total de cylindres / nombre de champs au grossissement x200) x10. L'impact pronostique du nombre de cylindres a été rapporté par plusieurs auteurs (47, 63, 66). En revanche, dans notre travail, l'évaluation semi-quantitative de l'atrophie tubulaire et de la fibrose interstitielle n'est pas associée à la réponse rénale contrairement à ce qui avait été observé par d'autres (62, 84).

En analyse univariée et multivariée, l'isotype  $\lambda$  est associé à une meilleure réponse rénale ce qui contraste avec ce qui est connu dans la TM. En effet, comme nous l'avons signalé en introduction, l'isotype  $\lambda$  est en général associé à une moins bonne réponse car le débit urinaire de CL- $\lambda$  est plus important que pour l'isotype  $\kappa$  (85). Malheureusement, pour la majorité des patients nous ne disposons pas des données quantitatives de CL urinaire pour vérifier si dans cet échantillon de patients le débit urinaire est inversé entre les deux types de CL.

## **2. Facteurs pronostiques associés à la survie**

Les facteurs associés à une survie plus longue dans notre modèle multivarié sont l'obtention d'une réponse hématologique (au minimum réponse partielle), d'une réponse rénale (définie par un critère composite : DFG estimé  $\geq 30$  mL/min/1,73 m<sup>2</sup> et

indépendance de la dialyse à 3 mois) et par le caractère inaugural de la TM dans l'histoire naturelle du MM. Ces résultats sont en accord avec les données de la littérature même si le caractère inaugural ou non de la TM est rarement étudié puisque dans la majorité des études cliniques, ne se sont inclus que les cas de MM nouvellement diagnostiqués.

## V. Conclusions et perspectives

Lorsqu'une coloration systématique par le rouge Congo est réalisée, la présence d'AMIT sur les PBR de TM n'est pas rare. En pratique courante, elle n'est en général pas mentionnée ou bien seulement comme une variante de cylindres myélomateux. En effet, malgré des caractéristiques optiques similaires, il est actuellement considéré qu'elle n'a pas de lien avec l'amylose AL systémique car elle ne siège pas au sein d'un tissu. Ainsi, elle est plutôt attachée aux formes localisées d'amylose dépourvues de signification clinique.

Dans ce travail, nous avons montré que la présence d'AMIT est corrélée à l'existence de dépôts d'amylose AL dans d'autres tissus. De plus, nous avons mis en évidence une prédominance de la CL- $\lambda$  chez les patients avec de l'AMIT conformément à ce qui est connu dans l'amylose AL. Ces résultats suggèrent que l'AMIT appartient au spectre des atteintes rénales de l'amylose AL.

Nous avons pu confirmer que l'AMIT est souvent associée à des dépôts intracytoplasmiques au sein des cellules tubulaires proximales. Cette amylose intracytoplasmique suggère soit que l'amylose se forme au sein de ces cellules, soit qu'elle se forme dans la chambre urinaire et que les dépôts sont secondairement endocytés. Il n'est actuellement pas possible de privilégier l'une ou l'autre de ces hypothèses.

Avec les données dont nous disposons, il est difficile de déterminer si l'AMIT est une découverte fortuite au cours de la TM qui reflète l'amyloïdogénicité de la CL monoclonale ou bien si elle participe à l'atteinte rénale. Le faible nombre de cylindres rouge Congo positifs en comparaison des cylindres myélomateux classiques chez la

majorité des patients suggère que si l'AMIT joue un rôle dans l'atteinte rénale celui-ci doit être mineur.

Sur le plan pronostique, l'AMIT n'a pas d'impact sur la réponse rénale ni sur la survie des patients. Ces résultats traduisent peut être un manque de puissance de notre étude qui n'inclut qu'un faible nombre de patients avec AMIT. Il est aussi probable que le pronostic très sombre de la TM emporte le pronostic vital des patients. D'autant plus que l'AMIT précède toujours la découverte d'une localisation extra-rénale d'amylose AL et qu'il pourrait donc s'agir d'une forme débutante d'amylose AL.

La prise en charge du MM et de ses manifestations rénales a progressé au cours de ces 10 dernières années avec un impact significatif sur la survie. De nouvelles stratégies thérapeutiques pour épurer les CL sont en cours d'essai dans la TM et vont peut être permettre d'allonger encore l'espérance de vie des patients. Parallèlement, des traitements ciblant spécifiquement l'amylose AL, comme les anti-SAP ou les anti-CL (spécifiques des dépôts d'amylose AL) sont aussi en cours d'essai thérapeutique. Il sera alors intéressant de réévaluer les données de ce travail pour voir si avec l'allongement de l'espérance de vie des patients, les patients avec AMIT développent plus souvent des dépôts d'amylose extra-rénale et si cela s'accompagne d'un impact pronostique. Il sera également important de déterminer si les patients avec TM pourraient bénéficier d'une prise en charge spécifique de l'amylose AL dès le diagnostic d'AMIT.

## VI. Bibliographie

1. Bridoux F, Leung N, Hutchison CA, Touchard G, Sethi S, Fermanand JP, et al. Diagnosis of monoclonal gammopathy of renal significance. *Kidney Int.* 2015;87(4):698-711.
2. Hansel TT, Kropshofer H, Singer T, Mitchell JA, George AJ. The safety and side effects of monoclonal antibodies. *Nature reviews Drug discovery.* 2010;9(4):325-38.
3. Stokes MB, Valeri AM, Herlitz L, Khan AM, Siegel DS, Markowitz GS, et al. Light Chain Proximal Tubulopathy: Clinical and Pathologic Characteristics in the Modern Treatment Era. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN.* 2016;27(5):1555-65.
4. Aucouturier P, Bauwens M, Khamlichi AA, Denoroy L, Spinelli S, Touchard G, et al. Monoclonal Ig L chain and L chain V domain fragment crystallization in myeloma-associated Fanconi's syndrome. *Journal of immunology (Baltimore, Md : 1950).* 1993;150(8 Pt 1):3561-8.
5. Messiaen T, Deret S, Mougenot B, Bridoux F, Dequiedt P, Dion JJ, et al. Adult Fanconi syndrome secondary to light chain gammopathy. Clinicopathologic heterogeneity and unusual features in 11 patients. *Medicine.* 2000;79(3):135-54.
6. Larsen CP, Bell JM, Harris AA, Messias NC, Wang YH, Walker PD. The morphologic spectrum and clinical significance of light chain proximal tubulopathy with and without crystal formation. *Modern pathology : an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc.* 2011;24(11):1462-9.
7. Kapur U, Barton K, Fresco R, Leehey DJ, Picken MM. Expanding the pathologic spectrum of immunoglobulin light chain proximal tubulopathy. *Arch Pathol Lab Med.* 2007;131(9):1368-72.
8. Doshi M, Lahoti A, Danesh FR, Batuman V, Sanders PW. Paraprotein-Related Kidney Disease: Kidney Injury from Paraproteins-What Determines the Site of Injury? *Clinical journal of the American Society of Nephrology : CJASN.* 2016;11(12):2288-94.
9. Thannhauser SJ KE. Uber eine degenerative Erkrankung der Harnkanalchen (Nephrose) bei Bence-Jones'scher Albuminurie mit Nierenschwund (kleine, glatte, weisse Niere). *Dtsch Arch Klin Med.* 1920;133:183-92.
10. Edelman GM, Gally JA. The nature of Bence-Jones proteins. Chemical similarities to polypeptide chains of myeloma globulins and normal gamma-globulins. *J Exp Med.* 1962;116:207-27.
11. Isaac J, Herrera GA. Cast nephropathy in a case of Waldenstrom's macroglobulinemia. *Nephron.* 2002;91(3):512-5.
12. Smolens P, Venkatachalam M, Stein JH. Myeloma kidney cast nephropathy in a rat model of multiple myeloma. *Kidney Int.* 1983;24(2):192-204.
13. Sanders PW, Herrera GA, Chen A, Booker BB, Galla JH. Differential nephrotoxicity of low molecular weight proteins including Bence Jones proteins in the perfused rat nephron in vivo. *J Clin Invest.* 1988;82(6):2086-96.
14. Sanders PW, Booker BB, Bishop JB, Cheung HC. Mechanisms of intranephronal proteinaceous cast formation by low molecular weight proteins. *J Clin Invest.* 1990;85(2):570-6.
15. Hoyer JR, Seiler MW. Pathophysiology of Tamm-Horsfall protein. *Kidney Int.* 1979;16(3):279-89.
16. Ronco P, Brunisholz M, Geniteau-Legendre M, Chatelet F, Verroust P, Richet G. Physiopathologic aspects of Tamm-Horsfall protein: a phylogenetically conserved marker of the

thick ascending limb of Henle's loop. *Advances in nephrology from the Necker Hospital*. 1987;16:231-49.

17. Start DA, Silva FG, Davis LD, D'Agati V, Pirani CL. Myeloma cast nephropathy: immunohistochemical and lectin studies. *Modern pathology : an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc*. 1988;1(5):336-47.
18. Huang ZQ, Sanders PW. Biochemical interaction between Tamm-Horsfall glycoprotein and Ig light chains in the pathogenesis of cast nephropathy. *Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology*. 1995;73(6):810-7.
19. Ying WZ, Sanders PW. Mapping the binding domain of immunoglobulin light chains for Tamm-Horsfall protein. *The American Journal of Pathology*. 2001;158(5):1859-66.
20. Ying WZ, Allen CE, Curtis LM, Aaron KJ, Sanders PW. Mechanism and prevention of acute kidney injury from cast nephropathy in a rodent model. *J Clin Invest*. 2012;122(5):1777-85.
21. Leboulleux M, Lelongt B, Mougnot B, Touchard G, Makdassi R, Rocca A, et al. Protease resistance and binding of Ig light chains in myeloma-associated tubulopathies. *Kidney Int*. 1995;48(1):72-9.
22. Myatt EA, Westholm FA, Weiss DT, Solomon A, Schiffer M, Stevens FJ. Pathogenic potential of human monoclonal immunoglobulin light chains: relationship of in vitro aggregation to in vivo organ deposition. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1994;91(8):3034-8.
23. Klassen RB, Allen PL, Batuman V, Crenshaw K, Hammond TG. Light chains are a ligand for megalin. *Journal of applied physiology (Bethesda, Md : 1985)*. 2005;98(1):257-63.
24. Batuman V, Verroust PJ, Navar GL, Kaysen JH, Goda FO, Campbell WC, et al. Myeloma light chains are ligands for cubilin (gp280). *The American journal of physiology*. 1998;275(2 Pt 2):F246-54.
25. Hutchison CA, Batuman V, Behrens J, Bridoux F, Sirac C, Dispenzieri A, et al. The pathogenesis and diagnosis of acute kidney injury in multiple myeloma. *Nat Rev Nephrol*. 2012;8(1):43-51.
26. Wang PX, Sanders PW. Immunoglobulin light chains generate hydrogen peroxide. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN*. 2007;18(4):1239-45.
27. Ying W-Z, Wang P-X, Aaron KJ, Basnayake K, Sanders PW. Immunoglobulin light chains activate nuclear factor- $\kappa$ B in renal epithelial cells through a Src-dependent mechanism. *Blood*. 2011;117(4):1301-7.
28. Basnayake K, Ying WZ, Wang PX, Sanders PW. Immunoglobulin light chains activate tubular epithelial cells through redox signaling. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN*. 2010;21(7):1165-73.
29. Arimura A, Li M, Batuman V. Potential protective action of pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide (PACAP38) on in vitro and in vivo models of myeloma kidney injury. *Blood*. 2006;107(2):661-8.
30. Hertig A, Bonnard G, Ulinski T, Colombat M, Jouanneau C, Baugey E, et al. Tubular nuclear accumulation of Snail and epithelial phenotypic changes in human myeloma cast nephropathy. *Hum Pathol*. 2011;42(8):1142-8.
31. Li M, Hering-Smith KS, Simon EE, Batuman V. Myeloma light chains induce epithelial-mesenchymal transition in human renal proximal tubule epithelial cells. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association*. 2008;23(3):860-70.
32. Chen KJ, Jan YJ, Chen CH, Cheng CH, Wu MJ, Shu KH. Multiple myeloma-associated cast nephropathy with crystal structure: case report and review of the literature. *Nephrology (Carlton)*. 2005;10(6):594-6.

33. Kumakura S, Nakaya I, Sakuma T, Sato H, Soma J. Crystalline cast nephropathy in a patient with IgD lambda myeloma. *Clinical and experimental nephrology*. 2016;20(3):491-2.
34. Noel LH. *Atlas de pathologie rénale*: Lavoisier; 2008. 1014 p.
35. Schrier RW, Coffman TM, Falk RJ. *Schrier's Diseases of the Kidney*2012.
36. Papadimitriou JM, Matz LR. The origin of multinucleate giant cells in myeloma kidney from mononuclear phagocytes: an ultrastructural study. *Pathology*. 1979;11(4):583-93.
37. Sedmak DD, Tubbs RR. The macrophagic origin of multinucleated giant cells in myeloma kidney: an immunohistologic study. *Hum Pathol*. 1987;18(3):304-6.
38. Alpers CE, Magil AB, Gown AM. Macrophage origin of the multinucleated cells of myeloma cast nephropathy. *Am J Clin Pathol*. 1989;92(5):662-5.
39. Hemminger J, Satoskar A, Brodsky SV, Calomeni E, Nadasdy GM, Kovach P, et al. Unique pattern of renal kappa light chain amyloid deposition with histiocytic transdifferentiation of tubular epithelial cells. *Am J Surg Pathol*. 2012;36(8):1253-7.
40. Stringer S, Basnayake K, Hutchison C, Cockwell P. Recent Advances in the Pathogenesis and Management of Cast Nephropathy (Myeloma Kidney). *Bone Marrow Research*. 2011;2011:493697.
41. Jennette J, D'Agati V, Olson J, Silva F. *Heptinstall's Pathology of the Kidney*2014.
42. Levi DF, Williams RC, Jr., Lindstrom FD. Immunofluorescent studies of the myeloma kidney with special reference to light chain disease. *Am J Med*. 1968;44(6):922-33.
43. Herrera GA. Renal manifestations of plasma cell dyscrasias: an appraisal from the patients' bedside to the research laboratory. *Annals of diagnostic pathology*. 2000;4(3):174-200.
44. Abrahams C, Pirani CL, Pollak VE. Ultrastructure of the kidney in a patient with multiple myeloma. *The Journal of pathology and bacteriology*. 1966;92(1):220-5.
45. Pirani CL, Silva F, D'Agati V, Chander P, Striker LM. Renal lesions in plasma cell dyscrasias: ultrastructural observations. *American journal of kidney diseases : the official journal of the National Kidney Foundation*. 1987;10(3):208-21.
46. Uribe-Uribe NO, Herrera GA. Ultrastructure of tubular casts. *Ultrastructural pathology*. 2006;30(3):159-66.
47. Ecotiere L, Thierry A, Debais-Delpech C, Chevret S, Javaugue V, Desport E, et al. Prognostic value of kidney biopsy in myeloma cast nephropathy: a retrospective study of 70 patients. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association*. 2016;31(1):64-72.
48. Fish R, Pinney J, Jain P, Addison C, Jones C, Jayawardene S, et al. The Incidence of Major Hemorrhagic Complications After Renal Biopsies in Patients with Monoclonal Gammopathies. *Clinical journal of the American Society of Nephrology : CJASN*. 2010;5(11):1977-80.
49. Soares SM, Fervenza FC, Lager DJ, Gertz MA, Cosio FG, Leung N. Bleeding complications after transcutaneous kidney biopsy in patients with systemic amyloidosis: single-center experience in 101 patients. *American journal of kidney diseases : the official journal of the National Kidney Foundation*. 2008;52(6):1079-83.
50. Leung N. To biopsy or not to biopsy, that is the question in myeloma cast nephropathy. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association*. 2016;31(1):1-3.
51. Hutchison CA, Plant T, Drayson M, Cockwell P, Kountouri M, Basnayake K, et al. Serum free light chain measurement aids the diagnosis of myeloma in patients with severe renal failure. *BMC nephrology*. 2008;9:11-.

52. Bergner R HM, Landmann T, Uppenkamp M. Free light chains in urine – an additional diagnostic advantage? *Haematologica*. 2007;92:1012.
53. Sakhuja V, Jha V, Varma S, Joshi K, Gupta KL, Sud K, et al. Renal involvement in multiple myeloma: a 10-year study. *Ren Fail*. 2000;22(4):465-77.
54. Knudsen LM, Hippe E, Hjorth M, Holmberg E, Westin J. Renal function in newly diagnosed multiple myeloma--a demographic study of 1353 patients. The Nordic Myeloma Study Group. *Eur J Haematol*. 1994;53(4):207-12.
55. Clark AD, Shetty A, Soutar R. Renal failure and multiple myeloma: pathogenesis and treatment of renal failure and management of underlying myeloma. *Blood reviews*. 1999;13(2):79-90.
56. Reule S, Sexton DJ, Solid CA, Chen SC, Foley RN. ESRD due to Multiple Myeloma in the United States, 2001-2010. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN*. 2016;27(5):1487-94.
57. Decourt A, Gondouin B, Delaroziere JC, Brunet P, Sallee M, Burtey S, et al. Trends in Survival and Renal Recovery in Patients with Multiple Myeloma or Light-Chain Amyloidosis on Chronic Dialysis. *Clinical journal of the American Society of Nephrology : CJASN*. 2016;11(3):431-41.
58. Gnemmi V, Leleu X, Provot F, Moulonguet F, Buob D. Cast nephropathy and light-chain deposition disease in Waldenstrom macroglobulinemia. *American journal of kidney diseases : the official journal of the National Kidney Foundation*. 2012;60(3):487-91.
59. Santos T, Machado S, Sousa V, Campos M. Cast nephropathy: an extremely rare renal presentation of Waldenstrom's macroglobulinaemia. *BMJ case reports*. 2015;2015.
60. Perez NS, Garcia-Herrera A, Rosinol L, Palos L, Santiago E, Espinosa G, et al. Lymphoplasmacytic lymphoma causing light chain cast nephropathy. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association*. 2012;27(1):450-3.
61. Miwa M, Sakao Y, Ishigaki S, Ono M, Fujikura T, Yasuda H, et al. Recovery of kidney function by rituximab-based therapy in a patient with Waldenstrom's macroglobulinemia-related nephropathy presenting cast nephropathy and interstitial lymphocytic infiltration. *Internal medicine*. 2012;51(13):1725-30.
62. Rota S, Mougenot B, Baudouin B, De Meyer-Brasseur M, Lemaitre V, Michel C, et al. Multiple myeloma and severe renal failure: a clinicopathologic study of outcome and prognosis in 34 patients. *Medicine*. 1987;66(2):126-37.
63. Pozzi C, Pasquali S, Donini U, Casanova S, Banfi G, Tiraboschi G, et al. Prognostic factors and effectiveness of treatment in acute renal failure due to multiple myeloma: a review of 50 cases. Report of the Italian Renal Immunopathology Group. *Clin Nephrol*. 1987;28(1):1-9.
64. Misiani R, Tiraboschi G, Mingardi G, Mecca G. Management of myeloma kidney: an anti-light-chain approach. *American journal of kidney diseases : the official journal of the National Kidney Foundation*. 1987;10(1):28-33.
65. Pasquali S, Casanova S, Zucchelli A, Zucchelli P. Long-term survival patients with acute and severe renal failure due to multiple myeloma. *Clin Nephrol*. 1990;34(6):247-54.
66. Johnson WJ, Kyle RA, Pineda AA, O'Brien PC, Holley KE. Treatment of renal failure associated with multiple myeloma. Plasmapheresis, hemodialysis, and chemotherapy. *Archives of internal medicine*. 1990;150(4):863-9.
67. Alexanian R, Barlogie B, Dixon D. Renal failure in multiple myeloma. Pathogenesis and prognostic implications. *Archives of internal medicine*. 1990;150(8):1693-5.

68. Ganeval D, Rabian C, Guerin V, Pertuiset N, Landais P, Jungers P. Treatment of multiple myeloma with renal involvement. *Advances in nephrology from the Necker Hospital.* 1992;21:347-70.
69. Winearls CG. Acute myeloma kidney. *Kidney Int.* 1995;48(4):1347-61.
70. Irish AB, Winearls CG, Littlewood T. Presentation and survival of patients with severe renal failure and myeloma. *QJM : monthly journal of the Association of Physicians.* 1997;90(12):773-80.
71. Blade J, Fernandez-Llama P, Bosch F, Montoliu J, Lens XM, Montoto S, et al. Renal failure in multiple myeloma: presenting features and predictors of outcome in 94 patients from a single institution. *Archives of internal medicine.* 1998;158(17):1889-93.
72. Magee C, Vella JP, Tormey WP, Walshe JJ. Multiple myeloma and renal failure: one center's experience. *Ren Fail.* 1998;20(4):597-606.
73. Knudsen LM, Hjorth M, Hippe E. Renal failure in multiple myeloma: reversibility and impact on the prognosis. *Nordic Myeloma Study Group. Eur J Haematol.* 2000;65(3):175-81.
74. Eleutherakis-Papaiakevou V, Bamias A, Gika D, Simeonidis A, Pouli A, Anagnostopoulos A, et al. Renal failure in multiple myeloma: incidence, correlations, and prognostic significance. *Leukemia & lymphoma.* 2007;48(2):337-41.
75. Kastiris E, Anagnostopoulos A, Roussou M, Gika D, Matsouka C, Barmparousi D, et al. Reversibility of renal failure in newly diagnosed multiple myeloma patients treated with high dose dexamethasone-containing regimens and the impact of novel agents. *Haematologica.* 2007;92(4):546-9.
76. Dimopoulos MA, Roussou M, Gavriatopoulou M, Zagouri F, Migkou M, Matsouka C, et al. Reversibility of renal impairment in patients with multiple myeloma treated with bortezomib-based regimens: identification of predictive factors. *Clinical lymphoma & myeloma.* 2009;9(4):302-6.
77. Haynes RJ, Read S, Collins GP, Darby SC, Winearls CG. Presentation and survival of patients with severe acute kidney injury and multiple myeloma: a 20-year experience from a single centre. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association.* 2010;25(2):419-26.
78. Hutchison CA, Cockwell P, Stringer S, Bradwell A, Cook M, Gertz MA, et al. Early reduction of serum-free light chains associates with renal recovery in myeloma kidney. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN.* 2011;22(6):1129-36.
79. Nasr SH, Valeri AM, Sethi S, Fidler ME, Cornell LD, Gertz MA, et al. Clinicopathologic correlations in multiple myeloma: a case series of 190 patients with kidney biopsies. *American journal of kidney diseases : the official journal of the National Kidney Foundation.* 2012;59(6):786-94.
80. Dimopoulos MA, Roussou M, Gkatzamanidou M, Nikitas N, Psimenou E, Mparmparoussi D, et al. The role of novel agents on the reversibility of renal impairment in newly diagnosed symptomatic patients with multiple myeloma. *Leukemia.* 2013;27(2):423-9.
81. Park S, Han B, Kim K, Kim SJ, Jang JH, Kim WS, et al. Renal Insufficiency in newly-diagnosed multiple myeloma: analysis according to International Myeloma Working Group consensus statement. *Anticancer research.* 2014;34(8):4299-306.
82. Gonsalves WI, Leung N, Rajkumar SV, Dispenzieri A, Lacy MQ, Hayman SR, et al. Improvement in renal function and its impact on survival in patients with newly diagnosed multiple myeloma. *Blood cancer journal.* 2015;5:e296.

83. de Vries JC, Oortgiesen B, Hemmelder MH, van Roon E, Kibbelaar RE, Veeger N, et al. Restoration of renal function in patients with newly diagnosed multiple myeloma is not associated with improved survival: a population-based study. *Leukemia & lymphoma*. 2017;1-9.
84. Pasquali S, Zucchelli P, Casanova S, Cagnoli L, Confalonieri R, Pozzi C, et al. Renal histological lesions and clinical syndromes in multiple myeloma. *Renal Immunopathology Group. Clin Nephrol*. 1987;27(5):222-8.
85. Drayson M, Begum G, Basu S, Makkuni S, Dunn J, Barth N, et al. Effects of paraprotein heavy and light chain types and free light chain load on survival in myeloma: an analysis of patients receiving conventional-dose chemotherapy in Medical Research Council UK multiple myeloma trials. *Blood*. 2006;108(6):2013-9.
86. Torra R, Blade J, Cases A, Lopez-Pedret J, Montserrat E, Rozman C, et al. Patients with multiple myeloma requiring long-term dialysis: presenting features, response to therapy, and outcome in a series of 20 cases. *Br J Haematol*. 1995;91(4):854-9.
87. Humphreys BD, Soiffer RJ, Magee CC. Renal failure associated with cancer and its treatment: an update. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN*. 2005;16(1):151-61.
88. Tsakiris DJ, Stel VS, Finne P, Fraser E, Heaf J, de Meester J, et al. Incidence and outcome of patients starting renal replacement therapy for end-stage renal disease due to multiple myeloma or light-chain deposit disease: an ERA-EDTA Registry study. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association*. 2010;25(4):1200-6.
89. Rodrigues L, Neves M, Sa H, Gomes H, Pratas J, Campos M. Severe acute kidney injury and multiple myeloma: evaluation of kidney and patient prognostic factors. *European journal of internal medicine*. 2014;25(7):652-6.
90. Blade J, Rosinol L. Renal, hematologic and infectious complications in multiple myeloma. *Best practice & research Clinical haematology*. 2005;18(4):635-52.
91. Sanders PW, Herrera GA. Monoclonal immunoglobulin light chain-related renal diseases. *Semin Nephrol*. 1993;13(3):324-41.
92. Markowitz GS, Fine PL, Stack JJ, Kunis CL, Radhakrishnan J, Palecki W, et al. Toxic acute tubular necrosis following treatment with zoledronate (Zometa). *Kidney Int*. 2003;64(1):281-9.
93. Banerjee D, Asif A, Striker L, Preston RA, Bourgoignie JJ, Roth D. Short-term, high-dose pamidronate-induced acute tubular necrosis: the postulated mechanisms of bisphosphonate nephrotoxicity. *American journal of kidney diseases : the official journal of the National Kidney Foundation*. 2003;41(5):E18.
94. Cohen DJ, Sherman WH, Osserman EF, Appel GB. Acute renal failure in patients with multiple myeloma. *Am J Med*. 1984;76(2):247-56.
95. Bartels ED, Brun GC, Gammeltoft A, Gjorup PA. Acute anuria following intravenous pyelography in a patient with myelomatosis. *Acta medica Scandinavica*. 1954;150(4):297-302.
96. Myers GH, Jr., Witten DM. Acute renal failure after excretory urography in multiple myeloma. *The American journal of roentgenology, radium therapy, and nuclear medicine*. 1971;113(3):583-8.
97. McCarthy CS, Becker JA. Multiple myeloma and contrast media. *Radiology*. 1992;183(2):519-21.
98. Pahade JK, LeBedis CA, Raptopoulos VD, Avigan DE, Yam CS, Kruskal JB, et al. Incidence of contrast-induced nephropathy in patients with multiple myeloma undergoing contrast-enhanced CT. *AJR American journal of roentgenology*. 2011;196(5):1094-101.

99. Mehta RL, Kellum JA, Shah SV, Molitoris BA, Ronco C, Warnock DG, et al. Acute Kidney Injury Network: report of an initiative to improve outcomes in acute kidney injury. *Critical care (London, England)*. 2007;11(2):R31.
100. Dimopoulos MA, Terpos E, Chanan-Khan A, Leung N, Ludwig H, Jagannath S, et al. Renal impairment in patients with multiple myeloma: a consensus statement on behalf of the International Myeloma Working Group. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*. 2010;28(33):4976-84.
101. Kumar S, Paiva B, Anderson KC, Durie B, Landgren O, Moreau P, et al. International Myeloma Working Group consensus criteria for response and minimal residual disease assessment in multiple myeloma. *The Lancet Oncology*. 2016;17(8):e328-46.
102. Alexanian R, Dimopoulos M. The treatment of multiple myeloma. *N Engl J Med*. 1994;330(7):484-9.
103. Sirohi B, Powles R. Multiple myeloma. *Lancet (London, England)*. 2004;363(9412):875-87.
104. Barosi G, Boccadoro M, Cavo M, Corradini P, Marchetti M, Massaia M, et al. Management of multiple myeloma and related-disorders: guidelines from the Italian Society of Hematology (SIE), Italian Society of Experimental Hematology (SIES) and Italian Group for Bone Marrow Transplantation (GITMO). *Haematologica*. 2004;89(6):717-41.
105. Durie BG, Kyle RA, Belch A, Bensinger W, Blade J, Boccadoro M, et al. Myeloma management guidelines: a consensus report from the Scientific Advisors of the International Myeloma Foundation. *The hematology journal : the official journal of the European Haematology Association*. 2003;4(6):379-98.
106. Badros A, Barlogie B, Siegel E, Roberts J, Langmaid C, Zangari M, et al. Results of autologous stem cell transplant in multiple myeloma patients with renal failure. *Br J Haematol*. 2001;114(4):822-9.
107. Parikh GC, Amjad AI, Saliba RM, Kazmi SM, Khan ZU, Lahoti A, et al. Autologous hematopoietic stem cell transplantation may reverse renal failure in patients with multiple myeloma. *Biology of blood and marrow transplantation : journal of the American Society for Blood and Marrow Transplantation*. 2009;15(7):812-6.
108. Glavey SV, Gertz MA, Dispenzieri A, Kumar S, Buadi F, Lacy M, et al. Long-term outcome of patients with multiple [corrected] myeloma-related advanced renal failure following auto-SCT. *Bone marrow transplantation*. 2013;48(12):1543-7.
109. Eriksson T, Högglund P, Turesson I, Waage A, Don BR, Vu J, et al. Pharmacokinetics of thalidomide in patients with impaired renal function and while on and off dialysis. *The Journal of pharmacy and pharmacology*. 2003;55(12):1701-6.
110. Harris E, Behrens J, Samson D, Rahemtulla A, Russell NH, Byrne JL. Use of thalidomide in patients with myeloma and renal failure may be associated with unexplained hyperkalaemia. *Br J Haematol*. 2003;122(1):160-1.
111. Tosi P, Zamagni E, Cellini C, Cangini D, Tacchetti P, Tura S, et al. Thalidomide alone or in combination with dexamethasone in patients with advanced, relapsed or refractory multiple myeloma and renal failure. *Eur J Haematol*. 2004;73(2):98-103.
112. Fakhouri F, Guerraoui H, Presne C, Peltier J, Delarue R, Muret P, et al. Thalidomide in patients with multiple myeloma and renal failure. *Br J Haematol*. 2004;125(1):96-7.
113. Roussou M, Kastiris E, Christoulas D, Migkou M, Gavriatopoulou M, Grapsa I, et al. Reversibility of renal failure in newly diagnosed patients with multiple myeloma and the role of novel agents. *Leukemia research*. 2010;34(10):1395-7.

114. Hideshima T, Raje N, Richardson PG, Anderson KC. A review of lenalidomide in combination with dexamethasone for the treatment of multiple myeloma. *Therapeutics and Clinical Risk Management*. 2008;4(1):129-36.
115. Dimopoulos MA, Cheung MC, Roussel M, Liu T, Gamberi B, Kolb B, et al. Impact of renal impairment on outcomes with lenalidomide and dexamethasone treatment in the FIRST trial, a randomized, open-label phase 3 trial in transplant-ineligible patients with multiple myeloma. *Haematologica*. 2016;101(3):363-70.
116. Siegel DS, Weisel KC, Dimopoulos MA, Baz R, Richardson P, Delforge M, et al. Pomalidomide plus low-dose dexamethasone in patients with relapsed/refractory multiple myeloma and moderate renal impairment: a pooled analysis of three clinical trials. *Leukemia & lymphoma*. 2016;57(12):2833-8.
117. Scheid C, Sonneveld P, Schmidt-Wolf IG, van der Holt B, el Jarari L, Bertsch U, et al. Bortezomib before and after autologous stem cell transplantation overcomes the negative prognostic impact of renal impairment in newly diagnosed multiple myeloma: a subgroup analysis from the HOVON-65/GMMG-HD4 trial. *Haematologica*. 2014;99(1):148-54.
118. Badros AZ, Vij R, Martin T, Zonder JA, Kunkel L, Wang Z, et al. Carfilzomib in multiple myeloma patients with renal impairment: pharmacokinetics and safety. *Leukemia*. 2013;27(8):1707-14.
119. Dimopoulos MA, Moreau P, Palumbo A, Joshua D, Pour L, Hajek R, et al. Carfilzomib and dexamethasone versus bortezomib and dexamethasone for patients with relapsed or refractory multiple myeloma (ENDEAVOR): a randomised, phase 3, open-label, multicentre study. *The Lancet Oncology*. 2016;17(1):27-38.
120. Zucchelli P, Pasquali S, Cagnoli L, Ferrari G. Controlled plasma exchange trial in acute renal failure due to multiple myeloma. *Kidney Int*. 1988;33(6):1175-80.
121. Clark WF, Stewart AK, Rock GA, Sternbach M, Sutton DM, Barrett BJ, et al. Plasma exchange when myeloma presents as acute renal failure: a randomized, controlled trial. *Annals of internal medicine*. 2005;143(11):777-84.
122. Madore F. Plasmapheresis in cast nephropathy: yes or no? *Curr Opin Nephrol Hypertens*. 2015;24(2):177-82.
123. Burnette BL, Leung N, Rajkumar SV. Renal improvement in myeloma with bortezomib plus plasma exchange. *N Engl J Med*. 2011;364(24):2365-6.
124. Gondouin B, Hutchison CA. High cut-off dialysis membranes: current uses and future potential. *Advances in chronic kidney disease*. 2011;18(3):180-7.
125. Hutchison CA, Bradwell AR, Cook M, Basnayake K, Basu S, Harding S, et al. Treatment of Acute Renal Failure Secondary to Multiple Myeloma with Chemotherapy and Extended High Cut-Off Hemodialysis. *Clinical journal of the American Society of Nephrology : CJASN*. 2009;4(4):745-54.
126. Zannetti BA, Zamagni E, Santostefano M, De Sanctis LB, Tacchetti P, Mancini E, et al. Bortezomib-based therapy combined with high cut-off hemodialysis is highly effective in newly diagnosed multiple myeloma patients with severe renal impairment. *American journal of hematology*. 2015;90(7):647-52.
127. Gerth HU, Pohlen M, Görlich D, Thölking G, Kropff M, Berdel WE, et al. Impact of High-Cut-Off Dialysis on Renal Recovery in Dialysis-Dependent Multiple Myeloma Patients: Results from a Case-Control Study. *PLoS ONE*. 2016;11(5):e0154993.
128. Frank Bridoux BP, Karine Augeul-Meunier, Bruno Royer, Bertrand Joly, Thierry Lamy, Brigitte Kolb, Lofti Benboubker, Bertrand Arnulf, Arnaud Jaccard, Sylvie Chevret and Jean-Paul Femand. Treatment of Myeloma Cast Nephropathy (MCN): A Randomized Trial Comparing

- Intensive Haemodialysis (HD) with High Cut-Off (HCO) or Standard High-Flux Dialyzer in Patients Receiving a Bortezomib-Based Regimen (the MYRE Study, by the Intergroupe Francophone du Myélome (IFM) and the French Society of Nephrology (SFNDT)). *Blood*. 2016;128(22):978.
129. Granger Vallee A, Chenine L, Leray-Moragues H, Patrier L, Cognot C, Cartron G, et al. Online high-efficiency haemodiafiltration achieves higher serum free light chain removal than high-flux haemodialysis in multiple myeloma patients: preliminary quantitative study. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association*. 2011;26(11):3627-33.
  130. Pasquali S, Iannuzzella F, Corradini M, Mattei S, Bovino A, Stefani A, et al. A novel option for reducing free light chains in myeloma kidney: supra-hemodiafiltration with endogenous reinfusion (HFR). *Journal of nephrology*. 2015;28(2):251-4.
  131. Anderson KC, Kyle RA, Dalton WS, Landowski T, Shain K, Jove R, et al. Multiple Myeloma: New Insights and Therapeutic Approaches. *Hematology / the Education Program of the American Society of Hematology American Society of Hematology Education Program*. 2000:147-65.
  132. Kyle RA. Amyloidosis: a convoluted story. *Br J Haematol*. 2001;114(3):529-38.
  133. Schwartz P. Amyloidosis; cause and manifestation of senile deterioration. 1970.
  134. Magnus-Levy A. Bence-Jones Eiweiss und Amyloid *Z Klin Med*. 1931;116:510.
  135. Glenner GG, Terry W, Harada M, Isersky C, Page D. Amyloid fibril proteins: proof of homology with immunoglobulin light chains by sequence analyses. *Science*. 1971;172(3988):1150-1.
  136. Terry WD, Page DL, Kimura S, Isobe T, Osserman EF, Glenner GG. Structural Identity of Bence Jones and Amyloid Fibril Proteins in a Patient with Plasma Cell Dyscrasia and Amyloidosis. *Journal of Clinical Investigation*. 1973;52(5):1276-81.
  137. Eulitz M, Linke R. Amyloid fibrils derived from V-region together with C-region fragments from a lambda II-immunoglobulin light chain (HAR). *Biological chemistry Hoppe-Seyler*. 1985;366(9):907-15.
  138. Klafki HW, Kratzin HD, Pick AI, Eckart K, Karas M, Hilschmann N. Complete amino acid sequence determinations demonstrate identity of the urinary Bence Jones protein (BJP-DIA) and the amyloid fibril protein (AL-DIA) in a case of AL-amyloidosis. *Biochemistry*. 1992;31(12):3265-72.
  139. Cohen AS, Calkins E. Electron microscopic observations on a fibrous component in amyloid of diverse origins. *Nature*. 1959;183(4669):1202-3.
  140. Eanes ED, Glenner GG. X-ray diffraction studies on amyloid filaments. *The journal of histochemistry and cytochemistry : official journal of the Histochemistry Society*. 1968;16(11):673-7.
  141. Chiti F, Dobson CM. Protein misfolding, functional amyloid, and human disease. *Annual review of biochemistry*. 2006;75:333-66.
  142. Jaroniec CP, MacPhee CE, Bajaj VS, McMahon MT, Dobson CM, Griffin RG. High-resolution molecular structure of a peptide in an amyloid fibril determined by magic angle spinning NMR spectroscopy. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2004;101(3):711-6.
  143. Kisilevsky R, Fraser P. Proteoglycans and amyloid fibrillogenesis. *Ciba Foundation symposium*. 1996;199:58-67; discussion 8-72, 90-103.
  144. Nelson SR, Lyon M, Gallagher JT, Johnson EA, Pepys MB. Isolation and characterization of the integral glycosaminoglycan constituents of human amyloid A and monoclonal light-chain amyloid fibrils. *The Biochemical journal*. 1991;275 ( Pt 1):67-73.

145. Pepys MB, Rademacher TW, Amatayakul-Chantler S, Williams P, Noble GE, Hutchinson WL, et al. Human serum amyloid P component is an invariant constituent of amyloid deposits and has a uniquely homogeneous glycostructure. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1994;91(12):5602-6.
146. Tennent GA, Lovat LB, Pepys MB. Serum amyloid P component prevents proteolysis of the amyloid fibrils of Alzheimer disease and systemic amyloidosis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1995;92(10):4299-303.
147. Botto M, Hawkins PN, Bickerstaff MC, Herbert J, Bygrave AE, McBride A, et al. Amyloid deposition is delayed in mice with targeted deletion of the serum amyloid P component gene. *Nat Med*. 1997;3(8):855-9.
148. Mahmood S, Palladini G, Sanchorawala V, Wechalekar A. Update on treatment of light chain amyloidosis. *Haematologica*. 2014;99(2):209-21.
149. Madan S, Dispenzieri A, Lacy MQ, Buadi F, Hayman SR, Zeldenrust SR, et al. Clinical Features and Treatment Response of Light Chain (AL) Amyloidosis Diagnosed in Patients With Previous Diagnosis of Multiple Myeloma. *Mayo Clinic proceedings*. 2010;85(3):232-8.
150. Kyle RA, Therneau TM, Rajkumar SV, Offord JR, Larson DR, Plevak MF, et al. A long-term study of prognosis in monoclonal gammopathy of undetermined significance. *N Engl J Med*. 2002;346(8):564-9.
151. Gertz MA. Immunoglobulin light chain amyloidosis: 2011 update on diagnosis, risk-stratification, and management. *American journal of hematology*. 2011;86(2):180-6.
152. Perfetti V, Casarini S, Palladini G, Vignarelli MC, Klersy C, Diegoli M, et al. Analysis of V(lambda)-J(lambda) expression in plasma cells from primary (AL) amyloidosis and normal bone marrow identifies 3r (lambdaIII) as a new amyloid-associated germline gene segment. *Blood*. 2002;100(3):948-53.
153. Solomon A, Frangione B, Franklin EC. Bence Jones proteins and light chains of immunoglobulins. Preferential association of the V lambda VI subgroup of human light chains with amyloidosis AL (lambda). *J Clin Invest*. 1982;70(2):453-60.
154. Ozaki S, Abe M, Wolfenbarger D, Weiss DT, Solomon A. Preferential expression of human lambda-light-chain variable-region subgroups in multiple myeloma, AL amyloidosis, and Waldenstrom's macroglobulinemia. *Clinical immunology and immunopathology*. 1994;71(2):183-9.
155. Kourelis TV, Dasari S, Theis JD, Ramirez-Alvarado M, Kurtin PJ, Gertz MA, et al. Clarifying immunoglobulin gene usage in systemic and localized immunoglobulin light-chain amyloidosis by mass spectrometry. *Blood*. 2017;129(3):299-306.
156. Abraham RS, Geyer SM, Price-Troska TL, Allmer C, Kyle RA, Gertz MA, et al. Immunoglobulin light chain variable (V) region genes influence clinical presentation and outcome in light chain-associated amyloidosis (AL). *Blood*. 2003;101(10):3801-8.
157. Comenzo RL, Zhang Y, Martinez C, Osman K, Herrera GA. The tropism of organ involvement in primary systemic amyloidosis: contributions of Ig V(L) germ line gene use and clonal plasma cell burden. *Blood*. 2001;98(3):714-20.
158. Stevens FJ. Four structural risk factors identify most fibril-forming kappa light chains. *Amyloid*. 2000;7(3):200-11.
159. Bodi K, Prokaeva T, Spencer B, Eberhard M, Connors LH, Seldin DC. AL-Base: a visual platform analysis tool for the study of amyloidogenic immunoglobulin light chain sequences. *Amyloid*. 2009;16(1):1-8.
160. Schubert MPM, Zucker-Franklin D, Rimon A, Franklin EC. The characterization of soluble amyloid prepared in water. *Journal of Clinical Investigation*. 1968;47(4):924-33.

161. Bellotti V, Stoppini M, Perfetti V, Zorzoli I, Marinone G, Invernizzi R, et al. Use of an anti-idiotypic monoclonal antibody in studying amyloidogenic light chains in cells, urine and fibrils: pathophysiology and clinical implications. *Scandinavian journal of immunology*. 1992;36(4):607-15.
162. Glenner GG, Ein D, Eanes ED, Bladen HA, Terry W, Page DL. Creation of "amyloid" fibrils from Bence Jones proteins in vitro. *Science*. 1971;174(4010):712-4.
163. Linke RP, Tischendorf FW, Zucker-Franklin D, Franklin EC. The formation of amyloid-like fibrils in vitro from Bence Jones Proteins of the VLambdaI subclass. *Journal of immunology* (Baltimore, Md : 1950). 1973;111(1):24-6.
164. Durie BG, Persky B, Soehnlen BJ, Grogan TM, Salmon SE. Amyloid production in human myeloma stem-cell culture, with morphologic evidence of amyloid secretion by associated macrophages. *N Engl J Med*. 1982;307(27):1689-92.
165. Teng J, Russell WJ, Gu X, Cardelli J, Jones ML, Herrera GA. Different types of glomerulopathic light chains interact with mesangial cells using a common receptor but exhibit different intracellular trafficking patterns. *Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology*. 2004;84(4):440-51.
166. Teng J, Turbat-Herrera EA, Herrera GA. An animal model of glomerular light-chain-associated amyloidogenesis depicts the crucial role of lysosomes. *Kidney Int*. 2014;86(4):738-46.
167. Dubrey SW, Cha K, Skinner M, LaValley M, Falk RH. Familial and primary (AL) cardiac amyloidosis: echocardiographically similar diseases with distinctly different clinical outcomes. *Heart (British Cardiac Society)*. 1997;78(1):74-82.
168. Liao R, Jain M, Teller P, Connors LH, Ngoy S, Skinner M, et al. Infusion of light chains from patients with cardiac amyloidosis causes diastolic dysfunction in isolated mouse hearts. *Circulation*. 2001;104(14):1594-7.
169. Brenner DA, Jain M, Pimentel DR, Wang B, Connors LH, Skinner M, et al. Human amyloidogenic light chains directly impair cardiomyocyte function through an increase in cellular oxidant stress. *Circulation research*. 2004;94(8):1008-10.
170. Shi J, Guan J, Jiang B, Brenner DA, Del Monte F, Ward JE, et al. Amyloidogenic light chains induce cardiomyocyte contractile dysfunction and apoptosis via a non-canonical p38alpha MAPK pathway. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010;107(9):4188-93.
171. Marin-Argany M, Lin Y, Misra P, Williams A, Wall JS, Howell KG, et al. Cell Damage in Light Chain Amyloidosis: Fibril internalization, toxicity and cell-mediated seeding. *The Journal of biological chemistry*. 2016;291(38):19813-25.
172. Comenzo RL, Vosburgh E, Simms RW, Bergethon P, Sarnacki D, Finn K, et al. Dose-intensive melphalan with blood stem cell support for the treatment of AL amyloidosis: one-year follow-up in five patients. *Blood*. 1996;88(7):2801-6.
173. Kramer H, Windrum GM. The metachromatic staining reaction. *The journal of histochemistry and cytochemistry : official journal of the Histochemistry Society*. 1955;3(3):227-37.
174. Bancroft JD. Methyl green as a differentiator and counterstain in the methyl violet technique for demonstration of amyloid in fresh cryostat sections. *Stain technology*. 1963;38:336-7.
175. Vassar PS, Culling CF. Fluorescent amyloid staining of casts in myeloma nephrosis. *Archives of pathology*. 1962;73:59-63.
176. Pomerance A, Slavina G, McWatt J. Experience with the sodium sulphate-Alcian Blue stain for amyloid in cardiac pathology. *J Clin Pathol*. 1976;29(1):22-6.

177. Divery P, Florin M. Sur les propriétés optiques de l'amyloïde. *Comptes Rendus des Séances de la Société de Biologie et des Filiales* 1997. p. 1807-10.
178. Cooper JH. Selective amyloid staining as a function of amyloid composition and structure. *Histochemical analysis of the alkaline Congo red, standardized toluidine blue, and iodine methods. Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology.* 1974;31(3):232-8.
179. Picken M, Dogan A, Herrera G. *Amyloid and Related Disorders* 2012.
180. Linke RP. Highly sensitive diagnosis of amyloid and various amyloid syndromes using Congo red fluorescence. *Virchows Archiv : an international journal of pathology.* 2000;436(5):439-48.
181. Puchtler H, Sweat F. Congo red as a stain for fluorescence microscopy of amyloid. *The journal of histochemistry and cytochemistry : official journal of the Histochemistry Society.* 1965;13(8):693-4.
182. Sen S, Basdemir G. Diagnosis of renal amyloidosis using Congo red fluorescence. *Pathol Int.* 2003;53(8):534-8.
183. Linke RP. On typing amyloidosis using immunohistochemistry. Detailed illustrations, review and a note on mass spectrometry. *Progress in histochemistry and cytochemistry.* 2012;47(2):61-132.
184. Clement CG, Truong LD. An evaluation of Congo red fluorescence for the diagnosis of amyloidosis. *Hum Pathol.* 2014;45(8):1766-72.
185. Fernandez-Flores A. Comparative study of Congo red fluorescence and immunohistochemistry in cutaneous amyloidosis. *Romanian journal of morphology and embryology = Revue roumaine de morphologie et embryologie.* 2010;51(4):683-6.
186. Maleszewski JJ. Cardiac amyloidosis: pathology, nomenclature, and typing. *Cardiovascular pathology : the official journal of the Society for Cardiovascular Pathology.* 2015;24(6):343-50.
187. Dember LM. Amyloidosis-associated kidney disease. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN.* 2006;17(12):3458-71.
188. Said SM, Sethi S, Valeri AM, Leung N, Cornell LD, Fidler ME, et al. Renal amyloidosis: origin and clinicopathologic correlations of 474 recent cases. *Clinical journal of the American Society of Nephrology : CJASN.* 2013;8(9):1515-23.
189. Shiiki H, Shimokama T, Yoshikawa Y, Toyoshima H, Kitamoto T, Watanabe T. Renal amyloidosis. Correlations between morphology, chemical types of amyloid protein and clinical features. *Virchows Archiv A, Pathological anatomy and histopathology.* 1988;412(3):197-204.
190. Dikman SH, Churg J, Kahn T. Morphologic and clinical correlates in renal amyloidosis. *Hum Pathol.* 1981;12(2):160-9.
191. Gise H, Mikeler E, Gruber M, Christ H, Bohle A. Investigations on the cause of the nephrotic syndrome in renal amyloidosis. A discussion of electron microscopic findings. *Virchows Arch A Pathol Anat Histol.* 1978;379(2):131-41.
192. Churg J, Grishman E. Ultrastructure of immune deposits in renal glomeruli. *Annals of internal medicine.* 1972;76(3):479-86.
193. Dikman SH, Kahn T, Gribetz D, Churg J. Resolution of renal amyloidosis. *Am J Med.* 1977;63(3):430-3.
194. von Gise H, Helmchen U, Mikeler E, Bruning L, Walther C, Christ H, et al. Correlations between the morphological and clinical findings in a patient recovering from secondary generalised amyloidosis with renal involvement. Light- and electron microscopic investigations on serial biopsies. *Virchows Arch A Pathol Anat Histol.* 1978;379(2):119-29.

195. Lachmann HJ, Booth DR, Booth SE, Bybee A, Gilbertson JA, Gillmore JD, et al. Misdiagnosis of hereditary amyloidosis as AL (primary) amyloidosis. *N Engl J Med*. 2002;346(23):1786-91.
196. Owen-Casey MP, Sim R, Cook HT, Roufosse CA, Gillmore JD, Gilbertson JA, et al. Value of antibodies to free light chains in immunoperoxidase studies of renal biopsies. *J Clin Pathol*. 2014;67(8):661-6.
197. Schonland SO, Hegenbart U, Bochtler T, Mangatter A, Hansberg M, Ho AD, et al. Immunohistochemistry in the classification of systemic forms of amyloidosis: a systematic investigation of 117 patients. *Blood*. 2012;119(2):488-93.
198. Arbustini E, Verga L, Concardi M, Palladini G, Obici L, Merlini G. Electron and immuno-electron microscopy of abdominal fat identifies and characterizes amyloid fibrils in suspected cardiac amyloidosis. *Amyloid*. 2002;9(2):108-14.
199. Walker PD, Cavallo T, Bonsib SM. Practice guidelines for the renal biopsy. *Modern pathology : an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc*. 2004;17(12):1555-63.
200. Picken MM, Herrera GA. The burden of "sticky" amyloid: typing challenges. *Arch Pathol Lab Med*. 2007;131(6):850-1.
201. Palladini G VL, Corona S, Obici L, Morbini P, Lavatelli F, Donadei S, Sarais G, Roggeri L, Foli A, Russo P, Zenone Bragotti L, Paulli M, Magrini U, Merlini G. Diagnostic performance of immuno-electron microscopy of abdominal fat in systemic amyloidoses. *Amyloid*. 2010;17:59-60.
202. Bretschneider A, Burns W, Morrison A. "Pop-off" technic. The ultrastructure of paraffin-embedded sections. *Am J Clin Pathol*. 1981;76(4):450-3.
203. Tennent GA. Isolation and characterization of amyloid fibrils from tissue. *Methods in enzymology*. 1999;309:26-47.
204. Kaplan B, Hrcic R, Murphy CL, Gallo G, Weiss DT, Solomon A. Microextraction and purification techniques applicable to chemical characterization of amyloid proteins in minute amounts of tissue. *Methods in enzymology*. 1999;309:67-81.
205. Layfield R, Bailey K, Dineen R, Mehrotra P, Lowe J, Allibone R, et al. Application of formalin fixation to the purification of amyloid proteins. *Analytical biochemistry*. 1997;253(1):142-4.
206. Murphy CL, Wang S, Williams T, Weiss DT, Solomon A. Characterization of systemic amyloid deposits by mass spectrometry. *Methods in enzymology*. 2006;412:48-62.
207. Lavatelli F, Vrana JA. Proteomic typing of amyloid deposits in systemic amyloidoses. *Amyloid*. 2011;18(4):177-82.
208. Theis JD, Dasari S, Vrana JA, Kurtin PJ, Dogan A. Shotgun-proteomics-based clinical testing for diagnosis and classification of amyloidosis. *Journal of mass spectrometry : JMS*. 2013;48(10):1067-77.
209. Seldin DC, Sanchorawala V. Amyloidomics comes of age. *Blood*. 2012;119(8):1795-6.
210. Vrana JA, Gamez JD, Madden BJ, Theis JD, Bergen HR, 3rd, Dogan A. Classification of amyloidosis by laser microdissection and mass spectrometry-based proteomic analysis in clinical biopsy specimens. *Blood*. 2009;114(24):4957-9.
211. Gilbertson JA, Theis JD, Vrana JA, Lachmann H, Wechalekar A, Whelan C, et al. A comparison of immunohistochemistry and mass spectrometry for determining the amyloid fibril protein from formalin-fixed biopsy tissue. *J Clin Pathol*. 2015;68(4):314-7.

212. Mereuta OM, Theis JD, Vrana JA, Law ME, Grogg KL, Dasari S, et al. Leukocyte cell-derived chemotaxin 2 (LECT2)-associated amyloidosis is a frequent cause of hepatic amyloidosis in the United States. *Blood*. 2014;123(10):1479-82.
213. Francesca Lavatellia AdF, Giovanni Palladinia, Giampaolo Merlini. Systemic amyloidoses and proteomics: The state of the art. *EuPA Open Proteomics*. 2016;11:4-10.
214. Nakanishi T, Ito M, Nirasawa T, Tsuji M, Takubo T. Topologies of amyloidogenic proteins in Congo red-positive sliced sections of formalin-fixed paraffin embedded tissues by MALDI-MS imaging coupled with on-tissue tryptic digestion. *Clinical biochemistry*. 2013;46(15):1595-600.
215. Winter M, Tholey A, Kruger S, Schmidt H, Rocken C. MALDI-mass spectrometry imaging identifies vitronectin as a common constituent of amyloid deposits. *The journal of histochemistry and cytochemistry : official journal of the Histochemistry Society*. 2015;63(10):772-9.
216. Skinner M, Anderson J, Simms R, Falk R, Wang M, Libbey C, et al. Treatment of 100 patients with primary amyloidosis: a randomized trial of melphalan, prednisone, and colchicine versus colchicine only. *Am J Med*. 1996;100(3):290-8.
217. Muchtar E, Dispenzieri A, Lacy MQ, Buadi FK, Kapoor P, Hayman SR, et al. Overuse of organ biopsies in immunoglobulin light chain amyloidosis (AL): the consequence of failure of early recognition. *Annals of medicine*. 2017:1-7.
218. Fentem PH, Turnberg LA, Wormsley KG. Biopsy of the Rectum as an Aid to the Diagnosis of Amyloidosis. *British Medical Journal*. 1962;1(5275):364-7.
219. Duston MA, Skinner M, Meenan RF, Cohen AS. Sensitivity, specificity, and predictive value of abdominal fat aspiration for the diagnosis of amyloidosis. *Arthritis and rheumatism*. 1989;32(1):82-5.
220. Gertz MA, Li CY, Shirahama T, Kyle RA. Utility of subcutaneous fat aspiration for the diagnosis of systemic amyloidosis (immunoglobulin light chain). *Archives of internal medicine*. 1988;148(4):929-33.
221. Libbey CA, Skinner M, Cohen AS. Use of abdominal fat tissue aspirate in the diagnosis of systemic amyloidosis. *Archives of internal medicine*. 1983;143(8):1549-52.
222. van G, II, Hazenberg BP, Bijzet J, van Rijswijk MH. Diagnostic accuracy of subcutaneous abdominal fat tissue aspiration for detecting systemic amyloidosis and its utility in clinical practice. *Arthritis and rheumatism*. 2006;54(6):2015-21.
223. Guidelli GM, Bardelli M, Selvi E, Galeazzi M, De Stefano R. Punch biopsy for fat tissue collection in amyloidosis: is it time to stop needle aspiration? *Rheumatology (Oxford, England)*. 2015;54(11):2109-11.
224. Bogov B, Lubomirova M, Kiperova B. Biopsy of subcutaneous fatty tissue for diagnosis of systemic amyloidosis. *Hippokratia*. 2008;12(4):236-9.
225. Devata S, Hari P, Markelova N, Li R, Komorowski R, Shidham VB. Detection of amyloid in abdominal fat pad aspirates in early amyloidosis: Role of electron microscopy and Congo red stained cell block sections. *CytoJournal*. 2011;8:11.
226. Jamet MP, Gnemmi V, Hachulla E, Dhaenens CM, Bouchindhomme B, Delattre C, et al. Distinctive Patterns of Transthyretin Amyloid in Salivary Tissue: A Clinicopathologic Study of 92 Patients With Amyloid-containing Minor Salivary Gland Biopsies. *Am J Surg Pathol*. 2015;39(8):1035-44.
227. Hachulla E, Janin A, Flipo RM, Saile R, Facon T, Bataille D, et al. Labial salivary gland biopsy is a reliable test for the diagnosis of primary and secondary amyloidosis. A prospective clinical and immunohistologic study in 59 patients. *Arthritis and rheumatism*. 1993;36(5):691-7.

228. Fatihi E, Zahiri K, Hachim K, Fadel H, Benghanem GM, Sqalli S, et al. [Value of the biopsy of accessory salivary glands in amyloidosis]. *La Revue de medecine interne / fondee par la Societe nationale francaise de medecine interne*. 1999;20(9):759-61.
229. Suzuki T, Kusumoto S, Yamashita T, Masuda A, Kinoshita S, Yoshida T, et al. Labial salivary gland biopsy for diagnosing immunoglobulin light chain amyloidosis: a retrospective analysis. *Ann Hematol*. 2016;95(2):279-85.
230. Swan N, Skinner M, O'Hara CJ. Bone Marrow Core Biopsy Specimens in AL (Primary) Amyloidosis. *American Journal of Clinical Pathology*. 2003;120(4):610-6.
231. Huang CY, Wang WJ, Wong CK. Skin biopsy gives the potential benefit in the diagnosis of systemic amyloidosis associated with cardiovascular involvement. *Archives of dermatology*. 1998;134(5):643-5.
232. Kyle RA, Linos A, Beard CM, Linke RP, Gertz MA, O'Fallon WM, et al. Incidence and natural history of primary systemic amyloidosis in Olmsted County, Minnesota, 1950 through 1989. *Blood*. 1992;79(7):1817-22.
233. Real de Asua D, Costa R, Galvan JM, Filigheddu MT, Trujillo D, Cadinanos J. Systemic AA amyloidosis: epidemiology, diagnosis, and management. *Clinical epidemiology*. 2014;6:369-77.
234. Desport E, Bridoux F, Sirac C, Delbes S, Bender S, Fernandez B, et al. AL amyloidosis. *Orphanet journal of rare diseases*. 2012;7:54.
235. Ivanyi B. Renal complications in multiple myeloma. *Acta morphologica Hungarica*. 1989;37(3-4):235-43.
236. Rajkumar SV, Gertz MA, Kyle RA. Primary systemic amyloidosis with delayed progression to multiple myeloma. *Cancer*. 1998;82(8):1501-5.
237. Desikan KR, Dhodapkar MV, Hough A, Waldron T, Jagannath S, Siegel D, et al. Incidence and impact of light chain associated (AL) amyloidosis on the prognosis of patients with multiple myeloma treated with autologous transplantation. *Leukemia & lymphoma*. 1997;27(3-4):315-9.
238. Thakral B, Kanagal-Shamanna R. Systemic AL amyloidosis associated with Waldenstrom macroglobulinemia: an unusual presenting complication. *Blood*. 2016;127(1):168.
239. Cohen AD, Zhou P, Xiao Q, Fleisher M, Kalakonda N, Akhurst T, et al. Systemic AL amyloidosis due to non-Hodgkin's lymphoma: an unusual clinicopathologic association. *Br J Haematol*. 2004;124(3):309-14.
240. Gertz M, Comenzo R, Falk R, Ferman J, Hazenberg B, Hawkins P, et al. Definition of organ involvement and treatment response in immunoglobulin light chain amyloidosis (AL): a consensus opinion from the 10th International Symposium on Amyloid and Amyloidosis, Tours, France, 18-22 April 2004. *American journal of hematology*. 2005;79(4):319-28.
241. Gertz M MG. Definition of organ involvement and response to treatment in AL amyloidosis: An updated consensus opinion. *Amyloid*. 2010;17 (suppl 1):48-9.
242. Larsen CP, Kossmann RJ, Beggs ML, Solomon A, Walker PD. Clinical, morphologic, and genetic features of renal leukocyte chemotactic factor 2 amyloidosis. *Kidney Int*. 2014;86(2):378-82.
243. von Hutten H, Mihatsch M, Lobeck H, Rudolph B, Eriksson M, Rocken C. Prevalence and origin of amyloid in kidney biopsies. *Am J Surg Pathol*. 2009;33(8):1198-205.
244. Gertz MA. Immunoglobulin light chain amyloidosis: 2016 update on diagnosis, prognosis, and treatment. *American journal of hematology*. 2016;91(9):947-56.
245. Kyle RA, Gertz MA. Primary systemic amyloidosis: clinical and laboratory features in 474 cases. *Seminars in hematology*. 1995;32(1):45-59.

246. Gertz MA, Rajkumar SV. Primary systemic amyloidosis. Current treatment options in oncology. 2002;3(3):261-71.
247. Kyle RA, Greipp PR. Amyloidosis (AL). Clinical and laboratory features in 229 cases. Mayo Clinic proceedings. 1983;58(10):665-83.
248. Ekelund L. Radiologic findings in renal amyloidosis. AJR American journal of roentgenology. 1977;129(5):851-3.
249. Cheng Z, Zhu K, Tian Z, Zhao D, Cui Q, Fang Q. The findings of electrocardiography in patients with cardiac amyloidosis. Annals of noninvasive electrocardiology : the official journal of the International Society for Holter and Noninvasive Electrocardiology, Inc. 2013;18(2):157-62.
250. Dispenzieri A, Kyle RA, Gertz MA, Therneau TM, Miller WL, Chandrasekaran K, et al. Survival in patients with primary systemic amyloidosis and raised serum cardiac troponins. Lancet (London, England). 2003;361(9371):1787-9.
251. Palladini G, Campana C, Klersy C, Balduini A, Vadacca G, Perfetti V, et al. Serum N-terminal pro-brain natriuretic peptide is a sensitive marker of myocardial dysfunction in AL amyloidosis. Circulation. 2003;107(19):2440-5.
252. Cueto-Garcia L, Reeder GS, Kyle RA, Wood DL, Seward JB, Naessens J, et al. Echocardiographic findings in systemic amyloidosis: spectrum of cardiac involvement and relation to survival. Journal of the American College of Cardiology. 1985;6(4):737-43.
253. Selvanayagam JB, Hawkins PN, Paul B, Myerson SG, Neubauer S. Evaluation and management of the cardiac amyloidosis. Journal of the American College of Cardiology. 2007;50(22):2101-10.
254. Fikrle M, Paleček T, Kuchynka P, Němeček E, Bauerová L, Straub J, et al. Cardiac amyloidosis: A comprehensive review Cor et Vasa. 2013;55(1):60-75.
255. Falk RH, Plehn JF, Deering T, Schick EC, Jr., Boinay P, Rubinow A, et al. Sensitivity and specificity of the echocardiographic features of cardiac amyloidosis. The American journal of cardiology. 1987;59(5):418-22.
256. Syed IS, Glockner JF, Feng D, Araoz PA, Martinez MW, Edwards WD, et al. Role of cardiac magnetic resonance imaging in the detection of cardiac amyloidosis. JACC Cardiovascular imaging. 2010;3(2):155-64.
257. Phelan D, Collier P, Thavendiranathan P, Popovic ZB, Hanna M, Plana JC, et al. Relative apical sparing of longitudinal strain using two-dimensional speckle-tracking echocardiography is both sensitive and specific for the diagnosis of cardiac amyloidosis. Heart (British Cardiac Society). 2012;98(19):1442-8.
258. Sallach JA, Klein AL. Tissue Doppler imaging in the evaluation of patients with cardiac amyloidosis. Current opinion in cardiology. 2004;19(5):464-71.
259. Lachmann HJ, Gallimore R, Gillmore JD, Carr-Smith HD, Bradwell AR, Pepys MB, et al. Outcome in systemic AL amyloidosis in relation to changes in concentration of circulating free immunoglobulin light chains following chemotherapy. Br J Haematol. 2003;122(1):78-84.
260. Preud'homme JL, Ganeval D, Grünfeld JP, Striker L, Brouet JC. Immunoglobulin synthesis in primary and myeloma amyloidosis. Clinical and Experimental Immunology. 1988;73(3):389-94.
261. Buxbaum J. Aberrant immunoglobulin synthesis in light chain amyloidosis. Free light chain and light chain fragment production by human bone marrow cells in short-term tissue culture. J Clin Invest. 1986;78(3):798-806.

262. Kyle RA, Gertz MA, Greipp PR, Witzig TE, Lust JA, Lacy MQ, et al. A trial of three regimens for primary amyloidosis: colchicine alone, melphalan and prednisone, and melphalan, prednisone, and colchicine. *N Engl J Med.* 1997;336(17):1202-7.
263. Dispenzieri A, Gertz MA, Kyle RA, Lacy MQ, Burritt MF, Therneau TM, et al. Prognostication of survival using cardiac troponins and N-terminal pro-brain natriuretic peptide in patients with primary systemic amyloidosis undergoing peripheral blood stem cell transplantation. *Blood.* 2004;104(6):1881-7.
264. Huang X, Wang Q, Jiang S, Chen W, Zeng C, Liu Z. The clinical features and outcomes of systemic AL amyloidosis: a cohort of 231 Chinese patients. *Clinical Kidney Journal.* 2015;8(1):120-6.
265. Kumar S, Dispenzieri A, Katzmann JA, Larson DR, Colby CL, Lacy MQ, et al. Serum immunoglobulin free light-chain measurement in primary amyloidosis: prognostic value and correlations with clinical features. *Blood.* 2010;116(24):5126-9.
266. Kumar S, Dispenzieri A, Lacy MQ, Hayman SR, Buadi FK, Colby C, et al. Revised Prognostic Staging System for Light Chain Amyloidosis Incorporating Cardiac Biomarkers and Serum Free Light Chain Measurements. *Journal of Clinical Oncology.* 2012;30(9):989-95.
267. Santhorawala V, Skinner M, Quillen K, Finn KT, Doros G, Seldin DC. Long-term outcome of patients with AL amyloidosis treated with high-dose melphalan and stem-cell transplantation. *Blood.* 2007;110(10):3561-3.
268. Palladini G, Dispenzieri A, Gertz MA, Kumar S, Wechalekar A, Hawkins PN, et al. New criteria for response to treatment in immunoglobulin light chain amyloidosis based on free light chain measurement and cardiac biomarkers: impact on survival outcomes. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology.* 2012;30(36):4541-9.
269. Bryce AH, Ketterling RP, Gertz MA, Lacy M, Knudson RA, Zeldenrust S, et al. Translocation t(11;14) and survival of patients with light chain (AL) amyloidosis. *Haematologica.* 2009;94(3):380-6.
270. Weinhold N, Jacobsen A, Schultz N, Sander C, Lee W. Genome-wide analysis of noncoding regulatory mutations in cancer. 2014;46(11):1160-5.
271. Warsame R, Kumar SK, Gertz MA, Lacy MQ, Buadi FK, Hayman SR, et al. Abnormal FISH in patients with immunoglobulin light chain amyloidosis is a risk factor for cardiac involvement and for death. *Blood cancer journal.* 2015;5:e310.
272. Bochtler T, Hegenbart U, Kunz C, Benner A, Kimmich C, Seckinger A, et al. Prognostic impact of cytogenetic aberrations in AL amyloidosis patients after high-dose melphalan: a long-term follow-up study. *Blood.* 2016;128(4):594-602.
273. Bochtler T, Hegenbart U, Kunz C, Granzow M, Benner A, Seckinger A, et al. Translocation t(11;14) is associated with adverse outcome in patients with newly diagnosed AL amyloidosis when treated with bortezomib-based regimens. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology.* 2015;33(12):1371-8.
274. Bochtler T, Hegenbart U, Kunz C, Benner A, Seckinger A, Dietrich S, et al. Gain of chromosome 1q21 is an independent adverse prognostic factor in light chain amyloidosis patients treated with melphalan/dexamethasone. *Amyloid.* 2014;21(1):9-17.
275. Schwartz RS, Cohen JR, Schrier SL. Therapy of primary amyloidosis with melphalan and prednisone. *Archives of internal medicine.* 1979;139(10):1144-7.
276. Benson MD. Treatment of AL amyloidosis with melphalan, prednisone, and colchicine. *Arthritis and rheumatism.* 1986;29(5):683-7.
277. Palladini G, Perfetti V, Obici L, Caccialanza R, Semino A, Adami F, et al. Association of melphalan and high-dose dexamethasone is effective and well tolerated in patients with AL

- (primary) amyloidosis who are ineligible for stem cell transplantation. *Blood*. 2004;103(8):2936-8.
278. Jaccard A, Moreau P, Leblond V, Leleu X, Benboubker L, Hermine O, et al. High-dose melphalan versus melphalan plus dexamethasone for AL amyloidosis. *N Engl J Med*. 2007;357(11):1083-93.
279. Palladini G, Milani P, Foli A, Obici L, Lavatelli F, Nuvolone M, et al. Oral melphalan and dexamethasone grants extended survival with minimal toxicity in AL amyloidosis: long-term results of a risk-adapted approach. *Haematologica*. 2014;99(4):743-50.
280. Dietrich S, Schonland SO, Benner A, Bochtler T, Kristen AV, Beimler J, et al. Treatment with intravenous melphalan and dexamethasone is not able to overcome the poor prognosis of patients with newly diagnosed systemic light chain amyloidosis and severe cardiac involvement. *Blood*. 2010;116(4):522-8.
281. Comenzo RL, Vosburgh E, Falk RH, Santhorawala V, Reisinger J, Dubrey S, et al. Dose-intensive melphalan with blood stem-cell support for the treatment of AL (amyloid light-chain) amyloidosis: survival and responses in 25 patients. *Blood*. 1998;91(10):3662-70.
282. Cibeira MT, Santhorawala V, Seldin DC, Quillen K, Berk JL, Dember LM, et al. Outcome of AL amyloidosis after high-dose melphalan and autologous stem cell transplantation: long-term results in a series of 421 patients. *Blood*. 2011;118(16):4346-52.
283. Dispenzieri A, Lacy MQ, Kyle RA, Therneau TM, Larson DR, Rajkumar SV, et al. Eligibility for hematopoietic stem-cell transplantation for primary systemic amyloidosis is a favorable prognostic factor for survival. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*. 2001;19(14):3350-6.
284. Tsai SB, Seldin DC, Quillen K, Berk JL, Ruberg FL, Meier-Ewert H, et al. High-dose melphalan and stem cell transplantation for patients with AL amyloidosis: trends in treatment-related mortality over the past 17 years at a single referral center. *Blood*. 2012;120(22):4445-6.
285. Hazenberg BPC, Croockewit A, van der Holt B, Zweegman S, Bos GMJ, Delforge M, et al. Extended follow up of high-dose melphalan and autologous stem cell transplantation after vincristine, doxorubicin, dexamethasone induction in amyloid light chain amyloidosis of the prospective phase II HOVON-41 study by the Dutch-Belgian Co-operative Trial Group for Hematology Oncology. *Haematologica*. 2015;100(5):677-82.
286. Wechalekar AD, Goodman HJ, Lachmann HJ, Offer M, Hawkins PN, Gillmore JD. Safety and efficacy of risk-adapted cyclophosphamide, thalidomide, and dexamethasone in systemic AL amyloidosis. *Blood*. 2007;109(2):457-64.
287. Moreau P, Jaccard A, Benboubker L, Royer B, Leleu X, Bridoux F, et al. Lenalidomide in combination with melphalan and dexamethasone in patients with newly diagnosed AL amyloidosis: a multicenter phase 1/2 dose-escalation study. *Blood*. 2010;116(23):4777-82.
288. Dinner S, Witteles W, Afghahi A, Witteles R, Arai S, Lafayette R, et al. Lenalidomide, melphalan and dexamethasone in a population of patients with immunoglobulin light chain amyloidosis with high rates of advanced cardiac involvement. *Haematologica*. 2013;98(10):1593-9.
289. Dispenzieri A, Lacy MQ, Zeldenrust SR, Hayman SR, Kumar SK, Geyer SM, et al. The activity of lenalidomide with or without dexamethasone in patients with primary systemic amyloidosis. *Blood*. 2007;109(2):465-70.
290. Reece DE, Santhorawala V, Hegenbart U, Merlini G, Palladini G, Femand JP, et al. Weekly and twice-weekly bortezomib in patients with systemic AL amyloidosis: results of a phase 1 dose-escalation study. *Blood*. 2009;114(8):1489-97.

291. Kastritis E, Wechalekar AD, Dimopoulos MA, Merlini G, Hawkins PN, Perfetti V, et al. Bortezomib with or without dexamethasone in primary systemic (light chain) amyloidosis. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*. 2010;28(6):1031-7.
292. Venner CP, Lane T, Foard D, Rannigan L, Gibbs SD, Pinney JH, et al. Cyclophosphamide, bortezomib, and dexamethasone therapy in AL amyloidosis is associated with high clonal response rates and prolonged progression-free survival. *Blood*. 2012;119(19):4387-90.
293. Mikhael JR, Schuster SR, Jimenez-Zepeda VH, Bello N, Spong J, Reeder CB, et al. Cyclophosphamide-bortezomib-dexamethasone (CyBorD) produces rapid and complete hematologic response in patients with AL amyloidosis. *Blood*. 2012;119(19):4391-4.
294. Jaccard A, Comenzo RL, Hari P, Hawkins PN, Roussel M, Morel P, et al. Efficacy of bortezomib, cyclophosphamide and dexamethasone in treatment-naïve patients with high-risk cardiac AL amyloidosis (Mayo Clinic stage III). *Haematologica*. 2014;99(9):1479-85.
295. Palladini G, Sachchithanatham S, Milani P, Gillmore J, Foli A, Lachmann H, et al. A European collaborative study of cyclophosphamide, bortezomib, and dexamethasone in upfront treatment of systemic AL amyloidosis. *Blood*. 2015;126(5):612-5.
296. Huang X, Wang Q, Chen W, Zeng C, Chen Z, Gong D, et al. Induction therapy with bortezomib and dexamethasone followed by autologous stem cell transplantation versus autologous stem cell transplantation alone in the treatment of renal AL amyloidosis: a randomized controlled trial. *BMC medicine*. 2014;12:2.
297. Landau H, Hassoun H, Rosenzweig MA, Maurer M, Liu J, Flombaum C, et al. Bortezomib and dexamethasone consolidation following risk-adapted melphalan and stem cell transplantation for patients with newly diagnosed light-chain amyloidosis. *Leukemia*. 2013;27(4):823-8.
298. Wechalekar AD, Hawkins PN, Gillmore JD. Perspectives in treatment of AL amyloidosis. *Br J Haematol*. 2008;140(4):365-77.
299. Arnulf B, Pylypenko H, Grosicki S, Karamanesht I, Leleu X, van de Velde H, et al. Updated survival analysis of a randomized phase III study of subcutaneous versus intravenous bortezomib in patients with relapsed multiple myeloma. *Haematologica*. 2012;97(12):1925-8.
300. Renz M, Torres R, Dolan PJ, Tam SJ, Tapia JR, Li L, et al. 2A4 binds soluble and insoluble light chain aggregates from AL amyloidosis patients and promotes clearance of amyloid deposits by phagocytosis dagger. *Amyloid*. 2016;23(3):168-77.
301. Richards DB, Cookson LM, Berges AC, Barton SV, Lane T, Ritter JM, et al. Therapeutic Clearance of Amyloid by Antibodies to Serum Amyloid P Component. *N Engl J Med*. 2015;373(12):1106-14.
302. Jaccard A, Desport E, Mohty D, Bridoux F. [AL amyloidosis]. *La Revue de medecine interne / fondee par la Societe nationale francaise de medecine interne*. 2015;36(2):89-97.
303. Pardanani A, Witzig TE, Schroeder G, McElroy EA, Fonseca R, Dispenzieri A, et al. Circulating peripheral blood plasma cells as a prognostic indicator in patients with primary systemic amyloidosis. *Blood*. 2003;101(3):827-30.
304. Petruzzello F, Zeppa P, Catalano L, Cozzolino I, Gargiulo G, Musto P, et al. Amyloid in bone marrow smears of patients affected by multiple myeloma. *Ann Hematol*. 2010;89(5):469-74.
305. Petruzzello F, Zeppa P, Ciancia G, Cozzolino I, Fernandez LS, Cervasio M, et al. Cytological and histological detection of amyloid deposits in bone marrow of patients affected by multiple myeloma. *Leukemia & lymphoma*. 2011;52(12):2304-7.

306. Kozłowski P, Montgomery S, Befekadu R, Hahn-Strömberg V. The risk of renal disease is increased in lambda myeloma with bone marrow amyloid deposits. *Journal of Blood Medicine*. 2017;8:29-34.
307. Siragusa S, Morice W, Gertz MA, Kyle RA, Greipp PR, Lust JA, et al. Asymptomatic immunoglobulin light chain amyloidosis (AL) at the time of diagnostic bone marrow biopsy in newly diagnosed patients with multiple myeloma and smoldering myeloma. A series of 144 cases and a review of the literature. *Ann Hematol*. 2011;90(1):101-6.
308. Vela-Ojeda J, Garcia-Ruiz Esparza MA, Padilla-Gonzalez Y, Sanchez-Cortes E, Garcia-Chavez J, Montiel-Cervantes L, et al. Multiple myeloma-associated amyloidosis is an independent high-risk prognostic factor. *Ann Hematol*. 2009;88(1):59-66.
309. Chakraborty R, Gertz MA, Dispenzieri A, Gonsalves WI, Zeldenrust SR, Russell SJ, et al. Natural history of amyloidosis isolated to fat and bone marrow aspirate. *Br J Haematol*. 2016.
310. D'Agati V, Jennette J, Silva F, eds. *Non-Neoplastic Kidney Diseases*. . Atlas of nontumor pathology (Fascicle 4): AFIP-ARP Press; 2005. p. 603-21.
311. Azzopardi JG. Clinicopathologic Conference. A case of plasma cell leukemia. *British Medical Journal*. 1962;1(169).
312. Azzopardi JG, Lehner T. Systemic amyloidosis and malignant disease. *J Clin Pathol*. 1966;19(6):539-48.
313. Friman C, Tornroth T, Wegelius O. IgD myeloma associated with multiple extramedullary amyloid-containing tumours and amyloid casts in the renal tubules. *Annals of clinical research*. 1970;2(2):161-6.
314. Limas C, Wright JR, Matsuzaki M, Calkins E. Amyloidosis and multiple myeloma. A reevaluation using a control population. *Am J Med*. 1973;54(2):166-73.
315. Defronzo RA, Humphrey RL, Wright JR, Cooke CR. Acute renal failure in multiple myeloma. *Medicine*. 1975;54(3):209-23.
316. Melato. Amyloid casts within renal tubules: a singular finding in myelomatosis. *Virchows Arch A Pathol Anat Histol*. 1980.
317. Hill GS, Morel-Maroger L, Mery JP, Brouet JC, Mignon F. Renal lesions in multiple myeloma: their relationship to associated protein abnormalities. *American journal of kidney diseases : the official journal of the National Kidney Foundation*. 1983;2(4):423-38.
318. El-Zoghby Z, Lager D, Gregoire J, Lewin M, Sethi S. Intra-tubular amyloidosis. *Kidney Int*. 2007;72(10):1282-8.
319. Nasr SH, Alobeid BB, Otrakji JA, Markowitz GS. Myeloma cast nephropathy, direct renal infiltration by myeloma, and renal extramedullary hematopoiesis. *Kidney Int*. 2008;73(4):517-8.
320. Sethi S, Hanna MH, Fervenza FC. Unusual casts in a case of multiple myeloma. *American journal of kidney diseases : the official journal of the National Kidney Foundation*. 2009;54(5):970-4.
321. Larsen CP, Borrelli GS, Walker PD. Amyloid proximal tubulopathy: a novel form of light chain proximal tubulopathy. *Clinical Kidney Journal*. 2012;5(2):130-2.
322. Kato H, Fujigaki Y, Asakawa S, Yamaguchi Y, Uozaki H, Komatsuda A, et al. Rapid Deterioration of the Renal Function Caused by the Coexistence of Intratubular Amyloidosis and Myeloma Cast Nephropathy. *Internal medicine*. 2015;54(23):3023-8.
323. Iliuta IA, Garneau AP, Latulippe E, Isenring P. Amyloid cast tubulopathy: a unique form of immunoglobulin-induced renal disease. *Blood Cancer Journal*. 2016;6(9):e474.
324. Melato M, Falconieri G, Pascali E, Pezzoli A. Amyloid casts within renal tubules: a singular finding in myelomatosis. *Virchows Arch A Pathol Anat Histol*. 1980;387(2):133-45.

325. Iliuta I, Garneau AP, Latulippe E, Isenring P. Amyloid cast tubulopathy: a unique form of immunoglobulin-induced renal disease. *Blood cancer journal*. 2016;6(9):e474-.
326. Sharma A, Bansal S, Jain R. Unique morphology of intratubular light chain casts in multiple myeloma: the amyloid cast nephropathy. *Indian journal of pathology & microbiology*. 2014;57(4):629-31.
327. Cross PA, Bartley CJ, McClure J. Amyloid in prostatic corpora amylacea. *Journal of Clinical Pathology*. 1992;45(10):894-7.
328. Rocken C, Linke RP, Saeger W. Corpora amylacea in the lung, prostate and uterus. A comparative and immunohistochemical study. *Pathol Res Pract*. 1996;192(10):998-1006.
329. Takahashi RH, Milner TA, Li F, Nam EE, Edgar MA, Yamaguchi H, et al. Intraneuronal Alzheimer abeta42 accumulates in multivesicular bodies and is associated with synaptic pathology. *The American Journal of Pathology*. 2002;161(5):1869-79.
330. Bohl J, Steinmetz H, Storkel S. Age-related accumulation of congophilic fibrillar inclusions in endocrine cells. *Virchows Archiv A, Pathological anatomy and histopathology*. 1991;419(1):51-8.
331. Takahashi M, Yokota T, Kawano H, Gondo T, Ishihara T, Uchino F. Ultrastructural evidence for intracellular formation of amyloid fibrils in macrophages. *Virchows Archiv A, Pathological anatomy and histopathology*. 1989;415(5):411-9.
332. Bergstrom J, Murphy CL, Weiss DT, Solomon A, Sletten K, Hellman U, et al. Two different types of amyloid deposits--apolipoprotein A-IV and transthyretin--in a patient with systemic amyloidosis. *Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology*. 2004;84(8):981-8.
333. Kjeldsberg CR, Eyre HJ, Totzke H. Evidence for intracellular amyloid formation in myeloma. *Blood*. 1977;50(3):493-504.
334. Kim YS, Cape SP, Chi E, Raffin R, Wilkins-Stevens P, Stevens FJ, et al. Counteracting effects of renal solutes on amyloid fibril formation by immunoglobulin light chains. *The Journal of biological chemistry*. 2001;276(2):1626-33.
335. Souillac PO, Uversky VN, Millett IS, Khurana R, Doniach S, Fink AL. Effect of association state and conformational stability on the kinetics of immunoglobulin light chain amyloid fibril formation at physiological pH. *The Journal of biological chemistry*. 2002;277(15):12657-65.
336. Keeling J, Teng J, Herrera GA. AL-amyloidosis and light-chain deposition disease light chains induce divergent phenotypic transformations of human mesangial cells. *Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology*. 2004;84(10):1322-38.

**AUTEUR : Nom : Gibier**

**Prénom : Jean-Baptiste**

**Date de Soutenance : Mercredi 07 juin 2017**

**Titre de la Thèse : Signification de l'amylose intra-tubulaire au cours de la tubulopathie myélomateuse.**

**Thèse - Médecine - Lille 2017**

**Cadre de classement : DES Anatomie et Cytologie Pathologiques**

**Mots-clés : pathologie rénale, gammopathie monoclonale, tubulopathie myélomateuse, amylose AL, myélome multiple**

**Résumé :**

**Introduction :**

La tubulopathie myélomateuse (TM) est la complication rénale la plus fréquente du myélome multiple. Dans certains cas, les cylindres myélomateux présentent les caractéristiques optiques de l'amylose c'est-à-dire une biréfringence jaune-verte sur la coloration du rouge Congo étudiée en lumière polarisée. Cette amylose intra-tubulaire (AMIT) est actuellement considérée comme une simple variante histologique de TM. Cependant, le lien entre l'AMIT et l'amylose AL systémique n'a pas été correctement investigué.

**Matériel et Méthodes :**

Il s'agit d'une étude observationnelle, rétrospective et multicentrique. Le critère d'inclusion était un diagnostic de TM sur ponction biopsie rénale entre 2002 et 2012. L'ensemble des biopsies rénales et des prélèvements extra-rénaux des patients inclus ont fait l'objet d'une relecture avec réalisation systématique d'une coloration du rouge Congo. Parallèlement, les données cliniques néphrologiques et hématologiques ont été recueillies.

**Résultats :**

Soixante cas de TM ont été inclus. Une AMIT était retrouvée chez 17/60 (28,3%) patients. Elle était plus fréquente chez les patients sécrétant une chaîne légère monoclonale d'isotype  $\lambda$  (13/17 dans le groupe AMIT vs. 19/43 dans le groupe sans AMIT,  $P = 0,024$ ). La présence d'AMIT était associée de manière significative à la mise en évidence d'une amylose AL extra-rénale (5/13 dans le groupe AMIT vs. 0/30 dans le groupe sans AMIT,  $P = 0,001$ ).

**Discussion et conclusion :**

Nos résultats montrent que l'AMIT n'est pas rare au cours de la TM. Sa présence reflète le potentiel amyloïdogène de la chaîne légère monoclonale et entraîne un risque accru d'amylose AL systémique. L'AMIT devrait donc être recherchée systématiquement au cours de la TM et sa détection devrait déclencher un bilan à la recherche d'autres localisations d'une amylose AL systémique.

**Composition du Jury :**

**Président : Madame le Professeur Marie-Christine COPIN**

**Assesseurs : Monsieur le Professeur Thierry FACON  
Monsieur le Professeur Francois GLOWACKI  
Madame le Docteur Viviane GNEMMI**

**Directeur : Monsieur le Docteur David BUOB**