

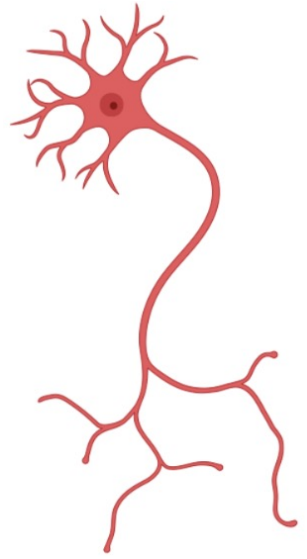
Réunion du CETL- REIMS
12 juin 2023

**GM2 ganglioside plasmatique :
biomarqueur diagnostique, pronostique et de suivi
des gangliosidoses à GM2**

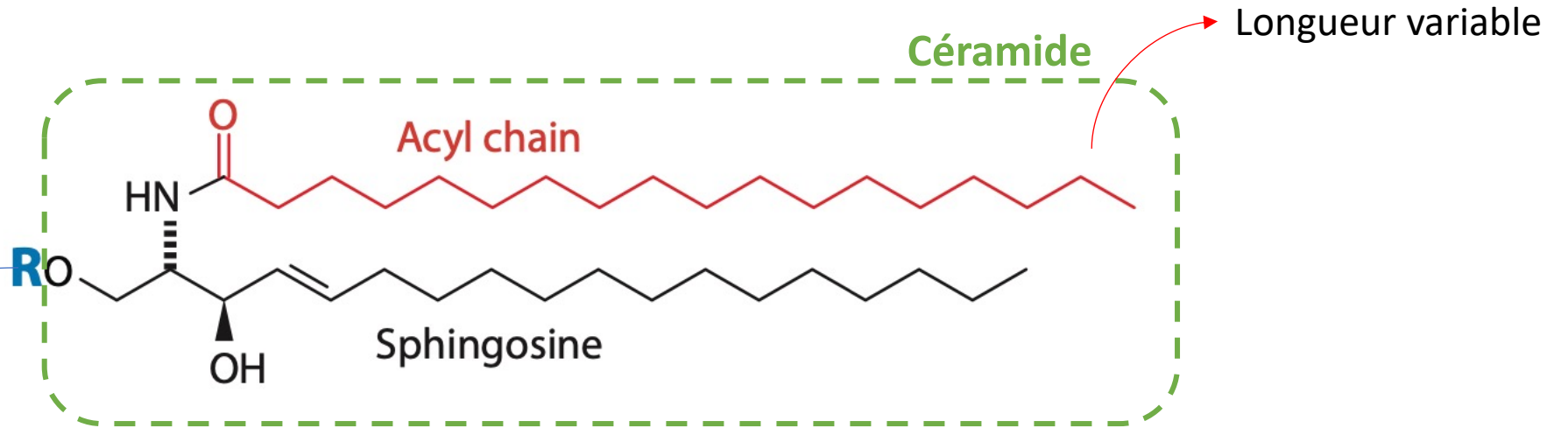
Foudil LAMARI

UF Biochimie des maladies neurométaboliques et neurodégénératives
Service de Biochimie métabolique
Hôpital Pitié-Salpêtrière - Paris

Structure des Gangliosides



- ✓ Sphingolipides
- ✓ Neuroformation



Groupement polaire :

- ≥ 2 résidus osidiques
- au moins l'un est estérifié par un **acide sialique**

- > 200 gangliosides
- Synthèse : appareil de Golgi
- Dégradation : lysosome

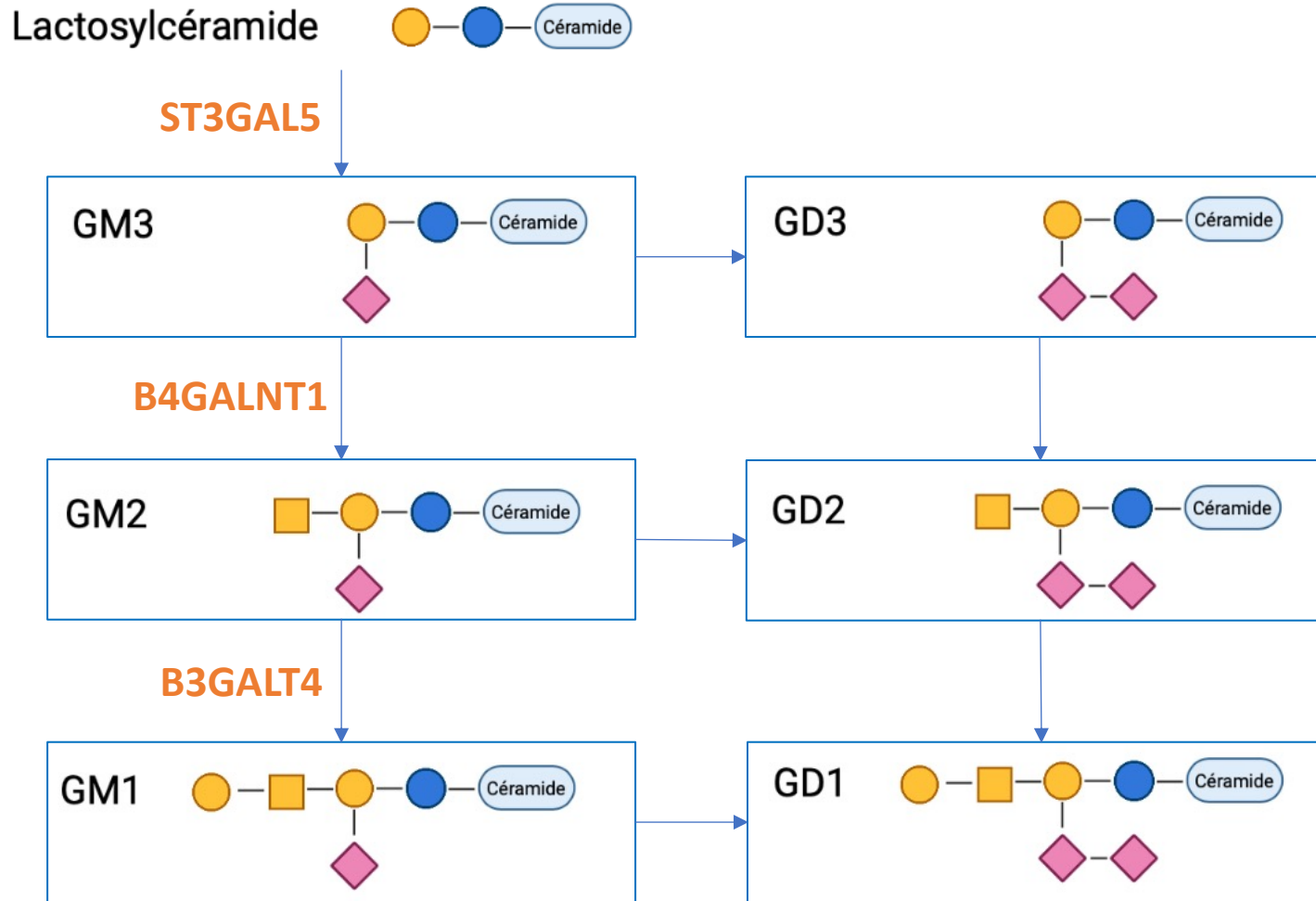
Biosynthèse des gangliosides



Appareil de Golgi



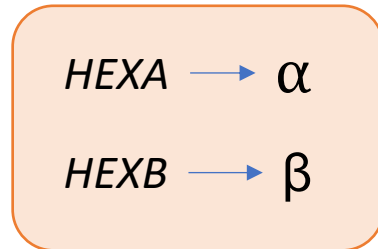
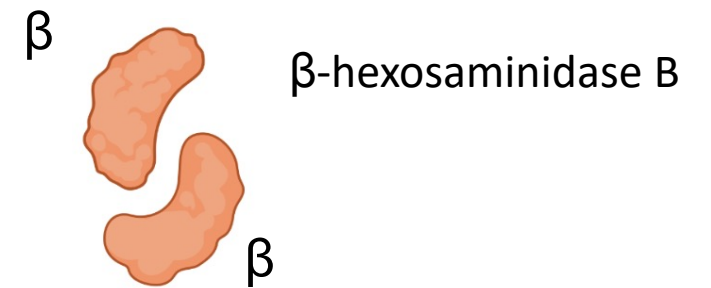
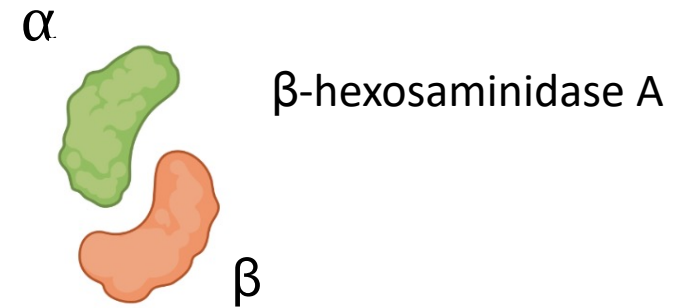
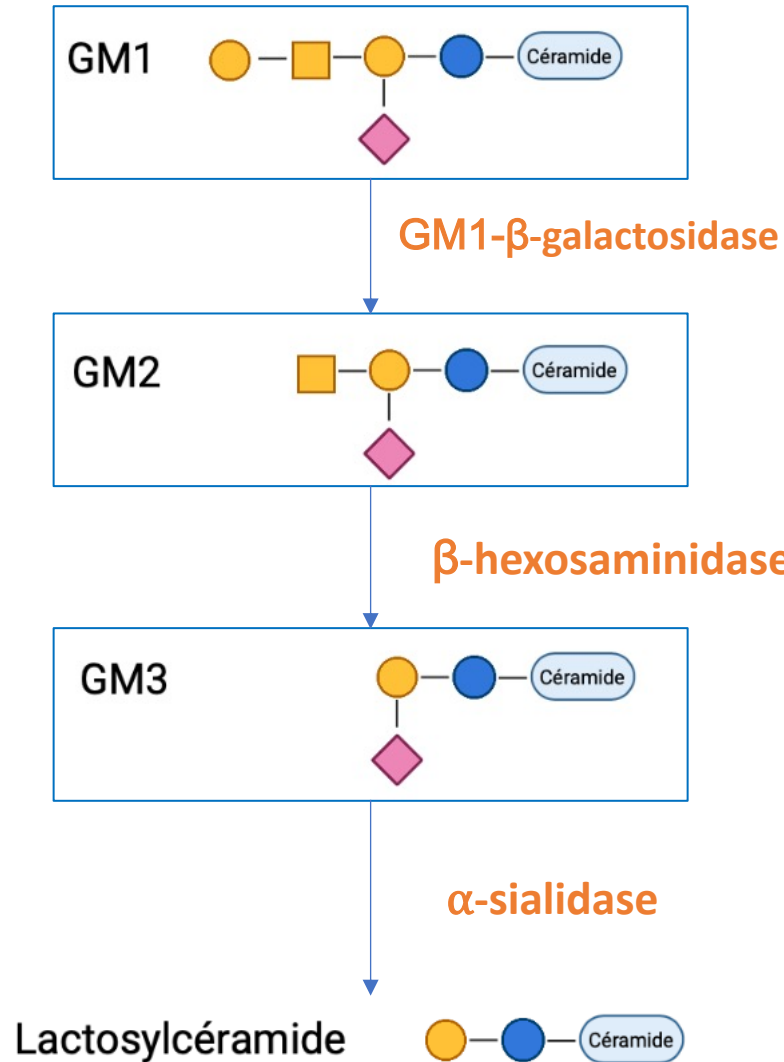
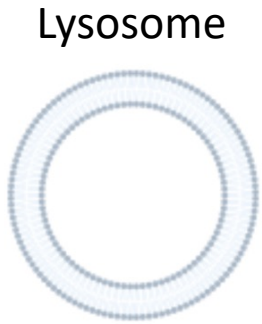
Synthèse



- Glucosyltransférases
- Sialyltransférases

- Nombre d'acides sialiques → classe de ganglioside
 - Longueur variable de la chaîne d'AG du céramide
- Grande diversité de gangliosides

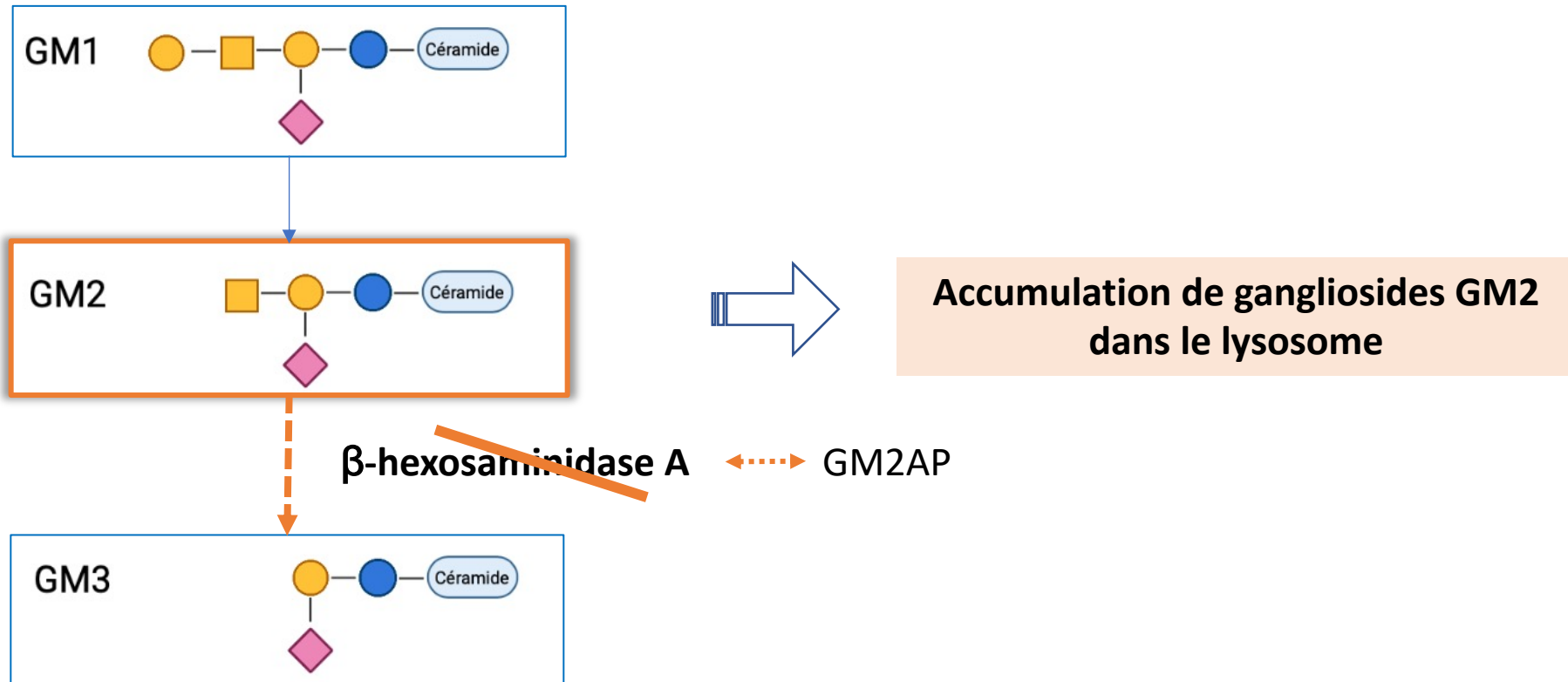
Catabolisme des gangliosides



Gangliosidoses à GM2

Gène	Déficit	Maladie
<i>HEXA</i> (α)	β -hexosaminidase A	Tay-Sachs (TSD)
<i>GM2A</i>	GM2AP	Tay-Sachs, forme variante AB
<i>HEXB</i> (β)	β -hexosaminidase A + B	Sandhoff (SD)

} AR



Présentations cliniques



Forme infantile : « aiguë »
→ premiers mois de vie

- Hypotonie
- Clonies audiogènes
- Cécité, tache rouge cerise sur la rétine
- Régression psychomotrice rapide
- Spasticité, épilepsie
- Macrocéphalie
- Organomégalie (SD)



Forme juvénile : « subaiguë »
→ 2 - 10 ans



- Ataxie cérébelleuse
- Dysarthrie
- Régression psychomotrice
- Spasticité, épilepsie
- +/- tache rouge cerise

- **Maladies neurodégénératives**
- **Décès précoce** : formes infantiles et juvéniles
- **Pas de traitement curatif**

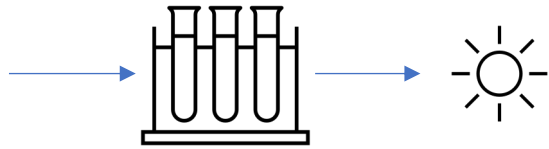


Forme adulte : « chronique »

- Dystonie, ataxie
- Atteinte du motoneurone et dysfonction spino-cérébelleuse
- Psychose (TSD)

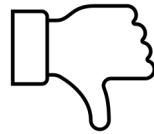


Diagnostic biologique



- Mesure **activité enzymatique** : fluorimétrie
 - β -hexosaminidases A et B plasmatiques
 - β -hexosaminidase A leucocytaire

- **Génétique** : *HEXA*, *HEXB* et *GM2A*



- **Déficit en GM2AP** : pas de déficit enzymatique *in vitro*
- **Pas de biomarqueur de suivi** de la maladie

Objectifs



Mise au point du dosage plasmatique des gangliosides par LC-MS/MS

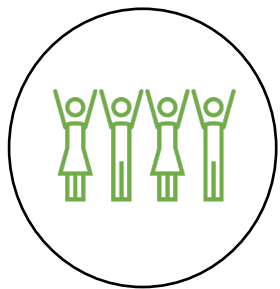
- ✓ Simple, rapide
- ✓ Quantification relative
- ✓ Validation de méthode



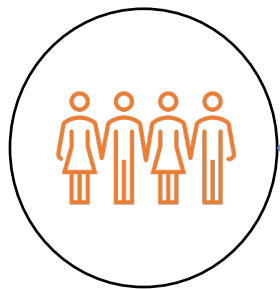
- GD3-34:1 et 36:1
- GM2-34:1 et 36:1
- GM3-34:1 et 36:1

Évaluation en tant que biomarqueur dans les gangliosidoses à GM2

➤ Diagnostic, pronostic



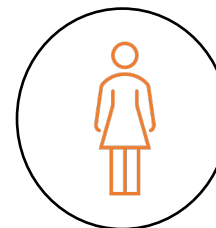
Contrôles
N=20



Gangliosidoses à GM2
N=19

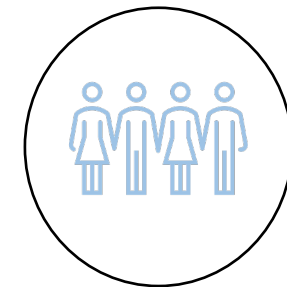
- 9 SD
- 9 TSD
- 1 variant AB

➤ Suivi



8 ans

➤ Spécificité



Autres maladies de surcharge lysosomales
N=23

Patients

Table 2
Demographic data and main clinical symptoms of GM2-Gangliosidosis patients.

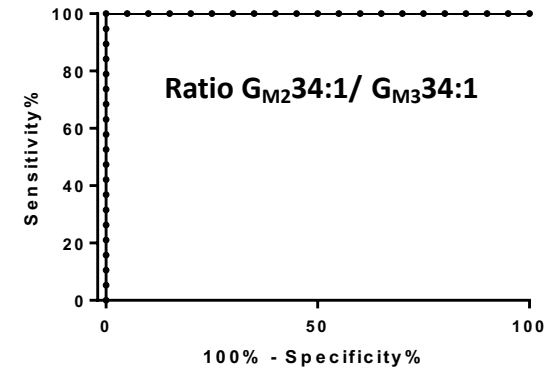
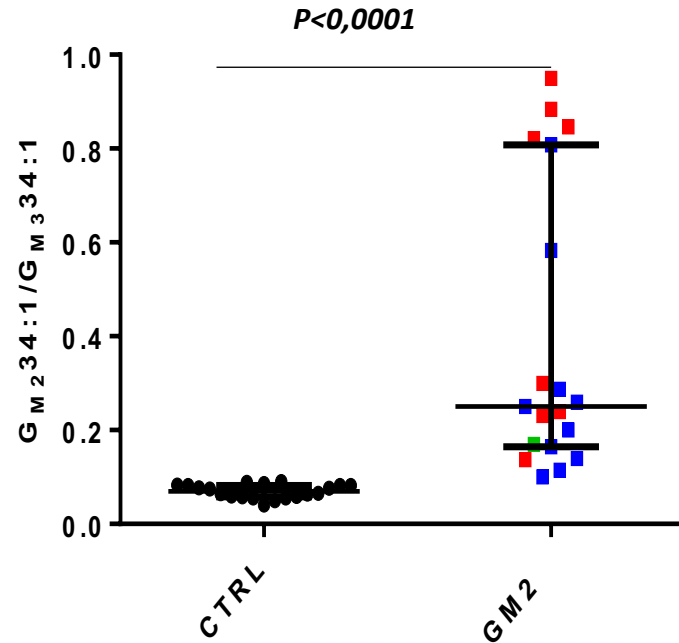
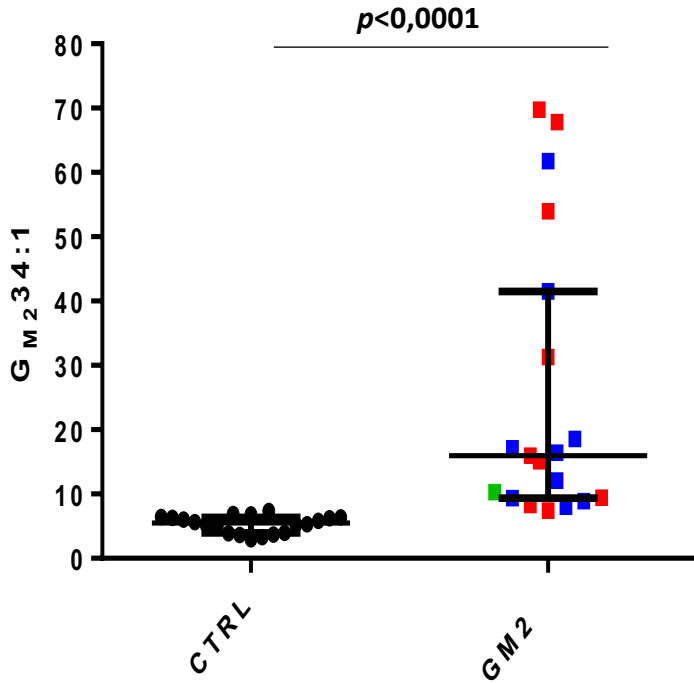
Patient	Age at sampling	Age at onset	Disease	Onset	Leuco Hexo A	Serum Hexo A + B	Serum Hexo B	PM delay	PM regression	Late-onset cognitive decline	Motor symptoms	Nerve conduction study	Brain MRI WM abnormalities	Genetic variants	
														(Gene) First allele Variant	Second allele Variant
P1	1,3 y	8 mo	SD	Early	NP	13	5	Yes	Yes (at 12 mo)	NR	Hypotonia	Neuropathy	Yes	NA	NA
P2	1,6 y	9 mo	TSD	Early	5	707	602	Yes	No (at 18 mo)	NR	Hypotonia	No	Yes	NA	NA
P3	1,6 y	1 y	TSD	Early	24	648	610	Yes	No (at 24 mo)	NR	Hypotonia	NP	Yes	NA	NA
P4	1,9 y	Birth	TSD	Early	8	580	525	Yes	Yes	NR	Hypotonia Dystonia	No	No	NA	NA
P5	2,1 y	1 y	TSD	Early	10	686	507	Yes	NR	NR	Hypotonia	No	Yes	NA	NA
P6	3,4 y	9 mo	SD	Early	122	26	7	Yes	Yes (at 16 mo)	NR	Hypotonia Dystonia	No	Yes	NA	NA
P7	1,5 y	1,4	TSD	Early	11	446	0,4	Yes	No	No	Hypotonia, dystonia	NP	Yes	NA	NA
P8	21 y	16y	TSD	Late	14	470	310	No	No	No	Weakness	Neuropathy	No	(HEXA) c.533G > A (p.Arg178His)	c.805G > A (p.Gly269Ser)
P9	27 y	11y	SD	Late	66	50	12	No	No	Yes	Ataxia Weakness	Neuropathy	No	(HEXB) c.171G > C (p.Trp67Cys)	c.176delT (p.Leu598*5)
P10	36 y	26y	TSD	Late	15	600	312	No	No	No	Weakness	Neuropathy	No	(HEXA) c.533G > A (p.Arg178His)	c.805G > A (p.Gly269Ser)
P11	43 y	11 y	SD	Late	125	554	19	No	No	No	Dystonia Ataxia	Neuropathy	No	(HEXB) c.1367A > C (p.Tyr456Ser)	c.1367A > C (p.Tyr456Ser)
P12	46 y	23 y	TSD	Late	20	624	403	No	No	Yes	Dystonia Ataxia Weakness	Neuropathy	No	(HEXA) c.805G > A (p.Gly269Ser)	c.915_917del (p.Phe305del)
P13	49 y	10y	TSD	Late	18	419	320	No	No	No	Weakness	Neuropathy	No	(HEXA) c.1A > T (p.Met17)	c.805G > A (p.Gly269Ser)
P14	22 y	10 y	AB variant	Late	NP	858	536	No	No	No	Ataxia weakness	Neuropathy	No	(GM2A) c.79A > T: (p.Lys27*)	c.415C > T (p.Pro139Ser)
P15	18 y	13 y	SD	Late	NP	49	7,2	No	No	No	Ataxia weakness	NP	No	(HEXB) c.171 del (p.Trp67fs)	c.1509-26G > A (p.7)
P16	23 y	14 y	SD	Late	NP	98	16	No	No	No	Dystonia, Weakness	Neuropathy	No	(HEXB) c.1510C > T (p.Pro504Ser)	c.1510C > T (p.Pro504Ser)
P17	33 y	21 y	SD	Late	NP	32	8	No	No	No	Ataxia, Weakness	NP	NP	(HEXB) c.1513C > T (p.Arg505Trp)	c.171G > C + c.176del (p.7)
P18	35 y	25 y	SD	Late	NP	48	4,4	No	No	No	Muscular cramps	No	No	(HEXB) c.1513C > T (p.Arg505Trp)	c.171G > C + c.176del (p.7)
P19	46 y	35 y	SD	Late	59	44	5,9	No	No	No	Weakness	Neuropathy	No	NA	NA

TSD: Tay-Sachs disease; SD: Sandhoff disease; HexoA: Hexosaminidase A activity (nmol/h/mg proteins); Hexo A + B: total β -hexosaminidase activity (nmol/h/mL); HexoB: β -hexosaminidase B activity (nmol/h); WM: White matter; PM: psychomotor; NR: Not relevant; NP: not performed; mo: months; y: year.

Hexosaminidase A (Leuc HexoA) activity was measured in blood leucocytes by using sulfate d substrate. Total (Hexo A + B) and hexosaminidase B (Hexo B) activities were measured in serum with and without heat denaturation, respectively.



Comparaison témoins/gangliosidoses à GM2



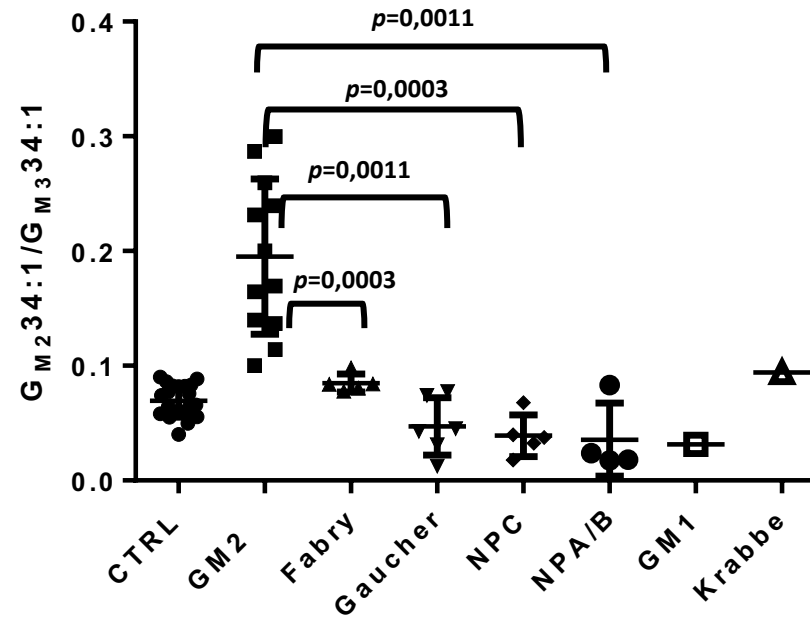
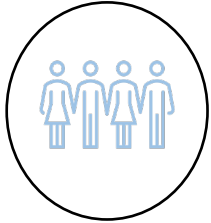
- Maladie de Sandhoff
- Maladie de Tay-Sachs
- Déficit en GM2AP

→ 100% Spécificité
100% Sensibilité

$G_{M2} 34:1$ et ratio $G_{M2} 34:1 / G_{M3} 34:1$
→ biomarqueurs **diagnostiques** des gangliosidoses à GM2

Mann-Whitney U test
**** = $p < 0,0001$

Gangliosides dans les autres maladies de surcharge lysosomale



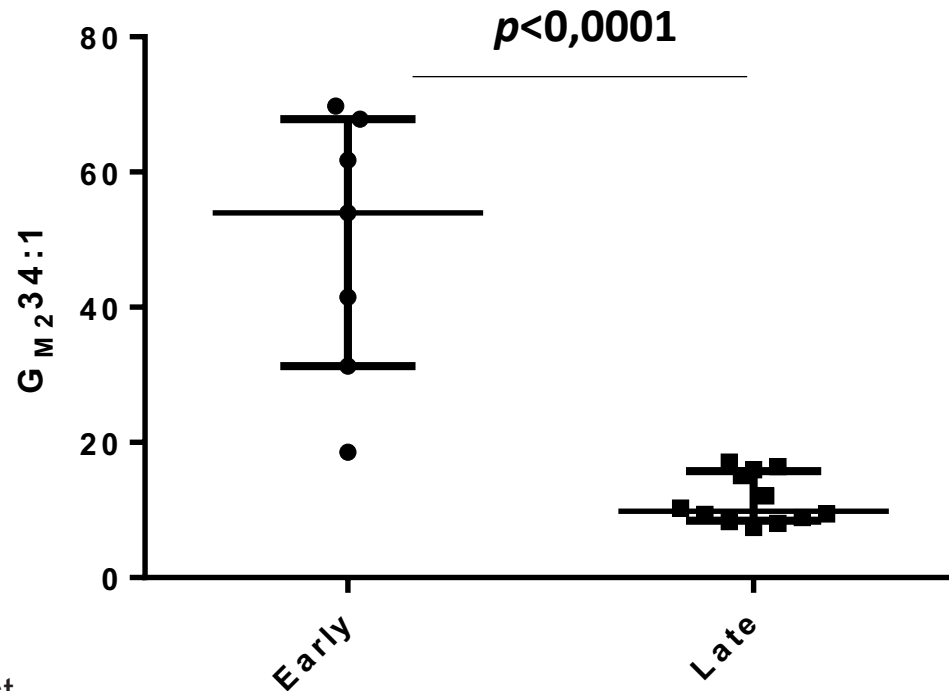
Augmentation du $G_{M_2} 34:1$ **spécifique** des gangliosidoses à GM2

Formes précoces et tardives des gangliosidoses à GM2



N = 7 Formes précoces (< 2 ans)

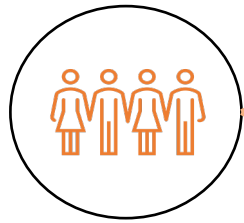
N = 12 Formes tardives (> 10 ans)



GM₂34:1 → biomarqueur pronostique

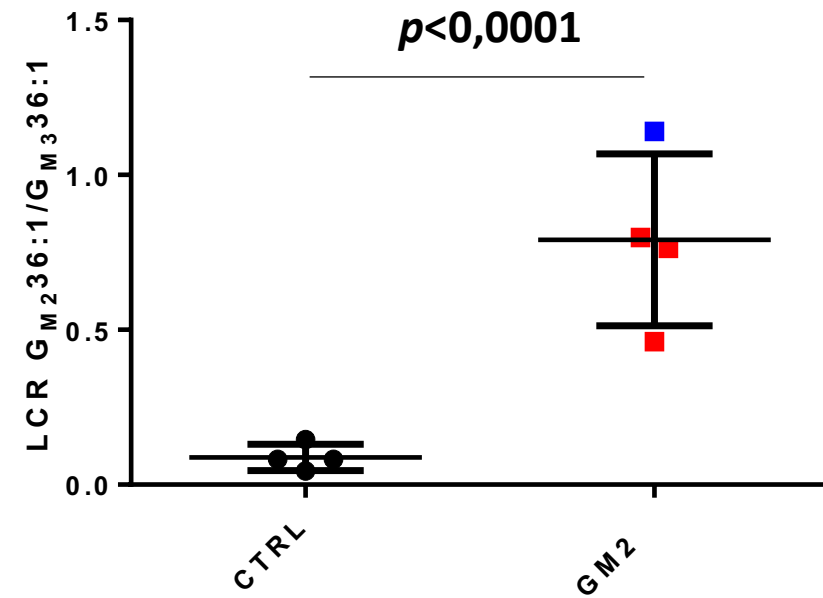
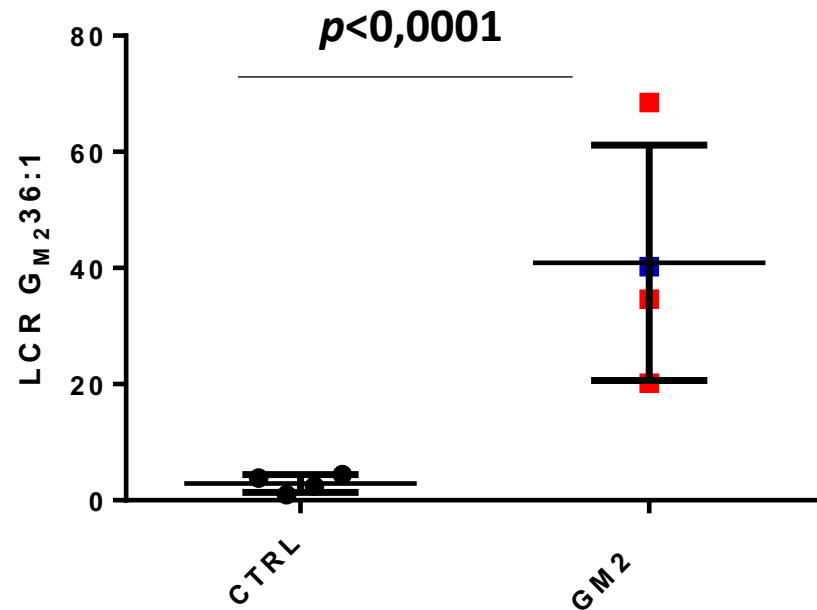
Mann-Whitney U test
**** = p < 0,0001

Les gangliosides à GM2 sont augmentés dans le LCR



N = 1 TS

N = 3 SD

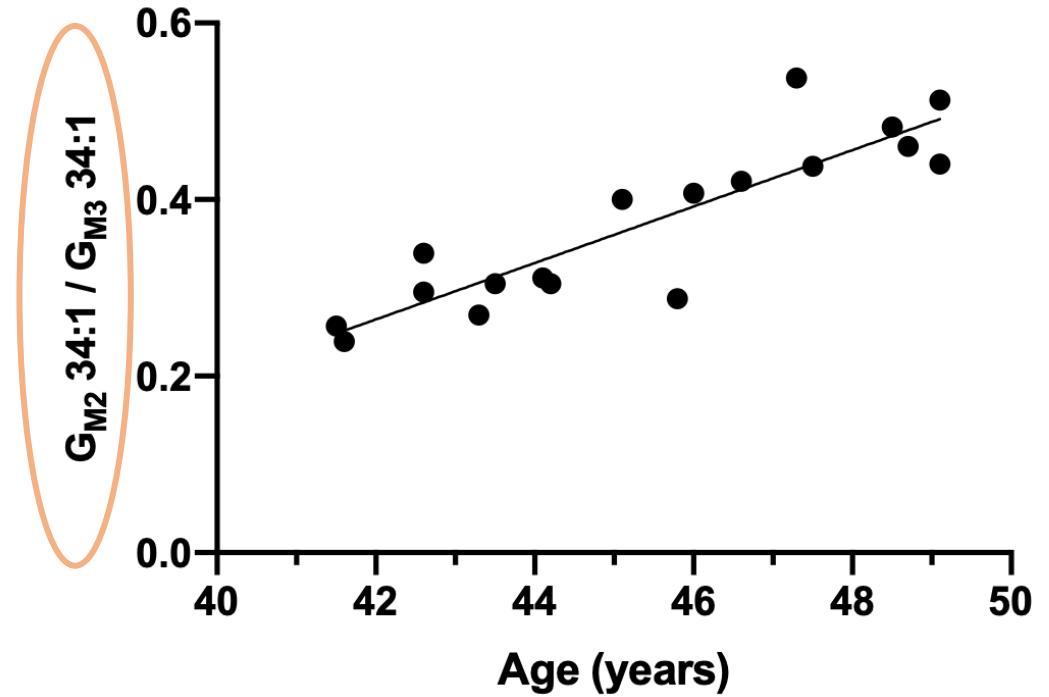
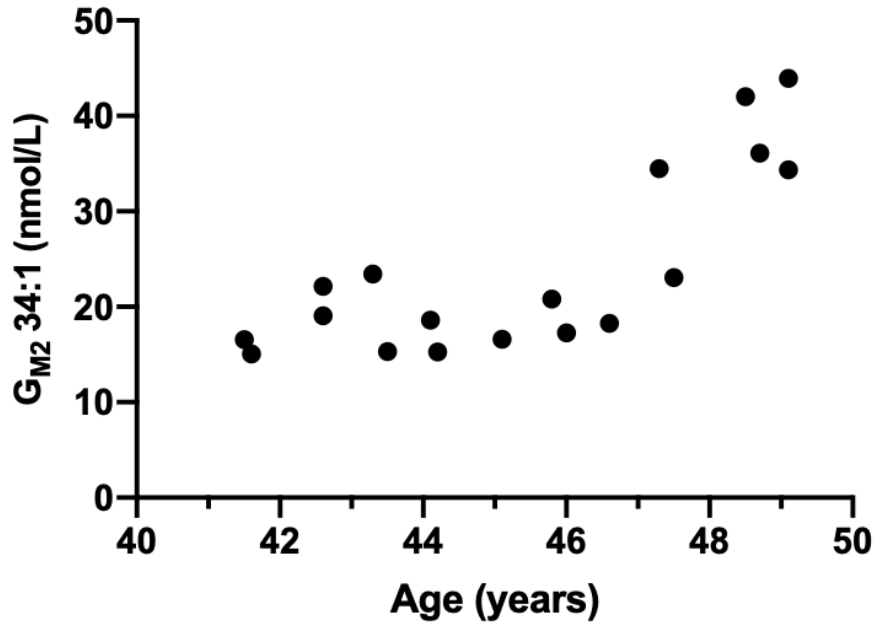


Évolution des gangliosides avec le temps



TSD
N = 1

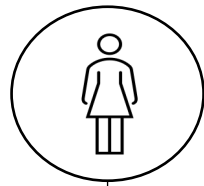
8 ans



GM₂ 34:1 / GM₃ 34:1

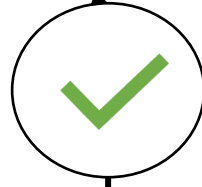
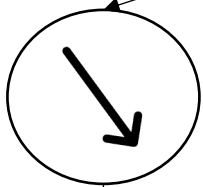
Ratio $GM_{2} 34:1 / GM_{3} 34:1$
→ biomarqueur de **suivi** des gangliosidoses à GM2

Place du dosage des gangliosides à GM2



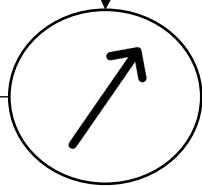
➤ Signes cliniques évocateurs

Dosage enzymatique
 β -hexosaminidases A et B

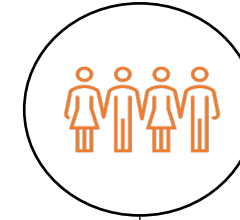
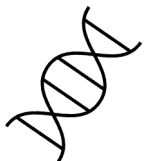


Déficit en protéine activatrice ?

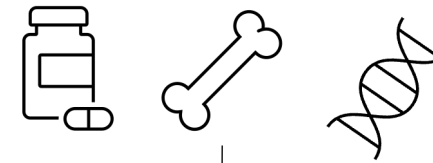
Gangliosides à GM2 plasmatiques



Gangliosidose à GM2



Suivi de la maladie



Suivi de l'efficacité thérapeutique

Molecular Genetics and Metabolism 138 (2023) 106983



Contents lists available at ScienceDirect

Molecular Genetics and Metabolism

journal homepage: www.elsevier.com/locate/ymgme



Plasma GM₂ ganglioside potential biomarker for diagnosis, prognosis and disease monitoring of GM2-Gangliosidosis



Amélie Blondel^a, Ichraf Kraoua^{b,c}, Chloé Marcelino^a, Walid Khrouf^a, Dimitri Schlemmer^a, Benjamin Ganne^d, Catherine Caillaud^e, Gorka Fernández-Eulate^{g,h}, Ilhem Ben Youssef Turki^{b,c}, Benjamin Dauriat^d, Dominique Bonnefont-Rousselot^{a,f}, Yann Nadjar^g, Foudil Lamari^{a,*}

MERCI POUR VOTRE ATTENTION !

Service de biochimie métabolique :

- Amélie Blondel
- Walid Khrouf
- Dimitri Schlemmer

Service de Neuropédiatrie, La Rabta-Tunis

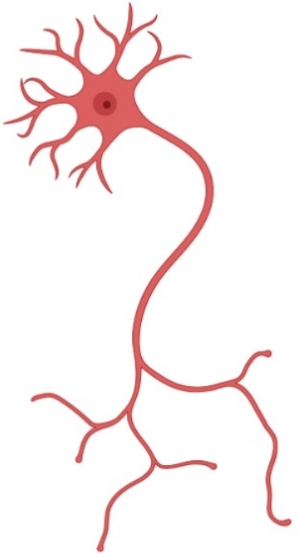
- Ichraf Kraoua

Service de neurologie – Centre de référence des maladies lysosomales :

- Yann Nadjar
- Gorka Fernandez

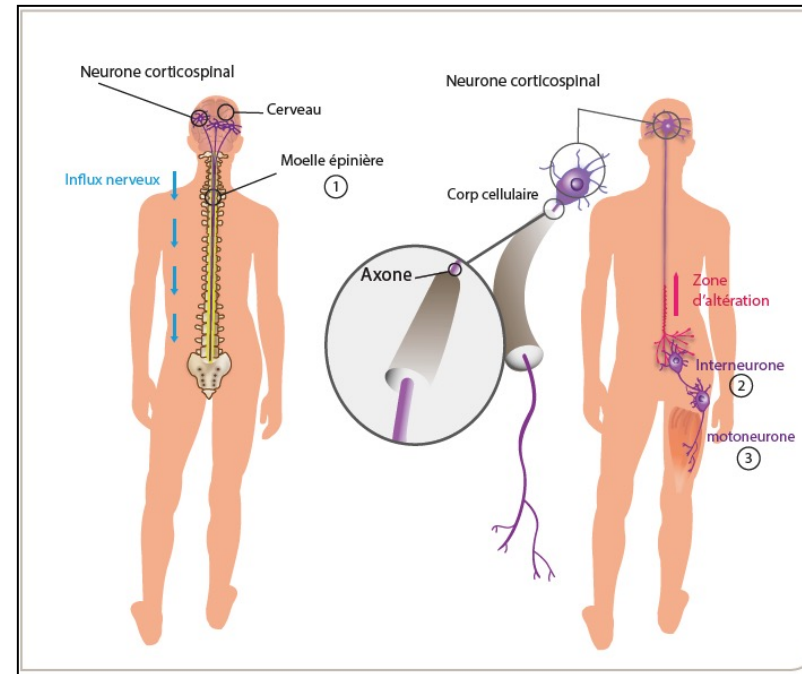
Service de Génétique, Cytogénétique- CHU Limoge

- Benjamin Ganne



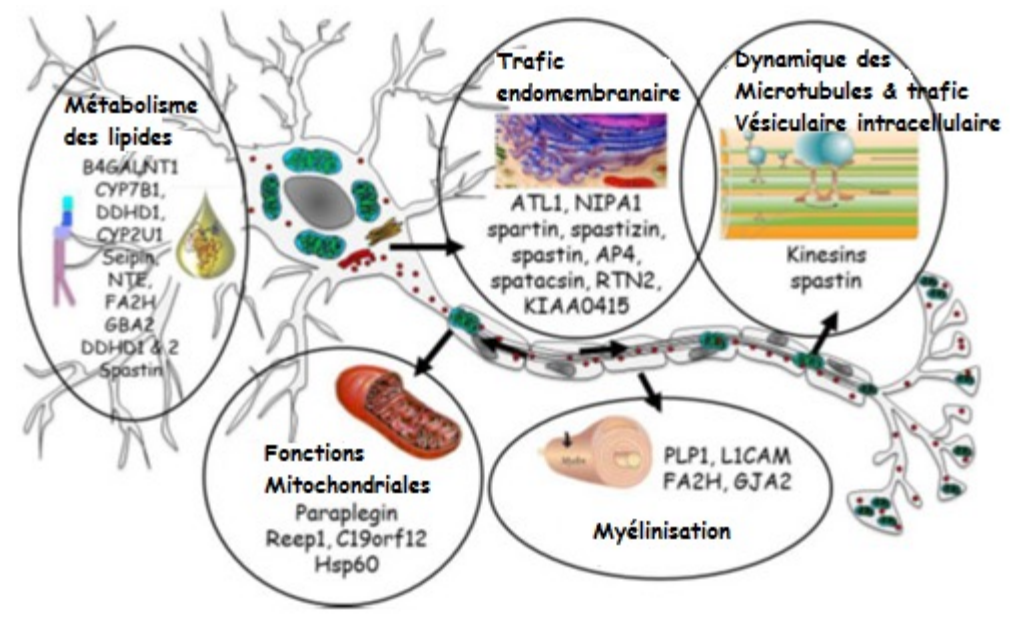
Les paraplégies spastiques héréditaires (PSH)

- Maladies génétiques rares, neuro-dégénératives génétiquement et cliniquement hétérogènes
- Déficit d'une structure nerveuse de la moelle épinière
- Provoque une paraplégie ou une paraparésie des membres inférieurs
- Age de début variable
- Formes pures ou complexes



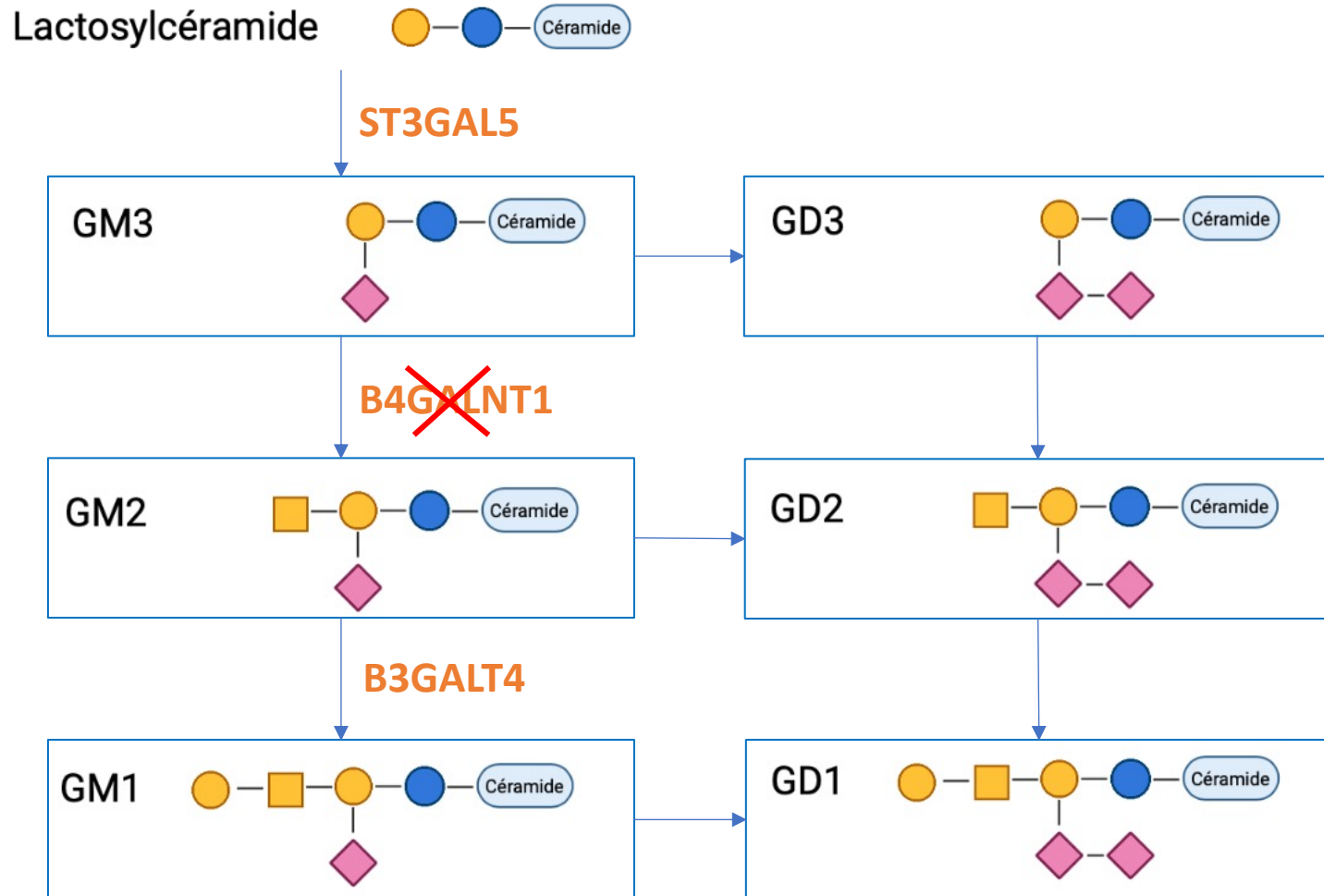
Les gènes impliqués dans les PSH

- >80 gènes liés à des processus cellulaires différents ont été impliqués.



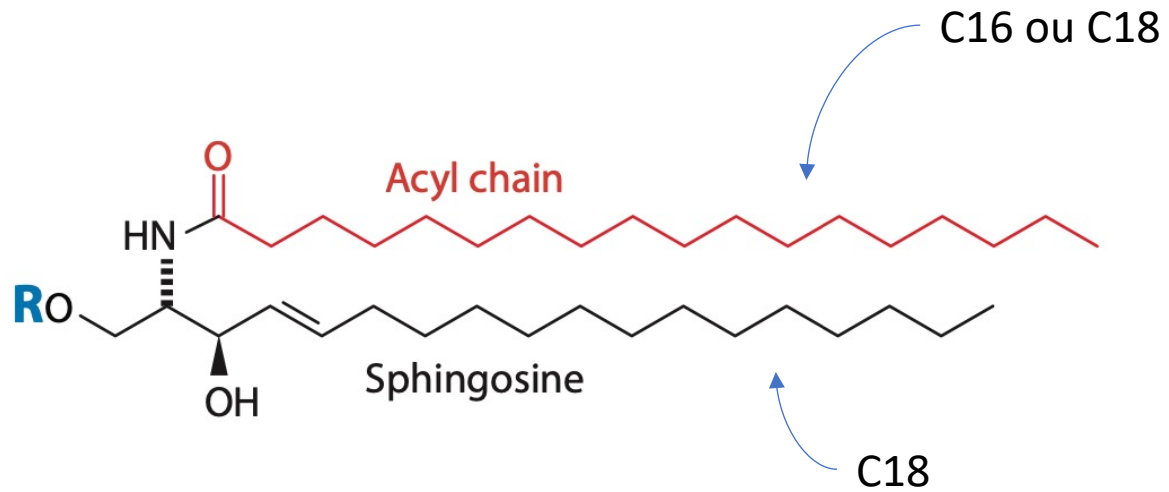
- ***B4GALNT1*** code pour beta-1,4-N-acetylgalactosaminyl transferase-1 (GM2-GD2 synthase):
Gène impliqué dans la SPG26

SPG26



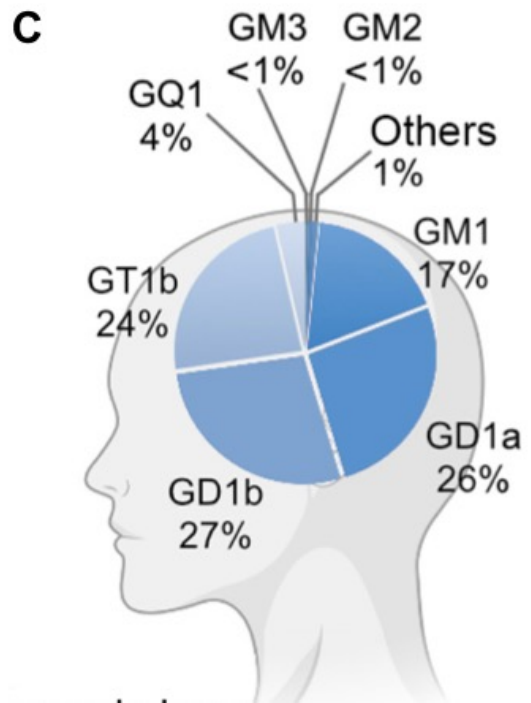
**Mutation du gène B4GALNT1,
transmission récessive**

Clinique: forme complexe de PSH:
troubles cognitifs
retard de développement,
ataxie cérébelleuse,
dysarthrie et neuropathie périphérique.



- GD3-34:1 et 36:1
- GM2-34:1 et 36:1
- GM3-34:1 et 36:1
- SI → CD5-GM3

Quantification relative



Sipione_2016_Frontiers in Neuroscience