

COMMUNICATION

Les polyneuropathies amyloïdes : aspects biochimiques et génétiques

MOTS-CLÉS : AMYLOSE. NEUROPATHIES AMYLOÏDES. MALADIES GÉNÉTIQUES CONGÉNITALES

Amyloid polyneuropathies — Biochemical and genetic aspects

KEY-WORDS (Index medicus) : AMYLOIDOSIS. AMYLOID NEUROPATHIES. GENETIC DISEASES, INBORN

Les auteurs déclarent ne pas avoir de liens d'intérêt en relation avec le contenu de cet article

Marc DELPECH , Sophie VALLEIX *

RÉSUMÉ

Les polyneuropathies amyloïdes familiales sont parmi les plus fréquentes des amyloses héréditaires. Ce sont des maladies graves, le plus souvent fatales et dont la transmission est autosomique dominante. Des mutations dans quatre gènes peuvent en être responsables, il s'agit des gènes codant la transthyréline, l'apolipoprotéine A1, la gelsoline et la bêta-2-microglobuline. La transthyréline est un tétramère, composé de quatre sous-unités identiques associées de façon non covalente. Elle possède des sites de fixation pour la thyroxine (T4) et pour la retinol-binding protein (RBP). À ce jour plus de cent vingt variations de séquence du gène de la transthyréline ont été caractérisées, et 80 % d'entre elles sont décrites comme étant pathogènes. La mutation induit une déstabilisation du tétramère libérant des monomères de transthyréline mutée qui se replient de manière anormale et s'agrègent en fibrilles amyloïdes insolubles. Le spectre des mutations est très variable d'un pays à l'autre, la mutation Val30Met étant présente chez 95 % des patients portugais et suédois, alors qu'en France nous observons une très forte hétérogénéité mutationnelle. L'âge d'apparition de la maladie et le tableau clinique varient en fonction de nombreux facteurs, notamment du type de mutation. Les autres facteurs pouvant expliquer cette variabilité ne sont pas encore complètement élucidés. La structure tridimensionnelle de la forme normale, et d'une dizaine de formes mutées de la transthyréline, est maintenant connue ce qui permet ainsi de mieux comprendre les effets délétères des mutations. Une meilleure compréhension du mécanisme de la constitution du dépôt amyloïde a ainsi conduit au développement de nouvelles molécules empêchant la déstabilisation du tétramère de la transthyréline. On peut espérer que dans quelques années ces molécules remplaceront la transplantation hépatique qui est actuellement le seul traitement.

* Biochimie et génétique moléculaire, Centre hospitalier Cochin — 123 boulevard de Port-Royal — 75679 Paris cedex 14 ; e-mail : marc.delpech@inserm.fr

Tirés-à-part : Professeur Marc DELPECH, même adresse
Article reçu le 10 septembre 2012, accepté le 15 octobre 2012

SUMMARY

Familial amyloid polyneuropathies (FAP) are among the most frequent hereditary amyloidoses. These are serious, most often fatal diseases with autosomal dominant inheritance. FAP can be caused by mutations in four genes, namely those encoding transthyretin, A1-apolipoprotein, gelsolin, and beta-2 microglobulin. Transthyretin is a tetramer composed of four identical subunits linked by non covalent bonds and bearing binding sites for thyroxine (T4) and retinol-binding protein (RBP). More than 120 transthyretin gene sequence variations have been characterized, of which only 80 % seem to be pathogenic. Gene mutations can induce tetramer destabilization, thereby generating misfolded monomers that aggregate into insoluble amyloid fibrils. The mutation spectrum is highly variable across countries. For example, while the Val30Met mutation is found in 95 % of the Portuguese and Swedish patient populations, high mutational heterogeneity is observed in France. Age of onset and clinical signs are influenced by numerous factors, especially the mutation type and the country, but the mechanisms underlying this variability are not fully clear. The three-dimensional structure of the normal transthyretin protein and a dozen mutants is now known, providing insights into the deleterious effects of mutations. A better understanding of the mechanisms involved in amyloid fibril formation has led to the development of drugs that inhibit transthyretin tetramer destabilization. It is hoped that, within a few years, such drugs will replace liver transplantation, which is currently the only curative treatment.

INTRODUCTION

Les polyneuropathies amyloïdes familiales sont parmi les plus fréquentes des amyloses héréditaires. Ce sont des maladies graves, le plus souvent fatales et dont la transmission est autosomique dominante. Ce sont des mutations dans le gène codant la transthyréline qui sont responsables de la plupart des polyneuropathies amyloïdes familiales [1]. Des mutations dans trois autres gènes peuvent, mais beaucoup plus rarement, en être aussi la cause. Il s'agit des gènes codant l'apolipoprotéine A1 [2], la gelsoline [3] et la bêta2-microglobuline [4]. Les mutations, en modifiant les propriétés physicochimiques et structurales de la protéine conduisent à son dépôt sous forme de fibrilles amyloïdes

La première description de la polyneuropathie amyloïde familiale a été faite par Andrade en 1952, chez des patients du nord du Portugal [5], qui a montré que la neuropathie de ces patients est due à des dépôts amyloïdes. Costa *et al* montrèrent ensuite en 1978 que la protéine amyloïde du dépôt est la transthyréline [6]. La mutation responsable de la forme portugaise décrite par Andrade conduit au remplacement d'une valine par une méthionine en position 30 dans la transthyréline. Elle a été caractérisée pour la première fois par Saraiva *et al* en 1984 [7] et est la mutation la plus fréquente au Portugal. Depuis plus de cent mutations ont été décrites et cette hétérogénéité mutationnelle touche particulièrement les patients français en dehors de ceux qui sont d'origine portugaise et de la mutation Ser77Tyr

qui est aussi fréquente que la mutation Val30Met. Parce que c'est de loin la plus fréquente des polyneuropathies amyloïdes familiales, nous nous limiterons ici à la description de celle qui résulte de mutations dans la transthyrétine. Le tableau clinique est très variable en fonction de la mutation responsable, mais aussi pour une même mutation et parfois au sein d'une même famille. Le signe le plus classique, mais qui n'est cependant pas toujours observé, est une neuropathie périphérique. Elle commence par des signes sensitifs au niveau des membres inférieurs. Des signes moteurs apparaissent quelques années plus tard. La neuropathie concerne aussi le système nerveux végétatif conduisant à une atteinte majeure de l'état général avec amaigrissement, troubles digestifs alternant diarrhées et constipation, nausées et vomissements, asthme et hypotension orthostatique. L'autre atteinte très fréquente, et parfois exclusive, est une atteinte cardiaque. Une atteinte cardiaque quasi exclusive est retrouvée associée à la mutation Val122Ile [8] qui est fréquente chez les noirs américains, mais qui est aussi retrouvée dans d'autres pays du monde incluant la France, il s'agit d'une cardiomyopathie amyloïde. D'autres signes sont observés moins fréquemment, il s'agit d'opacités vitréennes, d'un syndrome du canal carpien, d'une impuissance, d'une dysfonction vésicale conduisant à une rétention d'urines ou d'une amylose rénale. Une atteinte du système nerveux central avec une amylose méningée étendue conduisant à une démence reste exceptionnelle. Cette amylose peut être associée à une hémorragie cérébrale [9]

BIOCHIMIE DE LA TRANSTHYRÉTINE

La transthyrétine est une protéine tétramérique dont les quatre sous-unités sont identiques. Elle est retrouvée principalement dans le plasma à la concentration de 320 mg/L chez l'homme et 280 mg/L chez la femme et dans le LCR où elle représente environ 20 % des protéines [10]. Chaque sous-unité est constituée d'une unique chaîne polypeptidique de cent vingt-sept acides aminés, pour une masse moléculaire de 13.775 Da, dont la séquence a été complètement déterminée [11]. Les monomères s'associent d'abord en dimères, deux dimères s'associant ensuite pour constituer la transthyrétine mature. La structure dans l'espace de la transthyrétine a été déterminée en 1974 par analyse cristallographique aux rayons X [12-13]. À l'état natif, plus de la moitié de la chaîne polypeptidique a une structure en feuillets bêta. Chaque monomère contient deux feuillets bêta, chacun étant constitué de quatre brins antiparallèles. Cette structure explique sa tendance à constituer des dépôts amyloïdes particulièrement stables et résistants à toutes les attaques. Au centre du tétramère se trouve une poche où peuvent se fixer deux molécules d'hormones thyroïdiennes. La transthyrétine est retrouvée dans de nombreuses espèces et a été fortement conservée au cours de l'évolution.

La transthyrétine est synthétisée par le foie, l'épithélium des plexus choroïdes et la rétine [14]. Elle est aussi synthétisée par de nombreux autres organes mais en quantité beaucoup plus faible. La concentration plasmatique de la transthyrétine

baisse fortement et rapidement en cas de dénutrition, dont c'est un excellent marqueur [15], et au cours de l'inflammation.

FONCTION DE LA TRANSTHYRÉTINE

La transthyrétine a d'abord été appelée préalbumine parce qu'elle migre devant l'albumine dans les électrophorèses des protéines. Son nom a été modifié ultérieurement afin qu'il reflète sa fonction. C'est une des rares protéines sériques à ne pas être glycosylée. La transthyrétine a un rôle de transport de deux types de molécules : (1) les hormones thyroïdiennes, d'où son nom, il s'agit principalement de la thyroxine, la tri-iodothyronine étant transportée aussi mais en beaucoup plus faible proportion [16-17] ; et (2) une protéine, la Retinol Binding protéin (RBP) qui, comme son nom l'indique est une protéine qui fixe et transporte le rétinol [18]. Elle se fixe sur la face externe de la transthyrétine. La presque totalité de la RBP plasmatique est fixée à la transthyrétine alors que seulement environ 15 % de la thyroxine plasmatique est associée à la transthyrétine. Elle pourrait jouer un rôle dans le passage de la thyroxine au travers de la barrière méningée [19]. Elle paraît cependant ne pas être indispensable puisque les souris transgéniques dépourvues de transthyrétine semblent se porter parfaitement, comme nous le verrons plus loin.

LE GÈNE DE LA TRANSTHYRÉTINE ET SES MUTATIONS

Le gène de la transthyrétine a été localisé en 18q11.2-12.1, donc sur le chromosome 18 [20]. Le gène a été isolé et entièrement séquencé en 1985 [21-22]. Il a une longueur de 6,9 kb et est constitué de quatre petits exons (de respectivement 95, 131, 136 et 253 pb). Plus de cent vingt variations de séquence de ce gène ont été découvertes. Près de 20 % d'entre elles sont neutres, ce sont des polymorphismes. Les 80 % restantes correspondent à des mutations responsables des polyneuropathies amyloïdes familiales et de leurs différentes formes. Certaines des variations de séquence, qu'elles soient pathogènes ou pas, modifient l'affinité de la transthyrétine pour la thyroxine, mais cela n'a apparemment pas de traduction clinique. Les mutations sont réparties tout le long du gène. Certaines n'ont été trouvées que dans une seule famille. Pour quelques unes d'entre elles l'étude des haplotypes a montré qu'elles sont survenues plusieurs fois dans des familles différentes. La mutation classique Val30Met est par exemple associée à trois haplotypes différents [23]. La pénétrance est souvent incomplète.

TRANSTHYRÉTINE ET AMYLOSE

La transthyrétine est une protéine spontanément amyloïde puisque certaines amyloses du sujet âgé, où le dépôt est constitué de transthyrétine, surviennent alors que

le gène du patient est parfaitement normal. Il convient de noter que des chaînes polypeptidiques partiellement protéolysées sont trouvées dans les dépôts et c'est peut-être une dégradation protéolytique qui est à l'origine de leur constitution [24]. Cette susceptibilité à se déposer sous forme de fibrilles amyloïde est très vraisemblablement due au fait que la transthyrétine contient de très nombreuses structures en feuillets bêta dont on sait qu'ils représentent un facteur favorisant la formation d'agrégats particulièrement solide, résistants et insensibles à toute attaque physique ou chimique. Malgré un nombre considérable de travaux consacrés à l'amylogénèse, on ne sait toujours pas comment se forment et se déposent les fibrilles amyloïdes [25]. La structure de dix transthyrétines mutées différentes extraites de dépôts amyloïdes a été déterminée par analyse cristallographique aux rayons X. Il est retrouvé le plus souvent (sept des dix transthyrétines mutées étudiées) une modification structurale qui d'une part conduit à une déstabilisation du tétramère et d'autre part facilite une transconformation du monomère, ce qui le rend insoluble. D'une manière générale c'est le monomère qui peut-être amylogène et non le tétramère, sa dissociation ou sa non constitution est un préalable à la transconformation du monomère et donc à la formation d'un dépôt amyloïde. La mutation Leu55Pro induit la plus importante modification structurale caractérisée à ce jour, c'est aussi la mutation la plus agressive sur le plan clinique. La protéine possédant cette mutation est retrouvée sous forme de monomères transconformés dans les dépôts amyloïdes. Cette mutation modifie donc les interactions entre les sous-unités, qui sont plus faibles, et induit une déstabilisation de la chaîne polypeptidique provoquant de nouvelles interactions entre les feuillets bêta qui conduisent à un monomère insoluble. Le rôle des feuillets bêta est confirmé par l'étude structurale des fibrilles elles mêmes qui sont constituées de ce type de feuillets [26].

À l'inverse certaines modifications de séquence semblent stabiliser la protéine et atténuer les effets délétères des mutations pathogènes. Les patients qui présentent à la fois la mutation Val30Met sur l'un des deux chromosome 18 et le polymorphisme Thr119Met sur l'autre ont une maladie moins sévère que ceux qui possèdent seulement la mutation Val30Met [27-28]. Les analyses de stabilité des tétramères *in vitro* montrent une augmentation de leur stabilité lorsque l'un des allèles porte la mutation val30Met et l'autre porte le polymorphisme Thr119Met.

Tous ces résultats montrent qu'il y a une assez bonne corrélation entre la stabilité de la transthyrétine et/ou de ses monomères et l'hétérogénéité clinique.

Le rôle possible du fibrinogène et de sa glycation

Le fibrinogène se fixe à la transthyrétine dans le plasma et semble se comporter comme une protéine chaperone. La glycation du fibrinogène diminue cette interaction et il est vraisemblable que de ce fait il ne peut plus se comporter comme une protéine chaperone. Or il a été montré que la glycation des protéines était plus importante chez les sujets atteints de polyneuropathie amyloïde familiale que chez les sujets normaux. Il pourrait donc s'agir ici d'un mécanisme expliquant en partie

l'hétérogénéité clinique. Ces données reposent cependant sur un seul article paru récemment et cette hypothèse reste donc à être confirmée [29].

RELATIONS ENTRE LES MUTATIONS ET L'HÉTÉROGÉNÉITÉ CLINIQUE

Il existe globalement une bonne corrélation entre une mutation donnée et un phénotype particulier, mais il existe des exceptions. Ainsi dans les pays où la polyneuropathie amyloïde familiale liée à la mutation Val30Met est endémique (Portugal, Suède, Japon), on distingue des formes précoces comme au Portugal où le début de la maladie survient vers trente ans, contrastant avec celles observées en Suède où la maladie est majoritairement observée après la cinquantaine. Pour certaines mutations la pénétrance n'est pas complète et une variabilité du tableau clinique est parfois observée au sein d'une même famille. On ne connaît pas les mécanismes qui sont à la base de cette variabilité de l'âge de début de la maladie et du tableau clinique alors que la mutation est la même. La variabilité du tableau clinique en fonction de la mutation a fait l'objet de très nombreux travaux et les mécanismes impliqués commencent à s'éclaircir. Le plus souvent, pour une mutation donnée, les localisations tissulaires des dépôts amyloïdes et les tableaux cliniques sont similaires dans les différentes familles qui portent cette mutation, (voir [1] pour une liste des tableaux cliniques associés à la plupart des mutations connues suivant le pays où elles sévissent). Plusieurs facteurs expliquent la spécificité tissulaire des dépôts amyloïdes en fonction de la mutation [30]. Certaines mutations très déstabilisantes, comme les mutations Ala25Thr ou Asp18Gly, conduisent à des protéines qui restent majoritairement sous forme de monomères mais qui sont très peu sécrétés par la cellule et qui font l'objet d'une dégradation intracellulaire au niveau du réticulum endoplasmique. Cependant ce système est épuisable et peut être dépassé avec le temps, conduisant à une augmentation de la sécrétion de la protéine modifiée. C'est sans doute une des causes de la variabilité de l'âge de début de la maladie et des signes cliniques. Ce mécanisme qui permet de diminuer très fortement la concentration plasmatique de la protéine mutée n'a pas la même efficacité dans toutes les cellules. Ainsi les lignées dérivées de l'épithélium des plexus choroïdes possédant la mutation Ala25Thr sécrètent significativement une plus grande quantité de protéine mutée que des lignées témoins possédant la même mutation. Il s'agit donc là d'un des éléments à la base de la spécificité tissulaire des dépôts amyloïdes. L'efficacité de la sécrétion de la transthyrétine mutée dépend fortement de ses caractéristiques physicochimiques. Dans un graphe reliant la résistance à la dénaturation de la protéine en fonction de ses propriétés thermodynamiques les différentes transthyrétines mutées se regroupent en des nuages de points parfaitement distincts. Les mutants d'un nuage donné sont globalement associés à une même localisation tissulaire des dépôts amyloïdes. Ce résultat démontre que l'hétérogénéité clinique en fonction de la mutation résulte au moins en partie de la modifica-

tion des propriétés physicochimiques de la transthyrétine induite par la variation de structure provoquée par la mutation.

LES MODÈLES ANIMAUX

Afin de mieux comprendre les mécanismes en cause et la variabilité génétique, des modèles murins ont été développés. Les premières souris transgéniques ont été obtenues en insérant le gène humain possédant la mutation V30M [31-33]. Ces souris développent une amylose dont la distribution dans les différents organes est similaire à ce qui est observé chez l'homme à l'exception du cerveau où, de manière surprenante, aucun dépôt amyloïde n'est retrouvé contrairement à l'homme. Ces souris ne développent pas de neuropathie. D'autres lignées de souris transgéniques ont été obtenues en utilisant des gènes de la transthyrétine portant d'autres mutations responsables de polyneuropathies amyloïdes familiales chez l'homme [34]. Aucune des souris n'a présenté une amylose quelque soit la mutation utilisée. Enfin, afin d'évaluer le rôle physiologique de la transthyrétine, des souris dépourvues de transthyrétine ont été obtenues en retirant le gène qui la code par recombinaison homologue [35]. Le phénotype, la fertilité et la durée de vie de ces souris ne sont pas altérés. Il est simplement observé une baisse de la concentration plasmatique de la thyroxine et de la protéine fixant le rétinol, ce dernier composé ayant à l'inverse une concentration augmentée. Ces résultats suggèrent que la transthyrétine n'est pas une protéine indispensable pour une vie normale.

LES APPROCHES THÉRAPEUTIQUES À LA LUMIÈRE DES RÉSULTATS FONDAMENTAUX

La connaissance des mécanismes moléculaires impliqués dans les polyneuropathies amyloïdes familiales, même s'ils sont loin d'être complètement connus, permettent d'imaginer plusieurs approches pour le traitement [29, 36]. Jusqu'à récemment la transplantation hépatique, en faisant disparaître la source de transthyrétine mutée, était le seul traitement efficace possible [37-39]. Des approches utilisant des molécules thérapeutiques sont actuellement en cours et feront l'objet d'un autre article de ce numéro. Brièvement ces approches consistent à utiliser des molécules susceptibles : (1) de stabiliser la forme tétramérique de la transthyrétine, puisque c'est le monomère qui est seul capable de se déposer ; (2) d'inhiber la formation des fibrilles en se fixant aux monomères de transthyrétine qui auraient réussi à se dissocier afin qu'ils ne puissent pas s'assembler en fibrille amyloïde ; (3) dissocier les fibrilles lorsqu'elles se sont formées ; et (4) d'empêcher la synthèse de transthyrétine puisque plusieurs résultats, dont ceux des souris transgéniques dépourvues de transthyrétine, ont montré que l'absence de cette protéine n'a pas d'effets délétères.

CONCLUSION

Avec les progrès de la biochimie d'abord, puis de la génétique ensuite, les mécanismes moléculaires impliqués dans les polyneuropathies amyloïdes familiales ont été peu à peu au moins partiellement élucidés. Ce fut d'abord la caractérisation de la protéine en cause du gène qui la code et des mutations responsables de la maladie. Il est ainsi possible maintenant d'obtenir la certitude du diagnostic en utilisant les techniques de Génétique moléculaire qui permettent de confirmer le diagnostic qui est souvent difficile, surtout dans les formes atypiques. Il a aussi été montré que trois autres protéines peuvent être responsables de polyneuropathies amyloïdes familiales lorsqu'elles sont mutées. Là encore le diagnostic moléculaire présente un plus certain compte tenu de la grande rareté des cas et de la difficulté du diagnostic. Les progrès des connaissances de la structure dans l'espace de la protéine permettent maintenant de commencer à développer des molécules permettant de traiter les malades. Les premiers essais sont encourageants et on peut espérer à terme que des médicaments permettront de remplacer le seul traitement actuel qui est la transplantation hépatique.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] BENSON M. — Polyneuropathies amyloïdes familiales. In *Les Amyloses*. Paris : Flammarion Médecine Sciences, 2000, 445-456.
- [2] NICHOLS W.C., DWULET F.E., LIEPNIKS J., *et al.* — Variant apolipoprotein AI as a major constituent of a human hereditary amyloid. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1988, 156, 762-768.
- [3] 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, 314-324.
- [4] VALLEIX S., GILLMORE J.D., BRIDOUX F. *et al.* — Hereditary systemic amyloidosis due to Asp76Asn variant β 2-microglobulin. *N. Engl. J. Med.*, 2012, 366, 2276-2283.
- [5] ANDRADE C. — A peculiar form of peripheral neuropathy. Familial atypical generalized amyloidosis with special involvement of the peripheral nerve. *Brain*, 1952, 175, 408-427.
- [6] COSTA P.P., FIGUERIA A.S., and BRAVO F.R. — Amyloid fibril protein related to prealbumin in familial amyloidotic polyneuropathie. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1978, 75, 4499-4503.
- [7] SARAIVA M.J.M., BIRKEN S., COSTA P.P., *et al.* Amyloid fibril protein in familial amyloidotic polyneuropathy, Portuguese type. Definition of molecular abnormality in transthyréine (prealbumin). *J. Clin. Invest.*, 1984, 74, 104-119.
- [8] JACOBSON D.R., PASTORE R.D., YAGHOUBIAN R., *et al.* — Variant-sequence transthyretin (isoleucine 122) in late-onset cardiac amyloidosis in black Americans. *N. Engl. J. Med.*, 1997, 336, 466-473.
- [9] ELLIE E., CAMOU F., RUMMENS C., *et al.* — Recurrent subarachnoid hemorrhage associated with a new transthyretin variant (Gly53Glu). *Neurology*, 2001, 57, 135-137.

- [10] WEISNER B., ROETHIG H.J. — The concentration of prealbumin in cerebrospinal fluid (CSF), indicator of CSF circulation disorders. *Eur. Neurol.* 1983, 22, 96-105.
- [11] KANDA Y., GODDMAN D.S., CANFIELD R.E., *et al.* — The amino acid sequence of human plasma prealbumin. *J. Biol. Chem.*, 1974, 249, 6796-6805.
- [12] BLAKE C.C., GEISOW M.J., SWAN I.D., *et al.* — Structure of human plasma prealbumin at 2-5 Å resolution. A preliminary report on the polypeptide chain conformation, quaternary structure and thyroxine binding. *J. Mol. Biol.*, 1974, 88, 1-12.
- [13] BLAKE C.C., GEISOW M.J., OATLEY S.J., *et al.* — Structure of prealbumin: secondary, tertiary and quaternary interactions determined by Fourier refinement at 1.8 Å. *J. Mol. Biol.*, 1978, 121, 339-356.
- [14] OWEN T.A., COSENZA S.C., SOPRANO D.R., *et al.* — Evidence that stimulation of growth following long term density arrest of WI-38 cells proceeds via a pathway independent of protein kinase C and of cAMP-dependent protein kinase. *Oncogene Res.*, 1989, 4, 137-147.
- [15] INGENBLEEK Y., YOUNG V. — Transthyretin (prealbumin) in health and disease: nutritional implications. *Annu. Rev. Nutr.*, 1994, 14, 495-533.
- [16] INGBAR S.H. — Pre-albumin : a thyroxinebinding protein of human plasma. *Endocrinology*, 1958, 63, 256-259.
- [17] DAVIS P.J., HANDWERGER B.S., GREGERMAN R.I. — Thyroid hormone binding by human serum prealbumin (TBPA). Electrophoretic studies of triiodothyronine-TBPA interaction. *J. Clin. Invest.*, 1972, 51, 515-521.
- [18] KANAI M., RAZ A., GOODMAN D.S. — Retinol-binding protein: the transport protein for vitamin A in human plasma. *J. Clin. Invest.*, 1968, 47, 2025-2044.
- [19] SCHREIBER G., ALDRED A.R., JAWOROWSKI A., *et al.* — Thyroxine transport from blood to brain via transthyretin synthesis in choroid plexus. *Am. J. Physiol.*, 1990, 258, R338-345.
- [20] SPARKES R.S., MOHANDAS T., HEINZMANN C., *et al.* Assignment of the myelin basic protein gene to human chromosome 18q22-qter. *Hum. Genet.*, 1987, 75, 147-50.
- [21] SASAKI H., YOSHIOKA N., TAKAGI Y., *et al.* — Structure of the chromosomal gene for human serum prealbumin. *Gene.*, 1985, 37, 191-197.
- [22] TSUZUKI T., MITA S., MAEDA S., *et al.* — Structure of the human prealbumin gene. *J. Biol. Chem.*, 1985, 260, 12224-12227.
- [23] YOSHIOKA K., FURUYA H., SASAKI H., *et al.* — Haplotype analysis of familial amyloidotic polyneuropathy. Evidence for multiple origins of the Val--Met mutation most common to the disease. *Hum. Genet.*, 1989, 82, 9-13.
- [24] WESTERMARK P., SLETTEN K., JOHANSSON B., *et al.* — Fibril in senile systemic amyloidosis is derived from normal transthyretin. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1990, 87, 2843-2845.
- [25] DAMAS A.M., SARAIVA M.J. — TTR amyloidosis-structural features leading to protein aggregation and their implications on therapeutic strategies. *J. Struct. Biol.*, 2000, 130, 290-299.
- [26] DAMAS A., SEBASTIAO M.P., COSTA P.P., *et al.* — A fiber diffraction study of FAP fibrils. In KISILEVSKY R., BENSON M.D., *et al.* *Amyloid and Amyloidosis*. Parthenon New York : 1993, 492-494.
- [27] COELHO T. — Familial amyloid polyneuropathy : new developments in genetics and treatment. *Curr. Opin. Neurol.*, 1996, 9, 355-359.
- [28] ALVES I., HAYS M.T., SARAIVA M.J. — Comparative stability and clearance of [Met30]transthyretin and [Met119]transthyretin. *Eur. J. Biochem.*, 1997, 249, 662-668.
- [29] DA COSTA G., GOMES R.A., GUERREIRO A., *et al.* — Beyond genetic factors in familial amyloidotic polyneuropathy : protein glycation and the loss of fibrinogen's chaperone activity. *PLoS One*. 2011, 16, e24850.

- [30] SEKIJIMA Y., WISEMAN R.L., MATTESON J., *et al.* — The biological and chemical basis for tissue-selective amyloid disease. *Cell.*, 2005, 121, 73-85.
- [31] YAMAMURA K., WALASUGI S., MAEDA S., *et al.* — Tissue-specific and developmental expression of human transthyretin gene in transgenic mice. *Dev. Genet.*, 1987, 8, 195-205.
- [32] SHIMADA K., MAEDA S., MURAKAMI T., *et al.* — Transgenic mouse model of familial amyloidotic polyneuropathy. *Mol. Biol. Med.*, 1989, 6, 333-343.
- [33] YI S., TAKAHASHI K., NAITO M., *et al.* — Systemic amyloidosis in transgenic mice carrying the human mutant transthyretin (Met30) gene. Pathologic similarity to human familial amyloidotic polyneuropathy, type I. *Am. J. Pathol.*, 1991, 138, 403-412.
- [34] SASAKI H., TONE S., NAKAZATO M., *et al.* — Generation of transgenic mice producing a human transthyretin variant: a possible mouse model for familial amyloidotic polyneuropathy. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1986, 139, 794-799.
- [35] EPISKOPOU V., MAEDA S., NISHIGUCHI S., *et al.* — Disruption of the transthyretin gene results in mice with depressed levels of plasma retinol and thyroid hormone. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1993, 90, 2375-2379.
- [36] SARAIVA M.J. — Hereditary transthyretin amyloidosis : molecular basis and therapeutical strategies. *Expert Rev. Mol. Med.*, 2002, 4, 1-11.
- [37] HOLMGREN G., STEEN L., EKSTEDT J., *et al.* — Biochemical effect of liver transplantation in two Swedish patients with familial amyloidotic polyneuropathy (FAP-met30). *Clin. Genet.*, 1991, 40, 242-6.
- [38] HOLMGREN G., ERICZON B.G., GROTH C.G., *et al.* — Clinical improvement and amyloid regression after liver transplantation in hereditary transthyretin amyloidosis. *Lancet*, 1993, 341, 1113-6.
- [39] MATSUNAMI H., MAKUUCHI M., KAWASAKI S., *et al.* — A case of familial amyloid polyneuropathy treated with partial liver transplantation using a graft from a living related donor. *Transplantation.*, 1995, 60, 301-303.

DISCUSSION

M. Jacques BATTIN

Corino d'Andrade insistait sur la propagation à partir du foyer initial au Nord Portugal par les navigateurs portugais jusqu'en Inde et au Japon. Que signifie aujourd'hui la dérive génétique dont parlaient naguère les généticiens des populations ?

La dérive génétique est une notion qui est toujours d'actualité et qui explique certaines variations de fréquence des allèles et globalement une perte de diversité. Elle résulte d'effets aléatoires qui induisent une variation au hasard de la fréquence des allèles et de ce fait cela conduit souvent à long terme à une diminution de la diversité. Des événements comme des épidémies, des migrations de populations, des catastrophes naturelles, conduisent à une très forte sélection au hasard des individus (et des allèles qu'ils portent) indépendante de la sélection naturelle. La dérive génétique concerne en général des allèles neutres, c'est-à-dire qui ne sont pas associés à un avantage ou un désavantage sélectif. Il est possible, mais pas certain, que des navigateurs portugais aient introduit la mutation qui conduit au remplacement d'une valine en position 30 par une méthionine (V30M) qui est la mutation retrouvée au nord du Portugal et qui est très majoritaire et fréquente

là-bas. Dans un tel cas on observe un effet fondateur. Comme il n'est pas retrouvé, il est possible qu'il ait existé mais qu'il ait été effacé progressivement par la dérive génétique si la sélection naturelle ne s'en est pas chargée (ce qui est peu probable car il s'agit d'une maladie qui se développe plutôt tardivement). Cependant dans la plupart des pays où ce changement d'acide aminé induisant la maladie est retrouvé, il ne s'agit pas de la même mutation au niveau de l'ADN (un acide aminé est codé par trois bases et chacune peut être remplacée par n'importe laquelle des trois autres). Lorsque qu'il s'agit de la même mutation, une analyse des haplotypes des marqueurs environnants montre qu'ils sont différents chez les portugais et dans les populations en question, ce qui indique que la mutation est survenue une nouvelle fois de manière totalement indépendante. Cette variabilité du fond génétique s'accompagne en plus d'une variabilité aussi bien au niveau de l'âge de début de la maladie qu'au niveau de la sévérité ou du tableau clinique.

M. Claude DREUX

Vous avez cité l'hypothèse des protéines chaperon dans votre description des dépôts amyloïdes accompagnant des mutations de la molécule, ou du gène, de la transthyrétine. Le mécanisme est-il apparenté à celui observé dans le nv de la maladie de Creutzfeldt-jakob avec mutation dans la protéine prion (hypothèse de Stanley Prusiner) ? Peut-être aussi dans la genèse des dépôts amyloïdes observés dans la maladie d'Alzheimer ?

Malgré de très nombreux travaux consacrés à la recherche des mécanismes qui conduisent à la formation de la fibrille amyloïde, nous n'avons encore que des hypothèses. Ce sont surtout les mécanismes qui sont à l'origine de l'initiation de la fibre amyloïde, et donc du dépôt, qui restent mystérieux. Par contre, une fois la fibrille initiée, les mécanismes qui conduisent à son élongation semblent plus clairs et rejoignent le modèle de Stanley Prusiner. Il est maintenant à peu près certain qu'une transconformation des monomères de transthyrétine, induit des structures en feuillets bêta qui interagissent fortement entre eux et qui induisent des structures particulièrement stables et résistantes à tout traitement. L'association du monomère de transthyrétine avec l'amorce de fibrille induit la transconformation en forme insoluble et donc fait croître la fibrille. La croissance de la fibre ressemble à celle d'un grand mono cristal à partir d'un infime cristal. Plusieurs protéines amyloïdes, dont la transthyrétine, sont susceptibles de subir spontanément de telles transconformations et c'est ce qui explique l'amylose à la transthyrétine liée à l'âge chez des sujets possédant une transthyrétine parfaitement normale. Suivant la mutation l'effet peut être une facilitation de la dissociation en monomères qui sont eux amylogènes comme décrit ci-dessus et/ou une facilitation de la transconformation du monomère en sa forme insoluble riche en feuillets bêta. Nous sommes donc effectivement proches du modèle de la maladie d'Alzheimer, ou du prion dans la maladie de Creutzfeldt-Jakob tel que décrit par Stanley Prusiner. Il y a cependant une différence de localisation des dépôts puisque dans ces deux maladies le dépôt est intracellulaire alors qu'il est extracellulaire dans les amyloses et dans la maladie d'Alzheimer d'autres facteurs et événements sont nécessaires.

M. Jean-Jacques HAUW

Vous avez évoqué une glycosylation du fibrinogène qui pourrait constituer ou contribuer à la formation d'une protéine chaperone. Est-elle associée à une mutation particulière ?

Le fibrinogène se comporte comme une protéine chaperone, entre autre pour la transthyréline. C'est sa forme non glyquée qui possède cette activité. Sa glycation lui ferait perdre cette propriété et favoriserait la dissociation de la transthyréline et par là son dépôt sous forme de fibrilles amyloïdes. Il convient de remarquer qu'un seul article relativement récent a rapporté ce résultat (DA COSTA G., *et al* PLoS One. 2011, 6(10), e24850), qui reste donc à être confirmé. Dans cet article la transthyréline mutée utilisée dans les expériences d'interaction avec le fibrinogène glyqué ou pas provenait d'un sujet ayant la mutation V30M (valine 30 méthionine). Il n'est donc pas possible de répondre à votre question avec les données actuelles puisqu'une seule mutation a été testée.