

Faculté de Médecine

Année 2023

Thèse N°

Thèse pour le diplôme d'État de docteur en Médecine

Présentée et soutenue publiquement

Le 22 septembre 2023

Par Lucie Rémy-Demolie

Intérêt du dépistage systématique de l'amylose héréditaire à transthyrétine à partir d'ADN salivaire chez des patients présentant une neuropathie périphérique idiopathique

Thèse dirigée par le Docteur Anne-Sophie Lia et le Docteur Pauline Chazelas

Examineurs :

M. Laurent Magy, Professeur des Universités – Praticien Hospitalier, Service de Neurologie – Centre de référence national des neuropathies périphériques rares, CHU de Limoges

Mme Sylvie Rogez, Professeur des Universités – Praticien Hospitalier, Service de Bactériologie – Virologie – Hygiène, CHU de Limoges

M. Franck Sturtz, Professeur des Universités – Praticien Hospitalier, Service de Biochimie et Génétique moléculaire, CHU de Limoges

M. Pierre-Antoine Faye, Maître de Conférence des Universités – Praticien Hospitalier, Service de Biochimie et Génétique moléculaire, CHU de Limoges

M. Guilhem Solé, Praticien Hospitalier, Service de Neurologie et Maladies Neuro-musculaires, CHU de Bordeaux



Faculté de Médecine

Année 2023

Thèse N°

Thèse pour le diplôme d'État de docteur en Médecine

Présentée et soutenue publiquement

Le 22 septembre 2023

Par Lucie Rémy-Demolie

Intérêt du dépistage systématique de l'amylose héréditaire à transthyrétine à partir d'ADN salivaire chez des patients présentant une neuropathie périphérique idiopathique

Thèse dirigée par le Docteur Anne-Sophie Lia et le Docteur Pauline Chazelas

Président du jury :

M. **Laurent Magy**, PU-PH, Service de Neurologie – Centre de référence national des neuropathies périphériques rares, CHU de Limoges

Membres du jury :

Mme **Sylvie Rogez**, PU-PH, Service de Bactériologie – Virologie – Hygiène, CHU de Limoges

M. **Franck Sturtz**, PU-PH, Service de Biochimie et Génétique moléculaire, CHU de Limoges

M. **Pierre-Antoine Faye**, MCU-PH, Service de Biochimie et Génétique Moléculaire, CHU de Limoges

M. **Guilhem Solé**, PH, Service de Neurologie et Maladies Neuro-Musculaires, CHU de Bordeaux



Doyen de la Faculté

Monsieur le Professeur **Pierre-Yves ROBERT**

Assesseurs

Madame le Professeur **Marie-Cécile PLOY**

Monsieur le Professeur **Jacques MONTEIL**

Monsieur le Professeur **Laurent FOURCADE**

Professeurs des Universités - Praticiens Hospitaliers

ABOYANS Victor	CARDIOLOGIE
ACHARD Jean-Michel	PHYSIOLOGIE
AJZENBERG Daniel	PARASITOLOGIE ET MYCOLOGIE
ALAIN Sophie	BACTERIOLOGIE-VIROLOGIE
AUBARD Yves	GYNECOLOGIE-OBSTETRIQUE
AUBRY Karine	O.R.L.
BALLOUHEY Quentin	CHIRURGIE INFANTILE
BERTIN Philippe	THERAPEUTIQUE
BOURTHOUMIEU Sylvie	CYTOLOGIE ET HISTOLOGIE
CAIRE François	NEUROCHIRURGIE
CHRISTOU Niki	CHIRURGIE VISCERALE ET DIGESTIVE
CLAVERE Pierre	RADIOTHERAPIE
CLEMENT Jean-Pierre	PSYCHIATRIE D'ADULTES
CORNU Elisabeth	CHIRURGIE THORACIQUE ET CARDIOVASCULAIRE
COURATIER Philippe	NEUROLOGIE
DAVIET Jean-Christophe	MEDECINE PHYSIQUE ET DE READAPTATION
DESCAZEAUD Aurélien	UROLOGIE

DRUET-CABANAC Michel	MEDECINE ET SANTE AU TRAVAIL
DURAND Karine	BIOLOGIE CELLULAIRE
DURAND-FONTANIER Sylvaine	ANATOMIE (CHIRURGIE DIGESTIVE)
FAUCHAIS Anne-Laure	MEDECINE INTERNE
FAUCHER Jean-François	MALADIES INFECTIEUSES
FAVREAU Frédéric	BIOCHIMIE ET GENETIQUE MOLECULAIRE
FEUILLARD Jean	HEMATOLOGIE
FOURCADE Laurent	CHIRURGIE INFANTILE
GAUTHIER Tristan	GYNECOLOGIE-OBSTETRIQUE
GUIGONIS Vincent	PEDIATRIE
HANTZ Sébastien	BACTERIOLOGIE-VIROLOGIE
HOUETO Jean-Luc	NEUROLOGIE
JACCARD Arnaud	HEMATOLOGIE
JACQUES Jérémie	GASTRO-ENTEROLOGIE ; HEPATOLOGIE
JAUBERTEAU-MARCHAN M. Odile	IMMUNOLOGIE
JESUS Pierre	NUTRITION
JOUAN Jérôme	CHIRURGIE THORACIQUE ET VASCULAIRE
LABROUSSE François	ANATOMIE ET CYTOLOGIE PATHOLOGIQUES
LACROIX Philippe	MEDECINE VASCULAIRE
LAROCHE Marie-Laure	PHARMACOLOGIE CLINIQUE
LOUSTAUD-RATTI Véronique	HEPATOLOGIE
LY Kim	MEDECINE INTERNE
MAGNE Julien	EPIDEMIOLOGIE, ECONOMIE DE LA SANTE ET PREVENTION
MAGY Laurent	NEUROLOGIE
MARCHEIX Pierre-Sylvain	CHIRURGIE ORTHOPEDIQUE
MARQUET Pierre	PHARMACOLOGIE FONDAMENTALE

MATHONNET Muriel	CHIRURGIE DIGESTIVE
MELLONI Boris	PNEUMOLOGIE
MOHTY Dania	CARDIOLOGIE
MONTEIL Jacques	BIOPHYSIQUE ET MEDECINE NUCLEAIRE
MOUNAYER Charbel	RADIOLOGIE ET IMAGERIE MEDICALE
NUBUKPO Philippe	ADDICTOLOGIE
OLLIAC Bertrand	PEDOPSYCHIATRIE
PARAF François	MEDECINE LEGALE ET DROIT DE LA SANTE
PLOY Marie-Cécile	BACTERIOLOGIE-VIROLOGIE
PREUX Pierre-Marie	EPIDEMIOLOGIE, ECONOMIE DE LA SANTE ET PREVENTION
ROBERT Pierre-Yves	OPHTALMOLOGIE
ROUCHAUD Aymeric	RADIOLOGIE ET IMAGERIE MEDICALE
SALLE Jean-Yves	MEDECINE PHYSIQUE ET DE READAPTATION
STURTZ Franck	BIOCHIMIE ET GENETIQUE MOLECULAIRE
TCHALLA Achille	GERIATRIE ET BIOLOGIE DU VIEILLISSEMENT
TEISSIER-CLEMENT Marie-Pierre	ENDOCRINOLOGIE, DIABETE ET MALADIES METABOLIQUES
TOURE Fatouma	NEPHROLOGIE
VALLEIX Denis	ANATOMIE
VERGNENEGRE Alain	EPIDEMIOLOGIE, ECONOMIE DE LA SANTE ET PREVENTION
VERGNE-SALLE Pascale	THERAPEUTIQUE
VIGNON Philippe	REANIMATION
VINCENT François	PHYSIOLOGIE
YARDIN Catherine	CYTOLOGIE ET HISTOLOGIE

Professeurs Associés des Universités à mi-temps des disciplines médicales

BRIE Joël	CHIRURGIE MAXILLO-FACIALE ET STOMATOLOGIE
------------------	---

KARAM Henri-Hani MEDECINE D'URGENCE

MOREAU Stéphane EPIDEMIOLOGIE CLINIQUE

Maitres de Conférences des Universités – Praticiens Hospitaliers

COMPAGNAT Maxence MEDECINE PHYSIQUE ET DE READAPTATION

COUVE-DEACON Elodie BACTERIOLOGIE-VIROLOGIE

DELUCHE Élise CANCEROLOGIE

DUCHESNE Mathilde ANATOMIE ET CYTOLOGIE PATHOLOGIQUES

ESCLAIRE Françoise BIOLOGIE CELLULAIRE

FAYE Pierre-Antoine BIOCHIMIE ET GENETIQUE MOLECULAIRE

FREDON Fabien ANATOMIE/CHIRURGIE ORTHOPEDIQUE

LALOZE Jérôme CHIRURGIE PLASTIQUE

LE GUYADER Alexandre CHIRURGIE THORACIQUE ET
CARDIOVASCULAIRE

LIA Anne-Sophie BIOCHIMIE ET GENETIQUE MOLECULAIRE

PASCAL Virginie IMMUNOLOGIE

RIZZO David HEMATOLOGIE

SALLE Henri NEUROCHIRURGIE

SALLE Laurence ENDOCRINOLOGIE

TERRO Faraj BIOLOGIE CELLULAIRE

WOILLARD Jean-Baptiste PHARMACOLOGIE FONDAMENTALE

YERA Hélène PARASITOLOGIE ET MYCOLOGIE (mission
temporaire)

P.R.A.G.

GAUTIER Sylvie ANGLAIS

Maitre de Conférences des Universités associé à mi-temps

BELONI Pascale SCIENCES INFIRMIERES

Professeur des Universités de Médecine Générale

DUMOITIER Nathalie (Responsable du département de Médecine Générale)

Professeur associé des Universités à mi-temps de Médecine Générale

HOUDARD Gaëtan (du 01-09-2019 au 31-08-2025)

Maitres de Conférences associés à mi-temps de médecine générale

BUREAU-YNIESTA Coralie (du 01-09-2022 au 31-08-2025)

LAUCHET Nadège (du 01-09-2020 au 31-08-2023)

SEVE Léa (du 01-09-2021 au 31-08-2024)

Professeurs Emérites

ADENIS Jean-Paul du 01-09-2017 au 31-08-2021

ALDIGIER Jean-Claude du 01-09-2018 au 31-08-2022

BESSEDE Jean-Pierre du 01-09-2018 au 31-08-2022

BUCHON Daniel du 01-09-2019 au 31-08-2022

DARDE Marie-Laure du 01-09-2021 au 31-08-2023

DESSPORT Jean-Claude du 01-09-2020 au 31-08-2022

MABIT Christian du 01-09-2022 au 31-08-2024

MERLE Louis du 01-09-2017 au 31-08-2022

MOREAU Jean-Jacques du 01-09-2019 au 31-08-2023

NATHAN-DENIZOT Nathalie du 01-09-2022 au 31-08-2024

TREVES Richard du 01-09-2021 au 31-08-2023

TUBIANA-MATHIEU Nicole du 01-09-2018 au 31-08-2021

VALLAT Jean-Michel du 01-09-2019 au 31-08-2023

VIROT Patrice du 01-09-2021 au 31-08-2023

Assistants Hospitaliers Universitaires

ABDALLAH Sahar	ANESTHESIE REANIMATION
APPOURCHAUX Evan	ANATOMIE CHIRURGIE DIGESTIVE
BUSQUET Clémence	HEMATOLOGIE
HAZELAS Pauline	BIOCHIMIE
LABRIFFE Marc	PHARMACOLOGIE
LADES Guillaume	BIOPHYSIQUE ET MEDECINE NUCLEAIRE
LOPEZ Stéphanie	MEDECINE NUCLEAIRE
MARTIN ép. DE VAULX Laury	ANESTHESIE REANIMATION
MEYER Sylvain	BACTERIOLOGIE VIROLOGIE HYGIENE
MONTMAGNON Noëlie	ANESTHESIE REANIMATION
PLATEKER Olivier	ANESTHESIE REANIMATION
ROUX-DAVID Alexia	ANATOMIE CHIRURGIE DIGESTIVE
SERVASIER Lisa	CHIRURGIE OPTHOPEDIQUE

Chefs de Clinique – Assistants des Hôpitaux

ABDELKAFI Ezedin	CHIRURGIE THORACIQUE ET CARDIOVASCULAIRE
AGUADO Benoît	PNEUMOLOGIE
ALBOUYS Jérémie	HEPATO GASTRO ENTEROLOGIE
ASLANBEKOVA Natella	MEDECINE INTERNE
BAUDOUIN Maxime	RADIOLOGIE ET IMAGERIE MEDICALE
BEAUJOUAN Florent	CHIRURGIE UROLOGIQUE
BLANCHET Aloïse	MEDECINE D'URGENCE
BLANQUART Anne-Laure	PEDIATRIE (REA)
BOGEY Clément	RADIOLOGIE

BONILLA Anthony	PSYCHIATRIE
BOSCHER Julien	CHIRURGIE ORTHOPEDIQUE ET TRAUMATOLOGIQUE
BURGUIERE Loïc	SOINS PALLIATIFS
CHASTAINGT Lucie	MEDECINE VASCULAIRE
CHAUBARD Sammara	HEMATOLOGIE
CHROSCIANY Sacha	CHIRURGIE ORTHOPEDIQUE
COLLIN Rémi	HEPATO GASTRO ENTEROLOGIE
COUMES-SALOMON Camille	PNEUMOLOGIE ALLERGOLOGIE
CURUMTHAULEE Faiz	OPHTALMOLOGIE
DARBAS Tiffany	ONCOLOGIE MEDICALE
DU FAYET DE LA TOUR Anaïs	MEDECINE LEGALE
DUPIRE Nicolas	CARDIOLOGIE
FESTOU Benjamin	MALADIES INFECTIEUSES ET TROPICALES
FORESTIER Géraud	RADIOLOGIE
FRACHET Simon	NEUROLOGIE
GIOVARA Robin	CHIRURGIE INFANTILE
LADRAT Céline	MEDECINE PHYSIQUE ET DE READAPTATION
LAGOUEYTE Benoit	ORL
LAPLACE Benjamin	PSYCHIATRIE
LEMACON Camille	RHUMATOLOGIE
MEYNARD Alexandre	NEUROCHIRURGIE
MOI BERTOLO Emilie	DERMATOLOGIE
MOHAND O'AMAR ép. DARI Nadia	GYNECOLOGIE OBSTETRIQUE
NASSER Yara	ENDOCRINOLOGIE
PAGES Esther	CHIRURGIE MAXILLO-FACIALE
PARREAU Simon	MEDECINE INTERNE

RATTI Nina	MEDECINE INTERNE
ROCHER Maxime	OPHTALMOLOGIE
SALLEE Camille	GYNECOLOGIE OBSTETRIQUE
SEGUY ép. REBIERE Marion	MEDECINE GERIATRIQUE
THEVENOT Bertrand	PEDOPSYCHIATRIE
TORDJMAN Alix	GYNECOLOGIE MEDICALE
TRAN Gia Van	NEUROCHIRURGIE
VERNAT-TABARLY Odile	OPHTALMOLOGIE

Chefs de Clinique – Médecine Générale

BOURGAIN Clément
HERAULT Kévin
RUDELLE Karen

Praticiens Hospitaliers Universitaires

HARDY Jérémie	CHIRURGIE ORTHOPEDIQUE
LAFON Thomas	MEDECINE D'URGENCE
TRICARD Jérémy	CHIRURGIE THORACIQUE ET CARDIOVASCULAIRE MEDECINE VASCULAIRE

Pour Mon Papa, Mon étoile,

*« Je fleurirai mon cœur
En souvenir de toi,
Là où tu vis en moi,
Là où je vis pour toi.
Et je vivrai deux fois... »*



Remerciements

Aux membres de mon jury,

Monsieur le Professeur Laurent Magy,

Je vous remercie de me faire l'honneur de présider mon jury de thèse d'exercice, ainsi que pour votre lecture avisée et vos futurs retours éclairés sur mon travail. Je vous adresse mon plus profond respect et mon immense gratitude.

Madame le Professeur Sylvie Rogez,

Vous me faites l'honneur de juger mon travail de thèse et je vous en remercie. Je tiens par ailleurs à vous exprimer ma gratitude pour votre soutien durant mes premières années d'internat, votre bienveillance et vos conseils avisés à chaque fois que j'en ai eu besoin. Soyez assurée de mon estime et de ma reconnaissance.

Monsieur le Professeur Franck Sturtz,

Je vous remercie de me faire l'honneur d'évaluer mon travail de thèse et je vous en suis très reconnaissante. Je vous remercie de m'avoir accueilli dans votre service et permis d'intégrer votre équipe de recherche pendant ces quelques mois, j'ai apprécié les nombreux moments d'apprentissage et d'accompagnement en votre présence. Soyez assuré de tout mon respect et ma considération.

Monsieur le docteur Pierre-Antoine Faye,

Je te remercie pour l'enthousiasme dont tu as fait preuve quand je t'ai demandé de faire partie du jury de ma thèse, j'espère sincèrement que mon travail sera à la hauteur de tes attentes. Je te remercie pour toute la compassion, l'écoute et la pédagogie dont tu as toujours fait preuve, et pour ce bout de chemin partagé dans ma vie professionnelle.

Monsieur le docteur Guilhem Solé,

Je vous remercie sincèrement d'avoir accepté de faire partie de ce jury et de m'avoir permis de travailler sur votre projet très enrichissant. J'espère faire honneur à vos attentes dans ce travail de thèse. Soyez assuré de toute ma reconnaissance et mon respect.

À mes directrices de thèse,

Madame le docteur Anne-Sophie Lia,

Je vous exprime ma gratitude pour votre encadrement riche et pédagogue de mon travail qui a guidé mes expérimentations et l'écriture de ma thèse. Je vous remercie d'avoir porté ce projet, mais aussi pour vos réflexions, votre confiance en mon travail, ainsi que pour toutes les relectures des très nombreuses séquences réalisées et de ce manuscrit.

Madame le docteur Pauline Chazelas,

Je te remercie de m'avoir encadrée et d'avoir répondu à chacune de mes interrogations tout au long de ce travail et lors de l'écriture de ma thèse. Je te remercie pour tes relectures, ta disponibilité, ta bienveillance et tes encouragements dans tous ces (nombreux) moments de stress et d'incertitudes. Merci pour ces années de partage et de découverte, merci de m'avoir poussée à aller plus loin et de m'avoir fait confiance. Je te souhaite une belle continuation dans ta carrière, d'être heureuse et épanouie.

A tous mes collègues,

Docteur Thierry Chianea, vous avez toujours su faire preuve d'écoute et de compréhension envers mes choix et mes décisions. Je vous suis extrêmement reconnaissante pour la confiance que vous m'avez témoignée et pour tout ce que vous m'avez enseignée. J'ai été honorée de travailler avec vous et vous adresse mon profond respect.

Yasser, Corinne, Marie-Agnès, vous m'avez été d'une aide précieuse, que ce soit pour la thèse ou au cours de mes différents semestres en votre compagnie, toujours attentifs, bienveillants et à l'écoute. Je vous remercie sincèrement pour tous vos conseils, pour vos partages, pour nos longues discussions et pour le bout de chemin enrichissant que j'ai réalisé avec vous. Merci Marie-Agnès pour la relecture, les cafés et les encouragements constants. Merci Yasser de m'avoir soutenue dans la dernière ligne droite. Je vous souhaite à tous trois une belle continuation professionnelle et personnelle et espère vous recroiser très vite.

Professeur Frédéric Favreau, je vous remercie pour votre aide, votre bienveillance et la confiance que vous m'avez accordée. Merci pour tout ce que vous m'avez appris au cours de ces dernières années et pour la considération dont vous avez fait preuve à mon égard.

Je remercie toute l'équipe de l'Unité de Recherche NeurIT pour l'accueil que vous m'avez réservée. J'adresse une mention toute particulière à Angélique, qui m'a prodiguée de précieux conseils avec beaucoup de patience et de bienveillance et m'a transmis une petite partie de son immense savoir en biologie moléculaire, et à Camille Loret, merci pour tout, pour les manips, d'avoir toujours répondu présente avec patience et bonne humeur quand j'avais des questions ou besoin d'aide. Je te remercie sincèrement pour ta gentillesse, tes encouragements quand rien n'allait, ta disponibilité et ta réactivité sans faille. J'espère que tous tes efforts et ton travail aboutiront et je te souhaite une belle réussite professionnelle et personnelle.

J'adresse mon immense gratitude aux techniciens de génétique moléculaire, Jérôme, Coralie, Martine, Fanny pour votre aide, votre présence constante à chaque fois que j'en ai eu besoin, vos dépannages de colonnes, d'amorces... Mais aussi tout particulièrement Steven, pour ton écoute, ta bonne humeur, tu as toujours eu le mot pour me faire rire et m'aider à prendre du recul ! Qu'est-ce que j'aurai pu faire sans vous ?

À tous les techniciens de biochimie, à Isabelle, à Joelle, toute l'équipe, je vous remercie. Je me suis sentie comme à la maison grâce à vous pendant ces 3 ans, vous êtes une équipe formidable, restez comme vous êtes. Je vous remercie pour le soutien et tous les bons souvenirs, nos restos, mes sorties de gardes avec mon plaid et mon coussin sous le bras quand vous veniez me libérer, votre disponibilité à 23h quand j'avais des problèmes, j'ai appris énormément à vos côtés, je ne saurai vous dire comme votre soutien m'a réchauffé le cœur, vous me manquez !

Une pensée également à l'équipe de l'unité Bleuler du CH Esquirol, avec qui j'ai partagé une magnifique expérience pendant ces 3 mois. Vous m'avez appris beaucoup sur moi-même, cette parenthèse pré-internat restera gravée à jamais, je reviendrai boire un café très bientôt !

À mes cointernes,

Vous m'avez tous été d'une aide précieuse, j'ai appris énormément à vos côtés, j'ai grandi. Merci de m'avoir fait rire ou de simplement m'avoir supportée après nos longues journées ou avant que j'aie à enchaîner un week-end de gardes. Votre bonne humeur, vos blagues toujours pleines de délicatesse, vos gâteaux me manqueront.

J'adresse une mention particulière à Thibaut, mon ami (sauf quand il est en CA) qui m'a supportée dans tous les états, pré-mariage, pré-thèse, qui a assisté à des essayages de robe de mariée sans broncher, qui a centrifugé un milliard de colonnes de purification et en a fait tomber une dizaine. Merci pour tes conseils (parfois bons), merci de râler encore plus que moi.

Et c'est la transition parfaite pour toi, Alice (pas la tech, comprendrons ceux qui pourront), qui a suivi tous mes changements d'avis depuis 3 ans, à nos équipes mobiles, et nos trajets jusqu'à D1 en surblouse avec nos triples emballages dans la... joie et la bonne humeur.

Séléna, tu m'accompagnes depuis mon premier semestre, merci d'avoir toujours été là, d'avoir toujours été une amie fidèle sur laquelle je peux compter. J'ai rarement eu la chance de connaître des gens comme toi, toujours honnête, loyale et aussi souple que moi au force et mobilité.

Inès, la plus bienveillante des personnes que je connaisse, grâce à toi j'ai probablement gagné des hassanates rien qu'en ayant la chance de te côtoyer. Merci d'être toi, de toujours rester la même, en toute simplicité et pure gentillesse. J'ai tellement hâte de te retrouver comme collègue dans notre Nord ma Nesnes.

Ma petite Chacha, devenue mon amie en deux allers-retours à Aquapolis et ma voisine pour les prochaines années, merci d'avoir contribué au surpoids de Lélé et au nôtre avec les rillettes de la Maison Coustalat (ce n'est pas une collaboration publicitaire). Merci d'être si drôle et de me faire me sentir moins seule, moins chiant en l'étant encore plus que moi tous les jours, je suis si heureuse que tu aies choisi Limoges.

Et pour finir, un ÉNORME merci les filles, Ludivine, Blandine et Chloé d'avoir été présentes et tellement bienveillantes, vous avoir auprès de moi ce semestre a été un réel plaisir et une chance. Grosse dédicace à tes talents de graphiste Blandine et Chloé à tes talents de pâtissière. Restez telles que vous êtes, je ne saurai vous remercier assez pour tout le soutien, toutes les bonnes ondes et l'amour que vous m'avez apportée.

À mes amis,

Pensée à mes USDKettes, avec qui rien ne bouge après toutes ces années.

Big up à mon sang, ma ion, la meilleure des témoins, Swann, mon filleul chéri, Mélanie la plus ch'ti des limougeaude... Tellement de chance d'avoir rencontré des personnes comme vous.

À ma famille,

Papi Roger, Mamie Jeannine, Papi Michel (grosses lunettes), Mamie Paulette, j'éprouve tellement de gratitude de vous avoir tous auprès de moi.

Mamie Yvette, Papi Roger, vous avez fait de moi celle que je suis devenue aujourd'hui. J'ai tellement de chance de vous avoir à mes côtés, d'avoir connu cet amour et de le connaître encore et pour de longues années à venir, j'ai de la descendance à vous faire rencontrer. Je vous aime et vous aimerai infiniment toute ma vie.

Mes tontons, tatas, cousins, cousines, je ne peux tous vous citer, je vous adore de tout mon cœur. Je réalise chaque jour la chance que j'ai de vous avoir, la chance que c'est d'avoir une famille telle que la nôtre.

Mon frère et ma sœur, Mathieu et Chloé, je vous aime. Surtout quand vous cachez des brioches sous le buffet, quand vous faites tous les kilomètres de la France pour venir nous voir, j'ai hâte de remonter vivre là-haut pour qu'on puisse manger des menus japonais tous les dimanches tous ensemble. Clo, Gl, petit boudin, j'espère te voir briller chez nos amis belges, aies confiance en toi et j'espère que tu sais que tu deviens une jeune femme exceptionnelle et que je serai toujours là pour toi.

Michou, merci d'avoir toujours été présent pour nous. Merci pour tout, pour tout ce que tu as fait, toutes les concessions, merci d'avoir fini par me considérer comme ta fille. J'espère te rendre fier.

Ma maman, toi qui as été à la fois, ma mère, mon père, ma grande sœur, ma confidente la plus sûre, ma prof la plus exigeante, tout ce boulot c'est à toi que je le dédie, l'aboutissement de mon travail et de ces (très) longues années est pour toi, pour nous. Je n'en serai jamais arrivée là sans toi, sans tout ce que tu m'as donnée, toutes les valeurs que tu m'as inculquée. Je te serai reconnaissante éternellement et ne saurai te dire comme je t'aime. ♥

À la plus belle moitié de mon cœur,

Mon amour, mon Ju, mon mari, il n'existe pas d'adjectif suffisant pour décrire l'affection et l'amour que j'éprouve pour toi, tu es le meilleur partenaire de vie que j'aurai pu rêver avoir. Je te remercie d'être là, de me faire me sentir bien, de me supporter et me soutenir dans tous les moments de notre vie.

Ma famille c'est toi, c'est nous.

Jamais le temps à tes côtés ne paraîtra assez long.

Droits d'auteurs

Cette création est mise à disposition selon le Contrat :

« **Attribution-Pas d'Utilisation Commerciale-Pas de modification 3.0 France** »

disponible en ligne : <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0/fr/>



Liste des abréviations

AA : amylose à protéine sérique amyloïde A
AApoAI : amylose à apolipoprotéine A-I
AApoAII : amylose à apolipoprotéine A-II
AApoAIV : amylose à apolipoprotéine A-IV
AApoCII : amylose à apolipoprotéine C-II
AApoCIII : amylose à apolipoprotéine C-III
A β 2M : amylose à β 2-microglobuline
ADN : acide désoxyribonucléique
AFib : amylose à fibrinogène
AGel : amylose à gelsoline
AH : amylose à chaîne lourde d'immunoglobulines monoclonales
AINS : anti-inflammatoire non stéroïdien
AL : amylose à chaîne légère d'immunoglobulines monoclonales
ALECT2 : amylose à facteur chimiotactique leucocytaire 2
ALys : amylose à lysozyme
AN : acides nucléiques
ApoAI : apolipoprotéine A-I
ApoAII : apolipoprotéine A-II
ApoAIV : apolipoprotéine A-IV
ApoCII : apolipoprotéine C-II
ApoCIII : apolipoprotéine C-III
ARNm : ARN messenger
ASO : oligonucléotide antisens
ATTR : amylose à transthyrétine
 β 2M : β 2-microglobuline
BGSA : biopsie des glandes salivaires accessoires
BHE : barrière hémato-encéphalique
CADT : Compound Autonomic Dysfunction Test
CHU : centre hospitalo-universitaire
CMT : Maladie de Charcot-Marie-Tooth
DFG : débit de filtration glomérulaire
dNTP : désoxynucléotides

ddNTP : didésoxynucléotides
E : élution
ECG : électrocardiogramme
EGCG : épigallocatechine-3-gallate
EMG : électromyogramme
ENMG : électroneuromyogramme
EPR : épithélium pigmentaire rétinien
FAC : cardiopathie familiale amyloïde
FAP : polyneuropathie familiale amyloïde
FDA : food and drug administration
FMF : fièvre méditerranéenne familiale
hATTR : amylose à transthyrétine héréditaire
HD : hémodialyse
IDM : infarctus du myocarde
IC : insuffisance cardiaque
IL : interleukine
IR : insuffisance rénale
IRT : insuffisance rénale terminale
LCR : liquide cérébro-rachidien
LECT2 : facteur chimiotactique leucocytaire 2
MO : microscopie optique
NGS : next-generation sequencing
NIS : neuropathy impairment score
NT-ProBNP : peptide natriurétique N-terminal
NP : neuropathie périphérique
NYHA : New York heart association
PCR : polymérase chain réaction
PIDC : polyneuropathie inflammatoire démyélinisante chronique
PND : peripheral neuropathy disability
PR : polyarthrite rhumatoïde
ROT : réflexes ostéotendineux
SAA : protéine sérique amyloïde A
SAP : Sérum amyloïde P
SCC : syndrome du canal carpien

SGB : syndrome de Guillain-Barré
siRNA : ARN interférent
SN : système nerveux
SNA : système nerveux autonome
SNC : système nerveux central
SNP : système nerveux périphérique
TAE : Tris/Acetate/EDTA
TG : triglycérides
TH : transplantation hépatique
Tm : température d'hybridation
TTR : transthyrétine
TUDCA : acide tauro-ursodéoxycholique
wtATTR : amylose à transthyrétine sauvage

Table des matières

Introduction.....	27
1. Les neuropathies périphériques	27
1.1. Généralités	27
1.2. Diagnostic des neuropathies périphériques	29
1.2.1. Clinique	29
1.2.2. Examens complémentaires.....	29
1.3. Étiologies des neuropathies périphériques	30
1.3.1. Mononeuropathies	30
1.3.2. Mononeuropathies multiples	30
1.3.3. Polyneuropathies	31
1.3.3.1. Polyneuropathies démyélinisantes	31
1.3.3.1.1. La neuropathie à IgM monoclonale à activité anti-MAG.....	31
1.3.3.1.2. Maladie de Charcot-Marie-Tooth (CMT)	31
1.3.3.2. Polyneuropathies axonales.....	31
1.3.3.2.1. Étiologies métaboliques et carences vitaminiques.....	31
1.3.3.2.2. Étiologies toxiques et médicamenteuses	31
1.3.3.2.3. Maladie de Charcot-Marie-Tooth.....	32
1.3.3.2.4. Amyloses.....	32
2. Les amyloses.....	33
2.1. Définition	33
2.2. Physiopathologie	33
2.3. Symptomatologie.....	36
2.4. Diagnostic.....	39
2.5. Les différents types d'amyloses systémiques	40
2.6. Principales amyloses systémiques acquises	41
2.6.1. Amylose AA.....	41
2.6.1.1. Épidémiologie	41
2.6.1.2. Physiopathologie.....	42
2.6.1.3. Clinique	42
2.6.1.4. Traitement.....	42
2.6.2. Amylose AL	43
2.6.2.1. Épidémiologie	43
2.6.2.2. Physiopathologie.....	43
2.6.2.3. Clinique	43
2.6.2.4. Traitement.....	44
2.6.3. Amylose à β 2-microglobuline	44
2.6.3.1. Épidémiologie	44
2.6.3.2. Physiopathologie.....	44
2.6.3.3. Clinique	44
2.6.3.4. Traitements	45
2.6.4. Amylose ALECT2.....	45
2.6.4.1. Épidémiologie	45
2.6.4.2. Physiopathologie.....	45
2.6.4.3. Clinique	45
2.6.4.4. Traitement.....	46

2.6.5.	Amylose à apolipoprotéine A-IV (ApoA-IV).....	46
2.7.	Principales amyloses systémiques héréditaires.....	46
2.7.1.	Amylose à gelsoline	47
2.7.2.	Amylose associée aux apolipoprotéines.....	48
2.7.2.1.	Amylose à apolipoprotéine A-I (ApoAI).....	48
2.7.2.2.	Amylose à apolipoprotéine A-II (ApoAII).....	48
2.7.2.3.	Amylose à apolipoprotéine C-II (ApoCII)	48
2.7.2.4.	Amylose à apolipoprotéine C-III (ApoCIII)	48
2.7.3.	Amylose à fibrinogène	49
2.7.4.	Amylose à lysozyme	49
2.7.5.	Amylose à β 2-microglobuline mutée.....	50
2.8.	L'amylose à transthyréine	50
2.8.1.	Cas particulier de l'amylose à transthyréine sauvage.....	50
2.8.2.	L'amylose à TTR mutée.....	51
2.8.2.1.	Historique.....	51
2.8.2.2.	Épidémiologie	51
2.8.2.3.	Diagnostic	53
2.8.2.4.	Gène <i>TTR</i>	54
2.8.2.5.	Protéine.....	56
2.8.2.6.	Physiopathologie.....	57
2.8.2.7.	Symptomatologie et suivi de la FAP	58
2.8.2.7.1.	Atteinte neurologique	58
2.8.2.7.2.	Atteinte cardiaque	60
2.8.2.7.3.	Atteinte rénale	61
2.8.2.7.4.	Atteinte ophtalmologique.....	61
2.8.2.8.	Les traitements de hATTR.....	61
2.8.2.8.1.	Transplantation hépatique.....	61
2.8.2.8.2.	Stabilisateurs de la transthyréine	62
2.8.2.8.2.1.	Le tafamidis	62
2.8.2.8.2.2.	Le diflusinal.....	62
2.8.2.8.2.3.	Autres stabilisateurs de la TTR.....	62
2.8.2.8.3.	Destruction des dépôts.....	63
2.8.2.8.4.	Approches nucléotidiques	63
2.8.2.8.4.1.	Les ARN interférents	63
2.8.2.8.4.2.	Les oligonucléotides antisens.....	64
2.8.2.8.4.3.	L'édition de gènes : le CRISPR-Cas9.....	65
2.8.2.8.5.	Les anticorps monoclonaux.....	65
2.8.2.9.	Diagnostics différentiels de la FAP.....	66
3.	Objectifs de l'étude	68
	Matériel et méthodes.....	69
4.	Échantillons	69
5.	Techniques de biologie moléculaire	69
5.1.	Extraction d'ADN salivaire.....	69
5.2.	PCR d'amplification	70
5.2.1.	Réaction de PCR	70
5.2.2.	Amorces	71
5.2.3.	Électrophorèse sur gel d'agarose	72
5.2.4.	Purification des PCR d'amplification	72

5.3.	Réaction de séquence, séquençage des 4 exons et analyse informatique	73
5.3.1.	Réaction de séquence	73
5.3.2.	Purification des produits obtenus	74
5.3.3.	Séquençage par électrophorèse capillaire.....	74
5.3.4.	Analyse informatique des séquences	74
	Résultats	75
6.	Extraction d'ADN salivaire	75
6.1.	Mise au point de l'extraction d'ADN salivaire	75
6.2.	Résultats des extractions sur patients.....	76
7.	PCR d'amplification et purification.....	77
7.1.	Mise au point de la PCR.....	77
7.2.	Résultats PCR patients	78
8.	Séquençage Sanger des patients	78
8.1.	Variation pathogène mise en évidence	79
8.2.	Variation non pathogène mise en évidence	80
9.	Analyse et comparaison des données avec les investigateurs du CHU de Bordeaux	81
	Discussion	83
	Conclusion.....	86
	Références bibliographiques.....	87
	Annexes	93
	Serment d'Hippocrate.....	107

Table des illustrations

Figure 1 - Arbre décisionnel pour le diagnostic des neuropathies périphériques, issu du Collège des Enseignants en Neurologie (2019).....	28
Figure 2 - Représentation schématique des prions et des domaines apparentés aux prions pouvant conduire à différents états conformationnels des dépôts amyloïdes issue de l'article de N. V. Dovidchenko et <i>al.</i> ²⁶	35
Figure 3 - Symptomatologie dans l'amylose systémique (créé avec Biorender.com).....	37
Figure 4 – Dépôts amyloïdes dans un contexte d'amylose digestive à TTR chez un patient du CHU de Limoges (coloration au rouge Congo en lumière standard)	39
Figure 5 - Dépôts amyloïdes dans un contexte d'amylose digestive à TTR chez un patient du CHU de Limoges (coloration au rouge Congo en lumière polarisée).....	40
Figure 6 - Prévalence mondiale de FAP issue des données de l'étude de Schmidt et <i>al.</i> (2018) par Inês et <i>al.</i> ⁶⁸	52
Figure 7 - Phénotype et génotype retrouvés les plus fréquents des sujets d'Europe inscrits au THAOS, d'après l'article de T. Damy et <i>al.</i> ⁵⁸	53
Figure 8 - Dépôts amyloïdes mis en évidence par immunohistochimie par anticorps anti-TTR	54
Figure 9 - Représentation du gène <i>TTR</i> (Créé avec Biorender.com)	54
Figure 10 - Corrélation entre le tableau clinique et les variations pathogènes du gène <i>TTR</i> selon l'ancienne dénomination	55
Figure 11 – A : Modélisation d'un monomère de protéine TTR – B : Modélisation de TTR sous forme tétramérique	56
Figure 12 - Physiopathologie de l'ATTR (Créé avec Biorender.com)	58
Figure 13 - Score CADT (Compound Autonomic Dysfunction Test).....	60
Figure 14 - Mécanisme d'action des ARNi (Créé avec Biorender.com).....	64
Figure 15 - Différentes approches thérapeutiques dans l'hATTR (Créé avec Biorender.com)	66
Figure 16 - Prise en charge globale de l'ATTR-FAP	67
Figure 17 - Échelle de poids moléculaire utilisée (GeneRuler 1 kb Plus DNA Ladder)	72
Figure 18 – Exemple d'électrophorégramme obtenu par séquençage (vert : adénine (A), noir : guanine (G), bleu : cytosine (C), rouge : thymine (T)).....	74
Figure 19 - Mise au point des 4 PCR avec un Tm à 58°C A : PCR des exons 1, 3 et 4 du gène <i>TTR</i> – B : PCR de l'exon 2 du gène <i>TTR</i> (bandes aspécifiques mises en évidence par les flèches)	77
Figure 20 - Test de réaction de PCR avec Tm à 59°C pour les 4 exons du gène <i>TTR</i>	78
Figure 21 – Exemple de comparaison de la séquence de référence de l'exon 1 du gène <i>TTR</i> avec les séquences F et R pour le patient 108	79

Figure 22 – Exemple d'électrophorégramme des séquences F et R de l'exon 2 du patient 10	79
Figure 23 - Variation p.Val50Met pathologique sur l'exon 2 du patient 6.....	80
Figure 24 - Variation hétérozygote p.Gly26Ser non pathologique sur l'exon 2 du patient 7 ..	80
Figure 25 - Variation homozygote p.Gly26Ser du patient 64	81

Table des tableaux

Tableau 1 - Classification des différents types d'amyloses systémiques.....	41
Tableau 2 - Protéines et gènes impliqués dans les différents types d'amyloses héréditaires	46
Tableau 3 - Score FAP (Familial Amyloid Polyneuropathy)	59
Tableau 4 - Score PND (Peripheral Neuropathy Disability)	59
Tableau 5 – Composition du mix réactionnel de la PCR auquel sera ajouté 1 µL d'ADN extrait.....	70
Tableau 6 - Amorces utilisées pour la PCR des exons 1 à 4 du gène <i>TTR</i>	71
Tableau 7 - Programme utilisé pour les PCR d'amplification	71
Tableau 8 - Mix réactionnel pour la réaction de séquence auquel on ajoute 3µL de produit de PCR purifié	73
Tableau 9 - Programme de la réaction de séquence	73
Tableau 10 - Dosage au NanoDrop™ d'ADN de contrôle extrait.....	75
Tableau 11 - Comparaison des deux protocoles d'extraction d'ADN sur un échantillon témoin	76
Tableau 12 - Exemples d'extractions d'ADN à partir des échantillons salivaires.....	76

Introduction

1. Les neuropathies périphériques

1.1. Généralités

Les neuropathies périphériques (NP) appartiennent à un groupe de pathologies affectant le système nerveux périphérique (SNP), pour lequel une centaine d'étiologies ont été décrites¹.

La prévalence des NP dans la population générale varie de 1 à 7%², elle augmente à 8% chez les patients de plus de 55 ans.^{1,3} Les étiologies les plus fréquemment retrouvées sont le diabète sucré, la compression ou la lésion nerveuse, la consommation éthylique, les carences nutritionnelles ou les neuropathies héréditaires.^{2,3}

Les NP sont classées en 5 grands groupes comme répertoriés dans la figure 1 issue du Collège des Enseignants de Neurologie⁴ :

- La polyradiculoneuropathie consiste en l'atteinte de l'ensemble des racines nerveuses sensitives et motrices et des troncs nerveux. La plus connue est le syndrome de Guillain-Barré (SGB), une polyradiculonévrite aiguë inflammatoire⁵ précédée dans plus de 50% des cas d'un épisode infectieux (cytomégalovirus, virus d'Epstein-Barr ou diarrhées à *Campylobacter jejuni*), responsable de deux tableaux distincts :
 - o Le SGB démyélinisant sensitivo-moteur,
 - o La neuropathie motrice axonale aiguë, secondaire à l'infection à *Campylobacter jejuni*, à prédominance motrice.⁴
- La neuronopathie est définie comme l'atteinte du corps cellulaire du neurone (moteur ou sensitif).⁴ Les neuronopathies sensitives sont soit paranéoplasiques soit dysimmunitaires (syndrome de Gougerot-Sjögren).⁵
- La mononeuropathie, ou syndrome canalaire, désigne l'atteinte focale d'un tronc nerveux.³
- La mononeuropathie multiple ou multinévrite est définie par l'atteinte de plusieurs troncs nerveux distincts, simultanément ou en série.³
- La polyneuropathie consiste en l'atteinte de toutes les fibres nerveuses longueur-dépendantes, c'est-à-dire commençant par une atteinte distale des membres inférieurs.

Les neuronopathies et les polyradiculopathies étant des entités spécifiques, elles ne seront pas approfondies dans la suite du manuscrit.

Les NP étant associées à de nombreuses affections, le traitement doit être adapté à la cause sous-jacente du trouble. Malheureusement, la détermination de la cause sous-jacente de la NP peut représenter un défi diagnostique car il n'existe pas d'algorithme universel clair.⁶ Ainsi, une anamnèse précise et un examen physique approfondis sont nécessaires pour orienter la poursuite de la prise en charge, il faut également prendre en compte les antécédents personnels et familiaux du patient, l'exposition éventuelle à des traitements ou toxines et éliminer une cause centrale. L'interrogatoire et l'examen clinique orientent ensuite la réalisation d'examens complémentaires appropriés.

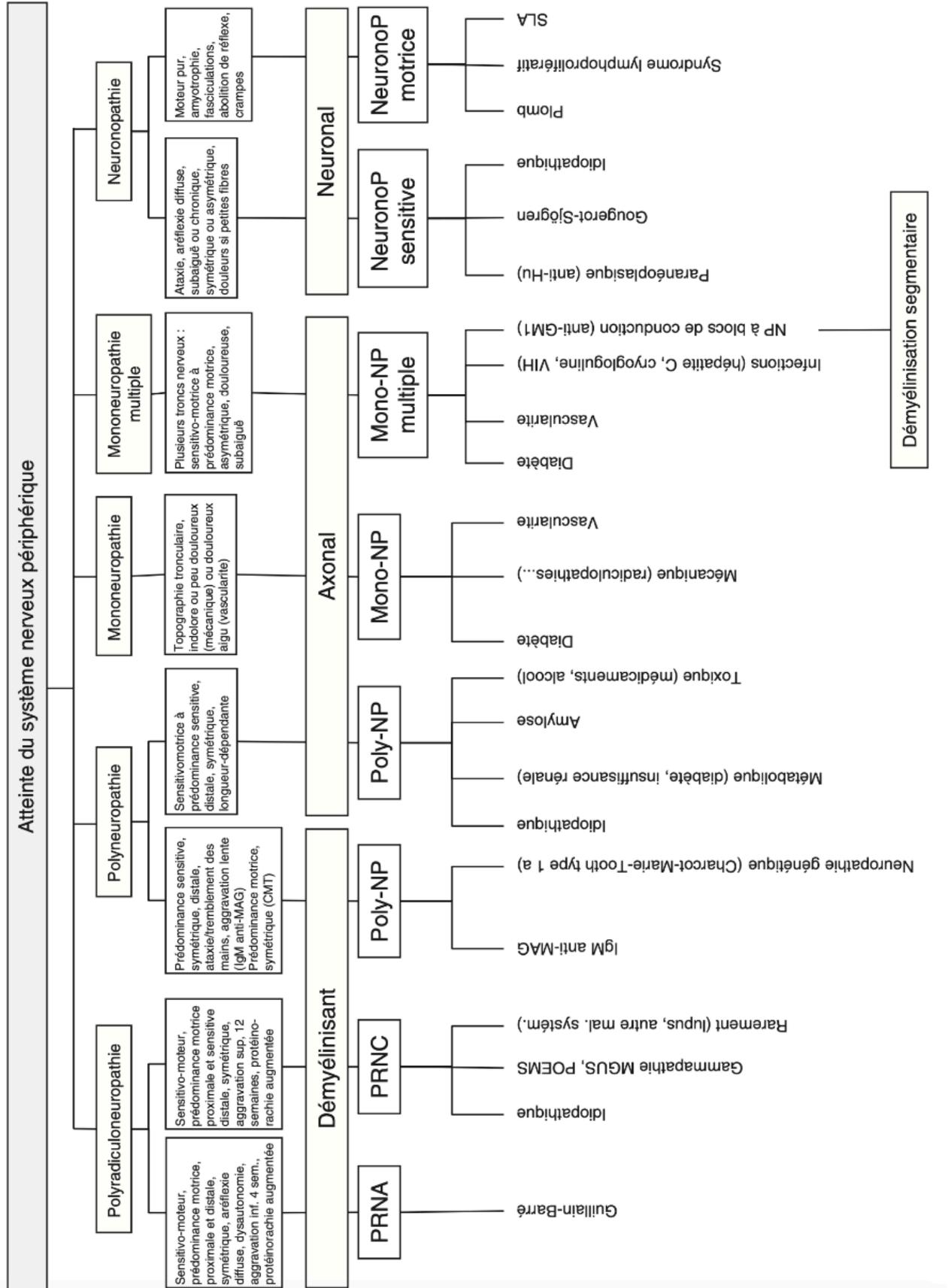


Figure 1 - Arbre décisionnel pour le diagnostic des neuropathies périphériques, issu du Collège des Enseignants en Neurologie (2019)

1.2. Diagnostic des neuropathies périphériques

1.2.1. Clinique

Le SNP est constitué de fibres motrices, sensibles et autonomes, il existe donc trois tableaux cliniques pouvant ou non s'associer dans les NP⁷ :

- Les signes moteurs, qui associent une paralysie ou une parésie, une amyotrophie, des fasciculations, une diminution ou abolition des réflexes ostéotendineux (ROT)⁵.
- Les signes sensitifs, qui peuvent être liés à une atteinte des petites fibres (amyéliniques) ou des grosses fibres nerveuses (myélinisées). Une atteinte des petites fibres est responsable de troubles de la sensibilité thermo-algique tandis qu'une atteinte des grosses fibres entraîne un trouble des sensibilités tactiles et proprioceptives.^{1,5,7} Les signes sensitifs sont souvent les premiers à se manifester.
- Les signes neurovégétatifs, tels qu'une hypotension orthostatique, des troubles digestifs, une incontinence urinaire, une impuissance, une sécheresse oculaire, buccale ou cutanée, une satiété précoce, etc.^{2,5,7}

La présence de douleurs neuropathiques, représentant l'un des symptômes les plus invalidants des PN, affecte un tiers des patients atteints de NP.⁷

1.2.2. Examens complémentaires

L'électromyogramme (EMG) fournit des informations utiles sur la localisation neuroanatomique (tronculaire, radiculaire, polyradiculaire ou neuronal) en fonction des muscles touchés, la caractérisation et le mécanisme (démýélinisant, axonal ou neuronal) de la NP.⁴ L'EMG permet de confirmer la nature neurogène du trouble et de le différencier d'une éventuelle myopathie.⁶ Cet examen consiste à stimuler électriquement un nerf et à enregistrer la réponse à un autre endroit du nerf ou d'un muscle, en insérant une petite électrode à aiguille dans un muscle et en enregistrant l'activité électrique au repos ou non, et permet la mesure de différents paramètres :

- L'amplitude du potentiel d'action des réponses sensibles ou motrices qui reflètent l'intégrité axonale. Elle est diminuée dans le cadre d'une neuropathie axonale.
- La vitesse de conduction qui reflète, quant à elle, l'intégrité des grandes fibres myélinisées et diminue dans les neuropathies démýélinisantes.^{4,5}

L'examen du liquide cérébro-rachidien (LCR) par ponction lombaire a un faible rendement diagnostique mais est utile en cas de suspicion de neuropathies infectieuses⁶, de polyradiculonévrites ou de neuronopathies sensibles.⁴

L'imagerie, telles que l'IRM et l'échographie des nerfs et des muscles périphériques peut être un outil diagnostique utile dans l'évaluation de certaines formes de neuropathie, en particulier les mononeuropathies et mononeuropathies multiples, mais également en cas de polyradiculopathie. L'échographie des nerfs périphériques présente l'avantage d'être non invasive et peu coûteuse, et permet un examen dynamique d'un long segment de nerf.⁵

La biopsie nerveuse peut être envisagée pour confirmer le mécanisme de la neuropathie ou avant la mise en place d'un traitement agressif. Elle est réalisée le plus souvent sur un nerf sensitif de la jambe, le nerf sural, et n'est jamais réalisée en première intention en raison de son caractère invasif. Elle est utile pour le diagnostic de formes spécifiques de NP, en

particulier les vascularites, la lèpre, la leucodystrophie, la sarcoïdose, certaines neuropathies démyélinisantes chroniques et l'amylose.^{2,5,6}

1.3. Étiologies des neuropathies périphériques

Les différentes étiologies illustrées dans la figure 1 sont décrites dans cette partie, en commençant par les neuropathies diabétiques, responsables de différents tableaux cliniques.

Le diabète est l'étiologie la plus fréquemment retrouvée des NP, notamment les polyneuropathies.^{3,7} Près de 50% des diabétiques souffrent d'une polyneuropathie, entraînant des douleurs, des paresthésies, des troubles de l'équilibre et donc une diminution non négligeable de la qualité de vie.^{5,8}

Le diabète est majoritairement responsable d'une polyneuropathie sensitivo-motrice symétrique longueur-dépendante, associée ou non à une dysautonomie. Différents mécanismes semblent être en cause, tels que des altérations vasculaires, des perturbations métaboliques ou inflammatoires⁴, qui sont les conséquences directes d'une exposition chronique à l'hyperglycémie et souvent à l'association à des comorbidités cardiovasculaires.⁸

Le diabète est également responsable d'autres formes de NP, telles que des neuropathies focales ou multifocales (atteinte des nerfs crâniens, du nerf fémoral) ou des neuropathies motrices proximales également appelées l'amyotrophie diabétique.^{4,8}

1.3.1. Mononeuropathies

Les étiologies les plus fréquentes de mononeuropathies sont mécanique par piégeage ou compression nerveuse, et traumatique.

La mononeuropathie la plus fréquente est le syndrome du canal carpien (SCC) causée par la compression du nerf médian dans le canal carpien.^{3,9} Le SCC, présent chez 3,8% de la population générale⁵, est responsable d'une atteinte tronculaire chronique. Les signes sensitifs habituellement retrouvés sont des paresthésies nocturnes, douloureuses et une hypoesthésie des trois premiers doigts (territoire du nerf médian) préférentiellement du côté dominant. Les signes moteurs se traduisent par une faiblesse de la préhension de la main et une amyotrophie de l'éminence thénar.^{4,5}

La compression du nerf ulnaire dans la gouttière épitrochléo-olécrânienne représente la deuxième mononeuropathie la plus courante.³ Il se traduit par une hypoesthésie et des paresthésies des 4^{ème} et 5^{ème} doigts (territoire du nerf ulnaire).⁵

Les autres mononeuropathies existantes atteignent le nerf radial et le nerf fibulaire.

1.3.2. Mononeuropathies multiples

Les mononeuropathies multiples sont souvent dues soit à une maladie systémique, notamment une vascularite à vaisseaux moyens telles que la périartérite noueuse ou une vascularite à petits vaisseaux, telle que la cryoglobulinémie essentielle ou la vascularite à ANCA. L'examen clé pour la recherche des vascularites est la biopsie de nerf sensitif.⁴

Les mononeuropathies multiples peuvent également être liées au diabète, à des infections telles que la lèpre (une étiologie rare en France), la maladie de Lyme, le VIH, l'hépatite virale, ou encore à la sarcoïdose, etc.⁶

1.3.3. Polyneuropathies

Dans 24 à 27% des cas, aucun diagnostic clair n'est établi après une évaluation approfondie de la polyneuropathie, elle est donc classée comme idiopathique.⁹ La plupart de ces neuropathies chroniques idiopathiques sont légères avec une atteinte sensorielle prédominante.⁶ Il convient, dans ce cas de figure, d'adresser le patient vers des centres spécialisés afin d'approfondir la recherche diagnostique.

1.3.3.1. Polyneuropathies démyélinisantes

Les deux causes les plus fréquentes de polyneuropathie démyélinisante sont la neuropathie à IgM monoclonale à activité anti-MAG et les neuropathies héréditaires, la plus fréquente étant la maladie de Charcot-Marie-Tooth (CMT).

1.3.3.1.1. La neuropathie à IgM monoclonale à activité anti-MAG

Elle concerne généralement les patients de plus de 50 ans et est responsable d'une ataxie et d'un tremblement des mains lentement progressifs. L'électrophorèse des protéines retrouve un pic d'IgM monoclonale (en général inférieur à 10 g/L) et la recherche d'anticorps anti-MAG est positive.

1.3.3.1.2. Maladie de Charcot-Marie-Tooth (CMT)

La Maladie de Charcot-Marie-Tooth (CMT) est une neuropathie héréditaire sensitivo-motrice. Elle se caractérise par l'apparition précoce d'une faiblesse et d'une atrophie musculaire distale lentement progressive, notamment une atrophie des mollets, des pieds creux, associée à une atteinte sensitive. D'autres symptômes, tels qu'une scoliose ou une surdité sont également décrits chez certains patients.

De nombreux sous-types de CMT ont été classés selon la partie du nerf atteinte, le mode de transmission, et le gène en cause. Les sous-types démyélinisants sont les CMT1, liés majoritairement à une variation pathogène ou une duplication du gène *PMP22* de transmission autosomique dominante et les CMT4 de transmission autosomique récessive.¹⁰

1.3.3.2. Polyneuropathies axonales

1.3.3.2.1. Étiologies métaboliques et carences vitaminiques

Pour le versant métabolique, elles regroupent le diabète, le prédiabète et l'insuffisance rénale chronique.⁹

Pour le versant vitaminique, la carence en vitamine B12 (cobalamine) est la carence vitaminique la plus couramment observée chez les patients souffrant de polyneuropathie, notamment en cas de restriction alimentaire sévère (régime végétalien), de malabsorption intestinale ou chez les diabétiques traités à la metformine. La carence en vitamine B1 (thiamine), fréquente en cas d'éthylisme chronique ou de malnutrition et en vitamine B6 (pyridoxine) sont également responsables de polyneuropathie.⁵

1.3.3.2.2. Étiologies toxiques et médicamenteuses

La polyneuropathie toxique alcoolique représente la deuxième cause de polyneuropathie dans les pays industrialisés après le diabète et affecte plus de 10% des alcooliques chroniques. Elle est secondaire à la toxicité directe de l'alcool. L'association à une carence en vitamine B1 avec est responsable d'une expression à prédominance motrice de la neuropathie.

Elle touche les fibres motrices, sensibles et végétatives et la symptomatologie sensitive est prédominante. Elle s'installe de façon insidieuse et se traduit au début par des paresthésies à type de fourmillements des pieds, des crampes nocturnes des mollets, une faiblesse motrice s'exprimant par une fatigabilité anormale à la marche. Après un certain temps d'évolution, le patient se plaint de douleurs en étau et surtout de brûlures avec paroxysmes, voire d'une hyperpathie douloureuse, surtout nocturne.⁴

Les causes médicamenteuses sont fréquentes et provoquent des polyneuropathies majoritairement sensibles avec paresthésies. Les traitements en cause sont, par exemple, les chimiothérapies (sels de platine, taxanes, alcaloïdes...), thalidomide, amiodarone, certains antibiotiques (métronidazole, isoniazide, nitrofurantoïne...), immunosuppresseurs (infiximab, tacrolimus...), antirétroviraux, etc. Les symptômes disparaissent généralement à l'arrêt du traitement.⁶

Parmi les causes toxiques, il convient de citer également les intoxications aux métaux lourds (plomb).⁶

1.3.3.2.3. Maladie de Charcot-Marie-Tooth

Il existe certains sous-types de la CMT responsables d'une polyneuropathie axonale, classiquement nommée CMT2 pour les formes autosomiques dominantes,¹⁰ liées majoritairement à des mutations du gène *MFN2*.⁶ Des formes autosomiques récessives de CMT axonale existent également.

1.3.3.2.4. Amyloses

La polyneuropathie amyloïde est secondaire aux dépôts de substance amyloïde (transthyrétine mutée au cours des amyloses héréditaires ou gammopathie monoclonale au cours des amyloses primitives) dans le système nerveux périphérique.

L'amylose doit être recherchée systématiquement en cas de contexte familial et devant une polyneuropathie axonale chronique, associée à des signes dysautonomiques. Elle est initialement marquée par un déficit de la sensibilité thermoalgique au niveau des membres inférieurs pouvant s'associer à des douleurs, les manifestations s'étendent ensuite aux membres supérieurs.⁴

Parmi les amyloses systémiques acquises, l'amylose AL est la seule à être responsable de polyneuropathie, tandis que différents types d'amylose héréditaires peuvent être responsables d'une polyneuropathie, notamment l'amylose à transthyrétine mutée, l'amylose à gelsoline, l'amylose à β_2 -microglobuline mutée et l'amylose à apolipoprotéine-A1.¹¹

Dans la suite de ce manuscrit, nous allons détailler plus longuement les amyloses systémiques acquises et héréditaires, en décrivant notamment leur retentissement clinique, leur diagnostic biologique, et leur prise en charge thérapeutique. Enfin, nous allons terminer par une étude approfondie de l'amylose héréditaire à transthyrétine.

2. Les amyloses

En 1639, Nicolas Fonteyn a réalisé l'autopsie d'un médecin et poète hollandais et a probablement été le premier à décrire un patient atteint d'amylose systémique. Des modifications de consistance de certains organes hypertrophiés, tels que le foie, la rate, le cœur et les reins, ont ensuite attiré l'attention de nombreux pathologistes tels que Rokitansky au XIX^{ème} siècle.¹²

En 1854, Rudolph Virchow a été l'un des premiers à utiliser le terme amyloïde pour désigner cette modification amorphe et hyaline des tissus en raison d'une réaction de coloration à l'iode similaire à celle de l'amidon (« amylo » en grec, « amyllum » en latin).^{12,13} Bien que l'on sache aujourd'hui que l'amyloïde n'a rien à voir avec l'amidon, le terme amyloïde est encore utilisé aujourd'hui.

2.1. Définition

Les amyloses appartiennent à un ensemble de pathologies hétérogènes, qui sont caractérisées par le dépôt de protéines anormalement repliées dans les tissus extracellulaires.¹⁴ Ces agrégats de protéines ayant adopté une mauvaise conformation sont appelés dépôts amyloïdes. Les dépôts amyloïdes vont s'accumuler dans les différents organes et être responsables de leur dysfonctionnement. Les amyloses sont des maladies rares, l'incidence estimée aux États-Unis est de 12,7 cas/million d'habitants/an.¹⁵

La classification actuelle des amyloses est établie en fonction du précurseur protéique. Le terme A (pour amylose) est suivi de l'abréviation correspondant au type de protéines impliquées : AL (amylose dérivant de la chaîne légère de l'immunoglobuline), ATTR (amylose dérivant de la transthyréline), etc.^{13,16}

On distingue deux principaux types d'amyloses :

- Les amyloses localisées, caractérisées par l'atteinte d'un organe ou tissu spécifique, par exemple, dans la maladie d'Alzheimer avec l'accumulation cérébrale de peptides β -amyloïdes.
- Les amyloses systémiques dont les dépôts se répandent dans tout l'organisme.^{12,17}

Les mécanismes physiopathologiques seront les mêmes quel que soit le type d'amylose, mais pour la suite de ce manuscrit, nous allons nous concentrer essentiellement sur les différentes formes d'amyloses systémiques.

2.2. Physiopathologie

Les dépôts amyloïdes sont formés principalement de protéines ayant perdu leur structure tridimensionnelle physiologique, dite « α -hélicoïdale », pour une structure dite « β -plissée » qui leur confère une capacité accrue à s'assembler sous forme de fibrilles¹⁸. Cet agrégat est ainsi constitué de fibrilles protéiques polymérisées, hautement organisées en feuillets β -plissés antiparallèles les rendant insolubles et résistantes à la dégradation. En microscopie électronique, les fibrilles amyloïdes apparaissent rigides, non ramifiées et mesurent entre 8 et 10 nm de diamètre. Cette organisation leur confère des propriétés tinctoriales singulières, dont une est spécifique et permet d'affirmer le diagnostic d'amylose : le dichroïsme et la biréfringence en lumière polarisée après coloration par le rouge Congo.

Bien qu'il soit évident qu'il n'existe pas de dépôts amyloïdes sans fibrilles, d'autres composants sont présents dans les dépôts. Certains composants, tels que le sérum amyloïde P (SAP) et

les protéoglycanes à héparane sulfate sont plus ou moins omniprésents et sont étroitement associés aux fibrilles. Certains autres composants sont également présents dans les dépôts, comme plusieurs apolipoprotéines, mais ils n'ont été que très peu étudiés.^{19,20}

Il a été décrit à ce jour 36 protéines amyloïdogènes, dont au moins 17 seraient responsables d'une amylose systémique. Le tableau issu de l'article de Benson et al, en annexe 1, répertorie toutes les protéines amyloïdogènes connue à ce jour.²¹

Différents mécanismes physiopathologiques, intrinsèques aux précurseurs protéiques responsables de la formation des fibrilles amyloïdes, ont été mis en évidence :

- La formation de dépôts en cas de concentration excessive du précurseur protéique amyloïdogène,
- La capacité intrinsèque de la protéine (de type « sauvage ») à modifier sa conformation, entraînant, à la suite du vieillissement physiologique, la formation de protéines mal repliées ou possédant une conformation pathologique,
- La présence de variations génétiques pathogènes responsables d'un plus grand risque de mauvais repliement de la protéine mutée par rapport à la protéine native,
- Le clivage par protéolyse de certaines protéines favorisant la formation de polypeptides de grande taille et possédant une grande capacité d'agrégation entre eux.^{20,22,23}

Par exemple, dans les amyloses systémiques acquises telles que l'amylose AL, AA ou à β 2-microglobuline, le précurseur amyloïdogène est une protéine circulante qui devient amyloïdogène lorsqu'elle atteint une concentration substantielle et persistante dans le plasma. Dans les amyloses héréditaires, le dépôt amyloïde résulte de la présence de protéines mutées circulant depuis la naissance à une concentration plasmatique stable. La concentration plasmatique de ces protéines et le temps nécessaire pour qu'elles deviennent amyloïdogènes sont des facteurs déterminants de l'évolution de la maladie.²⁴

Ces différents mécanismes d'accumulation vont s'associer à une résistance accrue au catabolisme physiologique des protéines, il a été observé que la SAP semble être impliquée dans la résistance à la dégradation des fibrilles amyloïdes.²⁵ En effet, la dégradation protéique est liée au fonctionnement de différents systèmes de contrôle de qualité des protéines, qui opèrent tant au niveau intracellulaire qu'extracellulaire pour éliminer les protéines mal repliées. Quand ces systèmes de contrôle sont dépassés ou que leur capacité fonctionnelle est réduite par le vieillissement, les processus amyloïdogènes vont alors se produire.

Afin de modéliser la physiopathologie des amyloses et pour décrire sa dissémination dans l'organisme, l'exemple du mécanisme d'action des prions a été utilisé, la figure 2 ci-dessous issue de l'article de N.V. Dovidchenko et al. nous permet de l'illustrer.

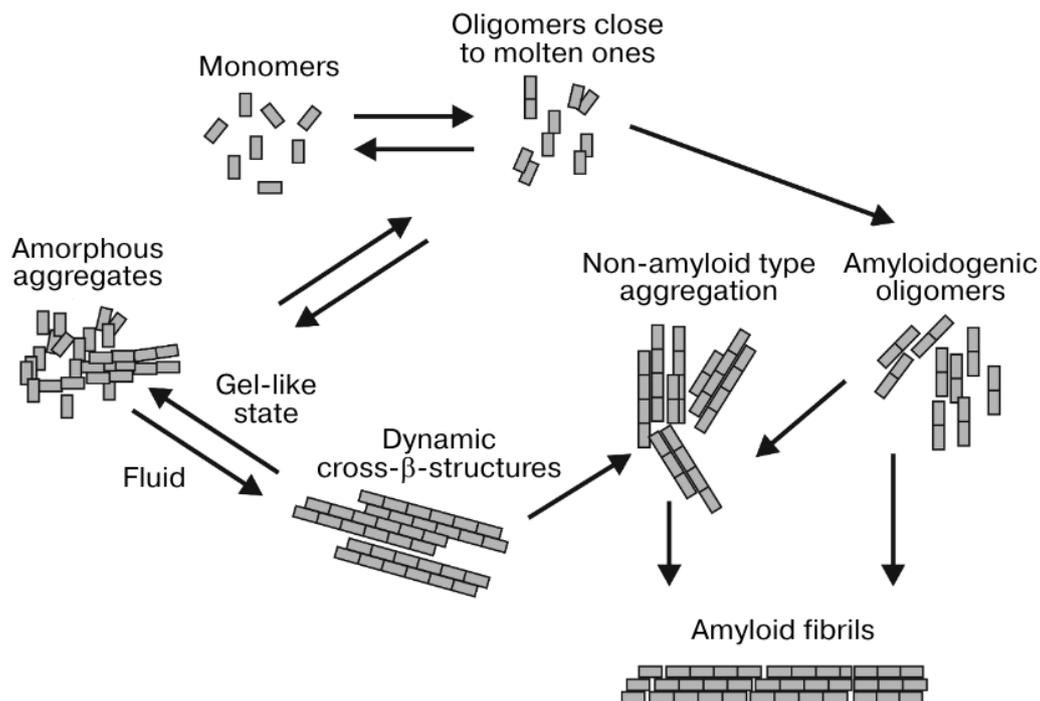


Figure 2 - Représentation schématique des prions et des domaines apparentés aux prions pouvant conduire à différents états conformationnels des dépôts amyloïdes issue de l'article de N. V. Dovidchenko et al.²⁶

Les prions sont des protéines capables d'adopter différentes conformations, notamment celle des fibrilles amyloïdes. Différentes études ont montré que les prions provoquent différentes maladies, parfois fatales chez les mammifères et remplissent certaines fonctions protéiques, par exemple l'activation de l'immunité innée. De nombreuses protéines amyloïdogènes contiennent des domaines de type prion qui leur confèrent des propriétés proches de celles des prions, telle que leur capacité d'autoassemblage. Ces domaines leur permettent de passer de la structure tridimensionnelle dépliée à des états intermédiaires, y compris à la formation de fibrilles amyloïdes. Ces protéines sont généralement en équilibre dynamique entre deux formes : des monomères solubles dépliés et des oligomères.²⁶

Selon une première hypothèse, les monomères peuvent s'organiser en oligomères amyloïdogènes structurés, puis se transformer en agrégats pathologiques non amyloïdes ou directement en fibrilles amyloïdes. Ces dernières peuvent servir de "matrice" pour un repliement incorrect par le type prion.

Une deuxième hypothèse estime que les molécules de protéines peuvent former des agrégats amorphes constitués à la fois de monomères solubles et d'oligomères organisés en structures possédant des propriétés fluidiques, ou former des structures de type gel. En d'autres termes, les domaines de type prion sont nécessaires pour l'agrégation au stade de la transition conformationnelle de la protéine de l'état fluide à l'état de gel afin de remplir certaines fonctions vitales, mais dans certaines conditions, ils peuvent se transformer de manière irréversible en fibrilles amyloïdes.²⁶

Ainsi, ces différents mécanismes de formation, de dissémination et de moindre dégradation des fibrilles amyloïdes associés seront responsables de l'accumulation progressive de dépôts dans les tissus et, à terme, vont conduire à des manifestations cliniques diverses.

2.3. Symptomatologie

La symptomatologie clinique des amyloses systémiques est déterminée par le type de protéines impliquées dans la pathologie, ainsi, les manifestations cliniques seront très variables en fonction du type d'amylose. Certaines formes d'amylose vont présenter des atteintes prédominantes d'un organe (par exemple, l'atteinte cardiaque dans l'amylose à transthyrétine sauvage) tandis que d'autres vont présenter une atteinte diffuse de nombreux organes (par exemple, l'amylose AL). Néanmoins, il existe un chevauchement clinique important entre les différents types d'amylose.¹⁷

La maladie passe souvent inaperçue jusqu'à ce que des symptômes alarmants apparaissent plus tard dans son évolution. Des plaintes non spécifiques telles que la fatigue et la perte de poids apparaissent progressivement,²⁷ mais elles ne sont souvent remarquées qu'après que la maladie ait évolué vers des signes plus spécifiques, tels que l'œdème, la dyspnée, le saignement ou l'hypotension orthostatique.

Les organes les plus communément touchés sont le cœur, le système nerveux (SN), les reins, le foie et le tractus gastro-intestinal. Les poumons, les muscles et les tissus mous peuvent également être atteints.¹⁷

L'ensemble des manifestations cliniques retrouvé dans les amyloses systémiques est présenté dans la figure 3 ci-après.

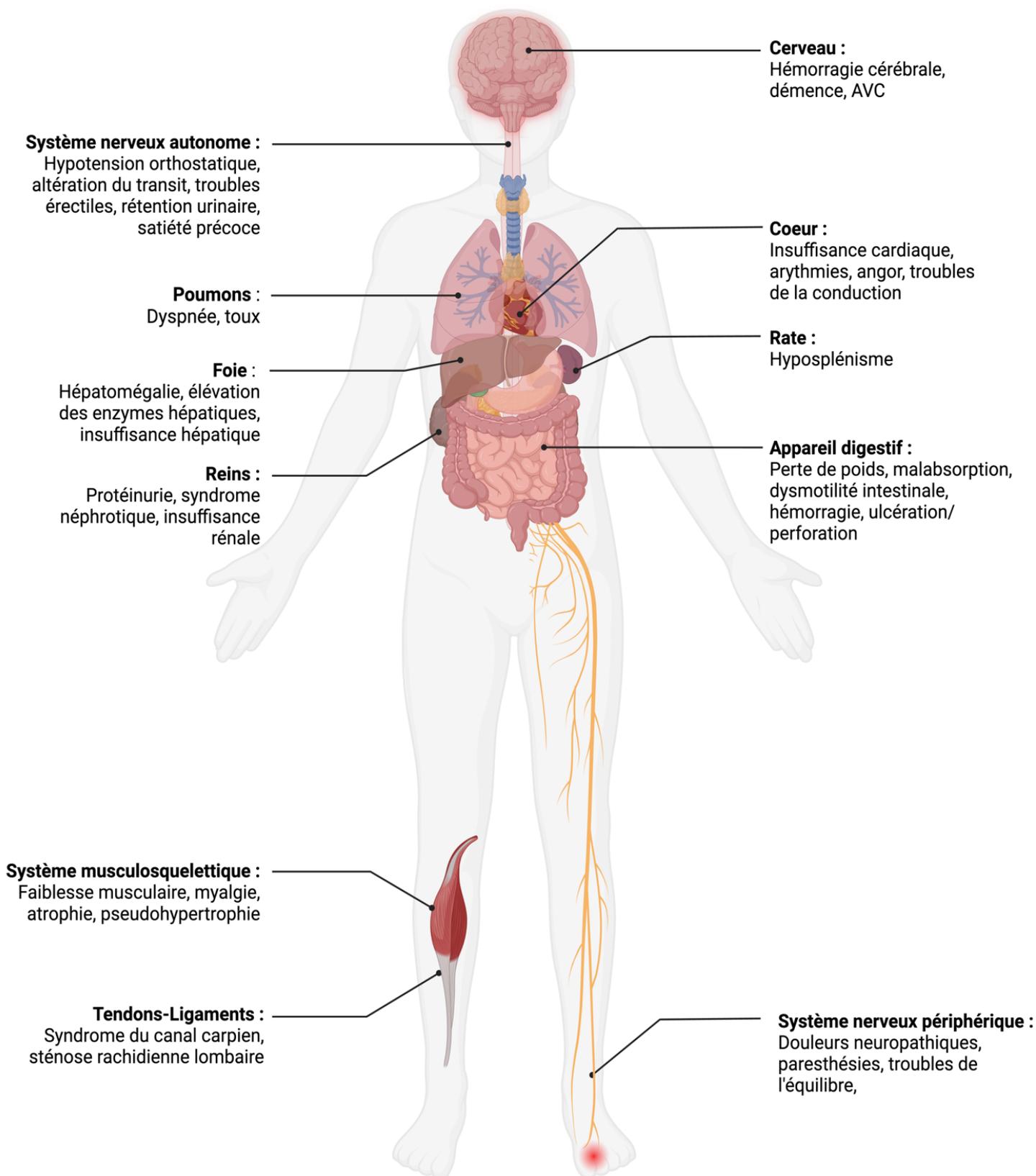


Figure 3 - Symptomatologie dans l'amylose systémique (créé avec Biorender.com)

L'atteinte cardiaque amyloïde se manifeste habituellement par une insuffisance cardiaque (IC) avec fraction d'éjection systolique préservée (supérieure à 50%) responsable d'une dyspnée, d'une hypotension artérielle et d'une rétention hydrique.¹⁷ Les signes et symptômes de l'insuffisance cardiaque droite (œdème, augmentation de la pression veineuse jugulaire, hépatomégalie) sont souvent observés.

La fraction d'éjection et la taille du cœur sur la radiographie thoracique restent dans la norme pendant une longue période de progression de la maladie. Un microvoltage et/ou des pseudo-ondes de nécrose antéro-septales sont parfois visibles sur l'électrocardiogramme (ECG). Ces manifestations à l'ECG associées à un épaississement des parois ventriculaires à l'échographie cardiaque sont pathognomoniques d'une cardiomyopathie infiltrante telle que l'amylose.²⁷ L'accumulation des dépôts amyloïdes dans les artères coronaires peut entraîner un angor souvent atypique ou un infarctus. La tachycardie ventriculaire, des troubles de la conduction nécessitant la mise en place d'un pacemaker sont des complications fréquentes et dangereuses de certaines formes d'amylose. L'augmentation des concentrations sériques de peptide natriurétique N-terminal (NT-proBNP) et de troponine peut révéler une atteinte cardiaque asymptomatique et aider à évaluer les risques associés avant le début de tout traitement.²⁷ Des accidents vasculaires cérébraux ischémiques peuvent être observés et sont souvent causés par une embolie provenant du cœur atteint.

L'atteinte neurologique amyloïde, quant à elle, se manifeste par une atteinte précoce à la fois du système nerveux périphérique (SNP) et du système nerveux autonome (SNA). La symptomatologie liée à l'atteinte nerveuse périphérique provoque des paresthésies, des troubles de la sensibilité thermo-algique, des pertes d'équilibre et des faiblesses des membres, certains patients souffrent également de douleurs neuropathiques.¹⁷ L'électromyogramme, souvent normal dans la phase précoce en cas d'atteinte des petites fibres non myélinisées, montre une neuropathie périphérique sensitivomotrice axonale. La symptomatologie liée à l'atteinte du SNA est responsable d'hypotension orthostatique, de nausées, vomissements, de rétention urinaire, de troubles du transit ou de l'érection.^{17,27}

Le syndrome du canal carpien (SCC) causé par le piégeage du nerf médian dû à l'épaississement de la synovie par l'amylose est une manifestation de diverses formes d'amylose, notamment AL et ATTR, et peut précéder les autres manifestations de plusieurs années. Le signe de l'épaulette et la pseudarthrose des petites articulations de la main et du poignet sont également retrouvés.²⁷

L'atteinte rénale se caractérise généralement par une protéinurie non sélective asymptomatique et peut aller jusqu'au syndrome néphrotique ou à l'insuffisance rénale (IR).^{17,27}

Il est également possible d'observer une atteinte hépatique avec une hépatomégalie, une élévation des transaminases et de la bilirubine, voire une insuffisance hépatique. Une atteinte du tractus gastrointestinal avec malabsorption intestinale, des troubles de la motilité, une gastroparésie, des perforations ou ulcérations intestinales est aussi observée dans certains cas.¹⁷

L'amylose pulmonaire, rare, se caractérise par un aspect réticulonodulaire sur la radiographie du thorax lié à des infiltrats interstitiels diffus. L'amylose pleurale passe souvent inaperçue, mais devient visible sous la forme d'épanchements pleuraux, relativement volumineux.¹⁷

Diverses autres manifestations peuvent être présentes : nodules cutanés, opacités vitréennes, ecchymoses, purpura périorbitaire, anomalies de la coagulation causées par une déficience en facteur X, macroglossie (dans environ 20 % des cas), claudication de la mâchoire, myopathies (pseudo-hypertrophie ou dystrophie musculaire), hypothyroïdie subclinique, cutis laxa et hypoadrénalisme. L'amylose méningée n'est observée que dans certaines mutations de l'amylose ATTR.²⁸

2.4. Diagnostic

Le diagnostic d'amylose systémique nécessite une présentation clinique évocatrice d'un syndrome d'amylose et une confirmation tissulaire de dépôts extracellulaires.

L'examen anatomopathologique et histologique reste théoriquement l'examen de référence pour le diagnostic d'amylose. La coloration par le rouge Congo fixe les fibres amyloïdes et leur donne cet aspect spécifique de biréfringence jaune-vert au microscope optique (MO) en lumière polarisée, comme le montrent les figures 4 et 5. Il est également possible de mettre en évidence directement les fibrilles par l'utilisation de microscopie électronique.¹⁷

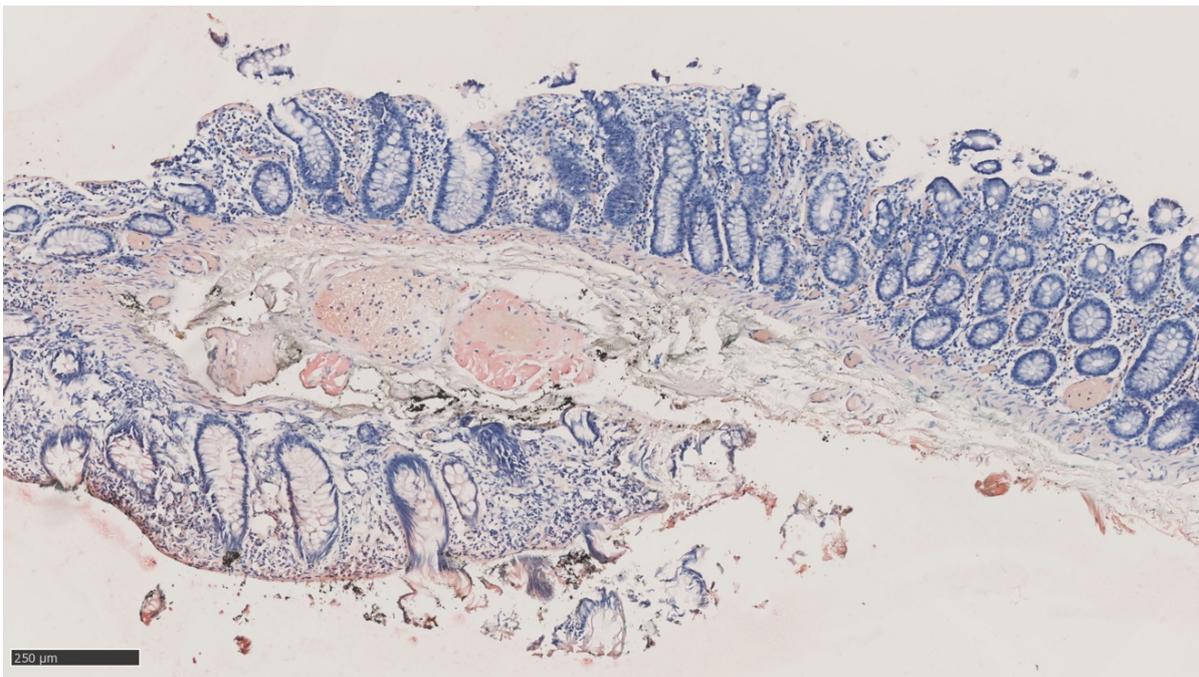


Figure 4 – Dépôts amyloïdes dans un contexte d'amylose digestive à TTR chez un patient du CHU de Limoges (coloration au rouge Congo en lumière standard)

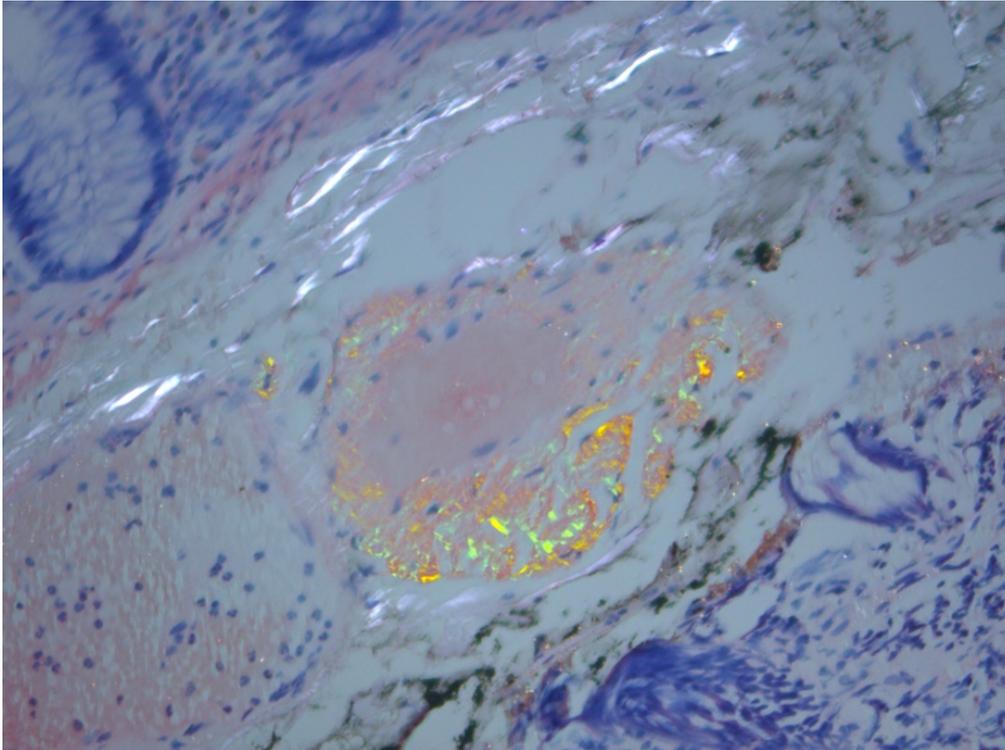


Figure 5 - Dépôts amyloïdes dans un contexte d'amylose digestive à TTR chez un patient du CHU de Limoges (coloration au rouge Congo en lumière polarisée)

L'immunohistochimie va ensuite nous orienter pour classer les différents types d'amylose grâce à l'utilisation d'anticorps dirigés contre les protéines formant les dépôts amyloïdes. La microdissection laser et la spectrométrie de masse sont également utilisées.¹⁸

Afin de procéder à l'analyse histologique, il faut procéder à une biopsie d'organes cibles, notamment la biopsie ou aspiration de tissu adipeux, la biopsie des glandes salivaires accessoires (BGSA), la biopsie gastrique, la biopsie rectale, la biopsie médullaire (en cas de détection d'une protéine monoclonale) ou une biopsie dirigée, rénale dans 90% des cas.¹⁴

La ponction de tissu adipeux représente une source facilement accessible pour le diagnostic, mais son rendement dépend du type d'amyloïde, allant de 15 % à 80 %. La sensibilité dépend également de la quantité de graisse prélevée. Dans une petite série de patients atteints d'amylose ATTR, la biopsie de graisse, par opposition à l'aspiration, a augmenté le taux de positivité probablement parce que la graisse était positive principalement dans les couches sous-cutanées profondes et qu'elle était répartie de manière inégale. La BGSA ne comporte pas de risque hémorragique et fournit un matériel plus simple à analyser en routine, il s'agit donc de l'examen de première intention pour le diagnostic des formes majeures d'amylose.^{12,17}

2.5. Les différents types d'amyloses systémiques

Le tableau 1 ci-dessous regroupe les principaux types d'amyloses systémiques, les différencie en fonction de leur étiologie (à savoir, acquises ou héréditaires) et les classe selon le type de dépôts protéiques impliqués et les organes atteints.^{12,14,24}

Type	Protéine impliquée	Organes atteints
<u>Acquises</u>		
AA	Protéine sérique amyloïde A	Tous, exceptés les SNC et SNP
AL, AH	Chaîne légère (L) ou lourde (H) d'immunoglobulines monoclonale	Tous, excepté le SNC
Aβ2M	β ₂ -microglobuline (iatrogène)	Système musculosquelettique
wtATTR	Transthyrétine sauvage	Cœur, poumons, système ostéoligamentaire
ALECT2	Leucocyte chemotactic factor-2	Foie, reins
AApoAIV	Apolipoprotéine A-IV sauvage	Reins (médullaire)
<u>Héréditaires</u>		
hATTR	Transthyrétine mutée	Cœur, SNP, SNA, œil
AFib	Chaîne α du fibrinogène	Reins
AApoAI, AII, AIII, CII, CIII	Apolipoprotéines mutées A-I, A-II, C-II, C-III	Reins pour toutes les formes Pour AApoAI : cœur, SNP, foie, appareil digestif
AGel	Gelsoline mutée	Cornée, reins, peau, SNP
ALys	Lysozyme muté	Reins
hAβ2M	β ₂ -microglobuline mutée	SNA

Tableau 1 - Classification des différents types d'amyloses systémiques

2.6. Principales amyloses systémiques acquises

2.6.1. Amylose AA

L'amylose AA (AA), aussi appelée amylose inflammatoire, est l'une des formes majeures d'amylose systémique. Elle est déclenchée par une activation inflammatoire de longue durée.²⁹

2.6.1.1. Épidémiologie

La majorité des données épidémiologiques sont biaisées car obtenues à partir d'autopsies ou provenant de centres spécialisés. La prévalence varie en fonction des modes de diagnostic, des signes cliniques et de la nature de la pathologie sous-jacente. Ainsi, la prévalence de l'AA au cours de la polyarthrite rhumatoïde (PR) s'étend, en fonction des études, de 3 à 23%, et en cas de spondylarthrite ankylosante, la prévalence se situe aux alentours de 5%.²⁹

2.6.1.2. Physiopathologie

La protéine amyloïde impliquée est la protéine AA qui dérive d'un précurseur sérique : la protéine *serum amyloid associated protein* (SAA). La SAA appartient à la famille des protéines de l'inflammation, elle est produite par les hépatocytes à la suite d'une stimulation par des cytokines pro-inflammatoires telles que les interleukines (IL)-6 et IL-1. Ainsi, les pathologies s'accompagnant d'une inflammation chronique voient leur taux de SAA multiplié par 100 à 1000 de manière prolongée, ce qui implique que toutes les maladies inflammatoires chroniques, qu'elles soient de cause infectieuse, tumorale ou inflammatoire, peuvent se compliquer d'une amylose.

Parmi les étiologies de l'AA, il a été retrouvé une majorité de maladies inflammatoires chroniques, qui ont remplacé les infections chroniques dans le monde occidental grâce à une amélioration de la prise en charge. La polyarthrite rhumatoïde est désormais la cause la plus fréquente, suivie par la spondylarthrite ankylosante, l'arthrite chronique juvénile et les maladies inflammatoires intestinales. Les infections chroniques, comme la tuberculose, l'ostéomyélite, la bronchiectasie, ainsi que la fièvre méditerranéenne familiale (FMF), les tumeurs bénignes (telle que la maladie de Castleman) ou malignes (tels que l'hépatome ou le lymphome) sont impliquées dans l'AA.²⁹

Cependant, tous les patients présentant une maladie inflammatoire chronique ne développent pas une amylose, d'autres facteurs entrent en considération : les facteurs génétiques et environnementaux. Parmi les facteurs environnementaux, l'obésité a été ajoutée comme un facteur de susceptibilité d'incidence de l'AA idiopathique.^{30,31}

2.6.1.3. Clinique

Il existe dans l'AA une phase pré-clinique, sans répercussion clinique, pendant laquelle les dépôts se forment. Cette phase peut durer plusieurs années.

L'atteinte rénale, essentiellement glomérulaire est fréquente et se manifeste par une protéinurie et une IR, allant jusqu'à l'insuffisance rénale terminale (IRT). Le foie est le deuxième organe le plus touché et concerne environ 20% des patients, l'atteinte cardiaque est quant à elle plus rare et se rencontre en cas de maladie d'évolution prolongée. Des manifestations digestives à type de douleurs abdominales, nausées, vomissements, peuvent être invalidantes, une atteinte splénique peut également être observée.

2.6.1.4. Traitement

Le traitement consiste en celui de la maladie sous-jacente dans le but de contrôler l'inflammation et ainsi, de réduire la formation des dépôts amyloïdes. L'éradication de maladies infectieuses, comme la tuberculose ou la lèpre, constitue un traitement préventif de l'AA, tandis que l'utilisation d'anti-inflammatoires plus puissants dans les maladies inflammatoires chroniques permet de diminuer l'incidence de l'AA dans ces pathologies. Par exemple, dans la FMF, l'instauration de colchicine à long terme prévient les accès inflammatoires et donc l'amylose qui en est la conséquence directe. Elle permet également une amélioration clinique de symptômes rénaux préexistants, même en cas de syndrome néphrotique.²⁹

2.6.2. Amylose AL

L'amylose AL (AL) est une maladie rare liée aux dépôts extracellulaires de chaînes légères d'anticorps monoclonaux, souvent associée au myélome multiple, mais reste cependant 5 à 10 fois moins fréquente. Cette forme d'amylose systémique peut mettre en jeu le pronostic vital en raison de l'atteinte multi-organique et de la perte plus rapide des fonctions par rapport aux autres types d'amylose systémique.³²

2.6.2.1. Épidémiologie

L'AL est considérée comme la forme la plus courante d'amylose systémique dans les pays occidentaux, avec une incidence estimée à 0,8 pour 100 000 personnes/an. L'âge moyen du diagnostic est estimé à 65 ans et environ 10% des patients ont moins de 50 ans.¹⁴

2.6.2.2. Physiopathologie

L'AL est causée par une pathologie monoclonale des cellules hématologiques, tels que les plasmocytes ou les lymphocytes B. Le clone plasmocytaire ou lymphocytaire, qui se développe dans la moelle osseuse, sécrète des fragments d'immunoglobuline en excès, généralement des chaînes légères d'immunoglobuline (L) qui entraînent un dépôt amyloïde. Dans de rares cas, la chaîne lourde d'immunoglobuline (H) constitue la sous-unité protéique et sera responsable d'amylose AH.

Il sera alors possible, avec une étude cytologique de la moelle, de diagnostiquer la pathologie hématologique à l'origine de la sécrétion en excès d'immunoglobulines. Dans une majorité des cas, les plasmocytes seront à l'origine de cette sécrétion. Cependant, le myélome actif n'est présent que chez environ 10 % des patients au moment du diagnostic. Plus le pourcentage de plasmocytes dans la moelle osseuse est élevé, plus la probabilité d'un phénotype de myélome concomitant est grande, ce qui peut avoir un impact sur les décisions thérapeutiques.

D'autres maladies sécrétant des protéines monoclonales, telles que le lymphome lymphoplasmocytaire, le lymphome MALT et la leucémie lymphocytaire chronique, peuvent également être à l'origine de l'amylose AL.

2.6.2.3. Clinique

L'atteinte cardiaque de l'AL est la plus redoutée et concerne 70-80% des patients. Il existe un épaissement des parois atriales et ventriculaires, responsable d'une cardiopathie restrictive, des troubles de conduction et des atteintes coronariennes pouvant entraîner un infarctus du myocarde (IDM). La cardiopathie amyloïde est un facteur de pronostic majeur puisqu'elle est à l'origine de 75% des décès, dus soit à une insuffisance cardiaque, soit une arythmie.³²

L'atteinte rénale concerne quant à elle 50 à 60% des patients, elle se manifeste par une protéinurie importante, un syndrome néphrotique et une diminution du débit de filtration glomérulaire (DFG). L'atteinte du SNP, présente chez 20 % des patients, se caractérise par une polyneuropathie périphérique sensitivo-motrice douloureuse, à progression lente. Le syndrome du canal carpien est également fréquent. L'atteinte du SNA peut s'associer au tableau clinique et être très invalidante.

Souvent asymptomatique, l'atteinte du tractus gastro-intestinal est fréquente et peut entraîner une altération du transit ou des saignements occultes. Des complications plus graves peuvent survenir, telles que malabsorption, perforations, hémorragies ou occlusion intestinale aiguë. La macroglossie, très évocatrice de l'AL, n'est observée que dans 15 % des cas.

Les symptômes les plus fréquents sont généralement insidieux et comprennent des symptômes peu spécifiques tels que la fatigue, l'anorexie et la perte de poids. En raison de la nature non spécifique des symptômes, il n'est pas rare que les patients subissent un retard de diagnostic de plus d'un an. Malheureusement, tout retard de diagnostic a un impact profond sur la capacité des patients à tolérer le traitement et sur la probabilité d'une inversion de l'évolution de la maladie.³³

2.6.2.4. Traitement

Une fois le diagnostic confirmé, les patients nécessitent un traitement rapide pour prévenir le dépôt amyloïde et une défaillance progressive d'organe. La greffe de cellules souches est le traitement de premier choix mais seuls 20 % des patients sont éligibles. Les patients non éligibles reçoivent une chimiothérapie.

L'objectif du traitement de l'AL est de diminuer ou d'empêcher la production de chaînes légères amyloïdogènes par le clone plasmocytaire et d'atteindre la plus faible concentration plasmatique possible de la chaîne légère impliquée. Le but étant de réduire le dépôt d'amyloïde et d'offrir de meilleures chances de récupération aux organes. Le choix du traitement et la connaissance des toxicités rencontrées sont essentiels pour une thérapie sûre et réussie.³⁴

2.6.3. Amylose à β 2-microglobuline

L'amylose β 2-microglobuline ($A\beta$ 2M), également appelée amylose liée à la dialyse est une forme rare d'amylose systémique décrite pour la première fois en 1984. Cette maladie constitue une complication sévère majeure de l'hémodialyse (HD) au long cours, en effet, elle est observée chez 50 à 100% des patients en IRT dialysés depuis plus de 15 ans.³⁵

2.6.3.1. Épidémiologie

L'incidence de l' $A\beta$ 2M est en diminution notamment grâce aux progrès réalisés dans le domaine de l'épuration extra-rénale. Dans de nombreux pays, elle est considérée comme une complication en voie de disparition. La prévalence de ce trouble survient très rarement dans les cinq ans suivants la dialyse, mais semble être constante passée la treizième année. Elle se développe principalement chez les patients sous HD de longue durée, notamment lorsque les taux de β 2M atteignent 20 à 40 fois la normale.

2.6.3.2. Physiopathologie

La β 2-microglobuline (β 2M) est une petite molécule de 99 acides aminés, dont la synthèse est assurée par les cellules sanguines (lymphocytes, granulocytes) et régulée par les cytokines. La β 2M est une protéine constituant la chaîne légère des immunoglobulines de la classe I du complexe majeur d'histocompatibilité. Le métabolisme de la β 2M est essentiellement rénal, sa concentration sérique augmente progressivement en cas d'IR au fur et à mesure de la perte de fonction rénale. Cette accumulation conduit à la formation de dépôts amyloïdes au sein des différents tissus de l'organisme.³⁶

2.6.3.3. Clinique

L'atteinte ostéoarticulaire est la plus fréquemment retrouvée, notamment avec l'apparition d'un syndrome du canal carpien (SCC) associant paresthésies, douleurs et faiblesse musculaire. Les manifestations du SCC sont les mêmes que le patient soit sous HD ou non, mais le SCC

associé à une A β 2M est souvent bilatéral. L'A β 2M est responsable également de fractures osseuses pathologiques, d'arthropathies douloureuses (par exemple, au niveau de la coiffe des rotateurs) allant jusqu'à la spondylarthrite destructrice à des stades avancés de la pathologie. L'accumulation de β 2M au niveau cutané entraîne l'apparition de masses sous-cutanées, de plaques lichénoïdes et d'une hyperpigmentation.^{35,36}

L'atteinte cardiaque et l'atteinte gastro-intestinale ne sont pas fréquentes et souvent subcliniques.

2.6.3.4. Traitements

Le traitement de l' A β 2M consiste celui des lésions osseuses établies et celui visant à éliminer les β 2M par résorption et/ou amélioration de l'élimination et à prévenir les lésions futures.³⁵

2.6.4. Amylose ALECT2

2.6.4.1. Épidémiologie

La première description de l'amylose à facteur chimiotactique leucocytaire 2 (ALECT2) a été réalisée en 2008, par Benson et al, le patient présentait une atteinte uniquement rénale. Une analyse biochimique plus poussée des fibrilles a confirmé qu'elles présentaient une nouvelle protéine amyloïde identifiée comme étant le facteur chimiotactique leucocytaire 2 (LECT-2). La prévalence de l'ALECT2 dépend de l'origine ethnique, en effet, il s'agit de l'amylose la plus répandue chez les Américains d'origine mexicaine (54% des diagnostics d'amylose). Elle semble également très répandue dans la population égyptienne et représente la deuxième cause d'amylose après l'AA.³⁷

2.6.4.2. Physiopathologie

Dans cette pathologie, les dépôts amyloïdes seront formés de LECT-2. Cette protéine, de synthèse hépatique, est une protéine polyvalente impliquée dans la chimiotaxie, la prolifération cellulaire, l'inflammation, l'immunomodulation et la cancérogenèse. La protéine se compose de 133 acides aminés et son gène (*LECT2*) est situé sur le bras long du chromosome 5, qui héberge un groupe de gènes impliqués dans les cytokines immunorégulatrices. La physiopathologie exacte n'est pas élucidée, mais il est possible qu'une combinaison de facteurs génétiques et environnementaux, comme l'obésité, entraîne une augmentation de la production de LECT-2 dans les hépatocytes.³⁸

2.6.4.3. Clinique

Dans l'ALECT2, les atteintes rénale et hépatique sont les plus fréquentes.

Au niveau rénal, la protéinurie ne concerne que deux tiers des patients par rapport à d'autres formes d'amylose où il s'agit de la manifestation la plus fréquente. Les dépôts vont se localiser préférentiellement au niveau de l'interstitium cortical, contrairement aux autres maladies amyloïdes qui affectent l'interstitium médullaire. L'aggravation de l'IR jusqu'à l'IRT est lente et concerne environ 30 à 40 % des patients.

Le foie est également un organe fréquemment touché par l'ALECT2 et les dépôts se situent majoritairement au niveau des veines centrales et des régions péri-portales.

Aucune symptomatologie cardiaque n'a été rapportée à ce jour dans l'ALECT2, mais il existe certains cas présentant des atteintes spléniques ou des surrénales.

2.6.4.4. Traitement

Le traitement de l'ALECT2 est principalement un traitement symptomatique et, bien que l'histoire naturelle ne soit pas bien définie, il semble que l'évolution soit indolente, notamment en raison de l'absence d'atteinte cardiaque.³⁷

2.6.5. Amylose à apolipoprotéine A-IV (ApoA-IV)

L'amylose à ApoAIV (AApoAIV) présente deux spécificités par rapport aux autres amyloses liées aux apolipoprotéines :

- Elle est composée d'ApoAIV de type sauvage, sans variation connue à ce jour.
- Le diagnostic de l'AApoAIV nécessite l'utilisation de spectrométrie de masse avec l'exclusion des protéines amyloïdogènes connues et la détection d'une concentration d'ApoAIV plus élevée que les autres protéines identifiées dans le dépôt.³⁹

L'AApoAIV se manifeste plus tardivement, avec un âge moyen d'apparition à 65-75 ans, ce qui reflète probablement une amylose dépendante de l'âge, similaire à l'amylose à TTR sauvage que nous étudierons à la suite du manuscrit. L'atteinte de la médullaire rénale est prépondérante, tandis que le cortex rénal est épargné, ce qui se traduit par un déclin progressif de la fonction rénale avec une protéinurie minime. L'atteinte cardiaque est fréquente et se présente cliniquement comme une cardiopathie ischémique ou une cardiomyopathie hypertrophique, le pronostic semble plus favorable que pour les autres types d'amylose cardiaque.³⁹

2.7. Principales amyloses systémiques héréditaires

Les amyloses héréditaires sont des pathologies autosomiques à révélation tardive causées par des variations pathogènes dans les gènes codant pour un ensemble de protéines. Elles sont listées selon la protéine amyloïdogène impliquée et son gène dans le tableau 2 ci-dessous.

Protéine précurseur	Gène associé
Gelsoline	<i>GSN</i>
Apolipoprotéines :	
- A-I	- <i>APOA1</i>
- A-II	- <i>APOA2</i>
- C-II	- <i>APOC2</i>
- C-III	- <i>APOC3</i>
Fibrinogène	<i>FGA</i>
Lysozyme	<i>LYZ</i>
β 2-microglobuline mutée	<i>B2M</i>
Transthyréine	<i>TTR</i>

Tableau 2 - Protéines et gènes impliqués dans les différents types d'amyloses héréditaires

Individuellement, chacune des formes héréditaires est rare mais collectivement, elles constituent environ 10% des amyloses systémiques diagnostiquées.¹⁴

Des substitutions spécifiques d'acides aminés (aa) rendent chacune de ces protéines solubles et circulantes susceptibles de s'agréger et de former des fibrilles amyloïdes dans les tissus et les organes. Le nombre de ces variations pathogènes varie considérablement d'une protéine à l'autre, la plus grande hétérogénéité allélique étant observée dans l'amylose à transthyrétine (ATTR). Les mutations amyloïdogènes n'entravent pas la structure protéique tridimensionnelle fonctionnellement active, mais exercent leur effet pathogène en déstabilisant la conformation de la molécule circulante, favorisant la génération d'intermédiaires mal repliés et moins stables qui peuvent s'auto-agréger en fibrilles amyloïdes dans les tissus. Il faut souvent plusieurs décennies avant l'apparition de signes cliniques.⁴⁰

2.7.1. Amylose à gelsoline

L'amylose à gelsoline (AGel) est une forme héréditaire d'amylose systémique transmise selon le mode autosomique dominant.⁴¹ L'AGel, également appelée maladie de Meretoja, dystrophie cornéenne de type II, amylose familiale finlandaise, a été décrite par Jouko Meretoja en 1969 pour la première fois chez trois familles d'origine finlandaise.^{42,43} Le gène responsable est le gène *GSN*, localisé sur le chromosome 9 et codant la gelsoline, une protéine de régulation de l'actine, dépendante du calcium.⁴⁴ Les variations pathogènes les plus fréquentes sont les mutations p.Asp214Asn et p.Asp214Tyr entraînant la suppression d'un site de liaison au calcium entraînant une perte de stabilité de la protéine.⁴⁴

Le tableau clinique classique associe une triade de symptômes ophtalmologiques (sécheresse oculaire, troubles de l'acuité visuelle et dystrophie cornéenne), neurologiques (paralysie faciale bilatérale progressive) et dermatologiques (cutis laxa, c'est-à-dire un épaissement et une perte de l'élasticité cutanée).⁴³ Les premiers symptômes apparaissent vers l'âge de 30 ans.

D'autres signes peuvent s'observer dans l'AGel, notamment la neuropathie périphérique, observée chez 70 % des patients, survient généralement au cours de la cinquième décennie de la vie et se manifeste généralement par une neuropathie sensitive.⁴¹ L'atteinte du SNA se caractérise par une hypertension orthostatique.⁴⁵

Bien que de transmission autosomique dominante, des individus homozygotes pour le gène muté ont également été observés. Ils développent alors la pathologie plus précocement et la progression de la maladie est plus rapide que chez les individus hétérozygotes.^{41,45}

De façon générale et à l'état hétérozygote, l'AGel suit une évolution bénigne, avec une apparition relativement tardive, une progression lente et une morbidité limitée.¹⁴ Il n'existe pas de traitement spécifique à ce jour. Le traitement est généralement symptomatique, notamment à l'aide de soins ophtalmologiques essentiels au maintien de la vision, au soulagement de l'inconfort et à la prévention des complications comme les ulcères cornéens et le glaucome chronique à angle ouvert. La chirurgie plastique reconstructrice peut être nécessaire en cas de paralysie du nerf facial ou pour atténuer les conséquences dysfonctionnelles et esthétiques de la cutis laxa.⁴⁵

2.7.2. Amylose associée aux apolipoprotéines

Les apolipoprotéines sont synthétisées par le foie et jouent un rôle dans le transport plasmatique des lipides. En effet, ces protéines constitutives des lipoprotéines permettent de transporter les lipides hydrophobes dans le sang. Il existe plusieurs classes d'apolipoprotéines, parmi elles, cinq types sont connus pour être amyloïdogènes, tous ont été signalés comme à l'origine d'une amylose rénale avec une implication variable d'autres organes.¹⁷

2.7.2.1. Amylose à apolipoprotéine A-I (ApoAI)

L'ApoAI est produite par le foie et l'intestin et est un composant majeur de l'insuline. L'amylose à ApoAI (AApoAI) est de transmission autosomique dominante et plus de 20 variations pathogènes du gène *APOA1* ont été décrites à ce jour. L'âge médian d'apparition (de 20 à 70 ans) ainsi que la progression de la maladie sont très variables, ce qui s'explique probablement par la diversité mutationnelle existante.

L'atteinte la plus fréquente concerne le rein avec une IR associée ou non à une protéinurie. Les autres organes touchés peuvent être le foie, le SNP, le cœur avec une cardiopathie restrictive allant jusqu'à l'IC, le larynx, le tractus gastro-intestinal, la peau et les testicules conduisant à une stérilité précoce.²⁴

Actuellement, le traitement est un traitement de soutien allant jusqu'à la transplantation.¹⁷

2.7.2.2. Amylose à apolipoprotéine A-II (ApoAII)

Décrite pour la première fois en 2001, l'amylose à ApoAII (AApoAII) est liée à des variations pathogènes du gène *APOA2* de transmission autosomique dominante.⁴⁶ À ce jour, 4 mutations ont été décrites et toutes sont responsables d'une mutation du codon stop, entraînant une extension peptidique de 21 aa à l'extrémité C-terminale de la protéine.⁴⁷

Elle se manifeste essentiellement par une atteinte rénale avec IR et protéinurie. La transplantation rénale est le traitement proposé pour les patients atteignant l'IRT avec une survie acceptable du greffon.

2.7.2.3. Amylose à apolipoprotéine C-II (ApoCII)

La première description de l'amylose à apolipoprotéine C-II (AApoCII) a été réalisée chez une femme ayant un tableau clinique de protéinurie et une IR. Le séquençage du gène *APOC2* a détecté une variation pathogène faux-sens de transmission autosomique dominant, p.Glu69Val (c.206A>T) ayant permis de diagnostiquer sept patients supplémentaires à partir d'une archive de données. L'âge médian de tous les patients était de 70 ans.⁴⁸

Une étude ultérieure a décrit une nouvelle variation p.Lys41Thr (c.122A>C), qui serait la plus courante dans l'AApoCII, elle aussi responsable d'une insuffisance rénale terminale.⁴⁹

2.7.2.4. Amylose à apolipoprotéine C-III (ApoCIII)

Ce type rare d'amylose héréditaire a été identifié en 2015 dans une famille française dont plusieurs membres présentaient une IRC progressive, une protéinurie, un syndrome de Raynaud, et une sécheresse oculaire et buccale.

Le typage initial du précurseur amyloïde n'a pas été révélateur. Mais les patients présentant des taux diminués de triglycérides (TG) et augmentés de HDL, les protéines impliquées dans

le métabolisme des TG ont donc été étudiées, ce qui a permis d'identifier une nouvelle variation pathogène du gène *APOC3*, de transmission autosomique dominante, p.Asp45Val (avec le peptide signal) ou c.134A>T chez tous les membres de cette famille. Des études sont en cours sur l'utilisation de fibrates pour diminuer la transcription hépatique de l'ApoCIII afin de ralentir la progression de la maladie.⁵⁰

2.7.3. Amylose à fibrinogène

L'amylose à chaîne α du fibrinogène (AFib), de transmission autosomique dominante, est répandue dans le monde entier, il s'agit du type le plus courant d'amylose rénale héréditaire. Le fibrinogène est une protéine plasmatique de synthèse exclusivement hépatique impliquée dans phase finale de la coagulation sanguine⁵¹. La mutation amyloïdogène a lieu au niveau de la chaîne α du fibrinogène portée par le gène *FGA*, environ 15 variants pathogènes ont été décrits à ce jour⁵¹. Le plus courant est une substitution de la valine par l'acide glutamique en position 526.⁵² L'âge médian d'apparition est estimé entre 55¹⁴ et 62⁵³ ans. Les reins sont les organes les plus fréquemment touchés, le tableau clinique est composé d'une protéinurie, d'une IR allant jusqu'à l'IRT environ 2 ans après le diagnostic. En microscopie optique, après coloration au Rouge Congo, les glomérules présentent un aspect hypertrophique⁵⁴. D'autres organes, tels que le foie, le cœur, le SNA et le SNP sont moins fréquemment atteints. De plus, la prévalence des maladies cardiovasculaires athéromateuses est élevée chez les patients atteints d'AFib, avec 70% des patients souffrant d'une maladie coronarienne. Ces lésions athéromateuses précèdent l'apparition des signes rénaux, il ne s'agit donc pas d'une conséquence de l'insuffisance rénale, comme initialement postulé.

Il n'existe pas de traitement spécifique pour l'AFib. Une transplantation rénale peut être proposée à ceux qui souffrent d'IRT, mais la fréquence de récurrence de l'amylose dans le greffon est supérieure à 50 % et la progression dans les autres organes se poursuit. Une transplantation combinée foie-rein peut réduire la récurrence de l'accumulation des dépôts amyloïdes dans le greffon rénal et ralentir la progression de la maladie extra-rénale, mais elle est plus difficile à réaliser. La transplantation hépatique (TH) à un stade précoce de la maladie, avant le développement de l'IRT, est une avancée prometteuse permettant de prévenir la progression de la pathologie rénale et des autres organes et d'éviter la nécessité d'une transplantation combinée foie-rein.^{51,54}

2.7.4. Amylose à lysozyme

Décrite en 1993, l'amylose à lysozyme (ALys) est une forme rare d'amylose héréditaire de transmission autosomique dominant, liée à des variations du gène *LYZ*.⁵⁵ À ce jour, 9 variations pathogènes et un polymorphisme ont été décrites dans la littérature (<http://amyloidosismutations.com>).

Le lysozyme est une enzyme antimicrobienne qui fait partie du système immunitaire, elle est synthétisée par les macrophages du tractus gastro-intestinal.⁵⁵

Le phénotype de l'ALys est hétérogène et comprend des atteintes gastro-intestinales (diarrhées, nausées, vomissements, des ulcères et perforations gastro-intestinales), rénales allant jusqu'à l'insuffisance rénale, et hépatiques, les dépôts amyloïdes massifs pouvant conduire à la rupture spontanée du foie. Un syndrome sec, des pétéchies, un purpura et une lymphadénopathie font également partie du tableau clinique.^{14,55}

Les traitements possibles sont la transplantation hépatique en cas de rupture hépatique et la transplantation rénale en cas d'IRT avec un bon taux de survie du greffon.^{17,55}

2.7.5. Amylose à β 2-microglobuline mutée

Il a été rapporté un cas d'amylose à β 2M lié à une mutation du gène *B2M*, découverte chez les membres d'une famille française qui présentaient un dysfonctionnement intestinal progressif, une neuropathie autonome et un syndrome sec. La mutation, de transmission autosomique dominante est la p.Asp96Asn (c.286 G>A).

Les manifestations cliniques diffèrent de celles de l'amylose liée à la dialyse, dans laquelle des dépôts amyloïdes de β 2-microglobuline de type sauvage se forment presque exclusivement autour des os et des articulations en tant que complication d'une élévation soutenue et extrême de la concentration de β 2-microglobuline circulante chez les patients souffrant d'insuffisance rénale terminale. Contrairement aux patients atteints d'A β 2M sauvage, tous les membres de cette famille présentaient des concentrations circulantes normales de β 2-microglobuline et une fonction rénale normale, ce qui indique que l'anomalie structurelle de la protéine a augmenté sa tendance à la formation de fibrilles amyloïde.⁵⁶

Après ce rapide tour d'horizon sur les différentes amyloses héréditaires mineures, nous allons nous focaliser sur l'amylose à transthyréline (ATTR), en particulier dans sa forme neurologique.

2.8. L'amylose à transthyréline

L'ATTR est une entité de plus en plus reconnue et diagnostiquée. La protéine amyloïdogène impliquée est la transthyréline (TTR), une protéine tétramérique à l'état physiologique, qui développe des propriétés amyloïdogènes lorsqu'elle se dissocie en monomères.

Il existe deux formes d'ATTR :

- L'ATTR de type sauvage (wtATTR) également appelée amylose sénile, est une forme acquise d'amylose.
- L'ATTR héréditaire (hATTR), également connue sous le nom d'ATTR mutée.

Dans ces deux formes, la protéine TTR devient amyloïdogène, en revanche, dans l'hATTR, la TTR est une protéine mutée dont la présentation clinique est plus large. La distinction entre wtATTR et hATTR repose sur le séquençage du gène *TTR*, car ces deux sous-types de la maladie se chevauchent cliniquement.¹⁷

Dans la pratique clinique, il convient de distinguer deux tableaux d'hATTR : la cardiomyopathie amyloïde familiale (FAC) et la polyneuropathie amyloïde familiale (FAP).

La forme wtATTR se manifeste par une FAC, tandis que l'hATTR est généralement associée aux deux tableaux, en fonction de la variation pathogène mise en cause dans la pathologie, il est également possible de rencontrer des tableaux cliniques mixtes.⁵⁷ Le pronostic d'un patient varie en fonction de la mutation de *TTR* causale, de son âge lors de l'apparition des premiers symptômes, de son phénotype (cardiaque et/ou neurologique) et de tout retard de diagnostic.⁵⁸

2.8.1. Cas particulier de l'amylose à transthyréline sauvage

La maladie touche principalement les personnes âgées, en effet l'âge médian au moment du diagnostic est de 75 ans, et environ 90 % des patients rapportés à ce jour sont des hommes. Cependant, des séries d'autopsies montrent une prévalence plus élevée chez les femmes, ce qui suggère que l'amylose ATTR sauvage est plus fréquente chez les femmes que ce qui est cliniquement reconnu.¹⁸

La TTR étant une protéine naturellement bêta plissée, elle possède donc une propension naturelle à former des fibrilles amyloïdes même en l'absence de mutation. La physiopathologie de l'amylose sénile est mal connue, mais parmi les mécanismes mis en cause, le vieillissement physiologique semble à l'origine d'une mauvaise dégradation de la TTR et donc de la formation des premières fibrilles amyloïdes.^{59,60}

Environ deux tiers des patients présentent des symptômes d'insuffisance cardiaque au moment du diagnostic avec notamment une fibrillation auriculaire (62% des patients) et des anomalies de conduction. Le syndrome du canal carpien, souvent bilatéral, précède le diagnostic de 5 à 10 ans chez 30 à 50 % des patients. La sténose rachidienne lombaire et la rupture du tendon du biceps sont d'autres indices de diagnostic.

D'autres organes peuvent être touchés, bien que moins symptomatiques, notamment le SNP, les poumons, l'appareil digestif, la vésicule biliaire, la prostate et la vessie. La survie médiane de l'ATTR sauvage dans une grande cohorte de Mayo était de 3,6 ans.

Le traitement de l'amylose wtATTR vise la protéine précurseur TTR et la prise en charge de l'insuffisance cardiaque et des troubles du rythme. La transplantation cardiaque est rarement pratiquée en raison de l'âge généralement avancé des patients. Cependant, des résultats positifs ont été rapportés chez des patients sélectionnés plus jeunes qui répondent aux critères de transplantation cardiaque.⁶¹

2.8.2. L'amylose à TTR mutée

2.8.2.1. Historique

En 1952, C. Andrade décrit une première série de patients hATTR, originaires du Portugal, qui reste aujourd'hui une zone géographique de prévalence élevée. Andrade décrit les aspects cliniques et anatomopathologiques de cette pathologie et reconnaît le mode de transmission autosomique dominant.⁶² Par la suite, la maladie est identifiée au Japon en 1968⁶³, en Suède en 1976⁶⁴, puis à travers le monde. Ce n'est qu'en 1974, après réalisation du séquençage de la protéine TTR⁶⁵ qu'elle a été associée pour la première fois à l'amylose par Costa et *al.* En 1984, Saraiva et *al.*⁶⁶ et Araki⁶³ ont été les premiers à identifier une protéine TTR anormale en raison de variations pathogènes du gène *TTR* chez des patients hATTR portugais et japonais.

2.8.2.2. Épidémiologie

La prévalence de l'hATTR, notamment dans sa forme neuropathique, est très variable entre les pays endémiques et non endémiques et la prévalence mondiale a été estimée à 10 186 personnes (de 5526 à 38 468) d'après une étude menée en 2018 par Schmidt et *al.* Les pays présentant la prévalence la plus élevée sont le Portugal avec une prévalence estimée à 1 631,20/1 million et la Suède avec une prévalence de 1040/1 million. La prévalence estimée en France est de 7,52/1 million. L'incidence à travers le monde demeure inconnue, probablement très hétérogène.⁶⁷

La figure 6, issue de l'article d'Inês et *al.* (2018) illustre la prévalence mondiale de FAP selon les données de Schmidt et *al.* Dans cette étude d'Inês et *al.*, l'incidence annuelle de FAP au Portugal de 2010 à 2016 est estimée à 0,87/100 000 adultes tandis que la prévalence estimée en 2016 est de 22,93/100 000 adultes, ce qui correspond à 1 865 personnes atteintes de FAP au Portugal dont 45,79 % d'hommes.

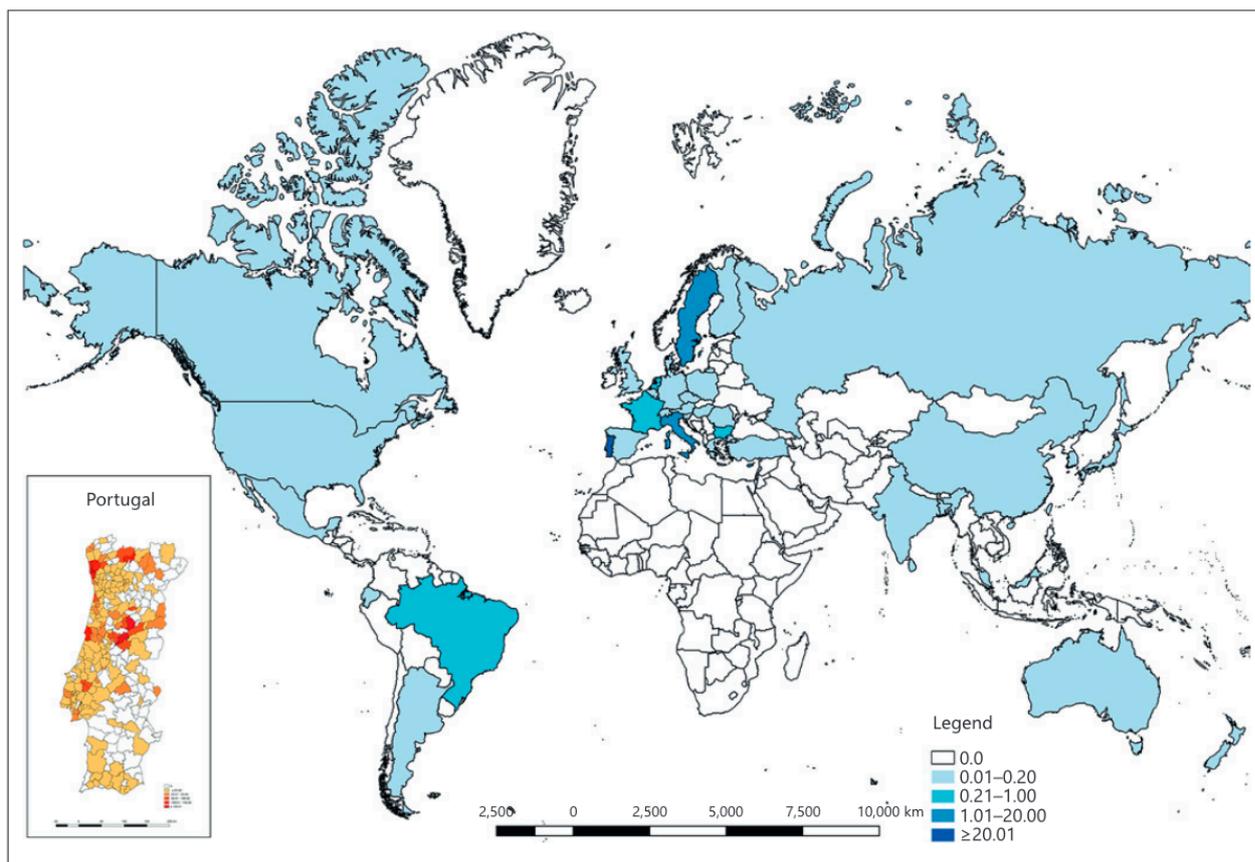


Figure 6 - Prévalence mondiale de FAP issue des données de l'étude de Schmidt et al. (2018) par Inês et al.⁶⁸

L'étude THAOS menée par T. Damy et al est une étude observationnelle longitudinale mondiale établie pour étudier la distribution génotypique et les différents phénotypes d'ATTR en Europe. Plus de 1400 sujets symptomatiques de neuf pays d'Europe occidentale ont été inscrits au THAOS et sont classés en 3 groupes : wtATTR, FAP, FAC.

Le registre THAOS a confirmé l'hétérogénéité de la distribution des variations pathogènes du gène *TTR* dans les pays d'Europe occidentale continentale, avec quelques mutations spécifiques à certains pays, la figure 7 issue de l'étude THAOS illustre les phénotypes et génotypes les plus fréquemment retrouvés dans les différents pays européens ayant participé à l'étude.⁵⁸

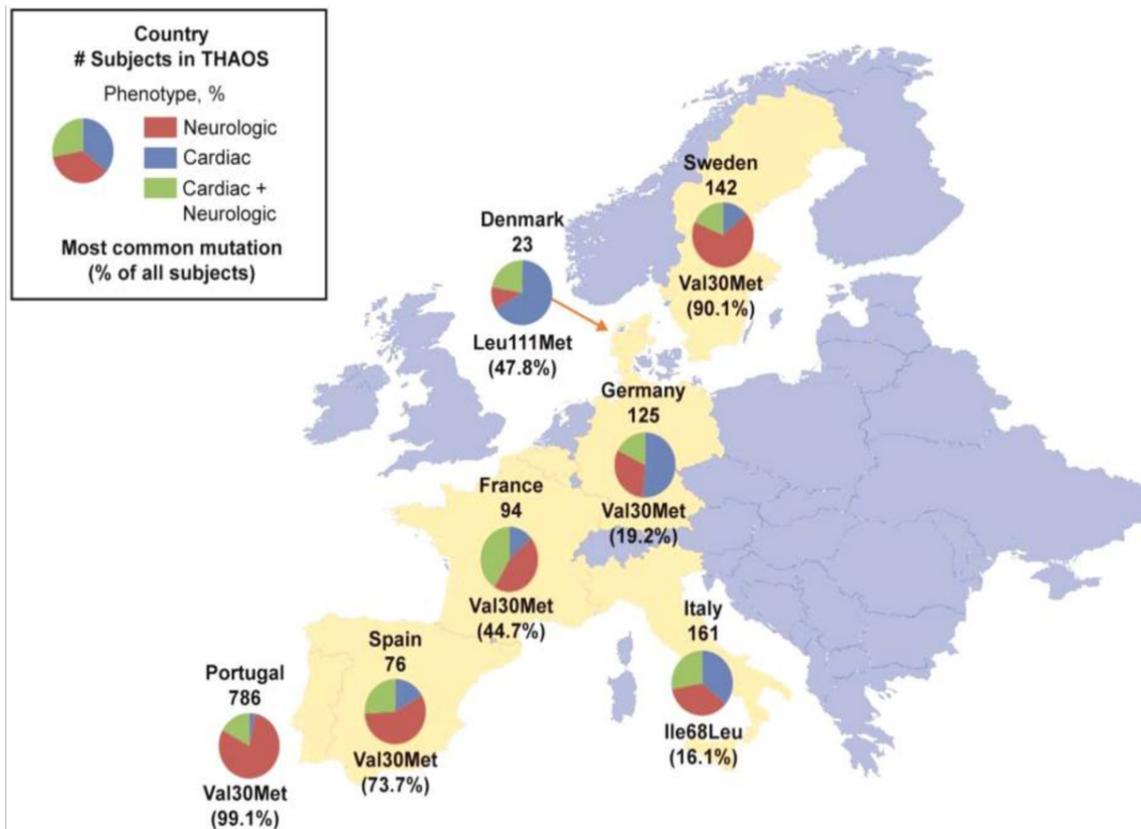


Figure 7 - Phénotype et génotype retrouvés les plus fréquents des sujets d'Europe inscrits au THAOS, d'après l'article de T. Damy et al.⁵⁸

En France, sur les 94 sujets inscrits, 42 présentent un phénotype neurologique associé à la mutation p.Val50Met, 39 un phénotype mixte et 13 un phénotype cardiaque. Les autres variations du gène *TTR* retrouvées sont p.Ser97Tyr (n=15), p.Val142Ile (n=12), p.Ile127Val (n=5), p.Val48Met (n=2), p.Glu109Lys (n=1) et p.Ile88Leu (n=1). Trois patients souffrent de wtATTR et les 13 autres présentent des génotypes moins fréquents.⁵⁸

2.8.2.3. Diagnostic

Le diagnostic de l'ATTR fait appel à la clinique, à l'anatomie pathologique et à la biologie moléculaire.

Le recueil des symptômes cliniques permet la suspicion du diagnostic et amène à la réalisation d'une biopsie d'un organe cible. Après détection de dépôts amyloïdes grâce à la coloration au rouge Congo, il est possible d'utiliser l'immunohistochimie avec les anticorps anti-TTR qui révèlent les dépôts dont le précurseur est la TTR, comme l'illustre la figure 8.

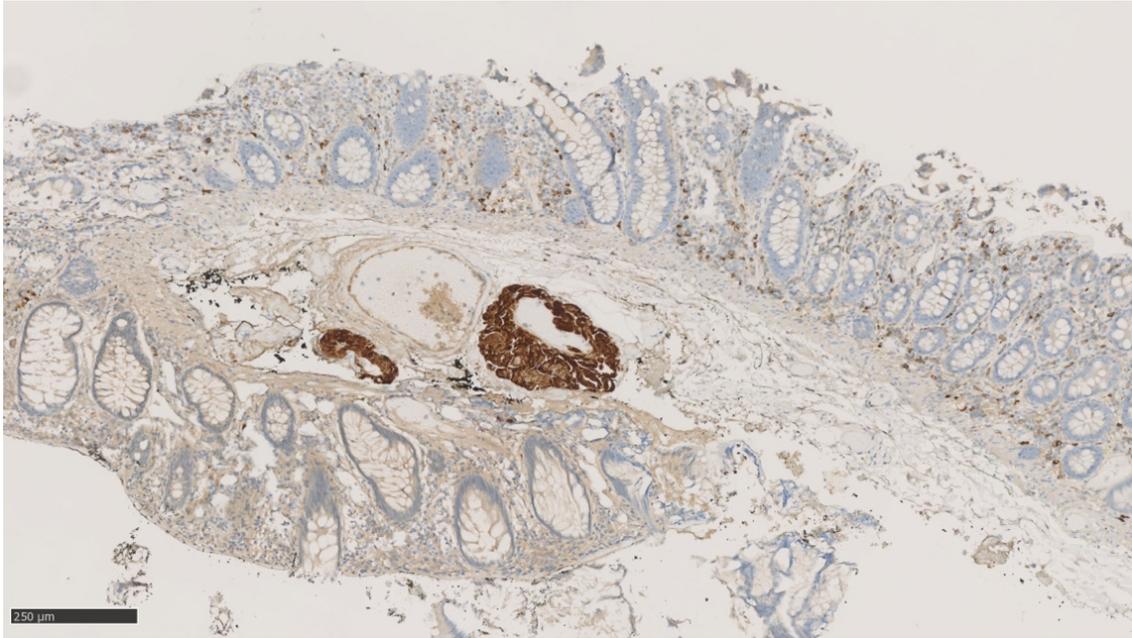


Figure 8 - Dépôts amyloïdes mis en évidence par immunohistochimie par anticorps anti-TTR
Cependant, cette technique ne permet pas de différencier l'ATTR mutée d'une amylose sénile. L'immunohistochimie reste utile pour éliminer des diagnostics différentiels avec d'autres types d'amylose telles que l'amylose AA (anticorps anti-SAA) et l'amylose AL (anticorps anti-chaînes légères des immunoglobulines).

Les techniques de biologie moléculaire permettent la détection de la protéine TTR mutée et ainsi la distinction entre hATTR et wtATTR, puis l'identification précise des variations pathogènes de l'ADN responsables du tableau clinique. L'analyse en biologie moléculaire se fait par séquençage des 4 exons du gène *TTR* situé sur le bras long du chromosome 18 (18q12.1). Elle se fait après consentement éclairé du patient, à partir de l'ADN extrait du sang périphérique, prélevé sur tube EDTA.¹⁵

2.8.2.4. Gène *TTR*

Le gène *TTR*, représenté sur la figure 9, de petite taille (7 kB) est situé sur le chromosome 18 (18q12.1). Il est composé de 4 exons, 3 introns et d'une région 5' (26-27 nucléotides) et 3' (145-148 nucléotides) non traduites. L'exon 1 code un peptide signal de 20 aa et les 3 premiers aa de la protéine mature. Les exons 2, 3 et 4, quant à eux, codent respectivement 44, 45 et 35 aa de la protéine TTR mature. Tandis que les 3 introns, de tailles respectives 934, 2090, et 3308 paires de bases, s'intercalent entre les exons.⁶⁹

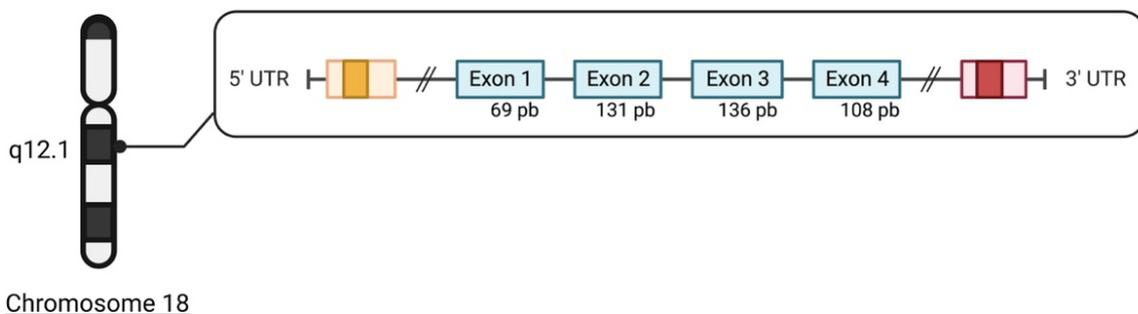


Figure 9 - Représentation du gène *TTR* (Créé avec Biorender.com)

A ce jour, plus de 140 mutations du gène *TTR* ont été décrites dans la littérature (<http://amyloidosismutations.com>). Toutes les variations pathogènes du gène *TTR* sont des mutations faux-sens, à l'exception d'une micro-délétion (p. Val142del ; c.424_426)⁷⁰ et d'une duplication (p.Glu71_Ser72dup ; c.212_217dupAGTCTG)⁷¹. L'ensemble des mutations faux-sens sont localisées dans les exons 2, 3, 4, la micro-délétion dans l'exon 4 et la duplication dans l'exon 3.

La présence du peptide signal de 20 aa codé par l'exon 1 du gène *TTR* explique la différence entre l'ancienne nomenclature et celle utilisée actuellement. En effet, précédemment le peptide signal n'était inclus dans le compte des aa pour la détermination des variations, par exemple, l'ancienne dénomination V30M largement utilisée dans la littérature est devenue V50M, ou plus exactement p.Val50Met, dans la pratique courante.

Comme déjà annoncé, certaines variations pathogènes sont responsables d'un tableau de FAP, d'autres d'un tableau de cardiopathie amyloïde familiale (FAC), tandis que certaines provoquent un phénotype mixte, comme illustré dans la figure 10 inspirée de l'article d'Antonia Carroll et al.⁷²

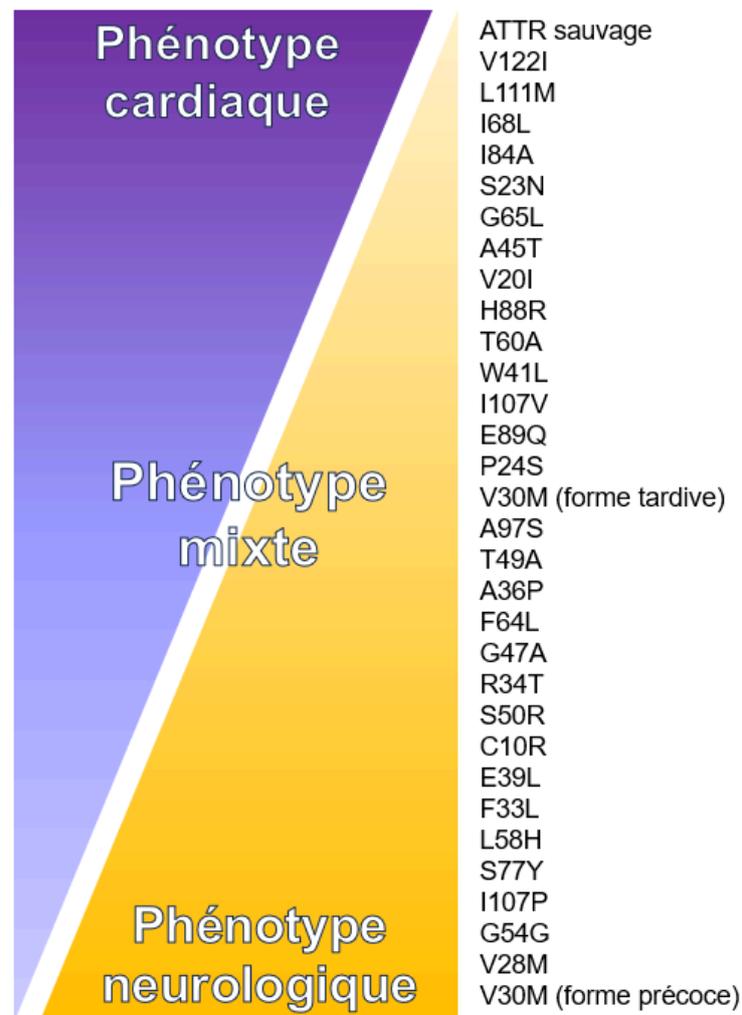


Figure 10 - Corrélation entre le tableau clinique et les variations pathogènes du gène *TTR* selon l'ancienne dénomination

Environ 46 % des variations *TTR* sont associées à un phénotype neurologique et cardiaque, 23 % à une atteinte neurologique seule, 17 % n'affectent que le cœur, et 3 % ne sont ni associées à des phénotypes neurologiques ou cardiaques mais plutôt à une atteinte leptoméningée, oculaire, etc. Les 11 % restants sont des variations non amyloïdogènes (www.amyloidosismutations.com).

De plus, la fréquence des patients porteurs de variations pathogènes varie considérablement selon les origines ethniques. La mutation V50M (p.Val50Met ; c.148G>A), initialement nommée V30M, qui correspond à la substitution de la valine par la méthionine en position 50⁶⁶, est responsable de la forte prévalence de l'hATTR dans les zones endémiques, notamment au Portugal ou en Suède ce qui en fait la variation la plus fréquente en Europe, mais également au Japon.⁶⁷ La fréquence des porteurs de cette variation demeure plus faible en dehors de cette zone d'endémie. La variation pathogène p.Val50Met est caractéristique de FAP.

La variation p.Val142Ile (c.424G>A), anciennement appelée V122I est, quant à elle, la plus fréquente aux États-Unis, elle est majoritaire dans les populations afro-américaines, ouest-africaines et hispaniques et est responsable d'un tableau de FAC tardive, apparaissant souvent après 60 ans.⁷³

D'autres variations pathogènes distinctes ont été décrites, par exemple la p.Thr80Ala (c.238A>G), aussi appelée T60A dans l'ancienne nomenclature, prédomine dans le nord-ouest de l'Irlande et est associée à des phénotypes mixtes associant neuropathies et cardiopathies. La variation p.Ala117Ser (c.349G>T), anciennement A97S, est la plus souvent retrouvée en Chine et à Taïwan.⁷²

Certaines variations pathogènes du gène *TTR*, comme les mutations p.Asp18Gly (c.113A>G)⁷⁴ ou p.Val50Gly (c.149T>G)⁷⁵ été décrites comme responsables d'une atteinte leptoméningée à l'origine de manifestations du système nerveux central (SNC) telles qu'une démence, des accidents vasculaires ischémiques ou hémorragiques.^{74,75}

Il existe des polymorphismes non pathogènes, tel que p.Gly26Ser (c.76G>A), non amyloïdogène et donc responsable d'aucune manifestation clinique.⁷⁶

2.8.2.5. Protéine

La TTR est une protéine globulaire homotétramérique de 55 kDa constitué de 4 monomères. Chaque monomère de TTR est constitué de 127 acides aminés et organisé en une structure bêta plissée composée de huit feuillets bêta antiparallèles, comme le montre la figure 11.A.

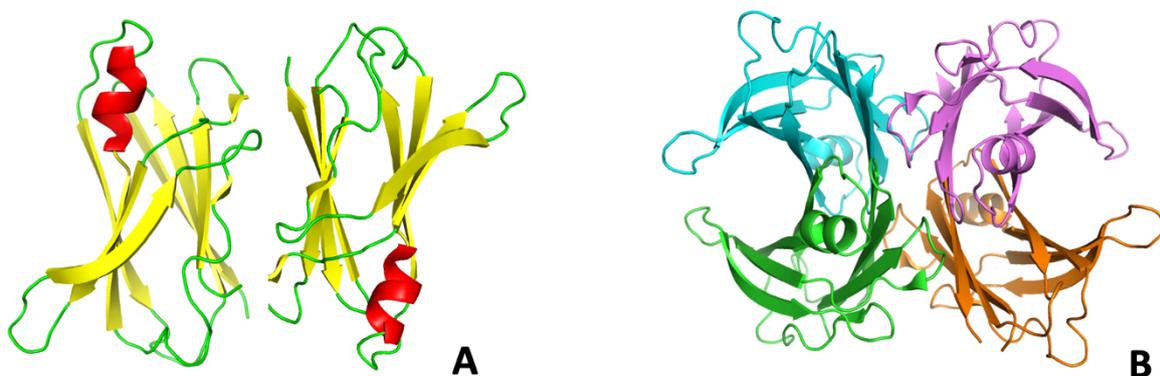


Figure 11 – A : Modélisation d'un monomère de protéine TTR – B : Modélisation de TTR sous forme tétramérique

La TTR est synthétisée sous forme de monomère à plus de 95% au niveau hépatique, tandis qu'une plus faible quantité est produite par les plexus choroïdes, l'épithélium pigmentaire rétinien (EPR), et les cellules alpha des îlots pancréatiques. La protéine homotétramérique TTR (figure 11.B) joue un rôle de transporteur de la thyroxine (T4) dans le plasma et le LCR et contient deux sites de liaison à la T4 qui contribuent à sa stabilité structurale. Elle assure également le transport de la vitamine A en s'associant à la protéine de liaison du rétinol. Elle possède également un rôle dans la régénération nerveuse, la croissance axonale et la neurogénèse.⁷⁷

L'étude des domaines fonctionnels de la protéine grâce à la base de données « InterPro », montre que la protéine TTR est constituée d'un seul et unique domaine fonctionnel possédant une fonction hydroxyisourate hydrolase de l'aa 20 à 147. Les 20 premiers aa codent le peptide signal mentionné ci-dessus. Le site de liaison à la thyroxine est codé de l'aa 35 à 50 (<https://www.ebi.ac.uk/interpro/protein/UniProt/P02766/>).

Les concentrations normales de TTR plasmatique chez l'homme varient entre 0,20 et 0,40 g/L et sa demi-vie est d'environ 2 à 3 jours.⁷⁸

2.8.2.6. Physiopathologie

Le passage d'une conformation physiologique tétramérique de la protéine TTR en fibrilles amyloïdes insolubles est un processus dynamique en plusieurs étapes. La première consiste en la dissociation du tétramère de TTR en monomères. En effet, la plupart des variations pathogènes du gène *TTR* sont responsables d'une déstabilisation des structures tétramériques et induisent une instabilité thermodynamique favorisant la formation de fibrilles amyloïdes. Ces effets déstabilisants ont un impact sur l'efficacité de la cellule à dégrader et à sécréter la TTR mutante, modulant ainsi la sévérité de la maladie. Ces monomères adoptent ensuite une mauvaise conformation, induisant un mauvais repliement.¹¹

La formation des fibrilles amyloïdes est influencée par plusieurs facteurs, notamment la température, le pH, la concentration de la protéine précurseur, la protéolyse anormale, le stress oxydatif et les interactions avec les composants de la matrice extracellulaire, tels que les glycosaminoglycanes sulfatés.

Les fibrilles amyloïdes provoquent ensuite les lésions tissulaires par compression, obstruction, toxicité cellulaire voire perturbation de la circulation sanguine locale. Les dépôts vasculaires peuvent être responsables d'une symptomatologie atypique, telles que la claudication de la mâchoire et l'ischémie myocardique en l'absence de maladie athéromateuse.

La figure 12 est une représentation schématique de la physiopathologie de l'ATTR.

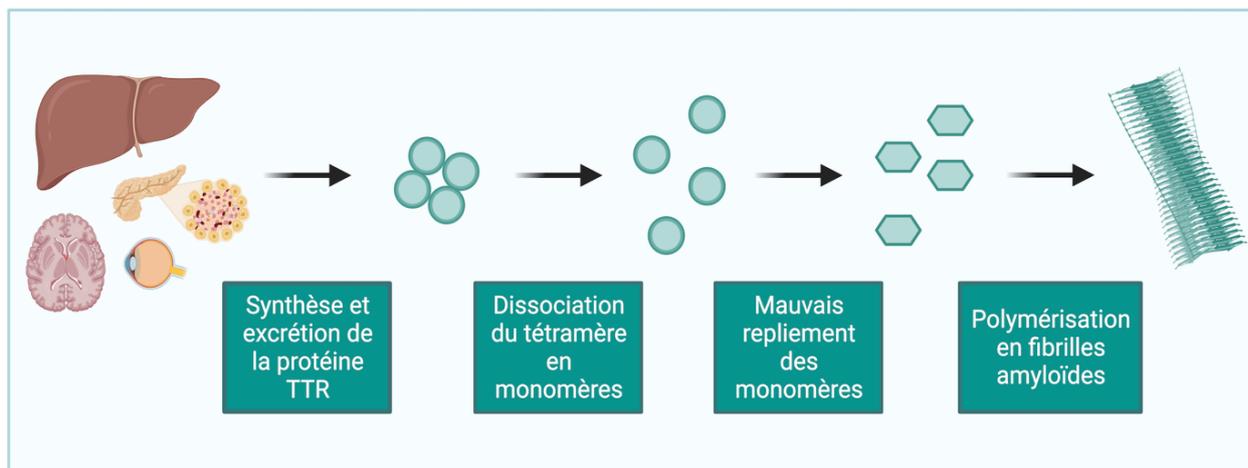


Figure 12 - Physiopathologie de l'ATTR (Créé avec Biorender.com)

2.8.2.7. Symptomatologie et suivi de la FAP

Comme expliqué précédemment, l'hATTR présente un large éventail de manifestations cliniques déterminées par la variation du gène *TTR* impliquée dans la pathologie avec 2 formes cliniques majeures d'hATTR : la FAP et la FAC. Ce paragraphe s'intéresse exclusivement à la symptomatologie développée en cas en FAP.

2.8.2.7.1. Atteinte neurologique

L'atteinte neurologique est à l'origine de la FAP, la variation pathologique p.Val50Met (V50M) est la plus communément impliquée dans ce tableau clinique. La FAP se manifeste par une polyneuropathie périphérique axonale, débutant par une atteinte des petites fibres et donc une atteinte de la sensibilité thermo-algique. Elle commence aux extrémités des membres inférieurs puis supérieurs et présente une évolution ascendante vers la racine des membres. Des troubles moteurs surviennent dans un second temps avec la même progression centripète, des extrémités aux racines.⁴¹ Après une dizaine d'années d'évolution, la sévérité de l'atteinte nerveuse périphérique est responsable d'un état grabataire.⁷⁹

Il faut distinguer :

- Les formes à début précoce (< 50 ans) associées à une mutation V50M avec une histoire familiale. Les sujets ont entre 25 et 35 ans. Le tableau clinique est celui d'une polyneuropathie distale évolutive avec dysautonomie. La symptomatologie initiale peut être :
 - o Sensitive associant des paresthésies des MI (40%), des douleurs neuropathiques (5%), des maux perforants plantaires,
 - o Dysautonomique (diarrhées et/ou constipation, (40%), vomissements), impuissance (9%), manifestations d'hypotension,
 - o Générale : amaigrissement inexplicable (inaugural dans 16% des cas)⁷⁹
- Les formes tardives (> 50 ans) associées à une mutation V50M et aux autres mutations responsables d'un tableau de FAP. Il s'agit de la majorité des cas en France (75%). Le diagnostic est difficile et retardé en moyenne de 3 ans après les premiers signes cliniques, ce qui est très préjudiciable pour le patient. Le tableau clinique dans ces formes tardives se distingue des formes à début précoce par :

- Le caractère sensitivo-moteur (84% vs 35%),
- Le caractère plus exceptionnel de la dysautonomie, retrouvée dans 10% à 16% des cas vs 48 à 65%,
- L'atteinte de toutes les modalités sensibles (proprioceptifs, et thermoalgiques) versus thermoalgiques seuls (70% vs 25%),
- Le caractère plus souvent douloureux (46% vs 2%)^{11,41,80,81}

La sévérité de l'atteinte neurologique peut être évaluée par différents tests et scores cliniques, tel que le score NIS (Neuropathy Impairment Score) en annexe 2, qui évalue la neuropathie sensitivo-motrice, les scores FAP ou PND (Peripheral Neuropathy Disability) qui évaluent surtout l'atteinte locomotrice, illustrés ci-dessous (tableau 3 et 4) et le score ONLS (en annexe 3), évaluant l'invalidité du patient en distinguant l'atteinte des membres supérieurs et inférieurs cette échelle va de 0 à 12, 12 témoignant d'un handicap majeur. L'atteinte dysautonomique est, quant à elle, évaluée par le score CADT (Compound Autonomic Dysfunction Test) illustré par la figure 13.

Stade	Description
0	Asymptomatique
1	Marche sans aide, neuropathie sensitivomotrice des membres inférieurs, neuropathie végétative modérée
2	Nécessité d'une aide à la marche, progression du handicap aux MI, atteinte des MS et du tronc
3	Nécessité d'un fauteuil roulant, confinement au lit, neuropathie sévère des 4 membres, atteinte végétative sévère

Tableau 3 - Score FAP (Familial Amyloid Polyneuropathy)

Stade	Description
I	Troubles sensitifs distaux, capacité de marche préservée
II	Difficultés à la marche mais s'effectue sans aide
IIIa	Marche avec 1 aide
IIIb	Marche avec 2 aides
IV	Patient confiné au fauteuil roulant ou alité

Tableau 4 - Score PND (Peripheral Neuropathy Disability)

Atteinte/ grade selon fréquence	4	3	2	1	0
Hypotension orthostatique	Non	Asymptomatique	Lipothymies	Syncopes	Grabataire
Digestifs hauts : nausées invalidantes, vomissements	Non	Nausées, plainte digestive vague	Vomissement <1/semaine	Vomissement >1/semaine	Quotidien
Digestifs bas : diarrhée	Non	Constipation/ diarrhée 1/mois	Alternance, diarrhée <1semaine	Alternance, diarrhée ≥1/semaine	Diarrhée >1/J
Troubles mictionnels	Non	Dysurie	Dysurie + fuite	Sondage intermittent	Sonde à demeure
Troubles de l'érection	Non	Trouble érectile	impuissance		
Total					

Figure 13 - Score CADT (Compound Autonomic Dysfunction Test)

L'examen clinique et les différents scores sont complétés par un électroneuromyogramme (ENMG) afin de quantifier la sévérité de la neuropathie et pour réaliser un suivi. En cas de FAP, une diminution des vitesses de conduction nerveuse est souvent observée. Cependant, cet examen qui n'étudie que les grosses fibres nerveuses, peut être sans anomalie dans les formes débutantes ou en cas d'atteinte isolée des petites fibres.

Le syndrome du canal carpien peut précéder les premiers signes de polyneuropathie périphérique de plusieurs années. Plus rarement, il a été répertorié une atteinte des nerfs crâniens, une atteinte leptoméningée associée à une angiopathie amyloïde cérébrale avec une possible évolution vers la démence.^{41,72}

2.8.2.7.2. Atteinte cardiaque

La FAP peut être diagnostiquée à la suite de l'apparition de signes cardiaques, en effet des signes cardiaques sont rapportés chez 80% des patients atteints de FAP.⁴¹ Sur le plan clinique, des troubles de conduction allant parfois jusqu'à la syncope et l'implantation d'un pacemaker ou une cardiopathie infiltrative évoluant progressivement vers l'insuffisance cardiaque terminale à fraction d'éjection préservée vont s'observer.

À l'ECG, il est fréquemment retrouvé un microvoltage et des pseudo-ondes Q de nécrose septale. L'échographie cardiaque fait état d'une pseudo-hypertrophie et recherche un épaissement avec aspect brillant des parois myocardiques et des valves cardiaques secondaire à l'infiltration.

La scintigraphie à la MIBG (métaiodobenzylguanidine) permet la détection d'une dysautonomie cardiaque, un symptôme cardiaque précoce de la FAP associé à un mauvais pronostic. La scintigraphie aux biphosphonates, pathognomonique d'ATTR (mutée ou sauvage) en cas de fixation du traceur (99m)Tc-DPD, et l'IRM cardiaque demeurent également des outils d'imagerie de suivi et de diagnostic utiles en pratique courante.

2.8.2.7.3. Atteinte rénale

L'atteinte rénale est rarement révélatrice de FAP, les rares cas répertoriés présentaient une forme précoce de mutation p.Val50Met et se manifeste par une microalbuminurie isolée précédant de plusieurs années l'insuffisance rénale.

2.8.2.7.4. Atteinte ophtalmologique

Dans l'hATTR, il est fréquent d'observer des dépôts amyloïdes vitréens. L'infiltration du vitré est généralement progressive et les dépôts ressemblent à du coton ou de la laine de verre, les patients souffrent alors de myiodésopsies, de baisse d'acuité visuelle de sévérité variable. Ces symptômes sont les seules manifestations ophtalmologiques potentiellement inauguraux de la FAP. Le glaucome est une complication et est responsable d'une potentielle cécité nécessitant une surveillance accrue de la tension oculaire.^{11,45,72}

2.8.2.8. Les traitements de hATTR

Le traitement d'un patient atteint de hATTR est complexe et nécessite avant tout une prise en charge multidisciplinaire, comportant à minima un suivi neurologique, cardiologique, ophtalmologique. Le conseil génétique et l'enquête familiale possèdent également une place importante dans la prise en charge du patient et de ses apparentés. Les traitements symptomatiques ont également une place importante dans la prise en charge globale pour garantir la meilleure qualité de vie possible. Certains traitements vont présenter de meilleurs résultats selon la forme de hATTR dans laquelle ils sont employés (FAP ou FAC) et ne sont approuvés que dans le traitement de l'une des deux formes.

Les patients atteints de hATTR ne présentent pas de symptômes significatifs de déficit en hormones thyroïdiennes, ce qui suggère que la TTR n'est pas un transporteur majeur d'hormones thyroïdiennes et que la réduction de l'expression de la TTR pourrait être une approche possible.

À ce jour, trois traitements médicamenteux sont approuvés par la HAS et mis à disposition des patients souffrant de formes neurologiques de l'amylose héréditaire à transthyrétine : le *tafamidis*, le *patisiran*, l'*inotersen*. La transplantation hépatique n'est désormais plus le traitement de première intention.

La section suivante présente les différentes approches thérapeutiques, qu'elles soient encore à l'étude ou approuvées.

2.8.2.8.1. Transplantation hépatique

A partir des années 1990, en raison de la synthèse majoritaire de la protéine TTR dans le foie, les premières transplantations hépatiques (TH) ont été réalisées. La TH est efficace pour améliorer l'évolution de hATTR en remplaçant le gène *TTR* muté par un gène sauvage, ce entraînant une diminution accrue des concentrations de protéique TTR mutée. Les taux de survie à 5 et 10 ans sont respectivement de 85 % et 73 %, avec des effets plus importants dans le cas de hATTR à p.Val50Met.

Il s'agissait du traitement de référence, permettant de stabiliser la neuropathie si la transplantation était réalisée suffisamment tôt dans l'évolution de la pathologie. En effet, les lésions préexistantes à la greffe sont irréversibles et leur progression ne peut être inhibée. Cependant, il ne faut pas ignorer les limites de la TH : la morbi-mortalité liée à la procédure, le besoin de donneurs et l'immunosuppression à long terme. De plus, la TH ne réduit pas la production de TTR dans les plexus choroïdes et l'EPR, ce qui peut entraîner le développement de signes oculaires ou leptoméningés. Aujourd'hui, la TH peut être envisagée chez les patients réfractaires ou intolérants aux autres options pharmacologiques ou en cas d'impasse thérapeutique.⁸²

2.8.2.8.2. Stabilisateurs de la transthyrétine

En 1999, l'équipe de Baures *et al.* a mis en évidence le potentiel de divers médicaments anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) dans la stabilisation de la TTR tétramérique.⁸³ En effet, il a été décrit que la dissociation du tétramère en monomères conduit à la formation de fibrilles amyloïdes. Ces études ont donc permis d'envisager la stabilisation de la forme tétramérique de la TTR comme stratégie thérapeutique.

2.8.2.8.2.1. Le tafamidis

Le *tafamidis* est un stabilisateur puissant et sélectif de la TTR tétramérique. Il se lie aux sites de liaison de la thyroxine inoccupés de la TTR tétramérique, empêchant le cascade amyloïdogène.⁸⁴

Il a été le premier traitement spécifique pour hATTR à être approuvé par la FDA pour la FAP de stade 1 sur la base d'une étude en double aveugle contre placebo ayant duré 18 mois. Ensuite, plusieurs essais ont montré des résultats très intéressants pour les patients porteurs d'une variation p.Val50Met, associés à une bonne tolérance, même à long terme.

À ce jour, son utilisation est approuvée en France et il est utilisé comme traitement des formes cardiaques et neurologiques de l'hATTR.

2.8.2.8.2.2. Le diflusal

Le diflusal est un anti-inflammatoire non stéroïdien (AINS), qui possède des propriétés stabilisatrices de la TTR. Il a été utilisé de manière non homologuée pour le traitement de l'hATTR.

En 2013, Berk *et al.* ont démontré que le diflusal réduisait le taux de progression de l'atteinte neurologique et préservait la qualité de vie dans une étude randomisée, contrôlée par placebo en double aveugle.⁸⁵ Malgré cette efficacité démontrée, les effets indésirables associés aux AINS, notamment les effets gastro-intestinaux, rénaux, cardiaques et sanguins, demeurent préoccupants pour les patients atteints de hATTR et peuvent en empêcher l'utilisation comme de nombreuses études le décrivent.⁸⁶ Cette molécule n'est, à ce jour, pas approuvée pour l'hATTR et est utilisée en dehors des autorisations.

2.8.2.8.2.3. Autres stabilisateurs de la TTR

L'*acoramidis* ou AG10, est une petite molécule expérimentale, administrée par voie orale, conçue pour stabiliser la TTR en imitant une variante non pathologique du gène *TTR* (p.Thr119Met) considérée comme une "mutation de sauvetage" parce qu'il a été démontré qu'elle prévient ou minimise l'ATTR chez les personnes porteuses de mutations pathogènes. Les résultats de l'étude de phase 3 en cours pour la FAC sont attendus en 2023.⁸⁷

L'épigallocatechine-3-gallate (EGCG), une catéchine présente dans le thé vert, inhibe la formation de fibrilles amyloïdes et perturbe leur agrégation *in vitro*. Deux études ont montré que la consommation de thé vert avait des effets positifs chez les patients atteints d'hATTR ou wtATTR.

La *tolcapone*, connue pour traverser la barrière hémato-encéphalique (BHE) stabilise trois variantes de TTR leptoméningées et est donc à l'étude pour l'ATTR leptoméningée.⁸⁷

2.8.2.8.3. Destruction des dépôts

Deux molécules, la doxycycline et l'acide tauro-ursodéoxycholique (TUDCA), ont montré de prometteuses propriétés de dégradation des dépôts de TTR. La combinaison des deux semble synergique et stabilise la progression de l'atteinte cardiaque et neurologique, tout en bénéficiant d'une bonne tolérance. Une étude de phase 3 de l'association Doxycycline/TUDCA est en cours pour la forme cardiaque de hATTR, mais à ce jour, ces traitements ne sont pas approuvés.

2.8.2.8.4. Approches nucléotidiques

Les connaissances acquises grâce à la transplantation hépatique ont suggéré que l'inhibition de la TTR amyloïdogène pourrait prévenir la progression de la maladie. Dans cet objectif, les ARN interférents (ARNi), les oligonucléotides antisens (ASO) ont montré leur utilité dans cette application, parallèlement, la technologie de CRISPR-Cas9 semble un outil prometteur afin de supprimer l'expression du gène *TTR* dans les hépatocytes et est en cours de développement.

2.8.2.8.4.1. Les ARN interférents

Les ARNi possèdent la capacité d'inactiver la traduction d'un ARN messager (ARNm) spécifique, empêchant ainsi l'expression et la synthèse d'une protéine cible, ici la protéine TTR. Ces ARNi sont des petits ARN double brins qui vont agir au moment de la traduction des ARNm en les rendant silencieux au niveau du ribosome, ceci empêchant la synthèse de la protéine. Au niveau cytoplasmique, l'ARNi est pris en charge par un complexe formé de plusieurs protéines : le complexe RISC (RNA induced silencing complex) qui élimine le brin transporteur. Une fois que l'ARNm spécifique est ciblé, le complexe RISC le coupe, l'ARNm va ensuite être dégradé et la synthèse de la protéine n'aboutit pas. La figure 14 illustre le mécanisme d'action des ARNi, notamment le *patisiran*.

Le *patisiran* et le *vutrisiran* sont deux ARNi, spécifiques à la TTR et encapsulés dans des nanoparticules lipidiques de deux générations distinctes, administrés respectivement, en intraveineuse et en sous-cutanée. Les différentes études de phase I et II montraient une diminution significative et rapide des taux de TTR.¹¹

Le *patisiran* a l'AMM dans le traitement de l'hATTR chez les adultes atteints de polyneuropathie de stade 1 ou de stade 2. Il a été supérieur au placebo avec une amélioration du score NIS+7, critère de jugement principal portant sur l'invalidité de la neuropathie. Il s'administre en perfusion IV toutes les trois semaines. De plus, le traitement est

majoritairement bien toléré, en dehors de réactions légères à modérées au niveau du point de perfusion.

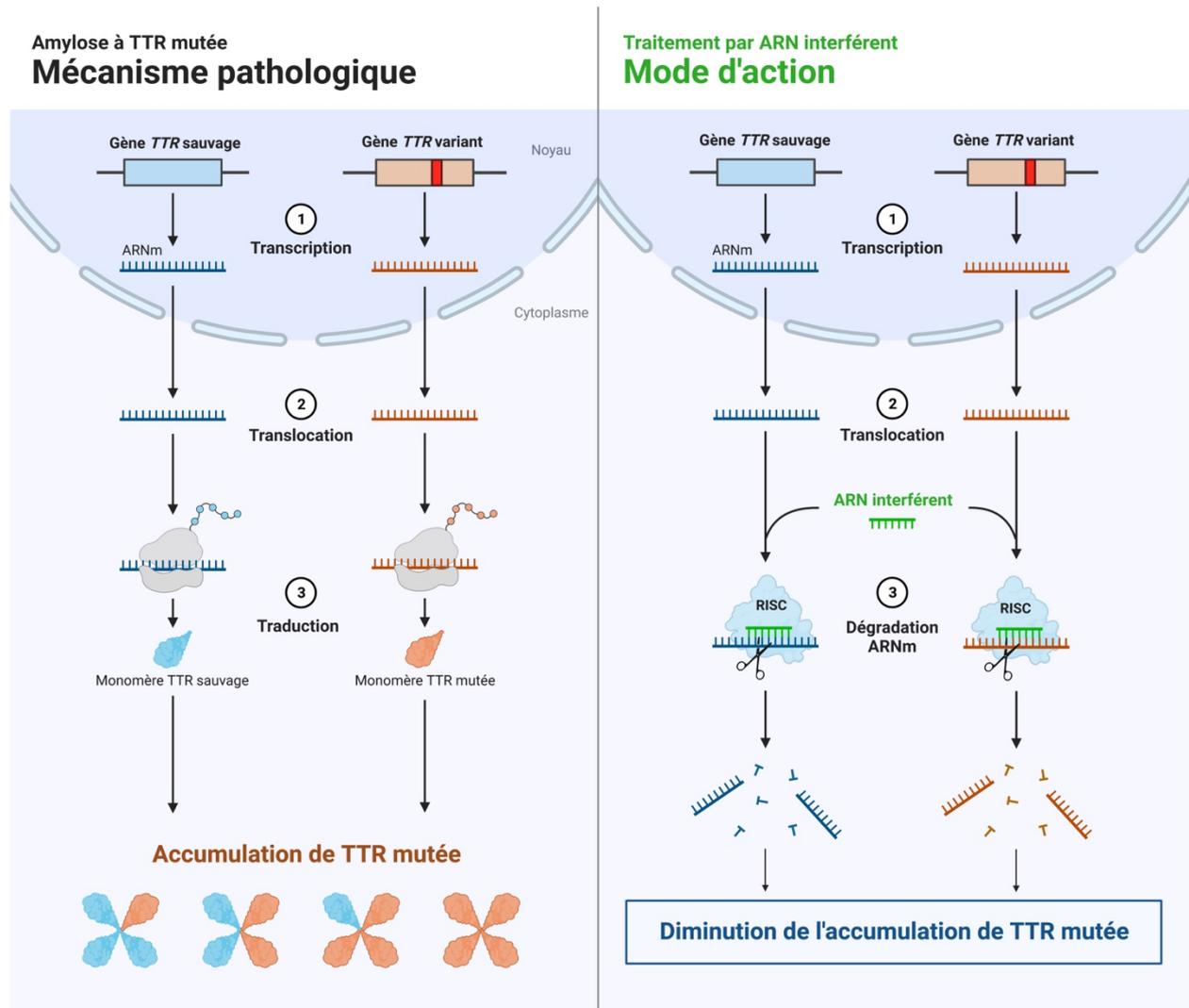


Figure 14 - Mécanisme d'action des ARNi (Créé avec Biorender.com)

2.8.2.8.4.2. Les oligonucléotides antisens

L'*inotersen* ou ISIS-TTR_{Rx} est un oligonucléotide antisens (ASO) court, administré par voie sous-cutanée, qui se lie sélectivement à l'ARNm de la TTR, empêchant la traduction de l'ARN et l'expression de la protéine TTR. Cette approche thérapeutique interrompt ainsi la traduction de la TTR sauvage et mutée.⁷²

Les différentes études menées jusqu'alors font état d'une diminution de 80% de l'expression de la protéine TTR après 4 semaines de traitement. De plus, l'*inotersen* réduit les symptômes de FAP de stade 1 ou 2 et son efficacité est indépendante du stade de la maladie, de la variation en cause ou de la présence concomitante d'une cardiopathie. Il a été supérieur au placebo avec une quantité d'effet supplémentaire cliniquement pertinente démontrée sur 2 critères de jugements principaux : la variation du score NIS +7 portant sur l'invalidité de la neuropathie et sur un auto-questionnaire de qualité de vie.⁷²

L'*inotersen* a l'AMM dans le traitement de la FAP de stade 1 ou 2 chez les adultes atteints d'hATTR. Le risque de thrombopénies et de glomérulonéphrite lié au traitement nécessite une surveillance de la fonction rénale et de la numération plaquettaire.

2.8.2.8.4.3. L'édition de gènes : le CRISPR-Cas9

En juin 2021, Gillmore et *al.* ont rapporté les résultats d'un essai clinique pour l'administration *in vivo* d'un médicament d'édition de gènes basé sur l'approche du CRISPR-Cas9 appelé NTLA-2001, dont l'objectif est d'inactiver le gène *TTR*.⁸⁸

Six patients souffrant de de forme neurologique d'hATTR ont été sélectionnés pour recevoir le traitement dans le cadre de cet essai, et tous les patients ont reçu l'injection du médicament sans effets indésirables pendant la durée du traitement. Le septième jour de traitement, les marqueurs biologiques de la fonction hépatique des patients étaient dans les limites normales. Trois patients ont reçu une dose de 0,1 mg par kg, et les trois autres ont reçu une dose de 0,3 mg par kg pour déterminer l'efficacité de NTLA-2001. Le 28e jour, des réductions de 47 %, 52 % et 56 % des concentrations sanguines de TTR ont été détectées chez les trois patients ayant reçu la faible dose et des réductions de 80 %, 84 % et 96 % ont été détectées chez les trois patients ayant reçu la dose élevée. Ces résultats indiquent que l'efficacité de NTLA-2001 dépend de la dose et qu'elle est très satisfaisante. Quelques mois plus tard, la FDA a accordé à la méthode la désignation de médicament orphelin, une reconnaissance non seulement de NTLA-2001 mais aussi de l'administration *in vivo* de la thérapie génique basée sur CRISPR.⁸⁹

2.8.2.8.5. Les anticorps monoclonaux

Les anticorps monoclonaux développés contre le sérum amyloïde P (constituant qui contribue à la stabilité des agrégats) et la TTR ont donné des résultats mitigés.

Plusieurs anticorps dirigés contre les épitopes de la TTR, notamment le PRX004 ont été à l'étude. Ces anticorps monoclonaux posséderaient des propriétés de clairance des dépôts amyloïdes. Un essai clinique récent étudiant le PRX004, en phase 1, a démontré la bonne tolérance du traitement et une réduction de la progression des signes cliniques chez des patients souffrant de forme cardiaque d'hATTR.

Bien que les premières études murines et humaines aient démontré une réduction des dépôts, les essais en cours ont été suspendus.⁷²

La figure 15, inspirée de l'article de Carroll *et al*, récapitule les différents traitements répertoriés ci-dessus et utilisés dans la neuropathie liée à l'amylose héréditaire à TTR.

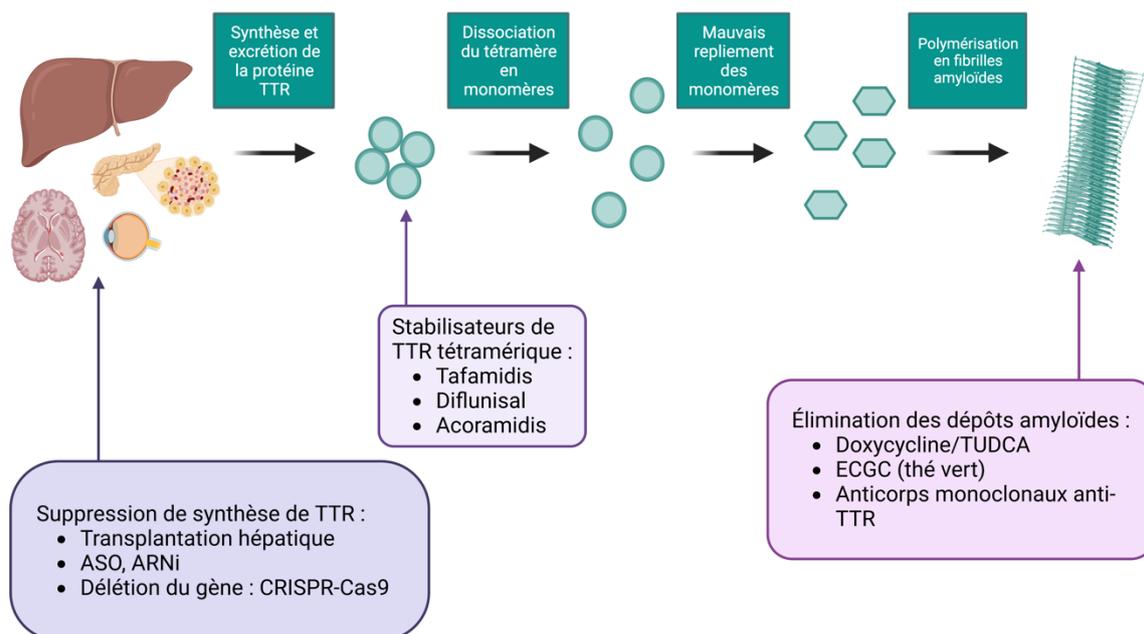


Figure 15 - Différentes approches thérapeutiques dans l'hATTR (Créé avec Biorender.com)

2.8.2.9. Diagnostics différentiels de la FAP

La FAP étant caractérisée par une polyneuropathie périphérique axonale, sensitivo-motrice, distale, symétrique et longueur dépendante associée à une dysautonomie, il faut la différencier de certaines pathologies responsables du même tableau.

Lorsqu'un patient n'a pas d'antécédents familiaux de FAP, un diagnostic de polyneuropathie inflammatoire démyélinisante chronique (PIDC) est souvent envisagé en premier lieu. Dans la PIDC, le dysfonctionnement des grandes fibres myélinisées prédomine, avec une vitesse de conduction lente à l'EMG, une hyperprotéinorachie dans le LCR, sans symptôme de dysautonomie. Cependant dans certains cas, les lésions axonales prédominent. Dans la FAP, la vitesse de conduction nerveuse est souvent diminuée et il peut y avoir une hyperprotéinorachie également, ce qui peut compliquer la différenciation entre PIDC et FAP. Dans de tels cas, une biopsie nerveuse peut s'avérer utile. Après détection des dépôts amyloïdes dans les échantillons, le diagnostic d'amylose AL est souvent envisagé en raison de l'incidence élevée des gammopathies monoclonales chez les personnes âgées. Le séquençage du gène *TTR* doit être effectué dans tous les cas pour confirmer le diagnostic.⁴¹

Il convient de différencier l'ATTR de l'amylose AL, les deux étant responsables d'atteinte du SNP. Quand l'atteinte neurologique est isolée le diagnostic s'oriente vers une ATTR, alors que dans l'amylose AL, il existe une atteinte plus diffuse, notamment une atteinte rénale fréquente (protéinurie), une atteinte hépatique, une macroglossie. Les différencier est essentiel car l'amylose AL nécessite un traitement d'urgence.

D'autres causes décrites dans la première partie peuvent également être des diagnostics différentiels de FAP, notamment les étiologies métaboliques ou iatrogènes qui sont fréquentes.

Le schéma ci-dessous (figure 16), inspiré de l'article d'Adams et *al.* résume la prise en charge globale de l'amylose héréditaire à transthyrétine avec un tableau de polyneuropathie.

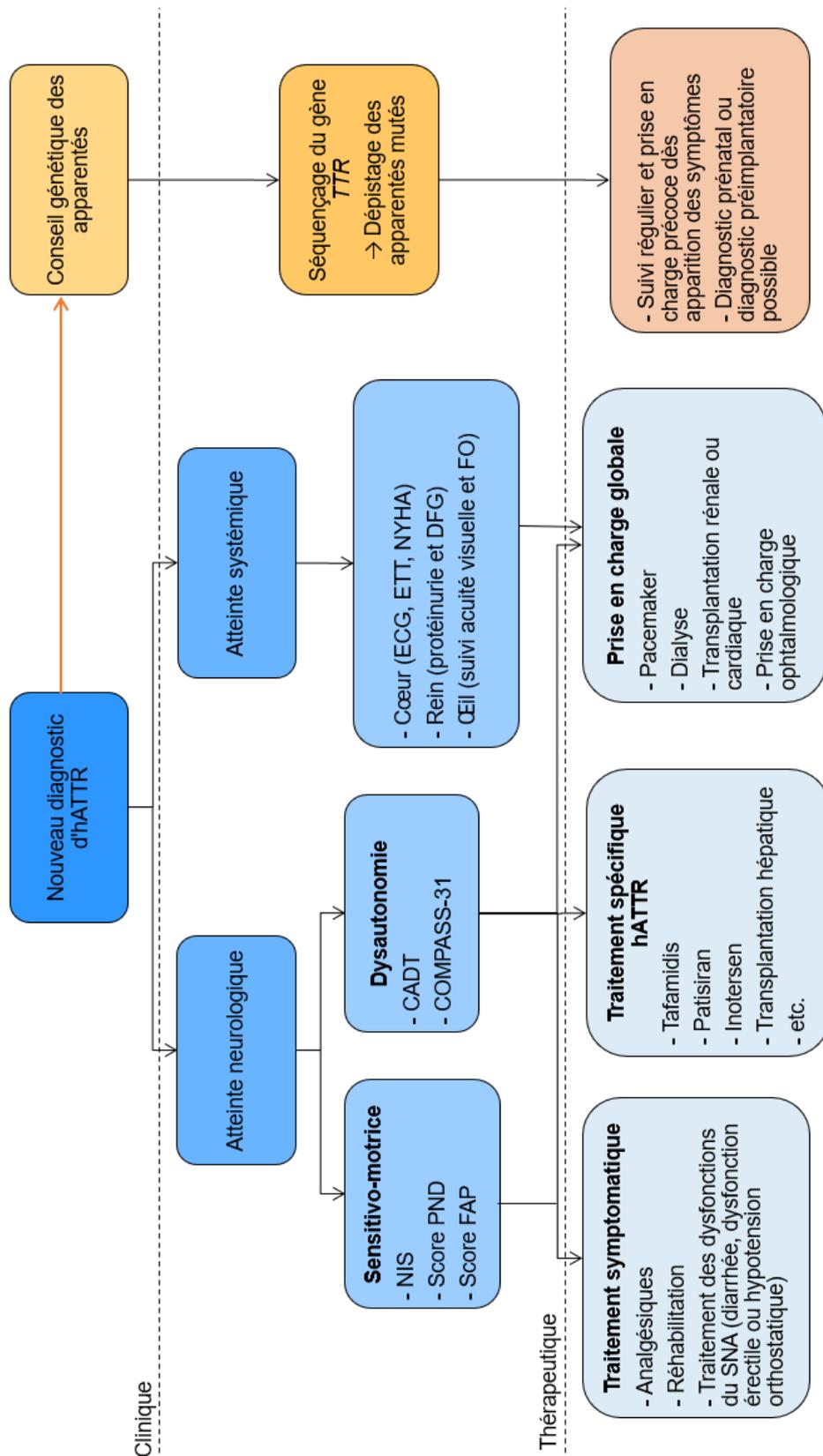


Figure 16 - Prise en charge globale de l'ATTR-FAP

3. Objectifs de l'étude

Au vu de l'émergence récente de nouvelles thérapies efficaces et innovantes dans la prise en charge de la polyneuropathie liée à l'amylose héréditaire à TTR, la question de l'intérêt de réaliser un screening systématique du gène *TTR* chez tous les patients présentant une neuropathie idiopathique se pose activement.

La réalisation de ce screening par prélèvement salivaire permettrait de rendre ce dépistage systématique beaucoup moins invasif pour les patients concernés ainsi que pour leurs apparentés en comparaison au prélèvement sanguin.

La fin de l'errance diagnostique, liée aux symptômes peu spécifiques, souvent retrouvée dans cette maladie et présentant un impact négatif sur le pronostic, la progression des atteintes parfois sévère, ainsi que les nouveaux traitements efficaces mis à disposition représentent un intérêt majeur de santé publique.

L'objectif de ce travail est ainsi d'étudier l'intérêt du dépistage systématique des possibles variations exoniques du gène *TTR* chez des patients consultant pour une neuropathie périphérique idiopathique.

Une cohorte de 130 patients a ainsi été étudiée dans le cadre de l'étude TTR-FAP en collaboration avec Dr Guilhem Solé. L'ADN a été extrait à partir de prélèvements salivaires, puis la séquence des 4 exons du gène *TTR* a été réalisée par séquençage Sanger.

Matériel et méthodes

4. Échantillons

L'étude est réalisée à partir de 130 échantillons salivaires.

Les échantillons sélectionnés appartiennent à une cohorte de patients mise en place par le Centre-Hospitalo-Universitaire (CHU) de Bordeaux en accord avec la législation éthique française en vigueur, la déclaration d'Helsinki et après recueil, pour chaque patient, d'un consentement libre et éclairé pour la recherche.

Les 130 prélèvements salivaires pseudo-anonymisés proviennent de patients présentant une neuropathie périphérique chronique idiopathique. Les échantillons ont été collectés au CHU de Bordeaux par les médecins investigateurs de l'étude et conservés dans des tubes Oragene™ DNA (DNA Genotek).

Avant réception des prélèvements de patients, des mises au point ont été effectuées sur des échantillons salivaires de contrôle pour tester les étapes d'extraction d'ADN salivaire et de PCR (Polymerase Chain Reaction) à partir d'ADN extrait de salives.

5. Techniques de biologie moléculaire

La détermination de la séquence des exons 1 à 4 du gène *TTR* est effectuée par séquençage enzymatique selon la méthode de Sanger. Cette approche de biologie moléculaire comprend successivement :

1. Extraction d'ADN salivaire,
2. PCR d'amplification,
3. Réaction de séquence, séquençage des exons et analyse informatique.

5.1. Extraction d'ADN salivaire

L'extraction d'ADN salivaire est réalisée à partir d'échantillons salivaires conservés dans des tubes Oragene™ à l'aide du kit d'ADN génomique Purelink™ (Invitrogen), selon les recommandations du fournisseur. Ce kit est basé sur une méthode d'extraction en phase solide. Il utilise une colonne de centrifugation avec une membrane à base de silice, auquel l'ADN va se lier, et des sels chaotropes qui perturbent la liaison hydrogène entre les brins et facilitent la liaison de l'ADN à la silice. Différentes solutions de lavage sont déposées sur la colonne afin d'éliminer les sels chaotropes et d'autres constituants inutiles. L'ADN est ensuite réhydraté avec une solution aqueuse à faible teneur en sel permettant son élution après centrifugation. Pour chaque échantillon, l'étape finale d'élution est réalisée à deux reprises afin d'obtenir une plus grande quantité d'ADN.

Ensuite, les ADN extraits sont dosés au NanoDrop™ (ThermoFisher), un spectrophotomètre UV-visible qui mesure l'absorbance à 260 nm, pour vérifier la concentration d'acides nucléiques (AN) et la qualité de l'extraction grâce à la mesure de deux ratios :

- Le ratio A260/A280 doit se situer aux alentours de 1,8 (+/- 0,1) pour qualifier l'extraction d'ADN de pure, un ratio inférieur témoigne de contaminations protéiques.

- Le ratio A260/A230 dont la valeur attendue pour l'ADN se situe entre 2 et 2,20. Lorsque ce ratio est significativement plus faible, cela révèle la présence de contaminants absorbant à 230 nm dans la solution, tels que le phénol, l'isothiocyanate de guanidine, les carbohydrates, les peptides, l'urée, l'EDTA, les polysaccharides, etc.

Le dosage au NanoDrop™ a permis de choisir l'élution la plus qualitative, parmi les deux réalisées, pour chaque échantillon d'ADN extrait afin de poursuivre les analyses. Pour finir, tous les échantillons sont dilués à une concentration de 20 ng/μL avant de procéder aux étapes suivantes.

5.2. PCR d'amplification

La PCR est une technique de biologie moléculaire permettant d'amplifier une séquence d'intérêt de l'ADN. Pour l'étude du gène *TTR*, chacune des 4 régions exoniques est amplifiée avec une extension bilatérale (padding) de 25 paires de bases dans les régions introniques.

5.2.1. Réaction de PCR

La réaction d'amplification s'effectue en 3 étapes :

- Dénaturation de l'ADN : les deux brins sont séparés par chauffage à haute température (95°C),
- Hybridation des amorces sur les séquences choisies à une température de 50 à 70°C.
- Élongation : la Taq-polymérase synthétise le fragment complémentaire de l'ADN cible

Elle nécessite donc l'utilisation d'amorces spécifiques des régions à amplifier, de désoxynucléotides (dNTP), d'une enzyme : la Taq-polymérase et d'un milieu réactionnel riche en magnésium et chlore (tampon). Un témoin négatif est toujours ajouté

Le mix réactionnel pour un échantillon est le suivant :

Mix	Volume unitaire (μL)
H ₂ O	16
Amorces F+R (20 μM)	0,4
dNTP (10 mM)	0,4
ADN polymérase TransTaq Hifi (5U/μL)	0,2
Tampon 10X (15 mM MgCl ₂)	2

Tableau 5 – Composition du mix réactionnel de la PCR auquel sera ajouté 1 μL d'ADN extrait

Un témoin négatif, dans lequel l'ADN est remplacé par de l'eau, est ajouté pour chaque mix réactionnel de PCR afin de s'assurer de l'absence de contamination.

Par soucis d'organisation, chaque série est composée de huit patients et chaque patient a nécessité quatre réactions de PCR (une pour chaque exon). Aux 32 échantillons de patients s'ajoutent les quatre témoins négatifs (un pour chaque exon), ainsi, 36 réactions de PCR sont réalisées par série.

5.2.2. Amorces

Le choix des amorces est une étape importante dans la mise au point d'une PCR, le couple d'amorces doit s'hybrider spécifiquement sur la séquence à amplifier avec une température d'hybridation (T_m) qui doit être compatible avec l'expérimentation.

Pour l'étude des 4 exons du gène *TTR*, les séquences des amorces sont décrites dans le tableau 6.

Exon	Séquence	Nom	T_m
1F	5'-GTCAGATTGGCAGGGATAAG-3'	TTR-1F	60°C
1R	5'-CAGTAAGCTCAGTGGAAGCTTC-3'	TTR-1R	62°C
2F	5'-ATCAGTGTGTAATTCTTGTTTC-3'	TTR-2F	58°C
2R	5'-GGCATACTTGACCTCTGCC-3'	TTR-2R	60°C
3F	5'-TTAGTTGAGGGGAAATGTTC-3'	TTR-3F	56°C
3R	5'-CTGGAATGCCAAAAGCAAAA-3'	TTR-3R	56°C
4F	5'-TCAGTCATGTGTGTCATCTG-3'	TTR-4F	58°C
4R	5'-AGTAAAAATGGAATACTCTTGG-3'	TTR-4R	58°C

Tableau 6 - Amorces utilisées pour la PCR des exons 1 à 4 du gène *TTR*

Le programme de PCR utilisé est décrit dans le tableau 7 :

	Dénaturation initiale	Dénaturation	Hybridation	Élongation	Élongation finale	Conservation
Température	94°C	94°C	59°C	72°C	72°C	10°C
Durée	3 min	30 secs	30 secs	1 min	5 min	∞

Tableau 7 - Programme utilisé pour les PCR d'amplification

5.2.3. Électrophorèse sur gel d'agarose

L'électrophorèse sur gel d'agarose est une technique de biologie moléculaire permettant de séparer des molécules d'ADN selon leur poids moléculaire. Le but de l'électrophorèse est de faire migrer des échantillons d'ADN chargés négativement sous l'effet d'un champ électrique à travers un gel d'agarose, conducteur afin de les séparer.

Cette étape est accomplie à la suite de la réaction de PCR afin de s'assurer de sa bonne réalisation.

Le gel utilisé est un gel à 1% d'agarose contenant du Midori Green, agent intercalant de l'ADN qui permet de visualiser l'ADN sous lampe UV (300 nm) par fluorescence. Les produits de PCR ainsi que les témoins négatifs sont mélangés avec un tampon de charge avant d'être déposés dans les puits du gel. De plus, afin d'estimer la taille des fragments obtenus, une échelle de poids moléculaire (GeneRuler 1 kb Plus DNA ladder) est également déposée dans un des puits du gel d'agarose et illustrée dans la figure 17.

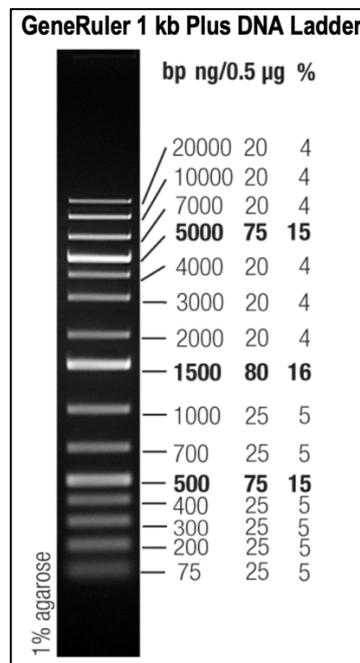


Figure 17 - Échelle de poids moléculaire utilisée (GeneRuler 1 kb Plus DNA Ladder)

Les tailles des 4 exons du gène *TTR* étant situées entre 250 et 400 paires de base (bp) approximativement, le ladder, qui migre de 50 à 20 000 bp, est donc adapté à la recherche.

Enfin, le gel d'agarose est placé dans une cuve contenant un tampon, le Tris/Acetate/EDTA (TAE) 0,5X et un champ de 100 mV est appliqué afin de démarrer la migration.

5.2.4. Purification des PCR d'amplification

Les produits de PCR obtenus sont ensuite purifiés à l'aide du kit « EasyPure® PCR Purification Kit » (TransGen Biotech®), en suivant les recommandations du fournisseur. Ce kit utilise des colonnes contenant une membrane de gel de silice, il s'agit d'une méthode de purification par chromatographie d'adsorption.

Les échantillons d'ADN amplifiés et purifiés peuvent ainsi être stockés à 4°C ou -20°C jusqu'à l'étape suivante, qui consiste en la réaction de séquence.

5.3. Réaction de séquence, séquençage des 4 exons et analyse informatique

Le séquençage par la méthode de Sanger se réalise en plusieurs étapes :

- Réaction de séquence
- Purification des produits obtenus
- Séquençage par électrophorèse capillaire
- Analyse et interprétation des séquences

5.3.1. Réaction de séquence

La réaction de séquence est une réaction de PCR classique dont la composition du mélange réactionnel ainsi que le programme de réaction de séquence diffèrent de ceux de la PCR d'amplification (tableaux 8 et 9).

Pour chaque échantillon, deux réactions sont réalisées en parallèle, l'une contenant l'amorce F (sens) et l'autre l'amorce R (antisens). Chaque échantillon est donc séquençé 2 fois.

Mix	Volume unitaire (µL)
BigDye	4
Amorces F ou R (10 µM)	1
H ₂ O	12

Tableau 8 - Mix réactionnel pour la réaction de séquence auquel on ajoute 3µL de produit de PCR purifié

	Dénaturation initiale	Dénaturation	Hybridation	Élongation	Élongation finale	Conservation
Température	94°C	94°C	50°C	60°C	60°C	4°C
Durée	3 min	10 secs	5 secs	4 min	1 min	∞



Tableau 9 - Programme de la réaction de séquence

L'étape d'extension des produits d'amplification purifiés est réalisée à l'aide du kit BigDye™ Terminator v3.1 (ThermoFisher Scientific), selon les recommandations du fabricant.

Le BigDye est un mélange de dNTPs, de didésoxynucléotides (ddNTPs) fluorescents, de Taq-polymérase associé à un milieu réactionnel riche en MgCl₂. Au BigDye, il faut ajouter nos amorces spécifiques du gène *TTR* (8 amorces utilisées : 1F, 1R, 2F, 2R, 3F, 3R, 4F, 4R), de l'eau et 3µL du produit de PCR purifié précédemment obtenu (tableau 8).

La réaction de séquence peut ensuite avoir lieu dans un thermocycleur adapté, selon le programme décrit dans le tableau 9.

5.3.2. Purification des produits obtenus

À la suite de la réaction de séquence, les produits obtenus sont purifiés une seconde fois à l'aide du kit « DyeEX 2.0 Spin Kit » (Qiagen®) en suivant scrupuleusement les recommandations du fournisseur. Cette méthode de purification, simple et rapide, a pour but d'éliminer les amorces et les ddNTP résiduels en faisant passer le produit de réaction de séquence obtenu à travers un gel par centrifugation, qui va séparer les différents composants en fonction de leur poids moléculaire.

5.3.3. Séquençage par électrophorèse capillaire

Après l'étape de purification, les échantillons sont déposés dans une plaque de séquençage de 96 puits.

L'électrophorèse capillaire est effectuée sur le séquenceur automatisé 3130xl Dx Genetic Analyzer® (Applied Biosystems) dans l'unité de séquençage du CHU de Limoges. Le séquenceur capillaire, à l'aide de la détection laser de la fluorescence, traduit la séquence nucléotidique en électrophorégramme, chaque base étant représentée par une couleur spécifique (figure 18).

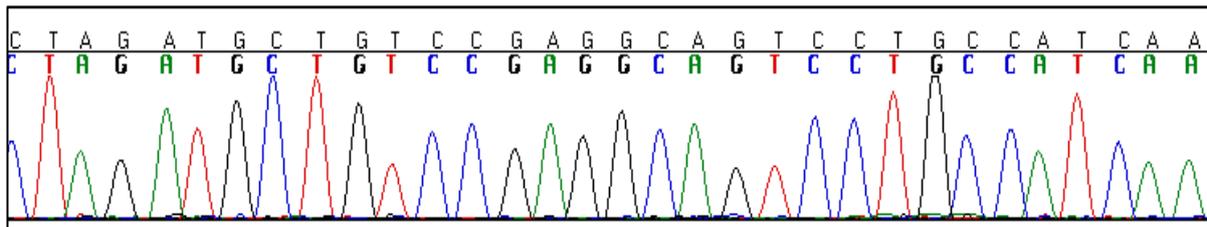


Figure 18 – Exemple d'électrophorégramme obtenu par séquençage (vert : adénine (A), noir : guanine (G), bleu : cytosine (C), rouge : thymine (T))

5.3.4. Analyse informatique des séquences

L'électrophorégramme est analysé à l'aide du logiciel Sequencher™ (version 5.3). Afin de les comparer, ce logiciel permet d'aligner des séquences de références (annexe 4) avec les séquences obtenues pour nos patients. Il est alors possible de diagnostiquer d'éventuelles variations, pathologiques ou non, avec les séquences de référence des exons 1 à 4 du gène *TTR*.

Afin de déterminer le potentiel pathologique ou non des variations de séquence retrouvées, nous nous sommes appuyés sur des bases de données regroupant les différentes variations décrites dans la littérature, telles que ClinVar (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/7276>), HGMD (<https://www.hgmd.cf.ac.uk/ac/gene.php?gene=TTR>) , et le site TTR database (<http://ttrmdb.vit.ac.in:5000/>).

Résultats

Pour répondre à notre objectif, nous avons analysé les 4 exons du gène *TTR* à la recherche de variations, pathologiques ou non, pour les 130 échantillons salivaires de patients.

6. Extraction d'ADN salivaire

6.1. Mise au point de l'extraction d'ADN salivaire

Afin de pouvoir effectuer les mises au point nécessaires et avant de commencer à traiter les échantillons de patients, nous avons réalisé l'intégralité du protocole de référence une première fois sur deux échantillons salivaires de contrôle de 4 mL.

Pour chacun des témoins, nous avons obtenu des ratios A260/A280 très satisfaisants aux alentours de 1,8 donc il n'existe pas de contamination protéique. Le ratio A260/A230 est correct pour le témoin 1 mais est inférieur à 2 pour le témoin 2 ce qui témoigne la présence de sels. Cependant, après migration d'ADN complet sur gel d'agarose, nous avons observé que l'ADN était pur donc il ne devrait pas y avoir d'impact pour la suite de l'expérience.

Ces résultats sur les échantillons salivaires témoins montrent que la qualité des ADN extraits est suffisante pour poursuivre notre analyse, ainsi que la concentration, n'ayant besoin que de 20 ng/ μ L, nous avons des quantités largement suffisantes d'ADN extraits, comme répertoriés dans le tableau 10.

<i>Échantillons</i>	<i>Ratio A260/A280</i>	<i>Ratio A260/A230</i>	<i>Concentration en acides nucléiques (AN)</i>
Témoin 1 élution 1	1,92	2,11	158,6 ng/ μ L
Témoin 1 élution 2	1,91	1,89	71,7 ng/ μ L
Témoin 2 élution 1	1,81	1,63	129,2 ng/ μ L
Témoin 2 élution 2	1,77	1,48	105,4 ng/ μ L

Tableau 10 - Dosage au NanoDrop™ d'ADN de contrôle extrait

À réception des prélèvements de patients pour l'étude, ils présentaient un volume approximatif de 2 mL. Le protocole d'extraction d'ADN salivaire du fournisseur, qui avait été utilisé sur les témoins étant adapté à des échantillons de 4 mL, de nouvelles mises au point étaient alors nécessaires.

Toujours sur un échantillons témoins, deux protocoles différents ont été comparés. D'une part, un protocole alternatif adapté aux échantillons de moins d'1 mL, d'autre part, le protocole déjà optimisé pour les échantillons de 4 mL en adaptant cette fois les volumes d'élution, comme préconisé par le fabricant.

Concernant les résultats des ratios A260/A280, le protocole pour les échantillons de 4 mL adapté présente un résultat satisfaisant tandis que le protocole pour les échantillons de 1 mL présente un ratio diminué. Le ratio A260/A230 retrouvé pour le protocole des échantillons de « 4 mL adapté » est dans la norme alors que pour le protocole « 1 mL » il est inférieur au seuil de pureté. Les deux ratios témoignent d'un risque de contamination protéique et par les sels en cas d'utilisation du protocole d'extraction pour les échantillons de 1 mL. De plus, la

concentration d'ADN obtenue est plus importante pour le protocole « 4 mL » qu'avec le protocole « 1 mL ». Ces résultats sont illustrés dans le tableau 11.

<i>Protocole d'extraction</i>	<i>Ratio A260/A280</i>	<i>Ratio A260/A230</i>	<i>Concentration en AN</i>
Protocole 1 mL	1,63	1,52	24,0 ng/μL
Protocole 4 mL adapté	1,85	2,03	108,6 ng/μL

Tableau 11 - Comparaison des deux protocoles d'extraction d'ADN sur un échantillon témoin

En raison de la quantité et de la qualité de l'ADN extrait avec les deux techniques, le protocole adapté aux échantillons de 4 mL a été choisi pour continuer les expérimentations avec des échantillons de patients d'un volume de 2 mL.

6.2. Résultats des extractions sur patients

Les 130 échantillons ont été traités selon le protocole précité afin de réaliser l'extraction de leur ADN. Les résultats obtenus sont décrits en annexe 5. Il est à noter que l'échantillon 47 était presque vide lors de sa réception ; ceci peut être lié à une mauvaise réalisation du prélèvement ou à de mauvaises conditions de conservation. Il a cependant été traité comme les 129 autres échantillons.

Parmi les 130 échantillons, 101 ont pu être extraits avec succès (qualité et quantité correctes), mais 29 ne présentaient pas une qualité ou une quantité optimales et sont représentés en rouge dans l'annexe 5.

Dans le tableau 12, la première ligne présente l'échantillon 1 pour lequel l'extraction a parfaitement fonctionné. Le ratio A260/A280 est de 2,18, le ratio A260/A230 est de 1,85 et la concentration en AN de l'échantillon est de 347,7 ng/μL.

Comme attendu, l'échantillon 47 présentait une très faible concentration d'ADN (8,4 ng/μL) et une qualité moindre, comme présenté dans le tableau 12.

Pour d'autres échantillons, comme le numéro 6, c'est la qualité qui n'était pas optimale, avec par exemple, ici, un ratio A260/A280 à 1,60 et un ratio A260/A230 à 0,87, témoignant de la présence excessive de protéines et de sels dans l'extrait d'ADN (Tableau 12).

<i>Échantillon</i>	<i>Ratio A260/A280</i>	<i>Ratio A260/A230</i>	<i>Concentration en AN</i>
1	2,18	1,85	347,7 ng/μL
47	1,79	1,55	8,4 ng/μL
6	1,60	0,87	48,8 ng/μL

Tableau 12 - Exemples d'extractions d'ADN à partir des échantillons salivaires

Nous avons ensuite, tout de même, testés tous les échantillons salivaires extraits, mais nous savions que les séquences finales de 29 échantillons n'ayant pas une bonne qualité et/ou qualité d'ADN extrait seraient peut-être plus difficiles à obtenir et à interpréter.

7. PCR d'amplification et purification

7.1. Mise au point de la PCR

Afin de simplifier les expériences, nous avons essayé de trouver une température d'hybridation commune qui aurait pu être utilisée pour les 4 PCR que nous avons à réaliser. Nous avons choisi une température d'hybridation (T_m) à 58°C.

Cette température était idéale pour les PCR des exons 1, 3 et 4 du gène *TTR*, avec la présence de bandes spécifiques aux tailles attendues (344, 325 et 252 bp respectivement), sans aucune bande aspécifique observée. Les résultats sont présentés dans la figure 19A.

Pour l'exon 2, cette température n'était hélas pas optimale. La bande attendue de 375 bp était bien présente, mais on peut noter sur l'électrophorèse en gel d'agarose la présence de bandes aspécifiques (figure 19B).

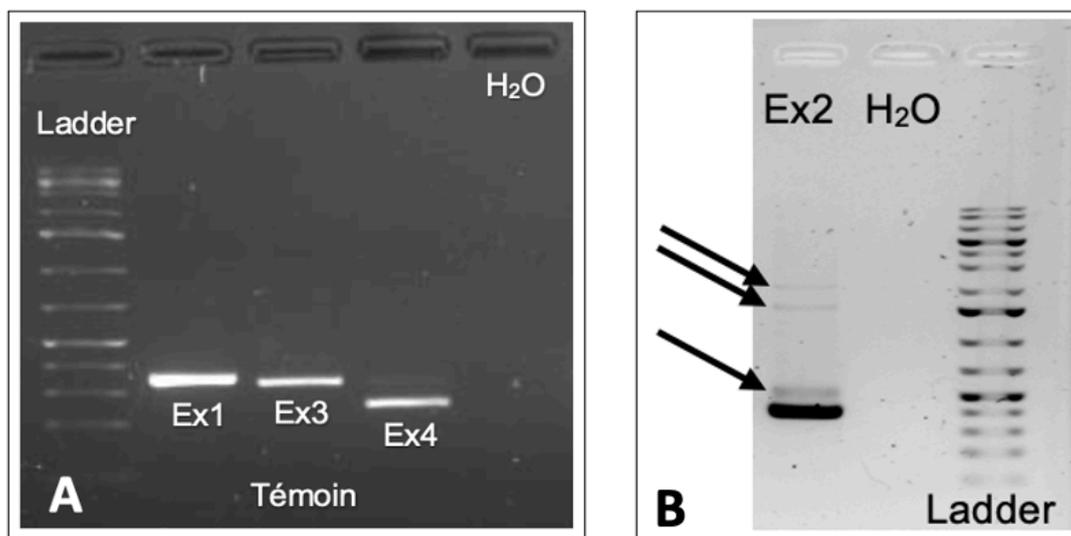


Figure 19 - Mise au point des 4 PCR avec un T_m à 58°C

A : PCR des exons 1, 3 et 4 du gène *TTR* – B : PCR de l'exon 2 du gène *TTR* (bandes aspécifiques mises en évidence par les flèches)

Afin d'augmenter la spécificité, nous avons donc décidé d'augmenter le T_m à 59°C, uniquement pour l'exon 2 dans un premier temps. Ceci a permis de réduire une partie des bandes aspécifiques, mais pas toutes. En théorie, le T_m idéal pour un couple d'amorces est de 2 degrés en dessous du T_m le plus bas. Ici, le T_m optimal se situe à 56°C pour l'exon 2, nous avons donc décidé de ne pas nous éloigner plus de ce T_m et de nous arrêter à 59°C.

Pour simplifier l'expérimentation et pouvoir utiliser les mêmes T_m pour tous les exons, nous avons testé les exons 1, 3 et 4 avec ce même T_m de 59°C, ce qui n'a pas altéré la réaction comme montré sur la figure 20.

La figure 20 illustre les tests de la réaction de PCR avec un T_m à 59°C réalisés sur des échantillons témoins.

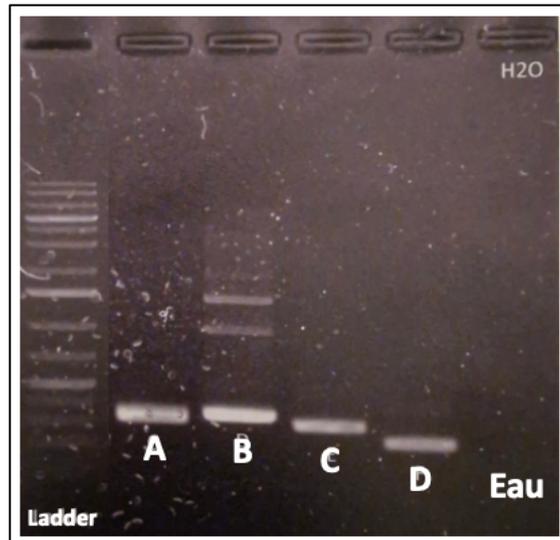


Figure 20 - Test de réaction de PCR avec Tm à 59°C pour les 4 exons du gène *TTR*
(A : exon 1 – B : exon 2 – C : exon 3 – D : exon 4)

Pour les exons 1, 3 et 4, nous avons, comme illustré sur la figure 20, une bande nette au poids moléculaire attendu sur notre gel et une absence d'aspécificité, ce qui témoigne d'une bonne amplification et prédit un séquençage qualitatif.

Les aspécificités qui persistent sur l'exon 2 (figure 20) pourraient prédire des difficultés de séquençage pour la suite de l'expérimentation, cependant l'intensité de la bande d'intérêt sur le gel d'agarose pour l'exon 2 est forte, un séquençage de qualité suffisante est donc envisageable.

7.2. Résultats PCR patients

La PCR a été réalisée pour chacun des 4 exons de nos 130 échantillons extraits avec un Tm à 59°C.

Pour chacune des réactions de PCR d'amplification, un témoin négatif contenant le mélange réactionnel auquel a été ajouté 1 µL d'eau à la place de l'ADN extrait, a été inclus afin de s'assurer de l'absence de contamination lors de la réaction de PCR.

Les réactions de PCR d'amplification ainsi que les purifications des produits de PCR pour les 130 patients ont pu être réalisées sans encombre avec le protocole mis au point. Pour les 29 échantillons de qualité moindre, certaines PCR ont dû être répétées, les bandes sur le gel d'agarose présentaient parfois une très faible intensité mais le protocole a été poursuivi.

Après réalisation de la PCR puis de la purification, nous avons pu procéder aux réactions de séquence.

8. Séquençage Sanger des patients

Les réactions de séquence purifiées ont été réalisées sans nécessité de mise au point de notre part, en suivant les recommandations fournisseur pour les 130 patients de notre étude.

Les séquences obtenues ont été analysées à l'aide du logiciel Sequencher et comparées avec la séquence de référence (figure 21). Les électrophorégrammes ont ensuite été présentés pour chaque patient, dans le sens F et R (figure 22) pour permettre une double lecture et un rendu précis des résultats.



Figure 21 – Exemple de comparaison de la séquence de référence de l'exon 1 du gène *TTR* avec les séquences F et R pour le patient 108

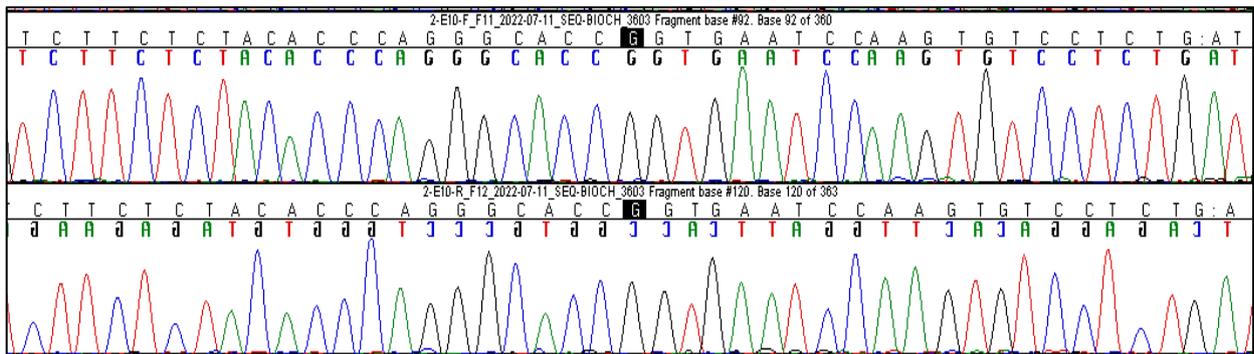


Figure 22 – Exemple d'électrophorégramme des séquences F et R de l'exon 2 du patient 10

Parmi les 130 patients étudiés, nous avons pu rendre des résultats pour 127 patients. En effet, 3 échantillons dont l'extraction montrait, soit une concentration d'ADN trop faible, soit une contamination par les sels ou les protéines, n'ont pas pu être analysés malgré de multiples tentatives. Ainsi, pour les patients 47, 93 et 106, la qualité des séquences obtenues ne nous permettait pas de les analyser et de conclure avec certitude, ils ont donc été exclus de nos résultats.

Parmi les 127 échantillons analysés restants, 3 d'entre eux présentent une variation pathogène p.Val50Met et 24 patients présentent une variation non pathogène p.Gly26Ser, qui sont illustrées ci-dessous.

8.1. Variation pathogène mise en évidence

La variation pathogène p.Val50Met (c.148G>A) au sein de l'exon 2 du gène *TTR* a été retrouvée. Cette variation, p.Val50Met, décrite pour la première fois en 1984 par l'équipe de Saraiva et al (10.1172/JCI111390), est une substitution de la valine (GTG) par une méthionine (ATG) en position 50 sur l'exon 2.⁶⁶ La figure 23 ci-dessous illustre la variation pathogène hétérozygote p.Val50Met retrouvée chez le patient 6 (sur l'exemple). Cette variation pathogène a été identifiée pour 3 patients de notre cohorte : les patients 6, 98 et 112. Cela représente 2.4% des individus testés.

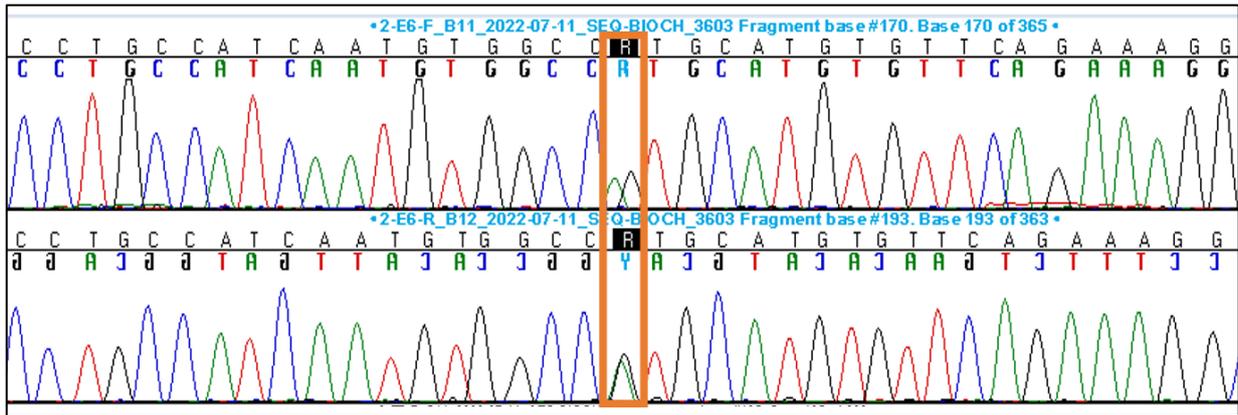


Figure 23 - Variation p.Val50Met pathologique sur l'exon 2 du patient 6

8.2. Variation non pathogène mise en évidence

La variation non pathogène p.Gly26Ser (c.76G>A) a également été identifiée. Il s'agit de la substitution d'une glycine (GGT) par une sérine (AGT) en position 26 (p.Gly26Ser) au niveau de l'exon 2 du gène *TTR* (figure 24). Cette variation est non pathogène et a été décrite pour la première fois en 1994 par l'équipe de D. Jacobson.⁷⁶ Afin d'illustrer cette variation, l'exemple du patient 7 est repris ci-dessous. Cette variation a été identifiée chez 24 patients de notre cohorte.

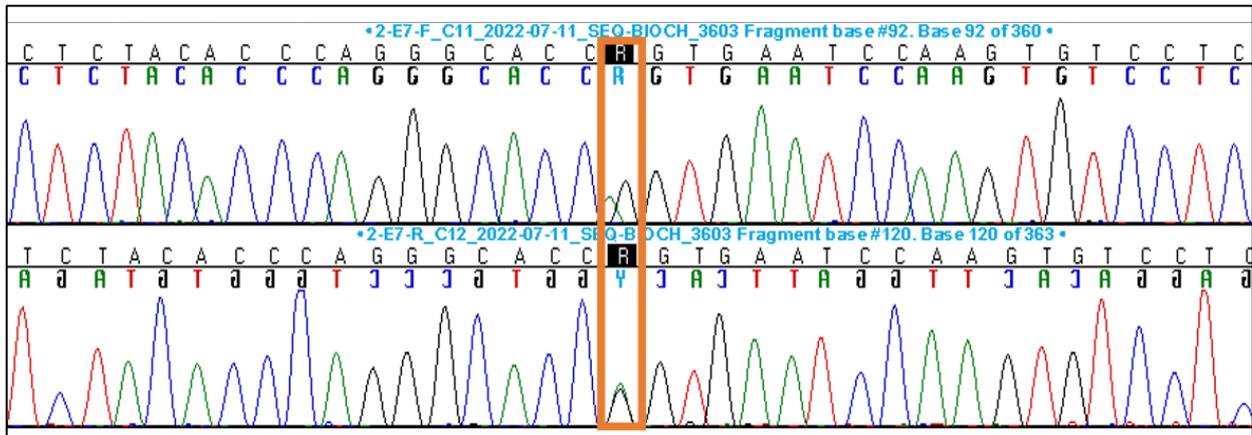


Figure 24 - Variation hétérozygote p.Gly26Ser non pathologique sur l'exon 2 du patient 7

De façon intéressante, le patient 64, illustré ci-dessous (figure 25), est le seul parmi les 24 patients porteurs de la variation p.Gly26Ser à être porteur homozygote de cette variation. En effet, comme la figure 24 le montre et par opposition à la figure 25, nous pouvons voir que le patient n'est porteur que de l'allèle A. Ce point sera discuté plus amplement dans la discussion.

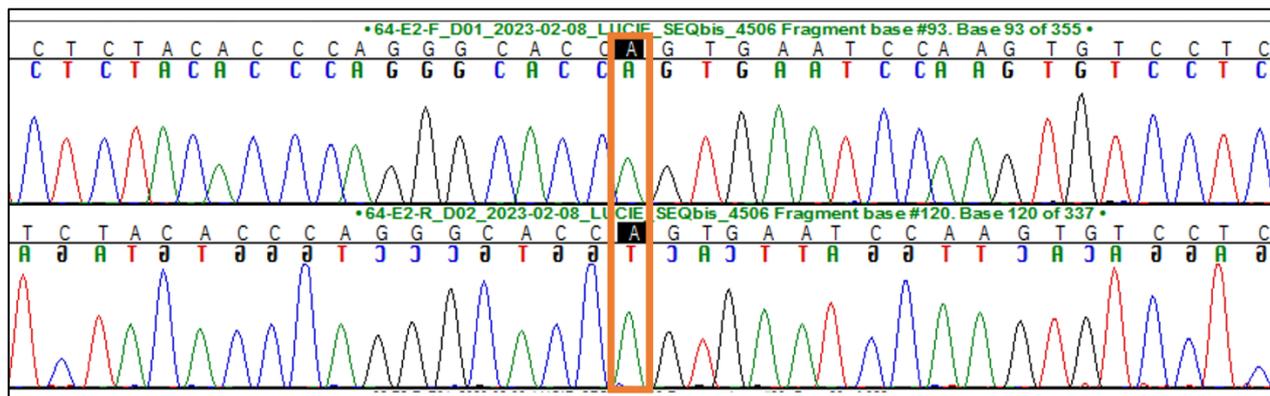


Figure 25 - Variation homozygote p.Gly26Ser du patient 64

Pour conclure, après exclusion des patients 47, 93 et 106 dont les séquences n'ont pu être analysées, parmi les 127 patients de l'étude, nous retrouvons après analyse :

- 3 patients qui présentent la variation pathologique p.Val50Met (c.148G>A) au sein de l'exon 2 du gène *TTR*.
- 23 patients porteurs hétérozygote et 1 patient porteur homozygote de la variation non pathogène p.Gly26Ser (c.76G>A) de l'exon 2 du gène *TTR*,
- 100 patients qui ne présentent pas de variation de séquence pour aucun des exons 1 à 4 du gène *TTR*,

9. Analyse et comparaison des données avec les investigateurs du CHU de Bordeaux

Une fois les analyses des 130 échantillons anonymisés entièrement terminées, les investigateurs du CHU de Bordeaux nous ont en premier lieu fait parvenir un tableau récapitulatif des différentes remarques sur la qualité macroscopique des échantillons avant leur envoi au CHU de Limoges pour analyse. Ce tableau, en annexe 6, nous a permis d'établir des comparaisons entre l'aspect macroscopique et les éventuelles remarques concernant les échantillons après prélèvement et la qualité de l'extraction obtenue après réception de ceux-ci.

La majeure partie des remarques fait état de présence de sang dans les échantillons salivaires, notamment en raison de la réalisation d'une BGSA en amont du prélèvement. Enfin, pour le patient 49, il est décrit une « quantité minimale » de prélèvement. Après comparaison, les échantillons mentionnés comme sanglants n'ont pas abouti à une extraction de moins bonne qualité, ce facteur ne semble pas avoir d'impact sur l'extraction d'ADN salivaire.

Cependant, il convient de mentionner que la majorité des échantillons ont été prélevés il y a plusieurs années et que leur conservation n'a peut-être pas été optimale. Ce facteur est peut-être plus discriminant pour la suite des manipulations que la présence de sang.

Ils nous ont ensuite fait parvenir un tableau regroupant les antécédents, différents signes cliniques et biologiques, les traitements et scores d'évaluation des 130 patients de l'étude, tels que l'état nutritionnel, la pression artérielle, l'existence ou non d'un SCC, le score de NIS et le diagnostic principal établi. Ce tableau riche en informations cliniques constitue le travail de thèse d'un interne du CHU de Bordeaux.

Il est donc possible d'analyser le tableau clinique des patients 6, 98 et 112, les trois patients souffrant d'hATTR dans notre étude.

Le patient 6 est un homme de 58 ans, qui ne présente pas d'antécédent ou d'anomalie biologique. Les premiers symptômes neurologiques sont apparus début 2017 à type de neuropathie mixte sensitivo-motrice, symétrique, longueur-dépendante, le diagnostic d'hATTR a été posé fin 2018. Il souffre également d'une dysautonomie, notamment d'une hypotension orthostatique. Son score de NIS est à 21/180 et son score ONLS est à 2/12, essentiellement lié à une atteinte des membres inférieurs (marche sans aide avec démarche anormale).

Le patient 98 est un homme de 78 ans présentant, dans ses antécédents personnels, un syndrome d'apnée du sommeil et un reflux gastro-œsophagien. Les premiers symptômes sont apparus en janvier 2019 et le diagnostic d'amylose à TTR mutée posé début 2021, il présente une neuropathie mixte symétrique, longueur-dépendante. Le patient souffre également d'une dysautonomie avec hypotension orthostatique. Son score de NIS est de 89/180 et son score ONLS est à 3/12, témoignant d'une invalidité légère essentiellement liée à une atteinte des membres inférieurs et la nécessité d'une aide pour la marche.

Le patient 112, une femme de 76 ans, a des antécédents personnels de lymphome non hodgkinien (1997), un SCC opéré (2006) de néoplasie mammaire traitée (2008), et un bloc atrio-ventriculaire complet traité par pacemaker. Ses premiers symptômes de neuropathie sont apparus en 2016 et le diagnostic d'hATTR date de 2021. Elle souffre d'une neuropathie mixte sensitivo-motrice, Son score NIS est à 21/180, son score ONLS est de 4/12 avec une atteinte à la fois des membres supérieurs et inférieurs, témoignant de symptômes modérés affectant mais n'empêchant pas les actions et d'une marche seul possible associé à une démarche anormale.

Les symptômes retrouvés pour nos trois patients sont aspécifiques et la clinique seule n'est pas suffisante pour déterminer l'étiologie des neuropathies périphériques. Ainsi, l'importance de diagnostiquer les patients au plus tôt et de leur proposer un dépistage systématique de variation sur le gène *TTR* semble réel afin de leur permettre d'accéder à un traitement efficace le plus rapidement possible, mais présente également un enjeu pour les apparentés pouvant être porteur d'une variation pathogène de *TTR* sans encore présenter de symptômes.

Discussion

Dans un premier temps, les expérimentations réalisées sur les 130 patients de cette étude démontrent qu'il est possible de séquencer avec autant de réussite et de facilité de l'ADN extrait à partir d'échantillons salivaires comparativement aux échantillons sanguins. En effet, seulement trois patients n'ont pas pu être analysés. Même en cas de faible qualité d'extraction, nous avons pu obtenir des séquences pour les 4 exons et les analyser sans encombre.

Les prélèvements salivaires possèdent les avantages non négligeables d'être non invasifs, faciles à collecter pour les médecins, au décours d'une consultation par exemple. Le diagnostic génétique pouvant s'étendre aux apparentés de patients diagnostiqués d'hATTR, il est également plus pratique et moins invasif de leur demander un prélèvement salivaire. Enfin, la salive a une demi-vie plus longue que le sang et peut être stockée pendant plusieurs années et envoyée à température ambiante, contrairement au sang qui, même s'il est transportable à température ambiante doit être acheminé dans un délai restreint de six jours pour garantir une bonne qualité de l'ADN puis stocké à -20°C pour être préservé, ce qui présente un impact sur le coût non négligeable.⁹⁰

Il convient de remarquer que le volume théorique de salive requis pour le protocole d'extraction d'ADN salivaire est de 4 mL, ce qui n'est pas une quantité négligeable et peut demander une dizaine de minutes pour le recueil du prélèvement, contrairement à un prélèvement sanguin réalisable en quelques minutes par un personnel habilité.

La collecte de salive peut présenter des limites, telle la présence d'un excès de protéines dans l'échantillon qui peut être le signe d'une infection sous-jacente, corrigée par les étapes de lavage et de centrifugation successives lors de l'extraction⁹¹ et la présence de contaminants étrangers, qui doit être minimisé au stade de la collecte au moyen de conditions pré-analytiques strictes. En effet, le prélèvement salivaire doit être réalisé 30 minutes après la dernière prise de boissons, d'aliments, de cigarette, d'un brossage des dents ou d'un rinçage bucco-dentaire. Plusieurs extractions d'ADN à partir des échantillons salivaires inclus dans notre étude étaient de faible qualité, nous pouvons nous interroger sur le respect de ces conditions préalables pour les échantillons de certains patients. De plus, les investigateurs du CHU de Bordeaux ont relevé la présence de sang dans un certain nombre des prélèvements réalisés car ils ont été réalisés en concomitance avec la BGSA, ce facteur ne semble cependant pas avoir impacté l'extraction d'ADN salivaire. Il est à noter qu'une majorité des échantillons salivaires ont été collectés plus de deux années précédant leur analyse génétique. De nombreux échantillons présentaient un volume minime voire infime, notamment pour le patient 47, qui n'était pas mentionné dans le tableau récapitulatif réalisé par les investigateurs bordelais lors de la collecte. La question de la conservation des échantillons (peut-être une mauvaise étanchéité des bouchons) est donc à soulever et à prendre en considération, en plus du respect des conditions pré-analytiques pour lequel nous n'avons aucune information.

Mais est-il utile de tester tous les patients présentant une neuropathie idiopathique ? Nos résultats sur cette cohorte de 130 patients semblent le confirmer.

Notre cohorte de 130 individus comprend 3 patients porteurs de la variation pathogène p.Val50Met, ce qui correspond à 2.3% des patients de l'étude et équivaut à 1,15% des allèles. D'après la base de données « gnomAD », la fréquence de l'allèle muté pour la même variation pathogène est de 0,0103% dans la population générale mondiale. Notre cohorte étant

constituée de patients souffrant d'une neuropathie périphérique idiopathique, il n'est pas étonnant que la fréquence retrouvée de l'allèle muté soit supérieure à celle de la population générale.

De plus, la fréquence des patients présentant un tableau neurologique diagnostiqués comme présentant une variation pathogène du gène *TTR* dans la pratique courante au CHU de Limoges est d'environ 2,5%. Cette fréquence se rapproche de celle de notre cohorte.

Les symptômes retrouvés pour nos trois patients souffrant d'amylose à *TTR* mutée sont peu spécifiques et sont présents chez la majorité des 130 patients de l'étude. Il est constaté pour nos trois patients, un temps d'errance diagnostique allant de moins de deux ans à cinq ans, de plus l'atteinte fonctionnelle engendrée par cette pathologie est réelle, variable d'un patient à l'autre et peut être très sévère voire fatale.

Ainsi, pour des patients souffrant d'une neuropathie périphérique, souvent depuis un certain nombre d'années, sans étiologie retrouvée, poser le diagnostic d'hATTR permet de mettre fin à l'errance diagnostique et d'instaurer un traitement. L'essor des différentes thérapies, dont les plus récentes basées sur l'ADN ou l'ARN, représentent des traitements efficaces pour les patients atteints de polyneuropathie amyloïde familiale, ne fait qu'accroître l'intérêt d'un dépistage précoce. Sachant que cette pathologie est *in fine* sévère, la présence d'un diagnostic est positive pour le patient et permet une amélioration de la prise en charge et du pronostic. De plus, les apparentés des patients diagnostiqués peuvent eux aussi bénéficier d'un dépistage précoce, permettant une prise en charge anticipée de la maladie avant la progression des symptômes.

Toutes ces raisons corroborent l'intérêt de rendre ce dépistage systématique chez les patients atteints d'une neuropathie idiopathique, dès le début des symptômes.

Parmi les 130 patients composant la cohorte du CHU de Bordeaux, nous avons mis en lumière vingt-quatre patients porteurs du polymorphisme p.Gly26Ser sur l'exon 2 et trois patients porteurs de la variation pathogénique p.Val50Met, il s'agit de la variation la plus souvent rencontrée dans les polyneuropathies amyloïdes familiales permettant d'établir le diagnostic d'ATTR.⁹²

Le polymorphisme p.Gly26Ser a été retrouvé dans 18,9% des patients de notre cohorte, ce qui représente 9,45% des allèles. Nous nous sommes donc interrogés sur la fréquence de cette variation dans la cohorte de patients atteints de neuropathie par rapport à la population générale. Sur la base de données « Ensembl », on retrouve une fréquence mondiale de cette variation à 2,3% des allèles, mais elle est de 7,9% dans la population Européenne, ce qui est accord avec la fréquence dans la population de notre étude. De façon intéressante, pour le patient 64, il a été détecté un polymorphisme p.Gly26Ser à l'état homozygote. Lorsqu'une variation est détectée à l'état homozygote par séquençage Sanger, il est toujours possible qu'il soit en réalité sur un seul allèle et qu'une délétion de tout ou partie du gène soit présente sur l'autre allèle. Nous avons testé cette hypothèse en séquençant le gène *TTR* de ce patient selon la méthode du NGS qui est utilisée en routine dans notre laboratoire pour pouvoir étudier les CNV (copy number variation) et aucune délétion n'a été retrouvée sur le gène *TTR* chez ce patient. Le patient 64 est donc porteur homozygote du polymorphisme.

En raison de l'essor des thérapeutiques et de l'enjeu majeur que cela peut représenter pour les apparentés et leur entrée précoce dans un parcours de soin adapté, réaliser un dépistage systématique de variations du gène *TTR* chez des patients présentant des signes d'appels neurologiques semble pertinent. Cependant, le pourcentage de patients positifs dans notre cohorte se rapproche de celui retrouvé en analyse de routine au CHU de Limoges dans la pratique courante.

Ainsi, l'inclusion du gène *TTR* à un panel NGS de gènes impliqués dans les neuropathies paraît être une solution pertinente et est déjà existant au CHU de Limoges. Un panel regroupant les différents gènes impliqués dans les amyloses héréditaires n'existe pas à ce jour mais pourrait également être utile dans des centres spécialisés en incluant les gènes *TTR*, *GSN*, *APOA1* et *B2M*.

Conclusion

Cette étude en collaboration avec le CHU de Bordeaux impliquant une cohorte de 130 patients souffrant d'une neuropathie périphérique idiopathique nous a permis de conclure sur plusieurs points.

Dans un premier temps, la méthode d'extraction d'ADN à partir d'échantillons salivaires après mise au point est très satisfaisante. Si les conditions pré-analytiques sont respectées, la conservation des échantillons salivaires et leurs conditions de stockage sont moins contraignantes qu'à partir de sang total. De plus, l'ADN salivaire obtenu après extraction est de qualité comparable à celle obtenue après extraction d'ADN sur sang total. Il convient de mentionner également que la méthode de prélèvement salivaire est moins invasive qu'un prélèvement sanguin. Enfin, le séquençage Sanger a été effectué avec succès pour 127 des 130 échantillons, ce qui représente 97,7% de réussite.

Dans un second temps, trois patients parmi les 127 ont été diagnostiqués positifs, ce qui représente 2,4% de la cohorte. Ces mêmes patients présentent un tableau clinique qui ne permettait pas de prédire leur diagnostic d'hATTR par rapport aux autres patients en raison de symptômes aspécifiques en lien avec de nombreuses pathologies.

En pratique courante, cela montre que plus de 2 patients sur 100 vont pouvoir bénéficier d'un traitement et leurs apparentés d'un conseil génétique avec prise en charge précoce si nécessaire.

Pour conclure, en raison de la sévérité de l'atteinte fonctionnelle, du possible caractère fatal de l'amylose à transthyrétine mutée et du progrès récent des thérapeutiques spécifiques de cette pathologie, il existe un intérêt majeur à dépister systématiquement chaque patient présentant une neuropathie périphérique idiopathique, à la fois pour lui permettre un accès aux soins, mais également pour un diagnostic et un traitement précoce de ses apparentés.

Références bibliographiques

1. Siao P, Kaku M. A Clinician's Approach to Peripheral Neuropathy. *Semin Neurol*. 2019;39(05):519-530. doi:10.1055/s-0039-1694747
2. Castelli G, Desai KM, Cantone RE. Peripheral Neuropathy: Evaluation and Differential Diagnosis. *Peripheral neuropathy*. 2020;102(12).
3. England JD, Asbury AK. Peripheral neuropathy. *The Lancet*. 2004;363(9427):2151-2161. doi:10.1016/S0140-6736(04)16508-2
4. Collège des enseignants de neurologie, ed. *Neurologie: réussir son DFASM*. 6e éd. Elsevier Masson; 2021.
5. Barrell K, Smith AG. Peripheral Neuropathy. *Medical Clinics of North America*. 2019;103(2):383-397. doi:10.1016/j.mcna.2018.10.006
6. Nold CS, Nozaki K. Peripheral neuropathy: Clinical pearls for making the diagnosis. *JAAPA*. 2020;33(1):9-15. doi:10.1097/01.JAA.0000615460.45150.e0
7. Doughty CT, Seyedsadjadi R. Approach to Peripheral Neuropathy for the Primary Care Clinician. *The American Journal of Medicine*. 2018;131(9):1010-1016. doi:10.1016/j.amjmed.2017.12.042
8. Tesfaye S, Selvarajah D. Advances in the epidemiology, pathogenesis and management of diabetic peripheral neuropathy: Advances in Epidemiology, Pathogenesis and Management of DPN. *Diabetes Metab Res Rev*. 2012;28:8-14. doi:10.1002/dmrr.2239
9. Callaghan BC, Price RS, Feldman EL. Distal Symmetric Polyneuropathy: A Review. *JAMA*. 2015;314(20):2172. doi:10.1001/jama.2015.13611
10. Reilly MM, Murphy SM, Laurá M. Charcot-Marie-Tooth disease. *Journal of the Peripheral Nervous System*. 2011;16(1):1-14. doi:10.1111/j.1529-8027.2011.00324.x
11. Adams D, Koike H, Slama M, Coelho T. Hereditary transthyretin amyloidosis: a model of medical progress for a fatal disease. *Nat Rev Neurol*. 2019;15(7):387-404. doi:10.1038/s41582-019-0210-4
12. Hazenberg BPC. Amyloidosis. *Rheumatic Disease Clinics of North America*. 2013;39(2):323-345. doi:10.1016/j.rdc.2013.02.012
13. Benson MD, Buxbaum JN, Eisenberg DS, et al. Amyloid nomenclature 2018: recommendations by the International Society of Amyloidosis (ISA) nomenclature committee. *Amyloid*. 2018;25(4):215-219. doi:10.1080/13506129.2018.1549825
14. Picken MM. The Pathology of Amyloidosis in Classification: A Review. *Acta Haematol*. 2020;143(4):322-334. doi:10.1159/000506696
15. Magy-Bertrand N. Les amyloses à transthyréine. *La Revue de Médecine Interne*. 2007;28(5):306-313. doi:10.1016/j.revmed.2007.01.004
16. Cohen AS, Wegelius O. Classification of amyloid: 1979-1980. *Arthritis & Rheumatism*. 1980;23(6):644-645. doi:10.1002/art.1780230606
17. Muchtar E, Dispenzieri A, Magen H, et al. Systemic amyloidosis from A (AA) to T (ATTR): a review. *J Intern Med*. 2021;289(3):268-292. doi:10.1111/joim.13169

18. Eicher JC, Audia S, Damy T. L'amylose cardiaque à transthyrétine. *La Revue de Médecine Interne*. 2020;41(10):673-683. doi:10.1016/j.revmed.2020.07.002
19. Pepys MB, Rademacher TW, Amatayakul-Chantler S, et al. Human serum amyloid P component is an invariant constituent of amyloid deposits and has a uniquely homogeneous glycostructure. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1994;91(12):5602-5606. doi:10.1073/pnas.91.12.5602
20. Giampaolo M, Vittorio B. Molecular Mechanisms of Amyloidosis. *The New England Journal of Medicine*. Published online 2003:14.
21. Benson MD, Buxbaum JN, Eisenberg DS, et al. Amyloid nomenclature 2020: update and recommendations by the International Society of Amyloidosis (ISA) nomenclature committee. *Amyloid*. 2020;27(4):217-222. doi:10.1080/13506129.2020.1835263
22. Dogan A. Amyloidosis: Insights from Proteomics. *Annu Rev Pathol Mech Dis*. 2017;12(1):277-304. doi:10.1146/annurev-pathol-052016-100200
23. Bellotti V, Nuvolone M, Giorgetti S, et al. The workings of the amyloid diseases. *Annals of Medicine*. 2007;39(3):200-207. doi:10.1080/07853890701206887
24. Obici L, Perfetti V, Palladini G, Moratti R, Merlini G. Clinical aspects of systemic amyloid diseases. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Proteins and Proteomics*. 2005;1753(1):11-22. doi:10.1016/j.bbapap.2005.08.014
25. Pepys MB. Immunotherapeutic clearance of systemic amyloid deposits by antibodies to serum amyloid P component. *Amyloid*. 2017;24(sup1):5-6. doi:10.1080/13506129.2016.1269735
26. Dovidchenko NV, Leonova EI, Galzitskaya OV. Mechanisms of amyloid fibril formation. *Biochemistry Moscow*. 2014;79(13):1515-1527. doi:10.1134/S0006297914130057
27. Palladini G, Merlini G. Systemic amyloidoses: What an internist should know. *European Journal of Internal Medicine*. 2013;24(8):729-739. doi:10.1016/j.ejim.2013.10.007
28. Revesz T, Holton JL, Lashley T, et al. Sporadic and Familial Cerebral Amyloid Angiopathies. *Brain Pathology*. 2006;12(3):343-357. doi:10.1111/j.1750-3639.2002.tb00449.x
29. Stojanovic KS, Georgin-Lavialle S, Gateau G. Amylose AA. *Néphrologie & Thérapeutique*. 2017;13(4):258-264. doi:10.1016/j.nephro.2017.03.001
30. Blank N, Hegenbart U, Dietrich S, et al. Obesity is a significant susceptibility factor for idiopathic AA amyloidosis. *Amyloid*. 2018;25(1):37-45. doi:10.1080/13506129.2018.1429391
31. Brunger AF, Nienhuis HLA, Bijzet J, Hazenberg BPC. Causes of AA amyloidosis: a systematic review. *Amyloid*. 2020;27(1):1-12. doi:10.1080/13506129.2019.1693359
32. Desport E, Bridoux F, Sirac C, et al. AL Amyloidosis. *Orphanet J Rare Dis*. 2012;7(1):54. doi:10.1186/1750-1172-7-54
33. Falk RH, Alexander KM, Liao R, Dorbala S. AL (Light-Chain) Cardiac Amyloidosis. *Journal of the American College of Cardiology*. 2016;68(12):1323-1341. doi:10.1016/j.jacc.2016.06.053

34. Gertz MA. Immunoglobulin light chain amyloidosis: 2020 update on diagnosis, prognosis, and treatment. *Am J Hematol.* 2020;95(7):848-860. doi:10.1002/ajh.25819
35. Stoppini M, Bellotti V. Systemic Amyloidosis: Lessons from β 2-Microglobulin. *Journal of Biological Chemistry.* 2015;290(16):9951-9958. doi:10.1074/jbc.R115.639799
36. Portales-Castillo I, Yee J, Tanaka H, Fenves AZ. Beta-2 Microglobulin Amyloidosis: Past, Present, and Future. *Kidney360.* 2020;1(12):1447-1455. doi:10.34067/KID.0004922020
37. Benson MD, James S, Scott K, Liepnieks JJ, Kluve-Beckerman B. Leukocyte chemotactic factor 2: A novel renal amyloid protein. *Kidney International.* 2008;74(2):218-222. doi:10.1038/ki.2008.152
38. Mann BK, Bhandohal JS, Cobos E, Chitturi C, Eppanapally S. LECT-2 Amyloidosis: What do we Know? *Journal of Investigative Medicine.* 2022;70(2):348-353. doi:10.1136/jim-2021-002149
39. Dasari S, Amin MdS, Kurtin PJ, et al. Clinical, biopsy, and mass spectrometry characteristics of renal apolipoprotein A-IV amyloidosis. *Kidney International.* 2016;90(3):658-664. doi:10.1016/j.kint.2016.04.003
40. Lachmann H, Hawkins P. Systemic amyloidosis. *Current Opinion in Pharmacology.* 2006;6(2):214-220. doi:10.1016/j.coph.2005.10.005
41. Planté-Bordeneuve V, Said G. Familial amyloid polyneuropathy. *The Lancet Neurology.* 2011;10(12):1086-1097. doi:10.1016/S1474-4422(11)70246-0
42. Meretoja J. Familial systemic paramyloidosis with lattice dystrophy of the cornea, progressive cranial neuropathy, skin changes and various internal symptoms. A previously unrecognized heritable syndrome. *Ann Clin Res.* 1969;1(4):314-324.
43. Kiuru-Enari S, Haltia M. Hereditary gelsolin amyloidosis. In: *Handbook of Clinical Neurology.* Vol 115. Elsevier; 2013:659-681. doi:10.1016/B978-0-444-52902-2.00039-4
44. Potrč M, Volk M, De Rosa M, et al. Clinical and Histopathological Features of Gelsolin Amyloidosis Associated with a Novel GSN Variant p.Glu580Lys. *IJMS.* 2021;22(3):1084. doi:10.3390/ijms22031084
45. Minnella AM, Rissotto R, Antoniazzi E, et al. Ocular Involvement in Hereditary Amyloidosis. *Genes.* 2021;12(7):955. doi:10.3390/genes12070955
46. Benson MD, Liepnieks JJ, Yazaki M, et al. A New Human Hereditary Amyloidosis: The Result of a Stop-Codon Mutation in the Apolipoprotein All Gene. *Genomics.* 2001;72(3):272-277. doi:10.1006/geno.2000.6499
47. Yazaki M, Liepnieks JJ, Barats MS, Cohen AH, Benson MD. Hereditary systemic amyloidosis associated with a new apolipoprotein All stop codon mutation Stop78Arg. *Kidney International.* 2003;64(1):11-16. doi:10.1046/j.1523-1755.2003.00047.x
48. Nasr SH, Dasari S, Hasadsri L, et al. Novel Type of Renal Amyloidosis Derived from Apolipoprotein-CII. *JASN.* 2017;28(2):439-445. doi:10.1681/ASN.2015111228
49. Sethi S, Dasari S, Plaisier E, et al. Apolipoprotein CII Amyloidosis Associated With p.Lys41Thr Mutation. *Kidney International Reports.* 2018;3(5):1193-1201. doi:10.1016/j.ekir.2018.04.009

50. Valleix S, Verona G, Jourde-Chiche N, et al. D25V apolipoprotein C-III variant causes dominant hereditary systemic amyloidosis and confers cardiovascular protective lipoprotein profile. *Nat Commun*. 2016;7(1):10353. doi:10.1038/ncomms10353
51. Chapman J, Dogan A. Fibrinogen alpha amyloidosis: insights from proteomics. *Expert Review of Proteomics*. 2019;16(9):783-793. doi:10.1080/14789450.2019.1659137
52. Uemichi T, Liepnieks JJ, Benson MD. Hereditary renal amyloidosis with a novel variant fibrinogen. *J Clin Invest*. 1994;93(2):731-736. doi:10.1172/JCI117027
53. Dasari S, Theis JD, Vrana JA, et al. Amyloid Typing by Mass Spectrometry in Clinical Practice: a Comprehensive Review of 16,175 Samples. *Mayo Clinic Proceedings*. 2020;95(9):1852-1864. doi:10.1016/j.mayocp.2020.06.029
54. Stangou AJ, Banner NR, Hendry BM, et al. Hereditary fibrinogen A α -chain amyloidosis: phenotypic characterization of a systemic disease and the role of liver transplantation. *Blood*. 2010;115(15):2998-3007. doi:10.1182/blood-2009-06-223792
55. Sattianayagam PT, Gibbs SDJ, Rowczenio D, et al. Hereditary lysozyme amyloidosis - phenotypic heterogeneity and the role of solid organ transplantation: Hereditary lysozyme amyloidosis. *Journal of Internal Medicine*. 2012;272(1):36-44. doi:10.1111/j.1365-2796.2011.02470.x
56. Valleix S, Gillmore JD, Bridoux F, et al. Hereditary Systemic Amyloidosis Due to Asp76Asn Variant β_2 -Microglobulin. *N Engl J Med*. 2012;366(24):2276-2283. doi:10.1056/NEJMoa1201356
57. Porcari A. Transthyretin cardiac amyloidosis.
58. Damy T, Kristen AV, Suhr OB, et al. Transthyretin cardiac amyloidosis in continental Western Europe: an insight through the Transthyretin Amyloidosis Outcomes Survey (THAOS). *European Heart Journal*. 2022;43(5):391-400. doi:10.1093/eurheartj/ehz173
59. Ruberg FL, Berk JL. Transthyretin (TTR) Cardiac Amyloidosis. *Circulation*. 2012;126(10):1286-1300. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.111.078915
60. Westermark P, Sletten K, Johansson B, Cornwell GG. Fibril in senile systemic amyloidosis is derived from normal transthyretin. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1990;87(7):2843-2845. doi:10.1073/pnas.87.7.2843
61. Gorevic PD, Prelli FC, Wright J, Pras M, Frangione B. Systemic senile amyloidosis. Identification of a new prealbumin (transthyretin) variant in cardiac tissue: immunologic and biochemical similarity to one form of familial amyloidotic polyneuropathy. *J Clin Invest*. 1989;83(3):836-843. doi:10.1172/JCI113966
62. Andrade C. A peculiar form of peripheral neuropathy: familiar atypical generalized amyloidosis with special involvement of the peripheral nerves. *Brain*. 1952;75(3):408-427. doi:10.1093/brain/75.3.408
63. Araki S, Mawatari S, Ohta M, Nakajima A, Kuroiwa Y. Polyneuritic Amyloidosis in a Japanese Family. *Archives of Neurology*. 1968;18(6):593-602. doi:10.1001/archneur.1968.00470360015001
64. Andersson R. Familial amyloidosis with polyneuropathy. A clinical study based on patients living in northern Sweden. *Acta Med Scand Suppl*. 1976;590:1-64.

65. Kanda Y, Goodman DS, Canfield RE, Morgan FJ. The Amino Acid Sequence of Human Plasma Prealbumin. *Journal of Biological Chemistry*. 1974;249(21):6796-6805. doi:10.1016/S0021-9258(19)42128-5
66. Saraiva MJM, Birken S, Costa PP, Goodman DS. Transthyretin (Prealbumin). :16.
67. Schmidt HH, Waddington-Cruz M, Botteman MF, et al. Estimating the global prevalence of transthyretin familial amyloid polyneuropathy: ATTR-FAP Global Prevalence. *Muscle Nerve*. 2018;57(5):829-837. doi:10.1002/mus.26034
68. Inês M, Coelho T, Conceição I, Duarte-Ramos F, de Carvalho M, Costa J. Epidemiology of Transthyretin Familial Amyloid Polyneuropathy in Portugal: A Nationwide Study. *Neuroepidemiology*. 2018;51(3-4):177-182. doi:10.1159/000490553
69. Hiroyuki S, Naoko Y, Yasuyuki T, Yoshiyuki S. Structure of the chromosomal gene for human serum prealbumin. *Gene*. 1985;37(1-3):191-197. doi:10.1016/0378-1119(85)90272-0
70. Uemichi T, Liepnieks JJ, Benson MD. A trinucleotide deletion in the transthyretin gene (AV122) in a kindred with familial amyloidotic polyneuropathy. *Neurology*. 1997;48(6):1667-1670. doi:10.1212/WNL.48.6.1667
71. Klimtchuk ES, Prokaeva T, Frame NM, et al. Unusual duplication mutation in a surface loop of human transthyretin leads to an aggressive drug-resistant amyloid disease. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2018;115(28). doi:10.1073/pnas.1802977115
72. Carroll A, Dyck PJ, De Carvalho M, et al. Novel approaches to diagnosis and management of hereditary transthyretin amyloidosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2022;93(6):668-678. doi:10.1136/jnnp-2021-327909
73. Robinson LZ, Reixach N. Quantification of Quaternary Structure Stability in Aggregation-Prone Proteins under Physiological Conditions: The Transthyretin Case. *Biochemistry*. 2014;53(41):6496-6510. doi:10.1021/bi500739q
74. Vidal R. Meningocerebrovascular Amyloidosis Associated with a Novel Transthyretin Mis-Sense Mutation at Codon 18 (TTRD18G). 1996;148(2).
75. Petersen RB, Goren H, Cohen M, et al. Transthyretin amyloidosis: A new mutation associated with dementia. *Ann Neurol*. 1997;41(3):307-313. doi:10.1002/ana.410410305
76. Jacobson DR, Buxbaum JN. A double-variant transthyretin allele (SER 6, ILE 33) in the Israeli patient "SKO" with familial amyloidotic polyneuropathy. *Hum Mutat*. 1994;3(3):254-260. doi:10.1002/humu.1380030313
77. Herbert J, Wilcox JN, Pham KTC, et al. Transthyretin: A choroid plexus-specific transport protein in human brain: The 1986 S. Weir Mitchell Award. *Neurology*. 1986;36(7):900-900. doi:10.1212/WNL.36.7.900
78. Dellière S, Cynober L. Is transthyretin a good marker of nutritional status? *Clinical Nutrition*. 2017;36(2):364-370. doi:10.1016/j.clnu.2016.06.004
79. Coutinho P., Martins da Silva A., Lopes Lima J., Resende Barbosa A. *Forty Years of Experience with Type I Amyloid Neuropathy. Review of 483 Cases.* (Glenner G. CP, ed.). Excerpta Medica ; sole distributors for the U.S.A. and Canada, Elsevier/North-Holland; 1980.

80. Koike H. Type I (Transthyretin Met30) Familial Amyloid Polyneuropathy in Japan: Early- vs Late-Onset Form. *Arch Neurol*. 2002;59(11):1771. doi:10.1001/archneur.59.11.1771
81. Conceição I, De Carvalho M. Clinical variability in type I familial amyloid polyneuropathy (Val30Met): Comparison between late- and early-onset cases in Portugal. *Muscle Nerve*. 2007;35(1):116-118. doi:10.1002/mus.20644
82. Kapoor M, Rossor AM, Laura M, Reilly MM. Clinical Presentation, Diagnosis and Treatment of TTR Amyloidosis. *JND*. 2019;6(2):189-199. doi:10.3233/JND-180371
83. Baures PW, Oza VB, Peterson SA. Synthesis and Evaluation of Inhibitors of Transthyretin Amyloid Formation Based on the Non-steroidal Anti-inflammatory Drug, Flufenamic Acid. *Bioorg Med Chem*. Published online 1999:9.
84. Bulawa CE, Connelly S, DeVit M, et al. Tafamidis, a potent and selective transthyretin kinetic stabilizer that inhibits the amyloid cascade. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2012;109(24):9629-9634. doi:10.1073/pnas.1121005109
85. Berk JL, Suhr OB, Obici L, et al. Repurposing Diflunisal for Familial Amyloid Polyneuropathy: A Randomized Clinical Trial. *JAMA*. 2013;310(24):2658. doi:10.1001/jama.2013.283815
86. Azorín SE, Cabib CE, Campistol JM. Diflunisal compassionate use in transthyretin hereditary amyloid polyneuropathy: report of a first Spanish experience. *Amyloid*. 2017;24(sup1):105-106. doi:10.1080/13506129.2017.1291424
87. Sousa L, Coelho T, Taipa R. CNS Involvement in Hereditary Transthyretin Amyloidosis. *Neurology*. 2021;97(24):1111-1119. doi:10.1212/WNL.0000000000012965
88. Gillmore JD, Gane E, Taubel J, et al. CRISPR-Cas9 In Vivo Gene Editing for Transthyretin Amyloidosis. *N Engl J Med*. 2021;385(6):493-502. doi:10.1056/NEJMoa2107454
89. Li T, Yang Y, Qi H, et al. CRISPR/Cas9 therapeutics: progress and prospects. *Sig Transduct Target Ther*. 2023;8(1):36. doi:10.1038/s41392-023-01309-7
90. Quinque D, Kittler R, Kayser M, Stoneking M, Nasidze I. Evaluation of saliva as a source of human DNA for population and association studies. *Analytical Biochemistry*. 2006;353(2):272-277. doi:10.1016/j.ab.2006.03.021
91. Goode MR, Cheong SY, Li N, Ray WC, Bartlett CW. Collection and Extraction of Saliva DNA for Next Generation Sequencing. *JoVE*. 2014;(90):51697. doi:10.3791/51697
92. Damy T, Kristen AV, Suhr OB, et al. Transthyretin cardiac amyloidosis in continental Western Europe: an insight through the Transthyretin Amyloidosis Outcomes Survey (THAOS). *European Heart Journal*. 2022;43(5):391-400. doi:10.1093/eurheartj/ehz173

Annexes

Annexe 1 : Tableau récapitulatif des amyloses systémiques et localisées	94
Annexe 2 : Score NIS (Neuropathy Impairment Score)	96
Annexe 3 : Score ONLS (Overall Neuropathy Limitation Scale), issu du site de la HAS.....	97
Annexe 4 : Séquences de référence des exons 1 à 4 du gène <i>TTR</i>	98
Annexe 5 : Tableau récapitulatif des extractions d'ADN salivaire des 130 échantillons (en rouge, ceux dont la quantité ou la qualité de l'ADN extrait est amoindrie).....	99
Annexe 6 : Tableau récapitulatif des qualités macroscopiques des 130 échantillons salivaires avant envoi au CHU de Limoges.....	103

Annexe 1 : Tableau récapitulatif des amyloses systémiques et localisées

Nomenclature	Précurseur protéique	Systémique (S) ou localisée (L)	Acquise (A) ou héréditaire (H)	Organes atteints
<i>AA</i>	Protéine sérique amyloïde A	S	A	Tous, exceptés les SNC et SNP
<i>AL</i>	Chaîne légère (L) d'immunoglobulines monoclonale	S/L	A/H	Tous, excepté le SNC
<i>AH</i>	Chaîne lourde (H) d'immunoglobulines monoclonale	S/L	A	Tous, excepté le SNC
<i>ATTR</i>	Transthyrétine sauvage	S	A	Cœur, chez les hommes, poumons, ligaments
	Transthyrétine mutée	S	H	SNP, SNA, cœur, œil, leptoméninges
<i>Aβ2M</i>	β ₂ -microglobuline sauvage	S	A	Système musculosquelettique
	β ₂ -microglobuline mutée	S	H	SNA
<i>AApoA1</i>	Apolipoprotéine mutée A-I	S	H	Cœur, foie, rein, SNP, testicules
<i>AApoAII</i>	Apolipoprotéine mutée A-II	S	H	Rein
<i>AApoAIV</i>	Apolipoprotéine A-IV sauvage	S	A	Médullaire rénale
<i>AApoCII</i>	Apolipoprotéine mutée C-II	S	H	Rein
<i>AApoCIII</i>	Apolipoprotéine mutée C-III	S	H	Rein
<i>AFib</i>	Chaîne α du fibrinogène mutée	S	H	Reins
<i>AGel</i>	Gelsoline mutée	S	H	Cornée, SNP
<i>ALys</i>	Lysozyme muté	S	H	Reins
<i>ALECT2</i>	Facteur chimiotactique leucocytaire 2	S	A	Reins
<i>ACys</i>	Cystatine C mutée	S	H	SNC, SNP, peau
<i>ABri</i>	ABri PP muté	S	H	SNC
<i>ADan</i>	ADan PP muté	L	H	SNC
<i>Aβ</i>	Aβ sauvage	L	A	SNC

	Aβ mutée	L	H	SNC
<i>AαSyn</i>	A-synucléine	L	A	SNC
<i>ATau</i>	Tau	L	A	SNC
<i>APrP</i>	Prion sauvage	L	A	Maladie de Creutzfeldt-Jakob (MCJ), l'insomnie fatale familiale (IFF)
	Prion muté	L	H	MCJ, IFF, syndrome de Gerstmann-Straüssler-Scheinker (GSS)
	Prion muté	S	H	SNP
<i>ACal</i>	Procalcitonine	L	A	Tumeur thyroïdienne de la cellule C
	Procalcitonine	S	A	Reins
<i>AIAPP</i>	Amyline	L	A	Îlots de Langherans, insulinome
<i>AANF</i>	Facteur natriurétique auriculaire	L	A	Cœur (atrium)
<i>APro</i>	Prolactine	L	A	Prolactinome
<i>AIns</i>	Insuline	L	A	Iatrogène (injections)
<i>ASPC</i>	Protéines du surfactant pulmonaire	L	A	Poumons
<i>ACor</i>	Cornéodesmosine	L	A	Épithélium cornéen, follicule pileux
<i>AMed</i>	Lactadhérine	L	A	Aorte (média)
<i>AKer</i>	Kérato-épthéline	L	A	Cornée
<i>ALac</i>	Lactoferrine	L	A	Cornée
<i>AOAAP</i>	Protéine odontogénique associée à l'améloblaste	L	A	Tumeurs odontogènes
<i>ASem</i>	Séménogéline 1	L	A	Vésicule séminale
<i>AEnf</i>	Enfuvirtide	L	A	Iatrogène
<i>ACatK</i>	Cathepsine K	L	A	Tumeurs
<i>AEFEMP1</i>	Protéine 1 de la matrice extracellulaire de type fibuline contenant de l'EGF (EFEMP1)	L	A	Veine porte

Annexe 2 : Score NIS (Neuropathy Impairment Score)

Sensibilité : XXX/32

TOTAL = moteur MS/72 + moteur MI/64 + ROT/20 + sensibilité/30 = XXX/180

	Droite								Gauche							
MRC	5	4+	4	4-	3	2	1	0	5	4+	4	4-	3	2	1	0
NIS	0	1	2	3	3.2 5	3.5	3.7 5	4	0	1	2	3	3.2 5	3.5	3.7 5	4
Deltoïde																
Biceps																
Triceps																
Lg supinateur																
Extenseur poignet																
Fléchisseur poignet																
Extenseur doigts																
Fléchisseur doigts																
CAP																
Psoas																
Grand fessier																
Ischio-jambier																
Quadriceps																
Jambier antérieur																
Triceps sural																
Releveur gros orteil																
Extenseur gros orteil																

	Droite			Gauche		
ROT	Présent 0	Diminué 1	Aboli 2	Présent 0	Diminué 1	Aboli 2
Tricipital						
Bicipital						
Stylo radial						
Rotulien						
Achilléen						

	Droite			Gauche		
Sensibilité	Normal 0	Diminué 1	Absent 2	Normal 0	Diminué 1	Absent 2
Tact index						
Piqure index						
Pallesthésie index						
Sens de position index						
Tact hallux						
Piqure hallux						
Pallesthésie hallux						
Sens de position hallux						

Annexe 3 : Score ONLS (Overall Neuropathy Limitation Scale), issu du site de la HAS

Score des membres supérieurs	Non affecté	Affecté mais possible	Impossible
▪ Habillage du haut (sauf boutons/fermetures éclair)			
▪ Lavage et brossage des cheveux			
▪ Tourner une clé dans une serrure			
▪ Utiliser un couteau et une fourchette (cuillère si le patient n'utilise jamais les autres couverts)			
▪ Faire/défaire boutons et fermetures éclair			

SCORE = /5

Grade Membres Supérieurs :

- 0 = Normal
- 1 = Symptômes mineurs ou signes dans un ou les deux bras n'affectant aucune des fonctions listées
- 2 = Symptômes modérés ou signes dans un ou les des bras affectant mais n'empêchant aucune des fonctions listées
- 3 = Symptômes sévères ou signes dans un ou les deux bras empêchant au moins l'1 des fonctions listées mais pas toutes
- 4 = Symptômes sévères ou signes dans un ou les deux bras empêchant toutes les fonctions listées mais certains mouvements utiles sont possibles
- 5 = Symptômes sévères ou signes dans un ou les deux bras empêchant tous les mouvements utiles

Score des membres inférieurs	Non	Oui	Non applicable
▪ Avez-vous des problèmes pour courir ou monter des escaliers ?			
▪ Avez-vous des problèmes pour marcher ?			
▪ Utilisez-vous une aide à la marche ?			
▪ Comment parcourez-vous habituellement 10 mètres ?			
. Sans aide			
. Avec une canne ou au bras de quelqu'un			
. Avec deux cannes ou une canne et au bras de quelqu'un			
. En fauteuil roulant			
▪ Si vous utilisez un fauteuil roulant, pouvez-vous vous lever et marcher quelques pas avec aide ?			
▪ Si vous êtes confiné au lit la plupart du temps, pouvez-vous faire quelques mouvements utiles ?			

SCORE = /7

Grade Membres Inférieurs :

- 0 = La marche/montée des escaliers/course n'est pas affectée
- 1 = La marche/montée des escaliers/course est affectée mais la démarche n'a pas l'air anormale
- 2 = Marche seul mais la démarche paraît anormale
- 3 = Utilise habituellement une aide unilatérale pour marcher 10 mètres (canne ou bras)
- 4 = Utilise habituellement une aide bilatérale pour marcher 10 mètres (cannes ou deux bras)
- 5 = Utilise habituellement un fauteuil roulant pour parcourir 10 mètres, mais capable de marcher 1 mètre avec de l'aide
- 6 = Confiné au fauteuil, incapable de tenir debout et marcher quelques pas sans aide mais capable de faire quelques mouvements utiles des jambes
- 7 = Confiné au fauteuil ou au lit la plupart du temps, incapable de faire des mouvements utiles des jambes (ex : incapable de positionner ses jambes dans le lit)

SCORE D'INVALIDITE = /12

ONLS = grade membres sup (0-5) + grade membres inf (0-7) ; de 0 (aucune incapacité) à 12 (incapacité maximale)

Annexe 4 : Séquences de référence des exons 1 à 4 du gène *TTR*

Légende :

- Rouge : amorces
- Minuscule : région intronique
- Majuscule : région exonique
 - o Vert : exon codant
 - o Bleu : exon non codant

Exon 1 :

GTCAGATTGGCAGGGATAAGCAGCCTAGCTCAGGAGAAGTGAGTATAAAAGCC
CCAGGCTGGGAGCAGCCATCACAGAAGTCCACTCATTCTTGGCAGGATGGCTT
CTCATCGTCTGCTCCTCCTGCTGCTGGACTGGTATTTGTGTCTGAGGCTG
GCCCTACGgtgagtggttctgtgacatcccattcctacatttaagattcacgctaaatgaagtagaagtgactccttc
cagctttgccaaccagcttttactagggaagggtaccagcatctattttaataataattaattcaaaactcaaaaag
aat**gaagttccactgagcttactg**

Exon 2 :

atcagtggttaattctgtttcgctccagatttctaataccacaaagaataaatccttcactctgatcaatgttgaacttc
tcacgtgtcttctacaccagGGCACCGGTGAATCCAAGTGTCTCTGATGGTCAAAGTT
CTAGATGCTGTCCGAGGCAGTCCTGCCATCAATGTGGCCGTGCATGTGTTTCAG
AAAGGCTGCTGATGACACCTGGGAGCCATTGCTCTGGgtaagttgccaagaaccctc
ccacaggacttggtttatcttcccgtttgccctcacttggtagagagaggctcacatcatctgctaaagaattacaagt
agattgaaaaacgta**ggcagaggtcaagtatgcc**

Exon 3 :

ttagttgaggggaaatgttcataacatgtttataacatgtttatgtgttagttggtgggggtgtattactttgccatgccat
ttgttctccatgcgtaacttaatccagactttcacacctatagGAAAACCAGTGAGTCTGGAGAGCTG
CATGGGCTCACAACTGAGGAGGAATTTGTAGAAGGGATATACAAAGTGGAATA
GACACCAAATCTTACTGGAAGGCACTTGGCATCTCCCATTCCATGAGCATGCA
GAGgtgagtatacagacctcgaggggtgtttggtttggt**ttttgctttggcattccag**

Exon 4 :

tcagtcatgtgtgcatctgtcacgtttttcgggctctggtggaaatggatctgtctgtcttctctcatagGTGGTATT
CACAGCCAACGACTCCGGCCCCCGCCGCTACACCATTGCCGCCCTGCTGAGCC
CCTACTCCTATTCCACCACGGCTGTCGTCACCAATCCCAAGGAATGAGGGACTT
CTCCTCCAGTGACCTGAAGGACGAGGGATGGGATTTTCATGTA**CCAAGAGTA**
TTCCATTTTTACT

**Annexe 5 : Tableau récapitulatif des extractions d'ADN salivaire des 130 échantillons
(en rouge, ceux dont la quantité ou la qualité de l'ADN extrait est amoindrie)**

Échantillon	Concentration en AN (ng/μL)	Ratio A260/A280	Ratio A260/A230	Échantillon	Concentration en AN (ng/μL)	Ratio A260/A280	Ratio A260/A230
1 E1	347,7	1,85	2,18	1 E2	341,3	1,85	2,19
2 E1	120,2	1,81	2,13	2 E2	115,9	1,81	1,79
3 E1	125,0	1,82	2,15	3 E2	54,5	1,88	2,16
4 E1	99,1	1,83	2,16	4 E2	67,1	1,85	2,05
5 E1	185,4	1,77	2,01	5 E2	79,2	1,87	2,26
6 E1	48,8	1,60	0,87	6 E2	13	1,97	0,84
7 E1	189,0	1,82	1,95	7 E2	71,3	1,97	2,29
8 E1	118,6	1,83	2,28	8 E2	66,7	1,91	2,39
9 E1	243,6	1,82	2,17	9 E2	117,6	1,77	1,60
10 E1	249,3	1,84	2,00	10 E2	233	1,81	1,76
11 E1	63,6	1,87	2,17	11 E2	155,8	1,69	1,29
12 E1	119,1	1,85	2,34	12 E2	70,8	1,86	2,05
13 E1	57,2	1,64	1,09	13 E2	18,8	1,97	1,48
14 E1	176,0	1,81	1,76	14 E2	136,8	1,75	1,50
15 E1	156,6	1,85	2,10	15 E2	167,7	1,86	2,15
16 E1	116,6	1,66	1,20	16 E2	70,7	1,87	2,10
17 E1	157,7	1,76	1,67	17 E2	75,9	1,86	2,02
18 E1	150,2	1,77	1,57	18 E2	106,4	1,81	1,74
19 E1	236,6	1,80	1,75	19 E2	155,0	1,86	2,06
20 E1	65,7	1,61	1,07	20 E2	32,3	1,93	1,76
21 E1	46,7	1,77	1,67	21 E2	43	1,86	1,83
22 E1	58,7	1,87	2,04	22 E2	51,9	1,74	1,06
23 E1	57,4	1,81	1,66	23 E2	86,3	1,66	1,26
24 E1	32,3	1,84	1,58	24 E2	48	1,53	0,93
25 E1	76,1	1,7	1,47	25 E2	124,9	1,85	2,2
26 E1	18,5	1,87	1,38	26 E2	15	1,98	1,26
27 E1	104	1,84	2,17	27 E2	111	1,85	2,1
28 E1	20,2	1,77	1,29	28 E2	11,1	1,88	1,07
29 E1	52	1,68	0,73	29 E2	61,3	1,86	2
30 E1	56,1	1,85	1,99	30 E2	45	1,86	2,01
31 E1	16,3	1,81	1,62	31 E2	25,2	1,87	1,69
32 E1	46,4	1,78	1,22	32 E2	49,1	1,88	1,51

<i>Échantillon</i>	<i>Concentration en AN (ng/μL)</i>	<i>Ratio A260/A280</i>	<i>Ratio A260/A230</i>	<i>Échantillon</i>	<i>Concentration en AN (ng/μL)</i>	<i>Ratio A260/A280</i>	<i>Ratio A260/A230</i>
33 E1	24,2	1,79	1,31	33 E2	51,6	1,84	1,67
34 E1	42,9	1,81	1,66	34 E2	60,7	1,87	2,01
35 E1	51,1	1,84	1,77	35 E2	43,8	1,84	1,62
36 E1	52,6	1,84	1,98	36 E2	65,1	1,87	1,76
37 E1	71	1,94	1,26	37 E2	51	1,96	1,17
38 E1	73	1,86	1,95	38 E2	77	1,87	1,91
39 E1	77	1,86	2,04	39 E2	70	1,88	1,85
40 E1	18	1,85	1,44	40 E2	21	1,88	1,48
41 E1	32	1,75	1,51	41 E2	34	1,88	1,6
42 E1	71	1,84	1,95	42 E2	55	1,9	1,88
43 E1	28	1,89	1,61	43 E2	38	1,69	0,74
44 E1	38	1,85	1,87	44 E2	49	1,75	1,21
45 E1	62,5	1,82	1,83	45 E2	87,8	1,82	2,08
46 E1	67,5	1,87	2,09	46 E2	230,7	1,84	2,26
47 E1	8,4	1,79	1,55	47 E2	4,7	1,9	1,03
48 E1	53,1	1,88	1,96	48 E2	41,1	1,89	2,11
49 E1	35,4	1,61	0,99	49 E2	11,7	1,75	1,19
50 E1	31,3	1,81	1,85	50 E2	207,3	1,85	2,32
51 E1	50,2	1,76	1,75	51 E2	62,1	1,91	2,32
52 E1	41,8	1,86	2,08	52 E2	81	1,86	2,12
53 E1	43,3	1,87	2,17	53 E2	189,8	1,82	2,01
54 E1	43,3	1,74	1,49	54 E2	75,8	1,84	1,89
55 E1	18,8	1,83	1,23	55 E2	20,7	1,84	1,78
56 E1	28,8	1,88	2,18	56 E2	96,7	1,84	2,1
57 E1	15	1,89	2,53	57 E2	22	1,89	1,97
58 E1	33,4	1,87	2,27	58 E2	120,5	1,84	2,2
59 E1	25,9	1,85	1,85	59 E2	21,8	1,89	1,72
60 E1	38,2	1,82	1,64	60 E2	40,7	1,84	1,39
61 E1	8,1	1,72	1,84	61 E2	2,6	1,94	1,06
62 E1	18,2	1,86	2,38	62 E2	20,3	1,91	1,97
63 E1	96	1,67	0,95	63 E2	39,3	1,8	1
64 E1	26,2	1,9	2,08	64 E2	29,5	1,9	2,18
65 E1	10,3	1,72	1,95	65 E2	26,4	1,85	2,16
66 E1	85,5	1,62	0,92	66 E2	79,4	1,87	2,16

<i>Échantillon</i>	<i>Concentration en AN (ng/μL)</i>	<i>Ratio A260/A280</i>	<i>Ratio A260/A230</i>	<i>Échantillon</i>	<i>Concentration en AN (ng/μL)</i>	<i>Ratio A260/A280</i>	<i>Ratio A260/A230</i>
67 E1	25,7	1,85	2,49	67 E2	43,9	1,89	2,36
68 E1	32,9	1,85	2,48	68 E2	47,5	1,9	2,3
69 E1	10	1,65	1,35	69 E2	6,5	1,66	0,7
70 E1	464	1,83	1,75	70 E2	196	1,88	1,9
71 E1	14	1,66	1,49	71 E2	5	2,34	0,89
72 E1	15	1,68	1,48	72 E2	20	1,92	1,43
73 E1	62	1,82	1,9	73 E2	37	1,81	1,54
74 E1	62	1,84	2,01	74 E2	94	1,8	1,73
75 E1	27	1,77	1,75	75 E2	48,5	1,8	1,16
76 E1	26	1,76	1,82	76 E2	34	1,82	1,74
77 E1	10	1,53	1,08	77 E2	5	1,74	0,98
78 E1	13	1,84	1,63	78 E2	20	1,88	1,76
79 E1	12	1,96	0,25	79 E2	20	2,18	0,25
80 E1	27	1,8	1,78	80 E2	39	1,85	1,75
81 E1	29,8	1,85	2,1	81 E2	54,7	1,64	1,15
82 E1	19,4	1,79	1,41	82 E2	14,9	1,67	0,9
83 E1	23	1,75	1,06	83 E2	25,5	1,8	1,62
84 E1	25,1	1,61	0,81	84 E2	4,4	1,56	0,61
85 E1	68,8	1,25	0,6	85 E2	37,9	1,83	1,87
86 E1	80,3	1,83	1,99	86 E2	59,4	1,87	2
87 E1	27,4	1,86	0,45	87 E2	25,4	1,86	0,5
88 E1	39,4	1,64	0,51	88 E2	43,3	1,87	0,91
89 E1	16	1,72	1,26	89 E2	21,7	1,81	1,67
90 E1	19,4	1,8	1,34	90 E2	40,1	1,81	1,53
91 E1	85,9	1,72	1,02	91 E2	79,2	1,82	1,19
92 E1	45,2	1,82	1,63	92 E2	71,1	1,85	2,19
93 E1	2,4	2,28	0,56	93 E2	3,4	1,54	0,27
94 E1	39,7	1,8	1,92	94 E2	85,9	1,83	1,98
95 E1	63,4	1,83	1,85	95 E2	61,1	1,8	1,79
96 E1	110,3	1,82	1,3	96 E2	66,9	1,88	1,63
97 E1	58,7	1,39	0,5	97 E2	736	1,77	1,4
98 E1	9,9	1,86	0,91	98 E2	2,8	27	0,86
99 E1	24,4	1,82	1,43	99 E2	24,9	1,9	1,65
100 E1	49,3	1,75	1,3	100 E2	44	1,77	1,19

<i>Échantillon</i>	<i>Concentration en AN (ng/μL)</i>	<i>Ratio A260/A280</i>	<i>Ratio A260/A230</i>	<i>Échantillon</i>	<i>Concentration en AN (ng/μL)</i>	<i>Ratio A260/A280</i>	<i>Ratio A260/A230</i>
101 E1	38,9	1,84	1,69	101 E2	50,6	1,84	1,63
102 E1	57,6	1,56	1,36	102 E2	49,7	1,89	1,33
103 E1	57,8	1,75	1,5	103 E2	421	1,66	1,57
104 E1	134,4	1,83	1,79	104 E2	76,9	1,83	1,42
105 E1	33,5	1,84	1,61	105 E2	17,8	1,93	1,5
106 E1	164,5	1,42	0,45	106 E2	49,8	1,41	0,39
107 E1	82,4	1,82	1,42	107 E2	29,7	1,89	1,61
108 E1	25,1	1,58	0,66	108 E2	4,2	7,23	1,14
109 E1	29,6	1,91	1,52	109 E2	16,8	1,91	1,36
110 E1	298,3	1,84	2,01	110 E2	107,6	1,81	2,03
111 E1	70,8	1,68	1,17	111 E2	140,5	1,65	1,27
112 E1	57,1	1,84	1,99	112 E2	51,8	1,85	2,05
113 E1	112,1	1,74	1,48	113 E2	89,8	1,82	2,12
114 E1	76	1,84	2,14	114 E2	596,2	1,82	2,37
115 E1	52,7	1,78	1,56	115 E2	19,6	1,84	1,54
116 E1	169,5	1,75	1,38	116 E2	101,3	1,82	1,72
117 E1	303	1,85	2,1	117 E2	160	1,85	2,17
118 E1	52	1,86	1,52	118 E2	23	1,8	1,24
119 E1	91	1,58	0,83	119 E2	25,9	1,83	1,48
120 E1	242,7	1,73	0,88	120 E2	100,7	1,92	1,74
121 E1	136,9	1,81	2,13	121 E2	93	1,85	2,05
122 E1	36	1,86	1,83	122 E2	20	1,78	1,4
123 E1	65,5	1,87	1,91	123 E2	463	1,82	2
124 E1	18	1,61	0,83	124 E2	17	1,39	0,5
125 E1	145	1,75	1,47	125 E2	89	1,86	2,16
126 E1	395	1,66	1,16	126 E2	416,7	1,83	1,75
127 E1	84	1,88	2,09	127 E2	466	1,84	2,19
128 E1	71	1,89	1,6	128 E2	82	1,79	1,34
129 E1	172	1,72	1,21	129 E2	308	1,83	2
130 E1	43	1,89	1,83	130 E2	37	1,93	1,89

Annexe 6 : Tableau récapitulatif des qualités macroscopiques des 130 échantillons salivaires avant envoi au CHU de Limoges

Numéro d'échantillon	Qualité échantillon avant envoi Limoges
1	RAS
2	RAS
3	RAS
4	RAS
5	RAS
6	RAS
7	RAS
8	RAS
9	RAS
10	Sanglant
11	RAS
12	RAS
13	RAS
14	RAS
15	RAS
16	RAS
17	RAS
18	RAS
19	Sanglant
20	RAS
21	RAS
22	RAS
23	RAS
24	RAS
25	RAS
26	RAS
27	RAS
28	Sanglant
29	RAS
30	RAS
31	RAS
32	RAS

33	RAS
34	RAS
35	RAS
36	RAS
37	RAS
38	RAS
39	RAS
40	RAS
41	RAS
42	RAS
43	RAS
44	RAS
45	RAS
46	RAS
47	RAS
48	RAS
49	Sanglant, quantité minime
50	Sanglant
51	RAS
52	RAS
53	RAS
54	RAS
55	RAS
56	RAS
57	RAS
58	RAS
59	RAS
60	RAS
61	RAS
62	RAS
63	Sanglant
64	RAS
65	RAS
66	RAS
67	RAS

68	RAS
69	RAS
70	Sanglant
71	RAS
72	RAS
73	RAS
74	RAS
75	RAS
76	RAS
77	RAS
78	RAS
79	RAS
80	RAS
81	RAS
82	RAS
83	RAS
84	RAS
85	RAS
86	RAS
87	RAS
88	RAS
89	RAS
90	RAS
91	RAS
92	RAS
93	RAS
94	RAS
95	Sanglant
96	Sanglant
97	Sanglant
98	RAS
99	RAS
100	RAS
101	RAS
102	RAS

103	RAS
104	RAS
105	RAS
106	RAS
107	Sanglant ++
108	RAS
109	RAS
110	RAS
111	RAS
112	RAS
113	RAS
114	RAS
115	RAS
116	Sanglant +
117	Sanglant
118	RAS
119	RAS
120	Sanglant ++
121	RAS
122	RAS
123	RAS
124	RAS
125	RAS
126	RAS
127	RAS
128	RAS
129	RAS
130	RAS

Serment d'Hippocrate

En présence des maîtres de cette école, de mes condisciples, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la médecine.

Je dispenserai mes soins sans distinction de race, de religion, d'idéologie ou de situation sociale.

Admis à l'intérieur des maisons, mes yeux ne verront pas ce qui s'y passe, ma langue taira les secrets qui me seront confiés et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs ni à favoriser les crimes.

Je serai reconnaissant envers mes maîtres, et solidaire moralement de mes confrères. Conscient de mes responsabilités envers les patients, je continuerai à perfectionner mon savoir.

Si je remplis ce serment sans l'enfreindre, qu'il me soit donné de jouir de l'estime des hommes et de mes condisciples, si je le viole et que je me parjure, puissé-je avoir un sort contraire.

Intérêt du dépistage systématique de l'amylose à transthyréline mutée à partir d'ADN salivaire chez des patients présentant une neuropathie périphérique idiopathique

L'amylose à transthyréline mutée (hATTR) est une maladie héréditaire évolutive causée par la mutation du gène *TTR*. Il existe à ce jour 140 variations pathogènes décrites dans la littérature, favorisant le mauvais repliement de la protéine de transthyréline (TTR), aboutissant à la formation de fibrilles amyloïdes insolubles s'accumulant dans les organes cibles, tels que le cœur, le système nerveux périphérique. La polyneuropathie familiale amyloïde (FAP) identifiée pour la première fois au Portugal en 1952, est une pathologie systémique sévère responsable d'une polyneuropathie sensitivo-motrice longueur-dépendante associée à une dysautonomie. De nouveaux traitements ont émergé récemment et se montrent efficaces dans la prise en charge de la FAP. L'objectif de cette étude est de déterminer l'intérêt d'un dépistage systématique de l'hATTR chez des patients présentant une neuropathie périphérique idiopathique à partir d'extraction d'ADN salivaire. Pour cela, une cohorte de 130 patients souffrant de neuropathie périphérique a été mise en place par le CHU de Bordeaux. Un échantillon salivaire a été recueilli pour chaque patient, à partir duquel j'ai réalisé une extraction d'ADN et un séquençage des 4 exons du gène *TTR* par méthode Sanger. Pour 127 patients parmi les 130, les séquences ont pu être analysées, montrant ainsi qu'il est possible d'obtenir des séquences de qualité satisfaisante à partir de salive, en étant le moins invasif possible. Parmi les 127 patients analysés, trois patients présentent, à l'état hétérozygote, la variation pathogène, c.148G>A, p.Val50Met. Par conséquent, le dépistage systématique d'hATTR chez des patients atteints de neuropathie périphérique idiopathique permettrait une optimisation de la prise en charge avec une instauration de traitement précoce pour lui-même et ses apparentés, ce qui représente un enjeu de santé publique majeur.

Mots-clés : Transthyréline, amylose, polyneuropathie, extraction d'ADN salivaire

Benefits of hereditary transthyretin amyloidosis systematic screening from salivary DNA extraction in patients suffering from idiopathic peripheral neuropathy

Hereditary transthyretin amyloidosis (hATTR) is a progressive hereditary disease caused by mutation of the *TTR* gene. To date, 140 mutations have been described in the literature, promoting misfolding of the transthyretin (TTR) protein, leading to the formation of insoluble amyloid fibrils that accumulate in target organs such as the heart and peripheral nervous system. Familial amyloid polyneuropathy (FAP), first identified in Portugal in 1952, is a severe systemic pathology responsible for length-dependent sensory-motor polyneuropathy associated with dysautonomia. New treatments have recently emerged and are efficient in the management of FAP. The aim of this study is to determine the value of systematic screening for hATTR in patients with idiopathic peripheral neuropathy using salivary DNA extraction. To this end, a cohort of 130 patients suffering from peripheral neuropathy was set up by the Bordeaux University Hospital. A salivary sample was collected from each patient, from which I extracted DNA and performed Sanger sequencing for the 4 exons of the *TTR* gene. For 127 of the 130 patients, sequences could be analyzed, making it possible to obtain good sequences quality from saliva, with the minimum of invasiveness. Of the 127 patients analyzed, three carried, at the heterozygous status, the mutation c.148G>A, p.Val50Met in *TTR* gene. Consequently, hATTR systematic screening in patients with idiopathic peripheral neuropathy enables early and improved disease management and access to treatment for patients and their carriers, representing a major public health challenge.

Keywords : Transthyretin, Amyloidosis, Polyneuropathy, salivary DNA extraction

