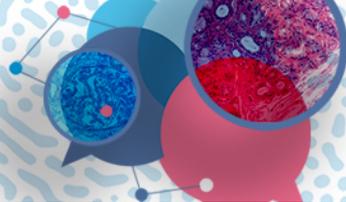


1<sup>er</sup> CONGRÈS  
FRANCOPHONE  
MULTIDISCIPLINAIRE  
DE  
L'AMYLOSE

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



Vendredi 17 juin 2022  
Espace Saint-Martin ■ PARIS  
[www.congres-amylose.com](http://www.congres-amylose.com)



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

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



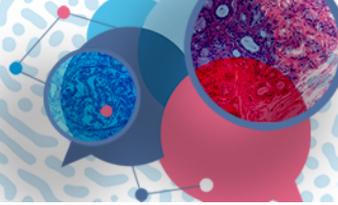
AP-HP.  
Hôpitaux universitaires  
Henri-Mondor



**cardiogen**  
filère nationale de santé  
maladies cardiaques héréditaires ou rares  
[www.filere-cardiogen.fr](http://www.filere-cardiogen.fr)



SOCIÉTÉ FRANÇAISE DE CARDIOLOGIE  
Groupe  
Insuffisance Cardiaque  
& Cardiomyopathies



# La génétique des amyloses

Table 1. Amyloid fibril proteins and their precursors in human\*.

Fibril protein	Precursor protein	Systemic and/or localised	Acquired or hereditary	Target organs
AL	Immunoglobulin light chain	S, L	A, H	All organs, usually except CNS
AH	Immunoglobulin heavy chain	S, L	A	All organs except CNS
AA	(Apo) serum amyloid A	S	A	All organs except CNS
ATTR	Transthyretin, wild type	S	A	Heart mainly in males, lung, ligaments, tenosynovium
	Transthyretin, variants	S	H	PNS, ANS, heart, eye, leptomeninges
Aβ2M	β2-microglobulin, wild type	S	A	Musculoskeletal system
	β2-microglobulin, variants	S	H	ANS
AapoA1	Apolipoprotein A I, variants	S	H	Heart, liver, kidney, PNS, testis, larynx (C terminal variants), skin (C terminal variants)
AapoAII	Apolipoprotein A II, variants	S	H	Kidney
AapoAIV	Apolipoprotein A IV, wild type	S	A	Kidney medulla and systemic
AapoCII	Apolipoprotein C II, variants	S	H	Kidney
AapoCIII	Apolipoprotein C III, variants	S	H	Kidney
Agel	Gelsolin, variants	S	H	Kidney PNS, cornea
ALys	Lyszyme, variants	S	H	Kidney
ALECT2	Leukocyte chemotactic factor-2	S	A	Kidney, primarily
AFib	Fibrinogen α <sub>2</sub> variants	S	H	Kidney, primarily
ACys	Cystatin C, variants	S	H	CNS, PNS, skin
ABri	ABripP, variants	S	H	CNS
ADan <sup>b</sup>	ADanPP, variants	L	H	CNS
Aβ	Aβ protein precursor, wild type	L	A	CNS
	Aβ protein precursor, variant	L	H	CNS
AzSyn	α-Synuclein	L	A	CNS
ATau	Tau	L	A	CNS
APrP	Prion protein, wild type	L	A	CJD, fatal insomnia
	Prion protein variants	L	H	CJD, GSS syndrome, fatal insomnia
	Prion protein variant	S	H	PNS
Acal	(Pro)calcitonin	L	A	C-cell thyroid tumours
AIAAP	Islet amyloid polypeptide <sup>c</sup>	S	A	Kidney
AAANF	Atrial natriuretic factor	L	A	Islets of Langerhans, insulinomas
APro	Prolactin	L	A	Cardiac atria
APit	Pituitary prolactinomas, aging pituitary	L	A	Pituitary prolactinomas, aging pituitary
AIIns	Insulin	L	A	Iatrogenic, local injection
ASPC <sup>d</sup>	Lung surfactant protein	L	A	Lung
ACor	Corneodesmosin	L	A	Corneal epithelia, hair follicles
AMed	Lactadherin	L	A	Senile aortic media
AKer	Kerato-epithelin	L	A	Cornea, hereditary
ALac	Lactoferrin	L	A	Cornea
AOAAP	Odontogenic ameloblast-associated protein	L	A	Odontogenic tumours
ASem1	Semenogelin 1	L	A	Vesicula seminalis
AEnf	Entoferrin	L	A	Iatrogenic
ACatp <sup>e</sup>	Cathepsin K	L	A	Tumour associated
AEFEMP1*	EGF-containing fibulin-like extracellular matrix protein 1 (EFEMP1)	L	A	Portal veins Aging associated

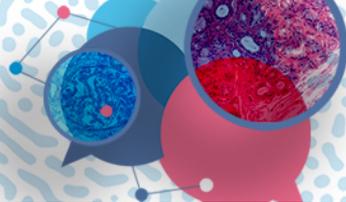
Table 2. List of mutations associated with hereditary amyloidoses with renal involvement

Gene (amyloidosis)	Mutation name (incl. signal peptide)	Sequence variant (mRNA)	Codon change	Location	Reported phenotype	Ethnic group
TTR (ATTR)	Val30Leu (p.Val30Leu)	c.148G>C	GTG>CTG	Exon 2	AN, H, K, PN	Japanese, American
	Phe33Cys (p.Phe33Cys)	c.158T>G	TTC>TGC	Exon 2	CIS, E, K, H	American
	Gly67Glu (p.Gly67Glu)	c.208G>A	GGG>GAG	Exon 2	H, K, PN	German, Italian
	Ser32Pro (p.Ser32Pro)	c.214T>C	TCT>CCG	Exon 3	AN, H, K, PN	French, German, American (IL, TX)
	Ser77Tyr (p.Ser77Tyr)	c.290C>A	TCT>TAT	Exon 3	H, K, PN	
	Met517_Phe523delinsGlnSer6728 (p.Met536_Phe540delinsGlnSer6728)	c.1606_1620 delATTGTTAAGGA	delATTGTTAAGGA	Frame shift	5' end of exon 5	K
FGA (AFib)	Phe523Ser6727 (p.Phe540Ser6727)	c.1619_1622delTTGGT	Frame shift	5' end of exon 5	K	Arab
	Val222Ala6727 (p.Val541Ala6727)	c.626A>G	Frame shift	5' end of exon 5	K	French
	Glu524Glu6725 (p.Glu543Glu6725)	c.1629delG	Frame shift	5' end of exon 5	K	American
	Glu524Lys (p.Glu543Lys)	c.1627G>A	GAG>AAG	5' end of exon 5	K	Caucasian
	Thr525Thr6724 (p.Glu544Thr6724)	c.1632delAT	Frame shift	5' end of exon 5	K	Chinese
	Glu526Lys (p.Glu545Lys)	c.1633G>A	GAG>AAG	5' end of exon 5	K	Russian
	Glu526Val (p.Glu545Val)	c.1634A>T	GAG>GTG	5' end of exon 5	K	Northern European
	Thr538Lys (p.Thr557Lys)	c.1670K>A	ACA>AAA	5' end of exon 5	K	Chinese
	Glu540Val (p.Glu559Val)	c.1676A>T	GAA>GTA	5' end of exon 5	K	German
	Pro552His (p.Pro571His)	c.1712C>A	CCT>CAT	5' end of exon 5	K	Afro-Caribbean
	Arg554Leu (p.Arg573Leu)	c.1718G>T	CGT>CTT	5' end of exon 5	K	Persian, African
	Gly555Phe (p.Gly574Phe)	c.1720_1721delinsTT	GGT>TTT	5' end of exon 5	K	American
	Gly26Arg (p.Gly50Arg)	c.148G>C	GGC>CGC	Exon 3	K, L, PN	Northern European
	Glu34Lys (p.Glu58Lys)	c.172G>A	GAA>AAA	Exon 3	K	Polish
	Trp50Arg (p.Trp74Arg)	c.220T>C	TGG>CCG	Exon 4	K, L	Jewish (Ashkenazi)
Trp50Arg (p.Trp74Arg)	c.220T>A	TGG>AGG	Exon 4	K	Danish	
Leu60Arg (p.Leu84Arg)	c.251T>G	CTG>CGG	Exon 4	K, L, H	British, Irish	
Leu60Pro (p.Leu88Pro)	c.252G>T	CTC>CCC	Exon 4	K	Canadian-Italian	
Glu70_Trp24del (p.Glu94_Trp96del)	c.280_288del	delGAGTCTCTGG	Exon 4	K	British	
Asn74Lys <sup>106</sup> (p.Asn98Lys <sup>106</sup> )	c.293_294insA	Frame shift	Exon 4	K	German	
Leu73Pro (p.Leu99Pro)	c.296T>C	CTG>CCG	Exon 4	K	Italian Other	
Ala156Gly6748 (p.Ala154Gly6748)	c.532_333delpGC	Frame shift	Exon 4	K, PN	German	
His155Met6746 (p.His179Met6746)	c.535delC	Frame shift	Exon 4	K, PN	British	
*78Argent <sup>21</sup> (p.*101Argent <sup>21</sup> )	c.301T>A	TGA>AGA	Exon 4	K	Spanish	
*78Argent <sup>21</sup> (p.*101Argent <sup>21</sup> )	c.301T>C	TGA>TGA	Exon 4	K	Armenian	
*78Cyeat <sup>21</sup> (p.*101Cyeat <sup>21</sup> )	c.302G>G	TGA>CGA	Exon 4	K	American	
*78Cyeat <sup>21</sup> (p.*101Cyeat <sup>21</sup> )	c.302G>C	TGA>TCA	Exon 4	K	Caucasian	
ILZ3 (ALys)	Ile56Thr (p.Ile674Thr)	c.221T>C	ATA>ACA	Exon 2	K, pectetalia	British
	Phe57His (p.Phe51His)	c.222S>A	TTT>ATT	Exon 2	Italian Canadian	British
	Trp64Arg (p.Trp82Arg)	c.244T>C	TGG>CGG	Exon 2	K, GI, sicca syndrome	French
	Asp67His (p.Asp85His)	c.253G>C	GAT>CAT	Exon 2	K, GI, L, S, sicca syndrome	British
	Asp67Gly (p.Asp85Gly)	c.254A>G	GAT>GGT	Exon 2	K, sicca syndrome	Romanian
	Trp112Arg (p.Trp130Arg)	c.388T>C	TGG>CGG	Exon 4	K, GI, L, S	Berger
	Gly157Arg (p.Gly194Arg)	c.580G>A	GGG>AGG	Exon 4	K	American
	Asn184Lys (p.Asn211Lys)	c.633C>A	AAC>AAA	Exon 4	K	American
	Asp25Val (p.Asp45Val)	c.134A>T	GAT>GTG	Exon 3	K, sicca syndrome	French
APDC3 (AApoCIII)						

Modified from <http://amyloidosismutations.com>, also reporting the original reference for each mutation.  
AN, systemic neuropathy; CIS, corneal tumour syndrome; E, eye; H, heart; K, kidney; L, liver; S, spleen; PN, polyneuropathy; GI, gastrointestinal tract.

Importance de l'hérédité

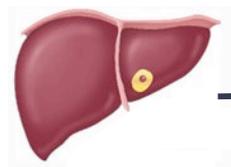
Une meilleure description des variants pathogènes



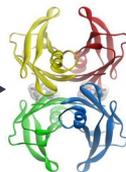
# La génétique TTR dans l'amylose

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

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



Foie



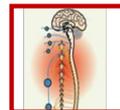
**TTR**  
Tétramérique



**Dissociation**



**TTR**  
monomérique



**ATTR mutée** :

La plus fréquente des amyloses héréditaires

Favorise 1. la neuropathie amyloïde familiale

2. l'amylose cardiaque héréditaire à TTR

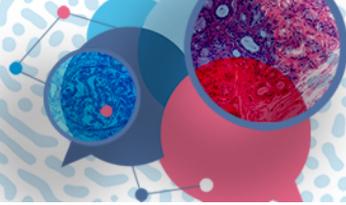
Mutation  
TTR +

**ATTR mutée**

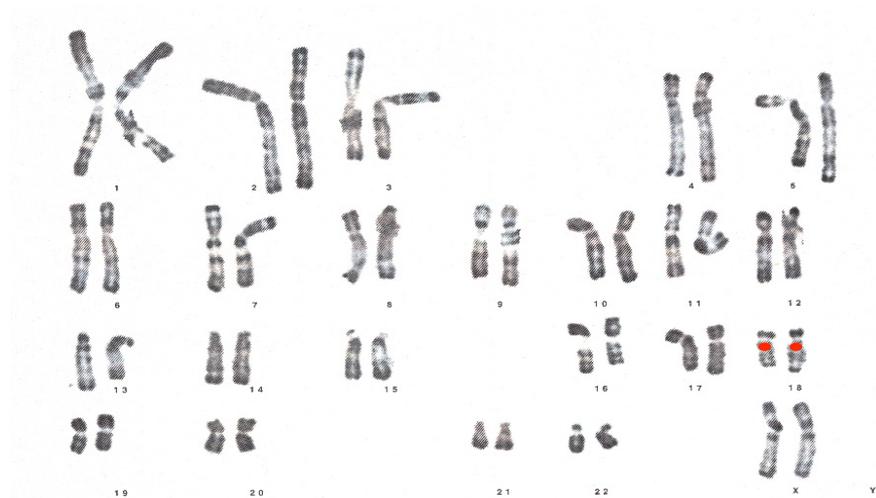
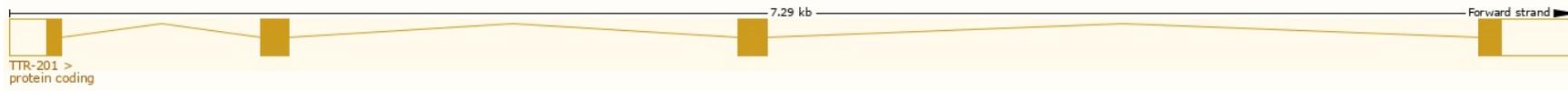


Mutation  
TTR -

ATTR séniles



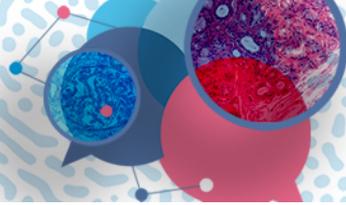
## Le gène TTR



**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)

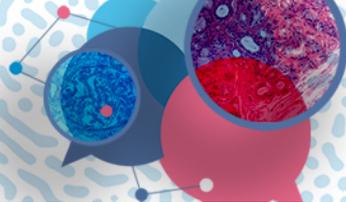


		second base in codon					
		T	C	A	G		
T	T	TTT Phe	TCT Ser	TAT Tyr	TGT Cys	T	C
	T	TTC Phe	TCC Ser	TAC Tyr	TGC Cys	T	A
	T	TTA Leu	TCA Ser	TAA stop	TGA stop	T	G
	T	TTG Leu	TCG Ser	TAG stop	TGG Trp	C	A
C	C	CTT Leu	CCT Pro	CAT His	CGT Arg	T	C
	C	CTC Leu	CCC Pro	CAC His	CGC Arg	C	A
	C	CTA Leu	CCA Pro	CAA Gln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

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.



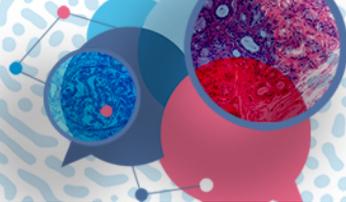
## Le gène TTR

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



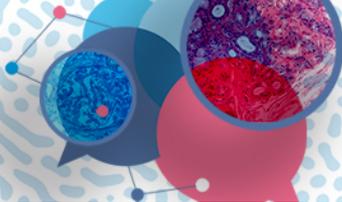
## Principe de séquençage

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

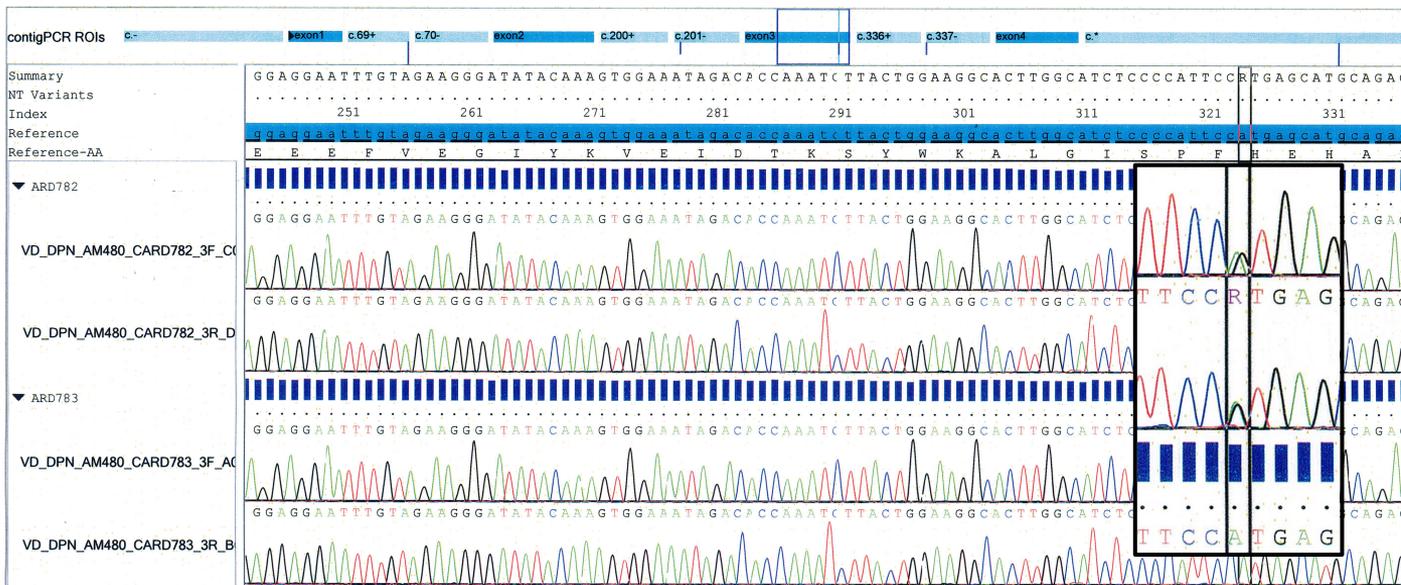
→ Sang veineux prélevé sur anti-coagulant (EDTA= **bouchon violet**), 5 à 10 ml

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

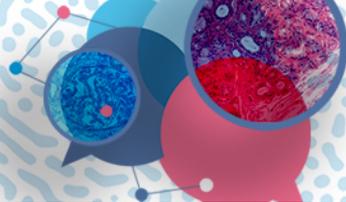
- **Sanger**: Électrophorèse capillaire et séquençage base par base fluorescent
- **"Next Generation Sequencing" (NGS)**: séquençage haut débit et analyse bioinformatique de données massives (« big data »)
  - Switch Sanger → NGS en 2022 à Mondor pour TTR



# 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

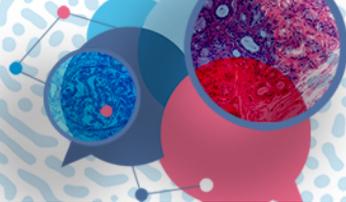
2/ Un médecin non généticien connaissant :

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

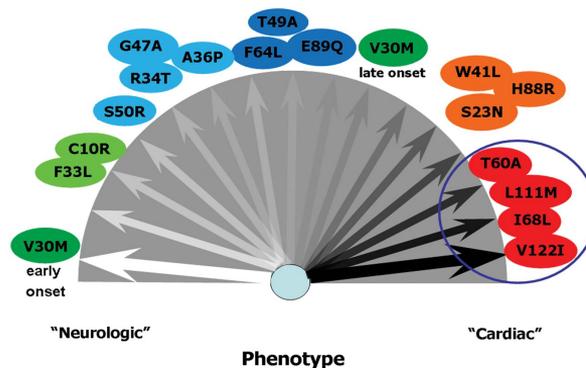
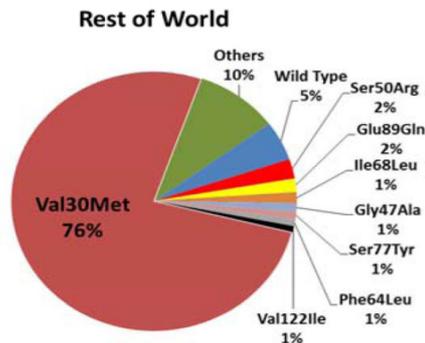
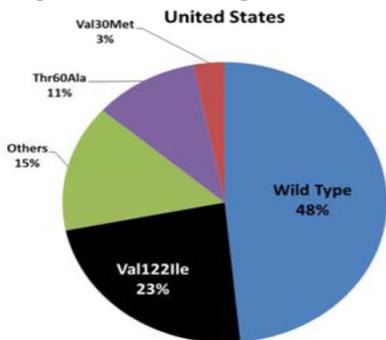
- Finalité du test (diagnostique, étude familiale, thérapeutique, ...), Spécificité de la maladie
- Possibilité de prévention, de traitement, de DPN éventuellement
- Droit de ne pas recourir au test, de connaître ou non les résultats
- Modalité de communication du résultat
- L'information à la parentèle



## Epidémiologie de la génétique TTR

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

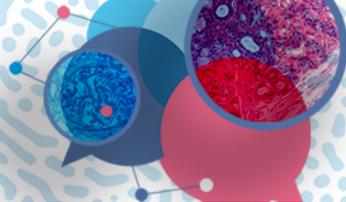
Epidémiologie en France mal connue



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

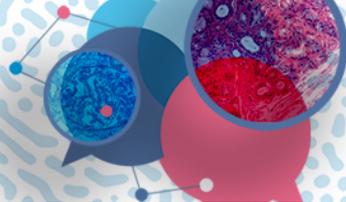
Centre de Référence des Amyloses Cardiaques :

- 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**  
*of* **JOURNAL of MEDICINE**

ESTABLISHED IN 1812

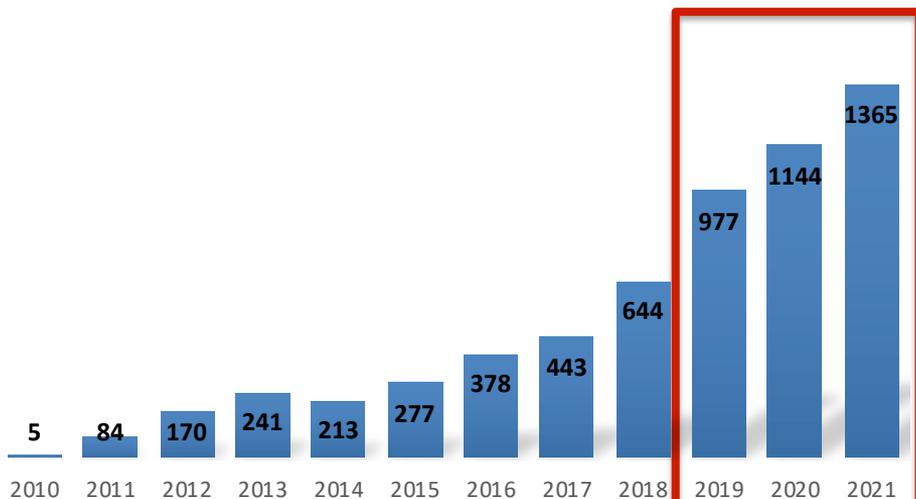
SEPTEMBER 13, 2018

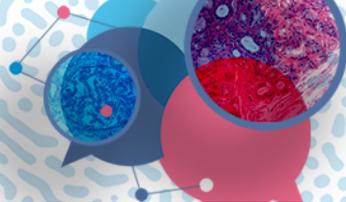
VOL. 379 NO. 11

### 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



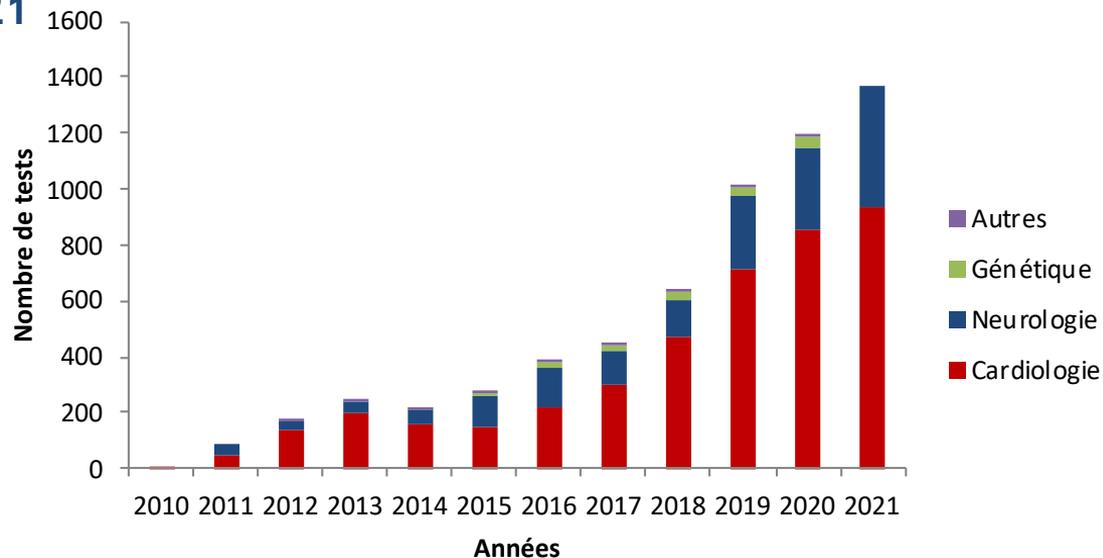


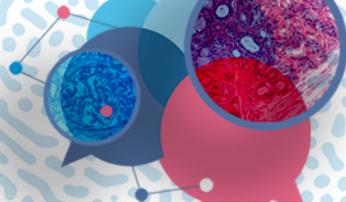
## Activité de génétique TTR

5941 prélèvements de 2010 à 12/2021

→ Augmentation linéaire du nombre de prélèvements

En particulier, prescrits par des cardiologues





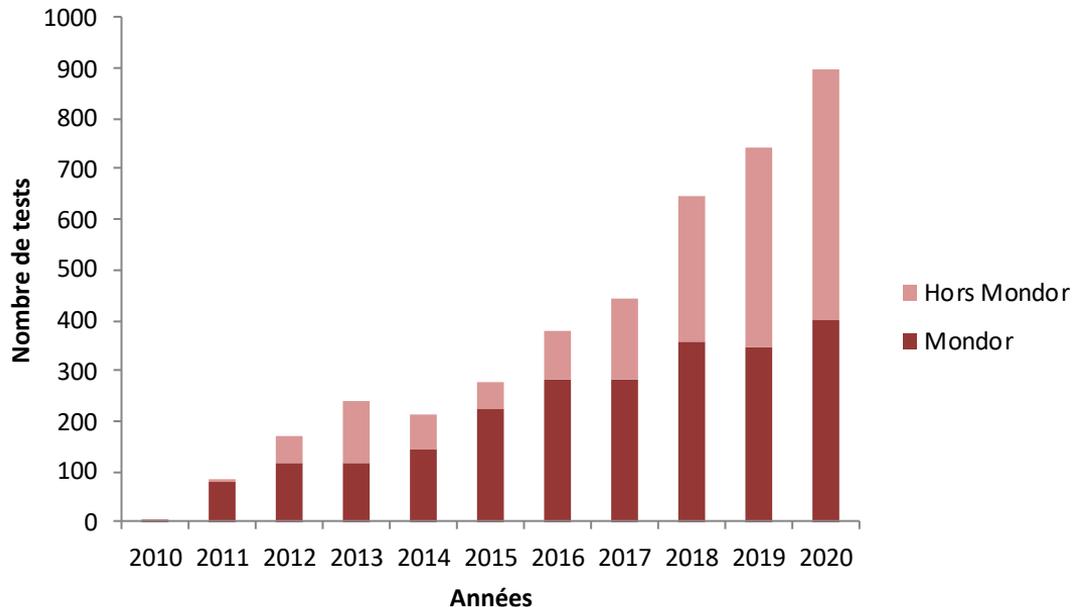
## Activité de génétique TTR

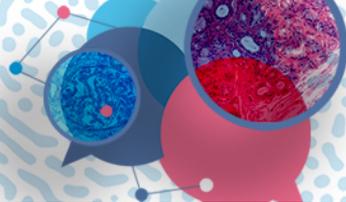
5941 prélèvements de 2010 à 12/2021

→ Augmentation linéaire du nombre de prélèvements

En particulier, prescrits par des cardiologues

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

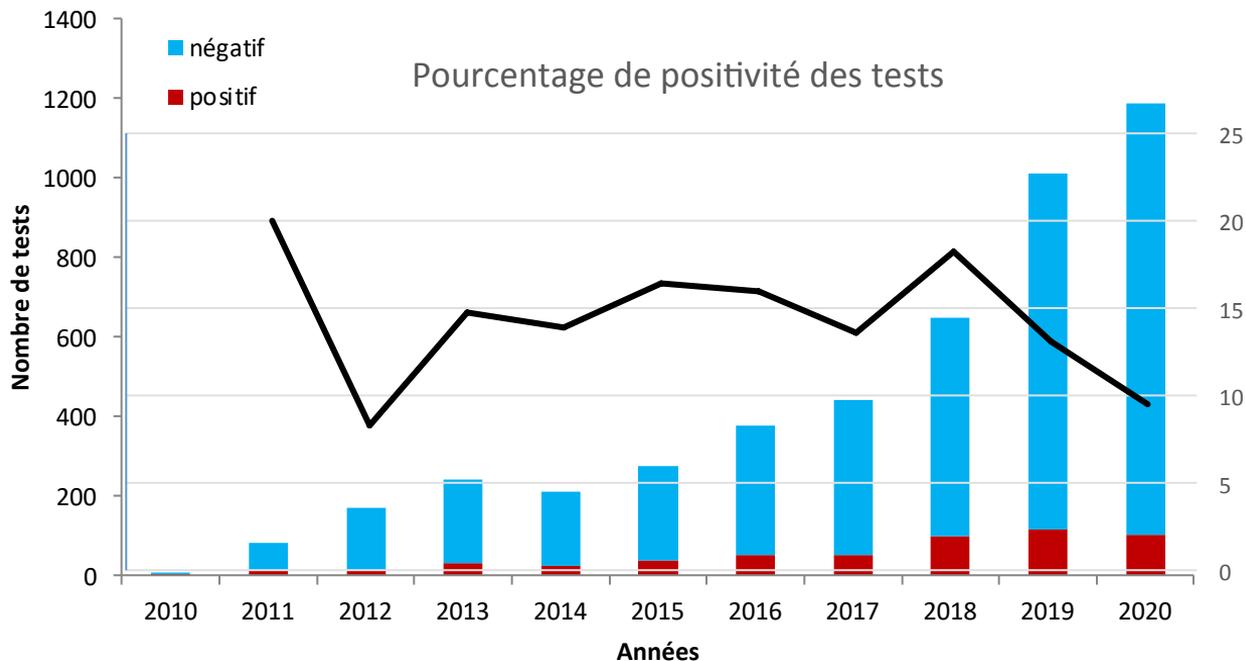
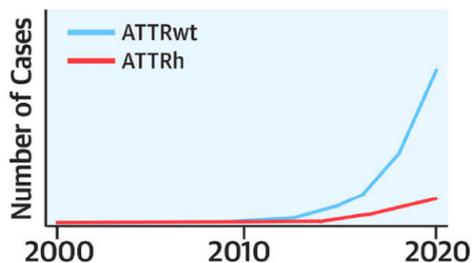


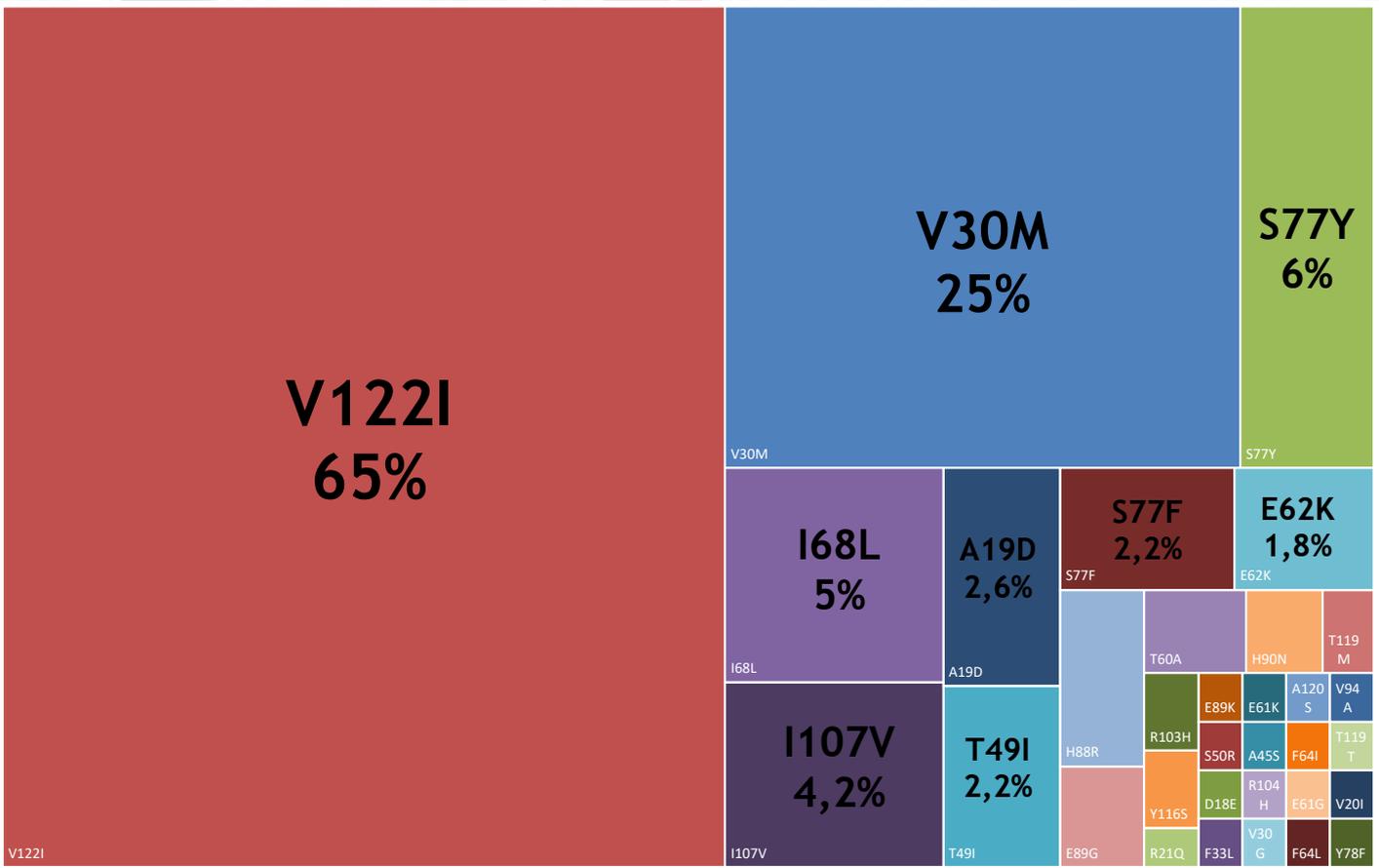
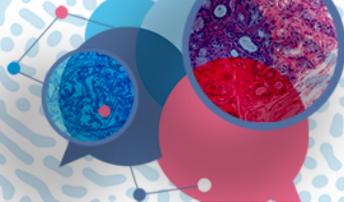


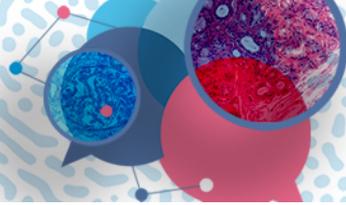
## Activité de génétique TTR

Augmentation du nombre de  
prélèvements négatifs

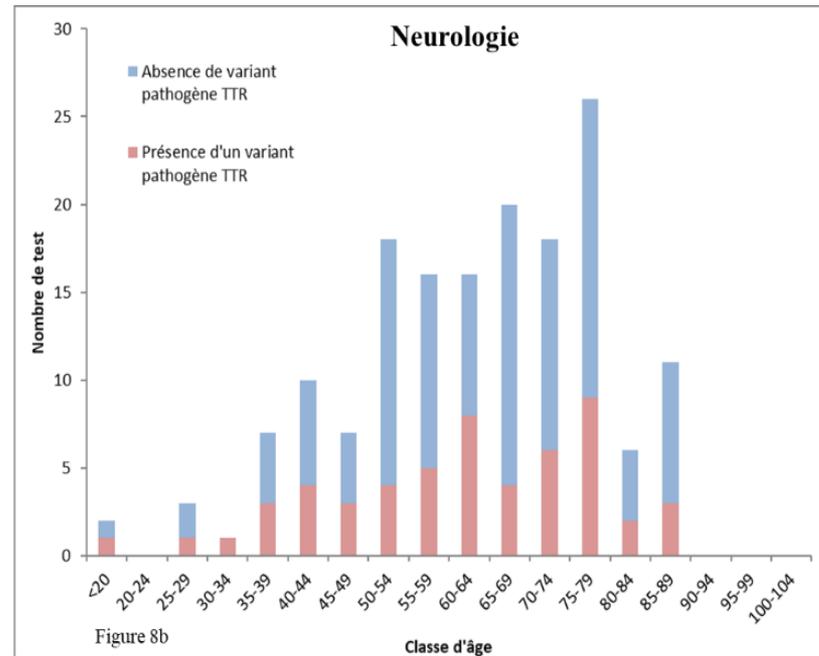
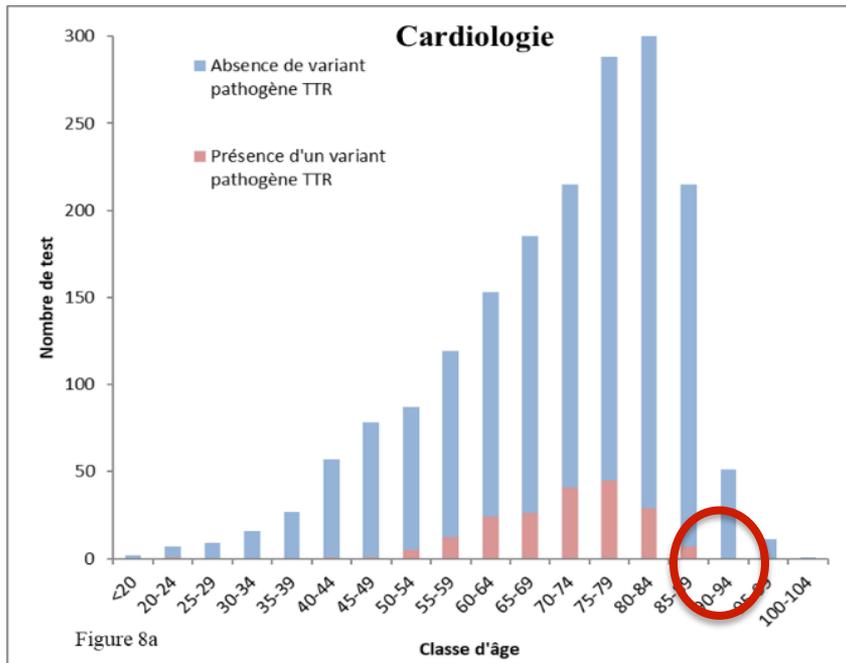
Recognition of ATTR-CM

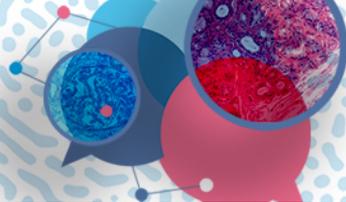






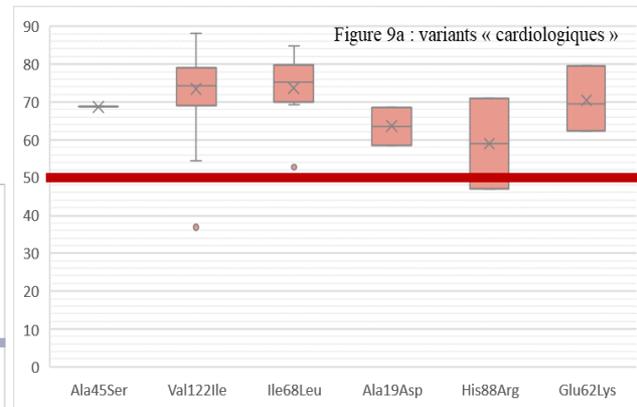
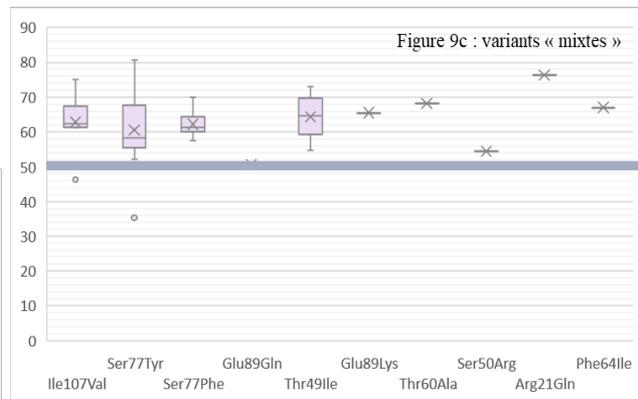
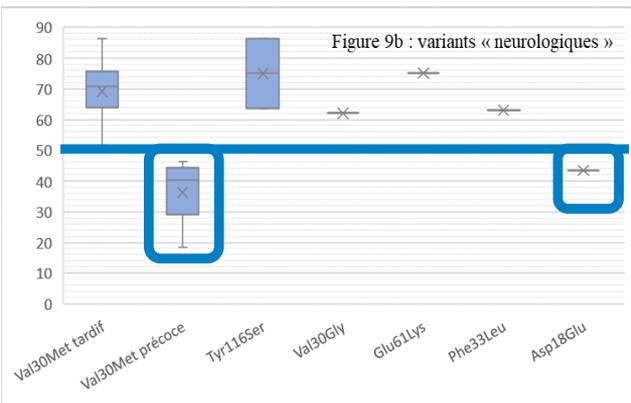
## Activité de génétique TTR

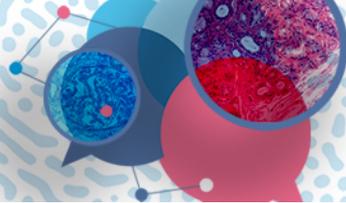




## Activité de génétique TTR à Mondor

Age moyen des ATTR mutés au diagnostic en fonction du phénotype

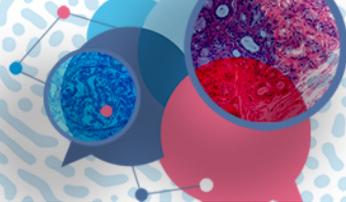




## Activité de génétique non TTR

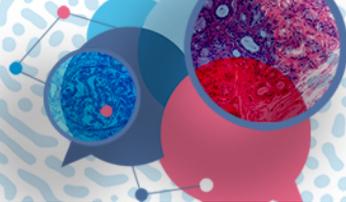
Diagnostic des autres amyloses héréditaires via :

- **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

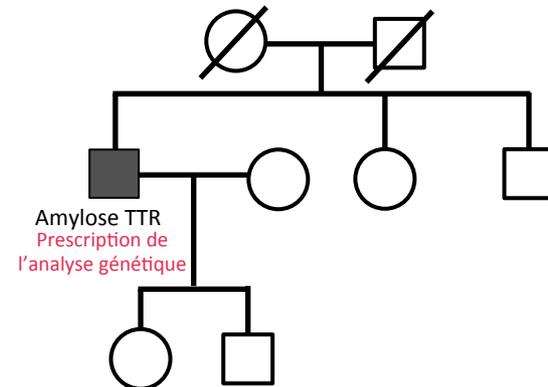


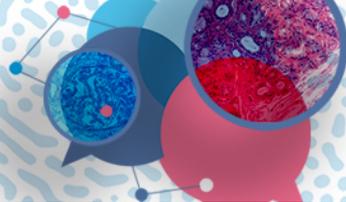
## Diagnostic pré symptomatique

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.



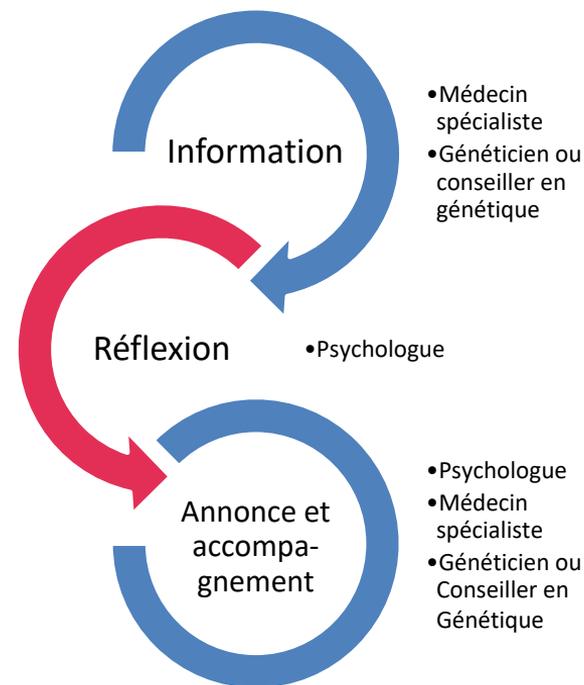


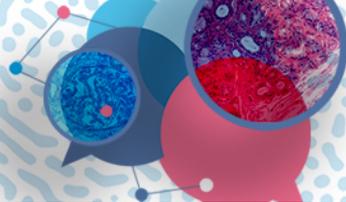
## Diagnostic pré symptomatique

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 +++**



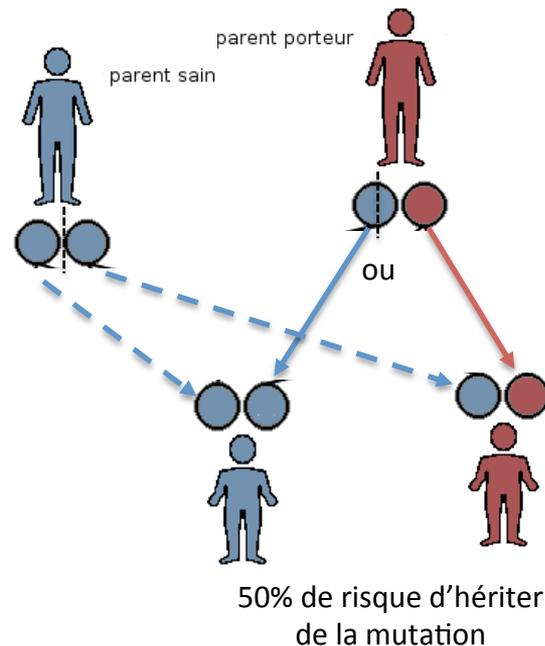


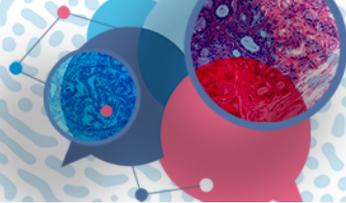
## Diagnostic pré symptomatique

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

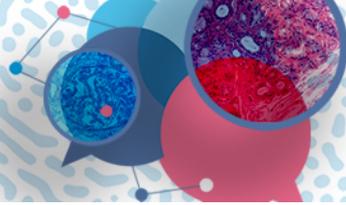




## Diagnostic pré symptomatique

**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

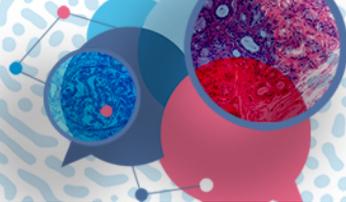
Quels bénéfices  
pour les  
apparentés ?

### 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

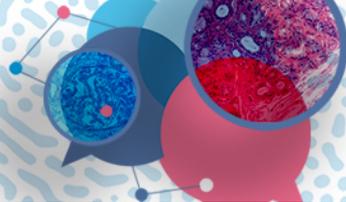
- Expliquer au patient les modalités de l'information familiale
- le mettre par écrit pour le patient

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