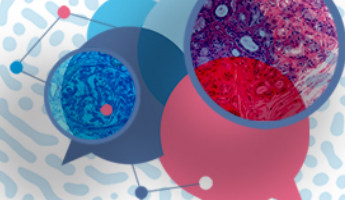


Diagnostic génétique des amyloses : activité d'un centre de référence

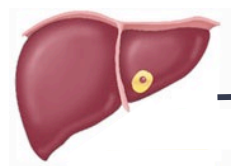
Dr Silvia Oghina - Pr Benoît Funalot
C.H.U. Henri Mondor - Créteil



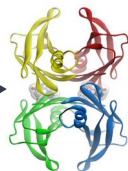
La génétique TTR dans l'amylose

TTR : protéine synthétisée dans le foie, transporteur du RBP et T4

Maladie systémique : système nerveux périphérique, reins, tube digestif, foie, cœur



Foie



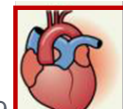
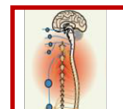
TTR
Tétramérique



Dissociation



TTR
monomérique



ATTR mutée :

La plus fréquente des amyloses héréditaires

Favorise 1. la neuropathie amyloïde familiale

2. l'amylose cardiaque héréditaire à TTR

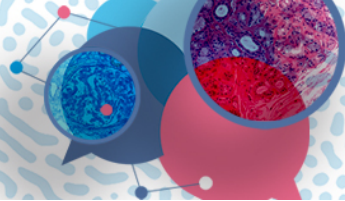
Mutation
TTR +

ATTR mutée

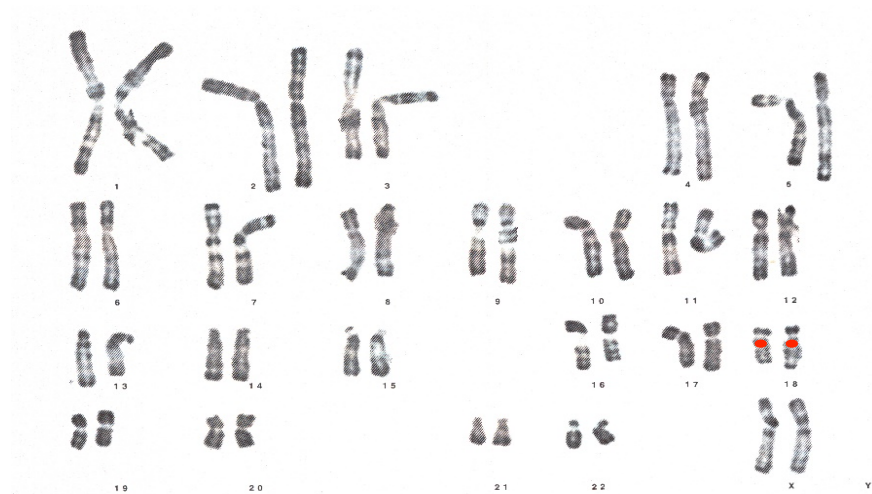
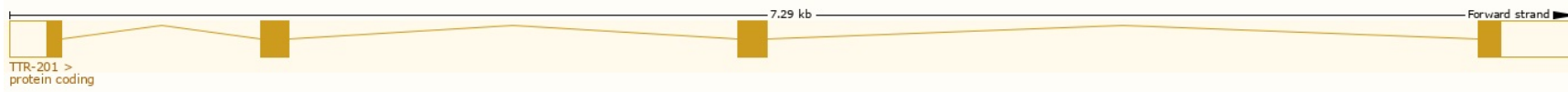


Mutation
TTR -

ATTR séniles



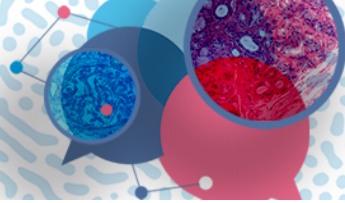
Le gène TTR



Gène : 4 exons, séquence
codante : 444 nucléotides (A, G,
C, or T)

(147 codons + codon Stop)

Protéine : 147 acides aminés
(protéine maturée: 127 a.a.,
les 20 premiers étant clivés)

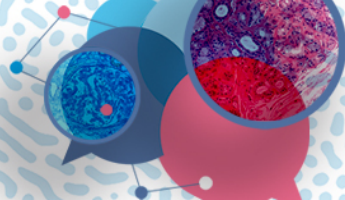


		second base in codon					
		T	C	A	G		
T	T	TTT Phe	TCT Ser	TAT Tyr	TGT Cys	T	C
	T	TTC Phe	TCC Ser	TAC Tyr	TGC Cys	T	C
	T	TTA Leu	TCA Ser	TAA stop	TGA stop	T	A
	T	TTG Leu	TCG Ser	TAG stop	TGG Trp	T	G
C	C	CTT Leu	CCT Pro	CAT His	CGT Arg	T	C
	C	CTC Leu	CCC Pro	CAC His	CGC Arg	T	C
	C	CTA Leu	CCA Pro	CAA Gln	CGA Arg	T	A
	C	CTG Leu	CCG Pro	CAG Gln	CGG Arg	T	G
A	A	ATT Ile	ACT Thr	AAT Asn	AGT Ser	T	A
	A	ATC Ile	ACC Thr	AAC Asn	AGC Ser	T	A
	A	ATA Ile	ACA Thr	AAA Lys	AGA Arg	T	A
	A	ATG Met	ACG Thr	AAG Lys	AGG Arg	T	G
G	G	GTT Val	GCT Ala	GAT Asp	GGT Gly	T	C
	G	GTC Val	GCC Ala	GAC Asp	GGC Gly	T	C
	G	GTA Val	GCA Ala	GAA Glu	GGA Gly	T	A
	G	GTG Val	GCG Ala	GAG Glu	GGG Gly	T	G

Correspondance entre codons et acides aminés
(code génétique)

Amino Acid	3-Letter Code	1-Letter Code
Alanine	Ala	A
Cysteine	Cys	C
Aspartic acid or aspartate	Asp	D
Glutamic acid or glutamate	Glu	E
Phenylalanine	Phe	F
Glycine	Gly	G
Histidine	His	H
Isoleucine	Ile	I
Lysine	Lys	K
Leucine	Leu	L
Methionine	Met	M
Asparagine	Asn	N
Proline	Pro	P
Glutamine	Gln	Q
Arginine	Arg	R
Serine	Ser	S
Threonine	Thr	T
Valine	Val	V
Tryptophan	Trp	W
Tyrosine	Tyr	Y

Les mutations pathogènes (amyloïdogènes) de TTR sont des mutations « **faux sens** » (remplaçant un a.a. par un autre), qui modifient la stabilité conformationnelle (misfolding) de la protéine.



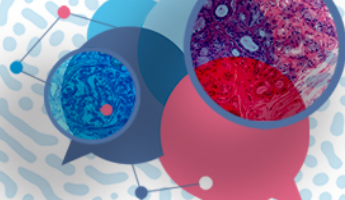
Le gène TTR

Exemples de mutations fréquentes (nomenclature génétique/recommandations ISA) :

- c.148G>A (GTG>ATG) → p.Val50Met (TTRV30M) → Maladie: ATTR V30M
- c.290C>A (TCT>TAT) → p.Ser97Tyr (TTRS77Y) → Maladie: ATTR S77Y
- c.424G>A (GTC>ATC) → p.Val142Ile (TTRV122I) → Maladie: ATTR V122I

Il existe plus de 140 mutations pathogènes identifiées, mais également d'autres variations:

- La plupart **non pathogènes** (bénignes)
- Quelques unes de signification incertaine



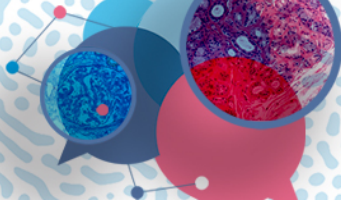
Principe de séquençage

Réalisé à partir d'ADN génomique, extrait habituellement des leucocytes du sang circulant

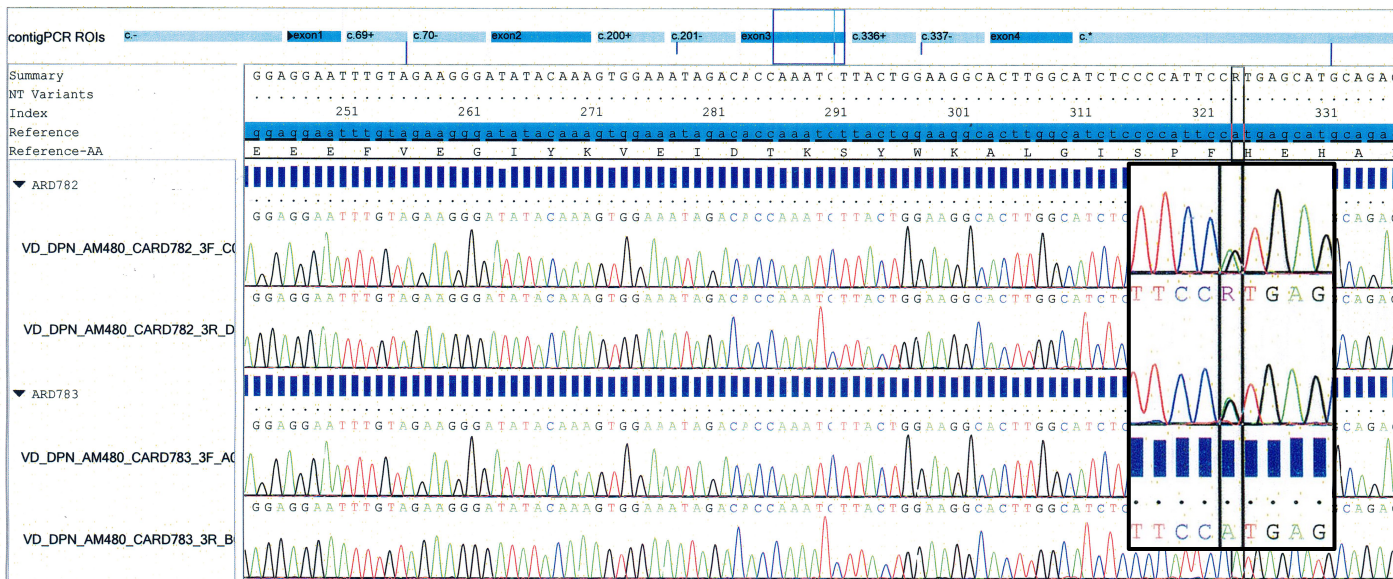
➔ Sang veineux prélevé sur anti-coagulant (EDTA= **bouchon violet**), 5 à 10 ml

Analyse ciblée (Séquençage Sanger TTR) ou panel de gènes d'amyloses (NGS)

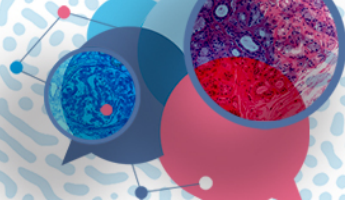
- **Sanger**: Électrophorèse capillaire et séquençage base par base fluorescent
- **"Next Generation Sequencing" (NGS)**: séquençage haut débit et analyse bioinformatique de données massives (« big data »)
 - Switch Sanger ➔ NGS en 2022 à Mondor pour TTR



Principe de séquençage



**c.323A>G → p.His108Arg
(TTRH88R) à l'état
hétérozygote**



Qui peut prescrire l'analyse génétique ?

1/ Un médecin généticien / un conseiller en génétique

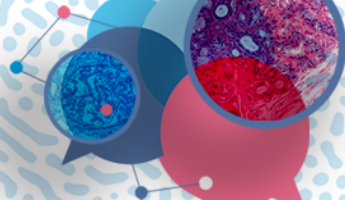
2/ Un médecin non généticien connaissant :

- la situation clinique (maladie, PEC thérapeutique)
- les conséquences familiales
- et capable d'en interpréter/expliquer le résultat

Ce médecin doit travailler en relation avec une équipe de génétique clinique (afin de pouvoir référer le patient/ses apparentés asymptomatiques).

Information du patient avant la prescription du test génétique

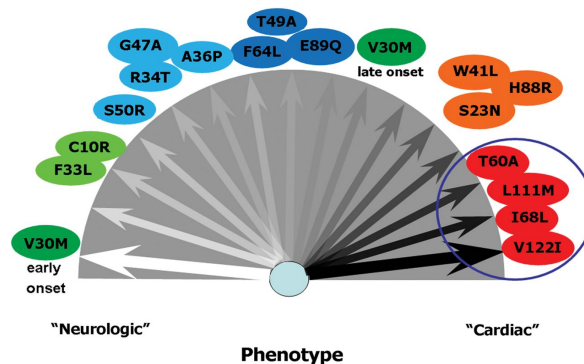
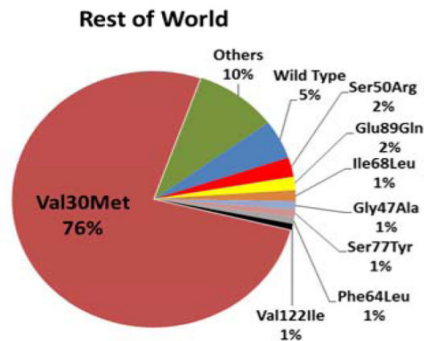
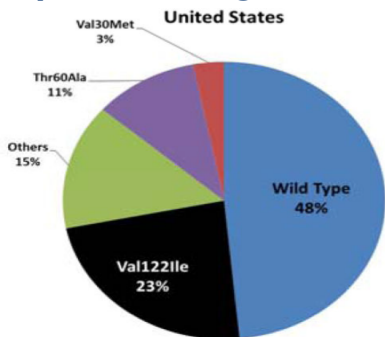
- Finalité du test (diagnostique, étude familiale, thérapeutique, ...), Spécificité de la maladie
- Possibilité de prévention, de traitement, de DPN éventuellement
- Droit de ne pas recourir au test, de connaître ou non les résultats
- Modalité de communication du résultat
- L'information à la parentèle



Epidémiologie de la génétique TTR

Accès facile au séquençage du gène TTR → meilleure connaissance de la maladie
(corrélation génotype / phénotype)

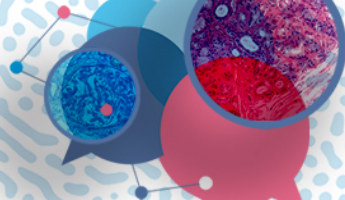
Epidémiologie en France mal connue



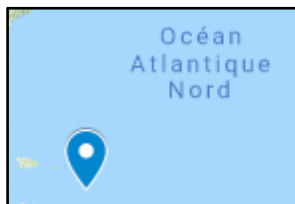
Rapezzi et al., Eur Heart J 2013 Feb;34(7):520-8
Maurer et al., J Am Coll Cardiol. 2016 Jul 12;68(2):161-172

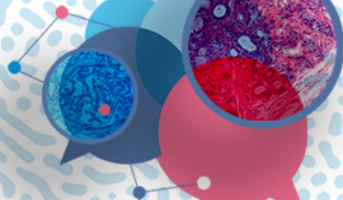
Centre de Référence des Amyloses Cardiaques :

- Patients adressés de la France entière
- Séquençage TTR pour toute suspicion d'amylose (neurologique ou cardiaque)



Lieu de prélèvement des tests génétiques TTR





Activité de génétique TTR

5941 prélèvements de 2010 à 12/2021
➔ Augmentation linéaire du nombre de prélèvements

The **NEW ENGLAND**
JOURNAL *of* **MEDICINE**

ESTABLISHED IN 1812

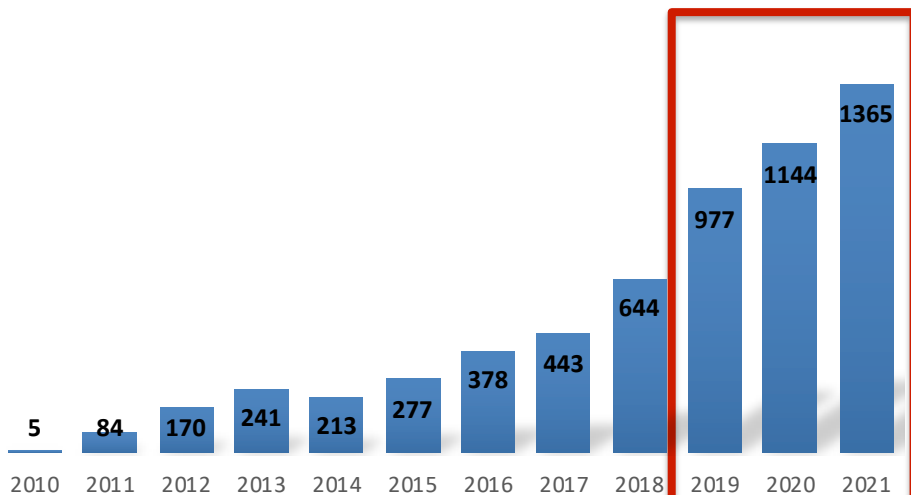
SEPTEMBER 13, 2018

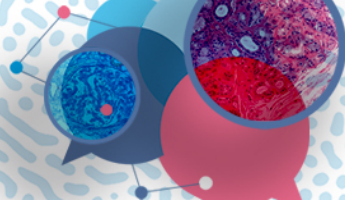
VOL. 379 NO. 11

Tafamidis Treatment for Patients with Transthyretin Amyloid Cardiomyopathy

Mathew S. Maurer, M.D., Jeffrey H. Schwartz, Ph.D., Balarama Gundapaneni, M.S., Perry M. Elliott, M.D., Giampaolo Merlini, M.D., Ph.D., Marcia Waddington-Cruz, M.D., Arnt V. Kristen, M.D., Martha Grogan, M.D., Ronald Wittles, M.D., Thibaud Damy, M.D., Ph.D., Brian M. Drachman, M.D., Sanjiv J. Shah, M.D., Mazen Hanna, M.D., Daniel P. Judge, M.D., Alexandra I. Barsdorf, Ph.D., Peter Huber, R.Ph., Terrell A. Patterson, Ph.D., Steven Riley, Pharm.D., Ph.D., Jennifer Schumacher, Ph.D., Michelle Stewart, Ph.D., Marla B. Sultan, M.D., M.B.A., and Claudio Rapezzi, M.D., for the ATTR-ACT Study Investigators*

Nombre de Sanger TTR réalisés par année



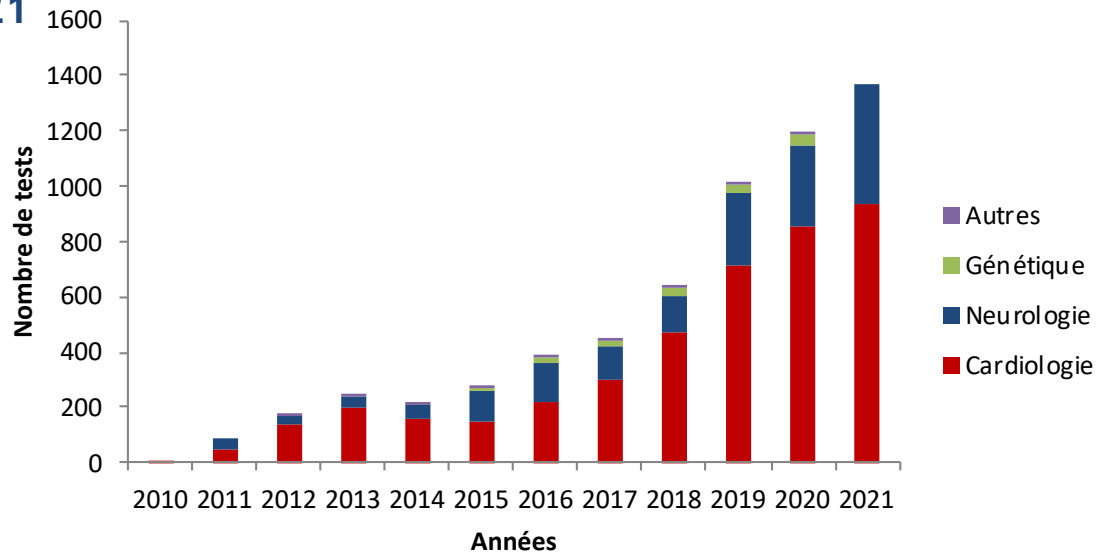


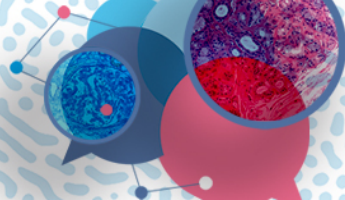
Activité de génétique TTR

5941 prélèvements de 2010 à 12/2021

→ Augmentation linéaire du nombre de prélèvements

En particulier, prescrits par des cardiologues





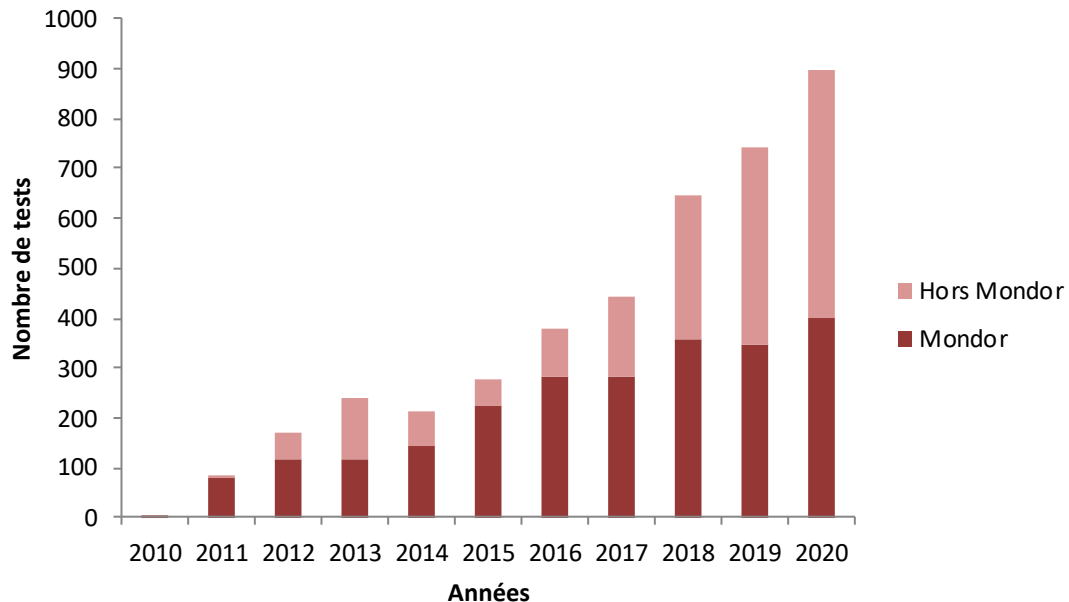
Activité de génétique TTR

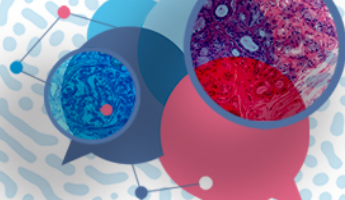
5941 prélèvements de 2010 à 12/2021

➔ Augmentation linéaire du nombre de prélèvements

En particulier, prescrits par des cardiologues

Augmentation des analyses demandées par des prescripteurs hors du Centre de Référence

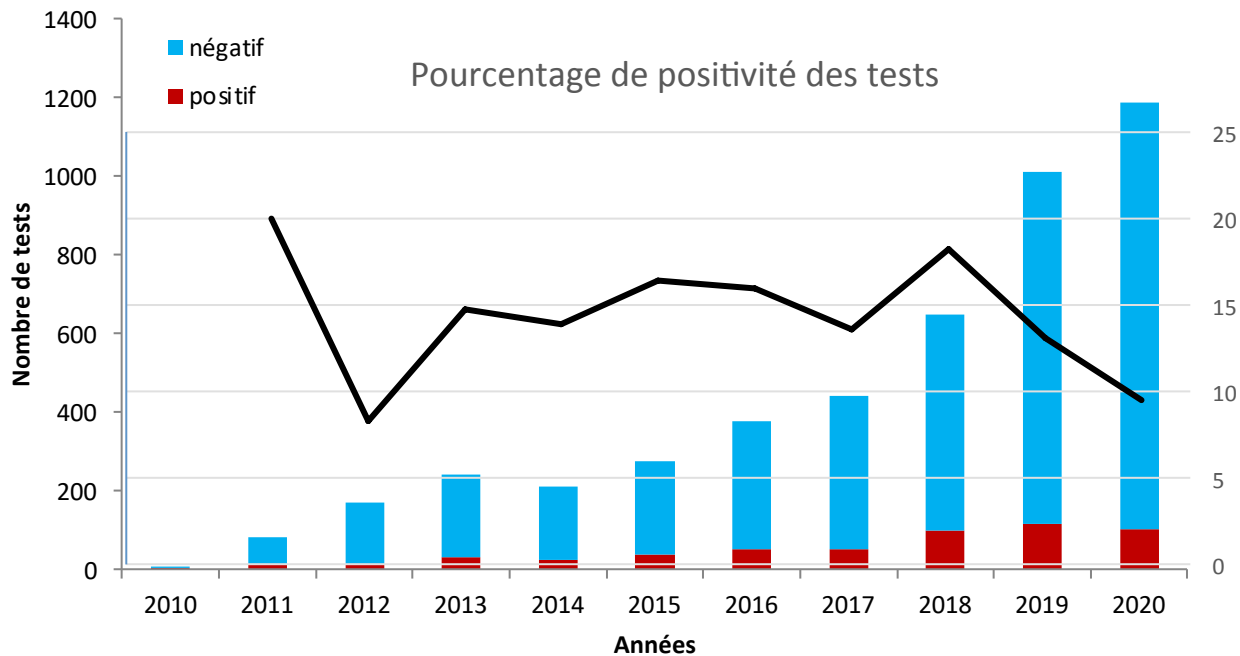
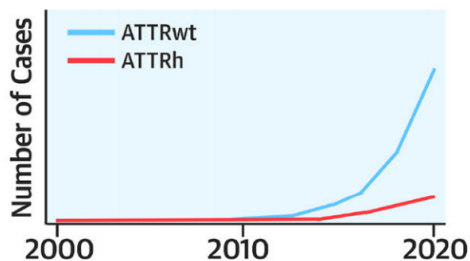


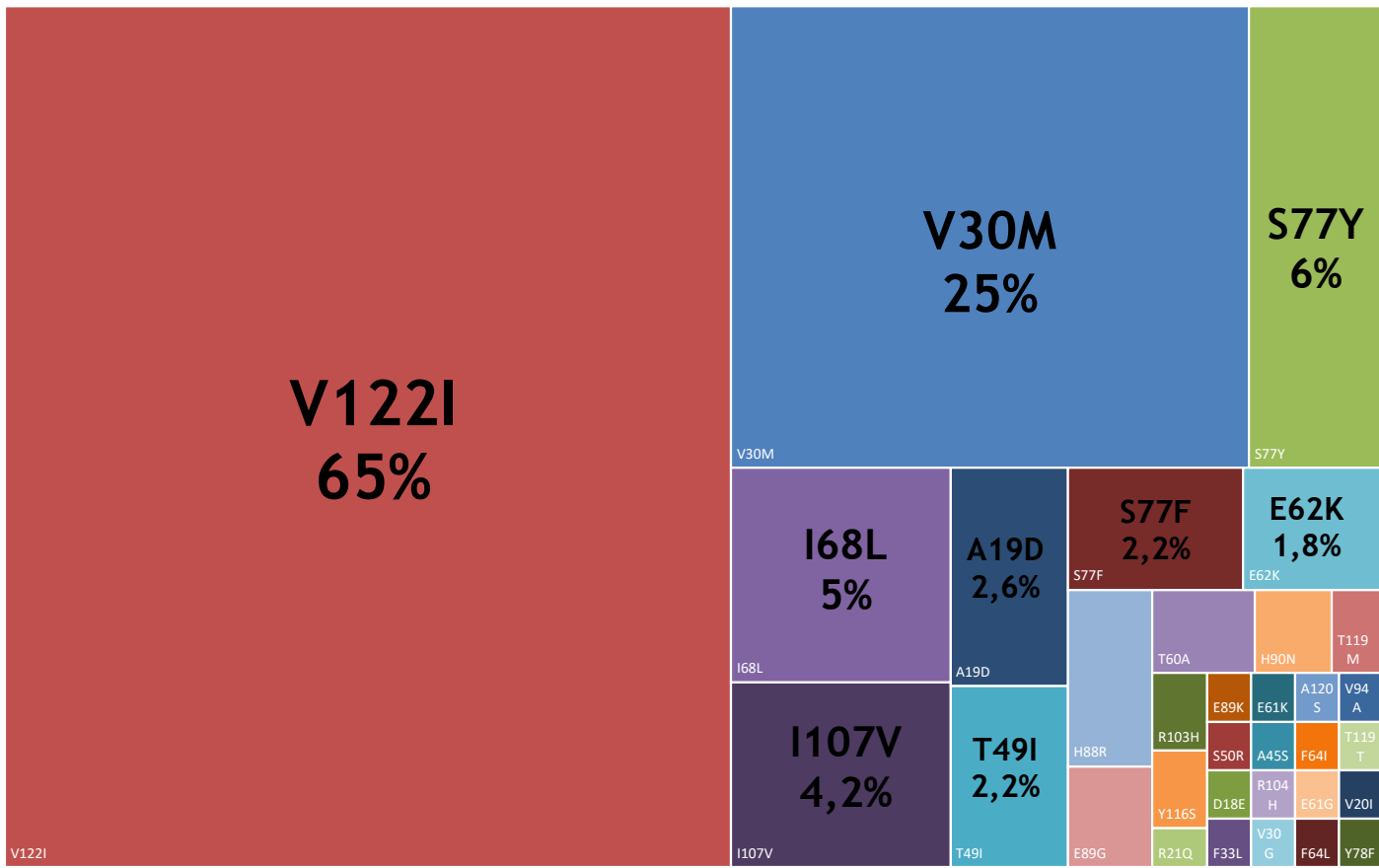
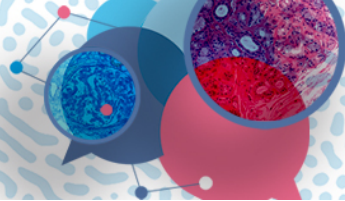


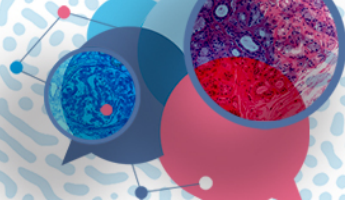
Activité de génétique TTR

Augmentation du nombre de
prélèvements négatifs

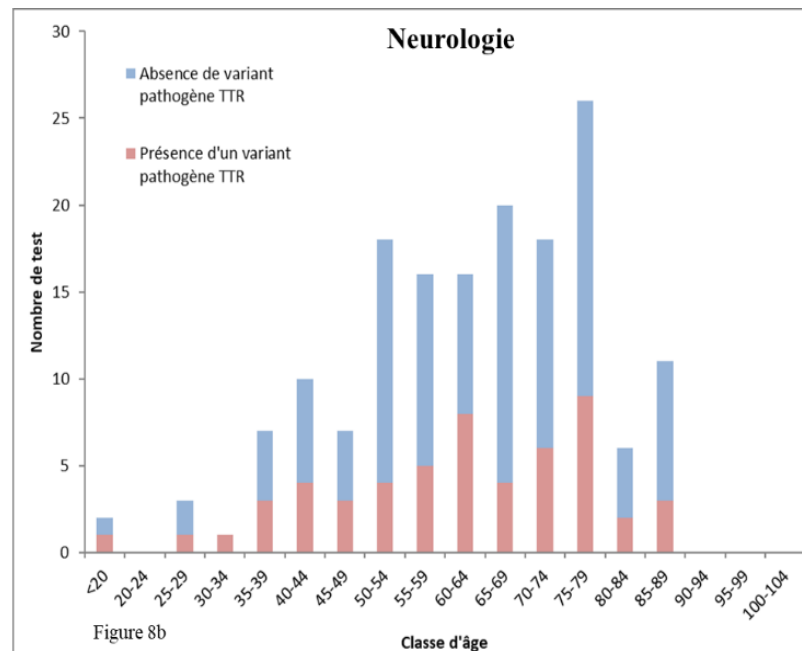
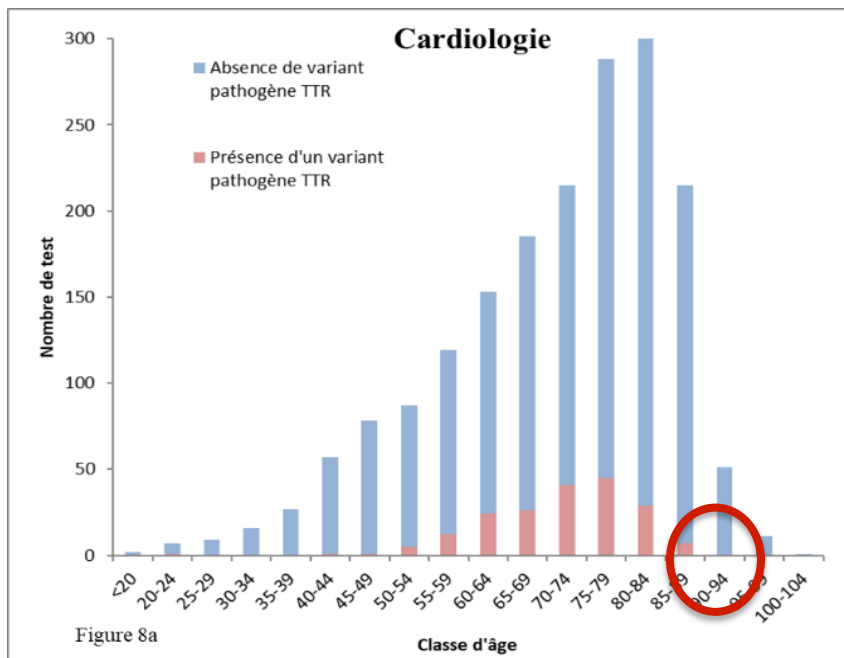
Recognition of ATTR-CM

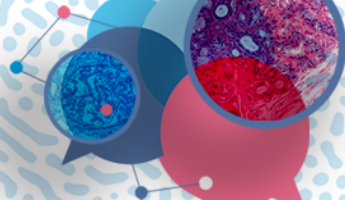






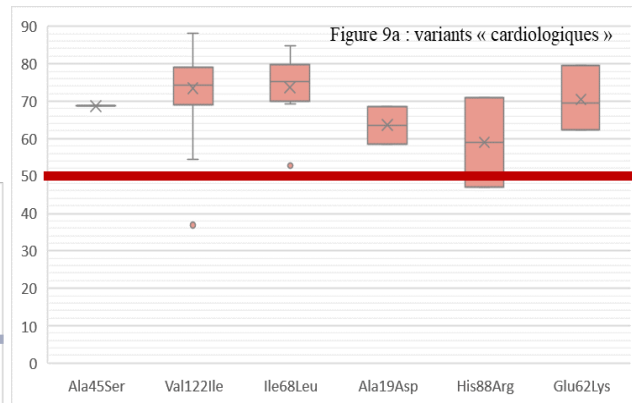
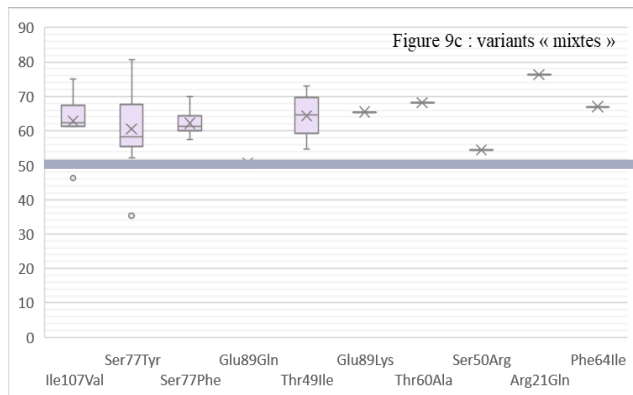
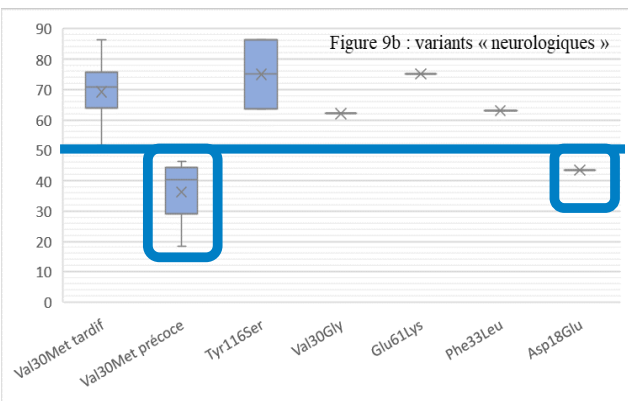
Activité de génétique TTR

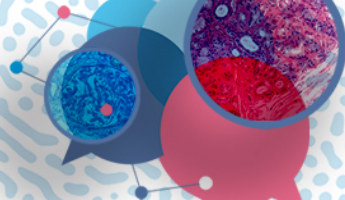




Activité de génétique TTR à Mondor

Age moyen des ATTR mutés au diagnostic en fonction du phénotype

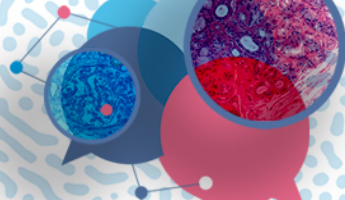




Activité de génétique non TTR

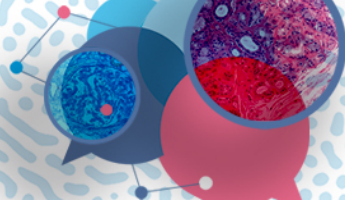
Diagnostic des autres amyloses héréditaires via :

- **Panel de gènes (NGS « amyloses ») :**
 - ApoA1, ApoA2, ApoA4, ApoC1, ApoC2, ApoC3, ApoC4
 - B2M : beta 2 microglobuline
 - FGA : fibrinogen alpha chain
 - GSN : gelsolin
 - IGKC, IGCL1, IGCL2 : immunoglobulin kappa constant and light chain
 - LYZ : lysozyme
- **Beaucoup plus rare (<1%)**
- **Intérêt d'une prise en charge multi-disciplinaire**
 - Anapath, spectrométrie de masse, génétique



Importance du conseil génétique

- **Pour les patients atteints de formes génétiques d'amylose**
 - information sur le mode de transmission, les apparentés à prévenir
- **Pour les apparentés**
 - Risque d'être porteur de mutation
 - Possibilité de diagnostic présymptomatique (mutation identifiée chez un apparenté atteint)
 - Intérêt d'une surveillance clinique pour les porteurs et les personnes ne souhaitant pas connaître leur statut génétique
- **Démarche multi-disciplinaire de diagnostic présymptomatique, en plusieurs temps**
 - Généticien ou conseiller en génétique
 - Médecin spécialiste expert de la maladie
 - Psychologue

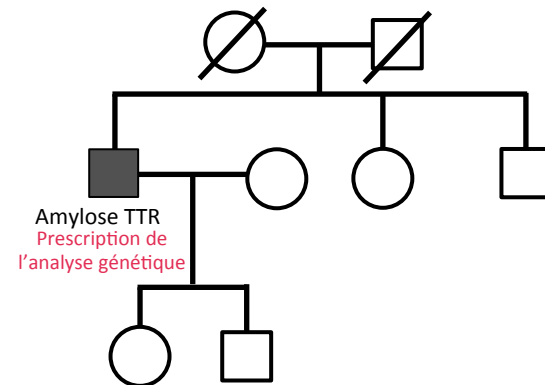


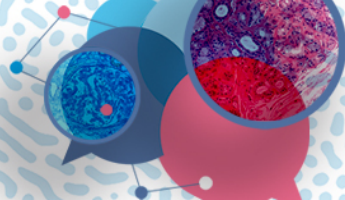
Diagnostic pré symptomatique

Se fait chez les apparentés (au premier degré)
asymptomatiques

*Une personne est dite asymptomatique lorsqu'elle
n'a aucune signe clinique permettant d'évoquer la
maladie recherchée*

Ne peut être envisagé que si le diagnostic est connu de
façon certaine chez un membre de la famille
Et... si une mutation est identifiée chez un apparenté.



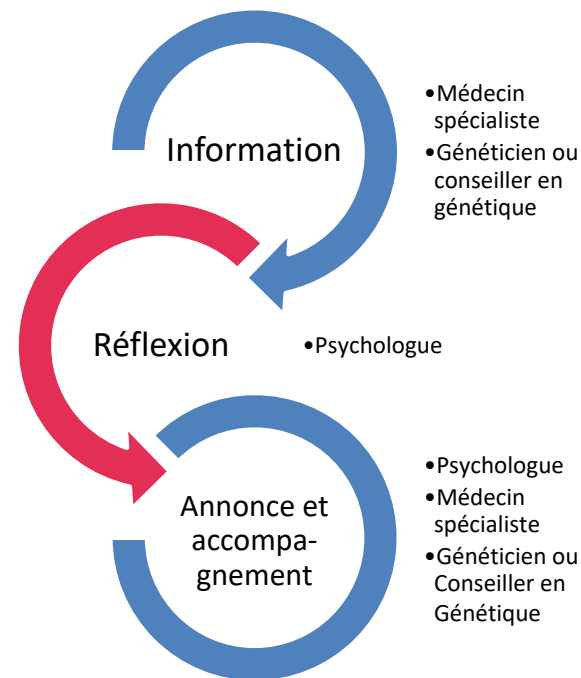


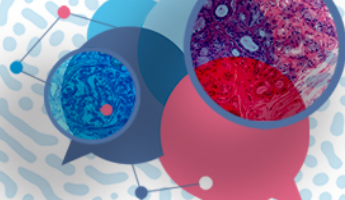
Diagnostic pré symptomatique

Quatre étapes successives sont proposées :

1. Une phase d'information
2. Une phase de réflexion
3. L'annonce du résultat du test
4. Une prise en charge adaptée après l'annonce

TEMPS +++



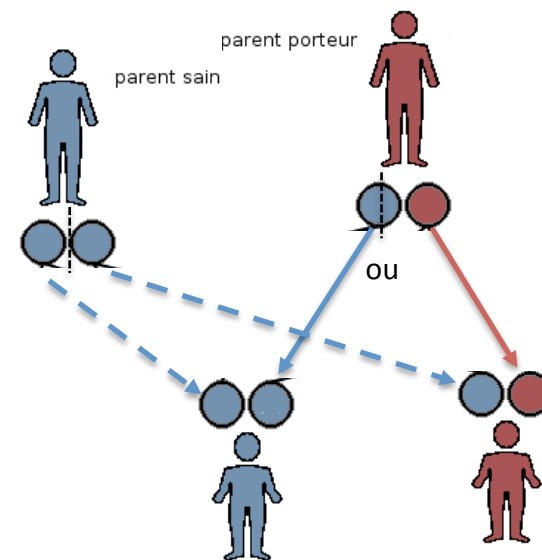


Diagnostic pré symptomatique

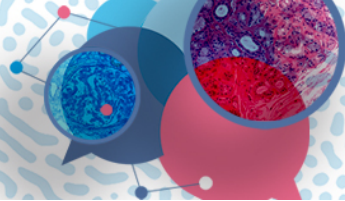
Intérêt du DPS :

- Risque de transmission
- Expression et Pénétrance
- Bénéfice du test

Rôle du conseiller en génétique dans
l'accompagnement dans le parcours de soin



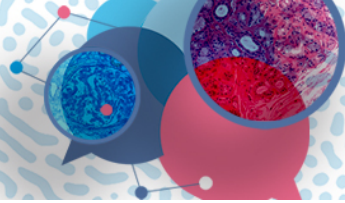
50% de risque d'hériter
de la mutation



Diagnostic pré symptomatique

**Le DPS pour les
Amyloses TTR :**
quelques
particularités
à prendre en
compte dans
l'information

- Risque élevée de développer la maladie dans le futur sans que ce risque soit de 100% à 80 ans
- Surveillance adaptée
- Possibilité de traitement aux premiers signes de la maladie



Diagnostic pré symptomatique

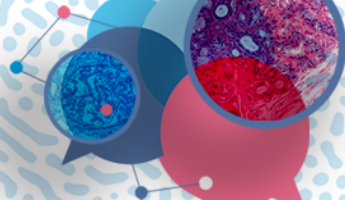
Quels bénéfices
pour les
apparentés ?

Apparenté non porteur de la mutation familiale

- Mettre fin à une surveillance inutile
- Rassurer la descendance de l'apparenté vis-à-vis de leur risque d'être porteur

Apparenté porteur de la mutation familiale

- Surveillance personne à risque
- Traitement précoce
- Poursuite enquête familiale dans la descendance



Diagnostic pré symptomatique

Concerne les « *anomalie génétique pouvant être responsable d'une affection grave justifiant de mesures de prévention, y compris de conseil génétique, ou de soins* »

L'information de
la parentèle :
une obligation
légale

R. 1131-20-1 à R.
1131-20-5

Pour le prescripteur de l'analyse génétique

Pour le patient

AVANT l'analyse

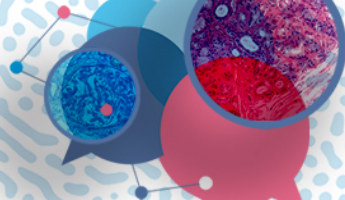
- Expliquer au patient les modalités de l'information familiale
- le mettre par écrit pour le patient

APRES l'analyse

- Attester du rendu de résultat en consultation
- **Établir la liste des apparentés à informer**

AU RENDU de
RESULTAT:

- Obligation d'informer ses apparentés concernées par l'information génétique



En conclusion

> Augmentation du nbre de prélèvement : meilleure reconnaissance de la maladie au cours des 10 dernières années

- Cardiologues ++
- Meilleur dépistage d'une cause héréditaire et rare de CMP : moins d'errance diagnostique pour les apparentés

> Maladie génétique à révélation tardive (> 50 ans) dans les formes cardiologiques :

- V122I
- Répartition gaussienne de l'âge du diagnostic dans la population cardiologique après 60 ans (et jusqu'à > 90 ans)
- ATTR mutée la plus âgée : 93 ans

> Age de début plus variable si phénotype neurologique en fonction des variants

Importance du DPS