

Biochimie ronéo N13

mercredi 13/4

Pr. Kotler

Groupe 58 : Julie & Jules

Lésions génétiques.

### **Lésions génétiques**

#### **Tests Génétiques.**

test génétique = séquençage du gène, peut aider à confirmer le diagnostic.

Le diagnostic génétique n'est utilisé que si c'est le meilleur choix, dans le cas clinique où les signes sont pléiomorphes, il confirme le diagnostic.

En revanche pour d'autres pathologies comme l'hémochromatose, il n'est pas nécessaire et il est plus facile de faire un dosage du fer, c'est moins cher.

#### **Le test génétique permet de reclasser la pathologie.**

Par exemple le cancer de la glande thyroïde peut s'intégrer dans un syndrome plus complexe appelé NEM2 (néoplasie endocrinienne multiple). Dans ce cas le test génétique met en évidence une mutation du gène *ret* et on va rechercher un phéochromocytome (très grave, risque vital). La mutation du gène *ret* associe le cancer de la thyroïde au phéochromocytome, la génétique permet donc d'anticiper les risques de poussée hypertensive et de mort dues au phéochromocytome.

Permet de différencier dystrophie de Duchenne ou de Beckers par exemple (voir plus loin).

#### **Critères de validité.**

sensibilité= proportion de sujets affectés avec un test positif.

pénétrance= proportion de sujets avec mutation qui présentent la maladie. Pour certains gènes la pénétrance est de 100%.

Gène *ret* : 100%

Gène BRCA1 : 26 à 86%

#### **définition d'une population à risque :**

HFE et hémochromatose.

Facteur V de Leiden (1 à 5% de la population) et risque de thrombose, risque d'embolie pulmonaire : faut-il rechercher cette mutation lors d'une prescription de CO ?

#### **L'Éthique.**

Les patients doivent donner leurs consentement "éclairé" et ce non pas pour une étude

génétique globale mais précise. Ceci évite que le laboratoire lors d'une recherche du gène HFE de l'hémochromatose, s'intéresse aussi aux facteurs de risques des gènes impliqués dans le diabète pour les transmettre à une police d'assurance qui en profitera pour augmenter la police si les facteurs de risque sont avérés.

Ces analyses ne peuvent être faites que par des laboratoires et des praticiens agréés. Dans le cadre d'études familiales, c'est le patient qui doit contacter les membres de sa famille et non le médecin (secret médical).

Identification de facteurs de risques :  
dérive eugénique  
discrimination => Prime d'assurance etc.....

### **Etudes génétiques chez un mineur.**

Il est interdit de faire des études chez des sujets mineurs. exception : s'il y a un bénéfice direct. Si maladie à révélation tardive il faut attendre la majorité. Donc pas de diagnostic prédictif.

si bénéfice direct :

Ret : thyroïdectomie préventive puisque 100% de pénétrance donc l'enfant sera malade.

cas de dépistage néonatal

TSH/Guthrie/mucoviscidose

Pas de diagnostic prédictif.

### **Risque familial**

Diagnostic présymptomatique.

Mutation du gène ret => thyroïdectomie préventive (même exemple)

Si possibilité d'action préventive : une femme vient se faire enlever son goitre parce que sa sœur avait été opérée de la même façon quelques années auparavant. Le chirurgien trouve dans le dossier de la sœur qu'elle avait un cancer médullaire de la thyroïde. Avant d'opérer il a demandé une analyse génétique afin de savoir si le symptôme de la patiente rentrait dans le cadre d'une néoplasie endocrinienne multiple. L'analyse génétique a mis en évidence la mutation, il a donc enlevé la médulo-surrénale à cause du phéochromocytome afin de réduire le risque d'hypertension puis il a opéré le cancer de la thyroïde. Cette femme avait un enfant et l'étude génétique mit en évidence la mutation du gène ret, il a donc pu bénéficier d'une thyroïdectomie d'une glande presque saine.

Ex : cancer du sein et BRCA1. Pénétrance plus faible donc on attend l'âge adulte, si la patiente a le gène altéré. Surveillance accrue des l'âge de 20 ans examens réguliers voire mammectomie préventive bilatérale.

sujet à risque : surveillance

Ex : chorée de Huntington (pathologie du motoneurone et altération des fonctions cognitives). Aucun traitement donc sujet délicat. Utilité de le révéler au patient ?  
Utilité du test génétique pour le diagnostic pré-implantatoire sans révéler au parents s'ils

ont le gène muté (si tel est leur souhait).  
pas de traitement.

### Diagnostic des hétérozygotes.

Exemple : mucoviscidose, c'est une maladie rare ( l'une des plus fréquentes). La mucoviscidose va entraîner un trouble de la sécrétion au niveau des alvéoles pulmonaire. Les enfants meurent asphyxiés dans un tableau d'insuffisance pulmonaire et pancréatique, maladie grave. Il existe un dépistage néonatal pour améliorer les traitements. La fréquence des hétérozygotes est de 1/30.

=> si le sujet est porteur hétérozygote intérêt de savoir si le conjoint porte aussi la mutation parce que 1/4 que l'enfant ait la mutation.  
Étude systématique du conjoint d'un hétérozygote.

Aucun intérêt pour HFE (hémochromatose). La pénétrance est très faible. Seuls 1% des sujets avec un génotype muté développeront une hémochromatose.

mutation liée à l'X : identification des femmes transmettrices (dystrophie musculaire de Duchenne).

### Diagnostic prénatal.

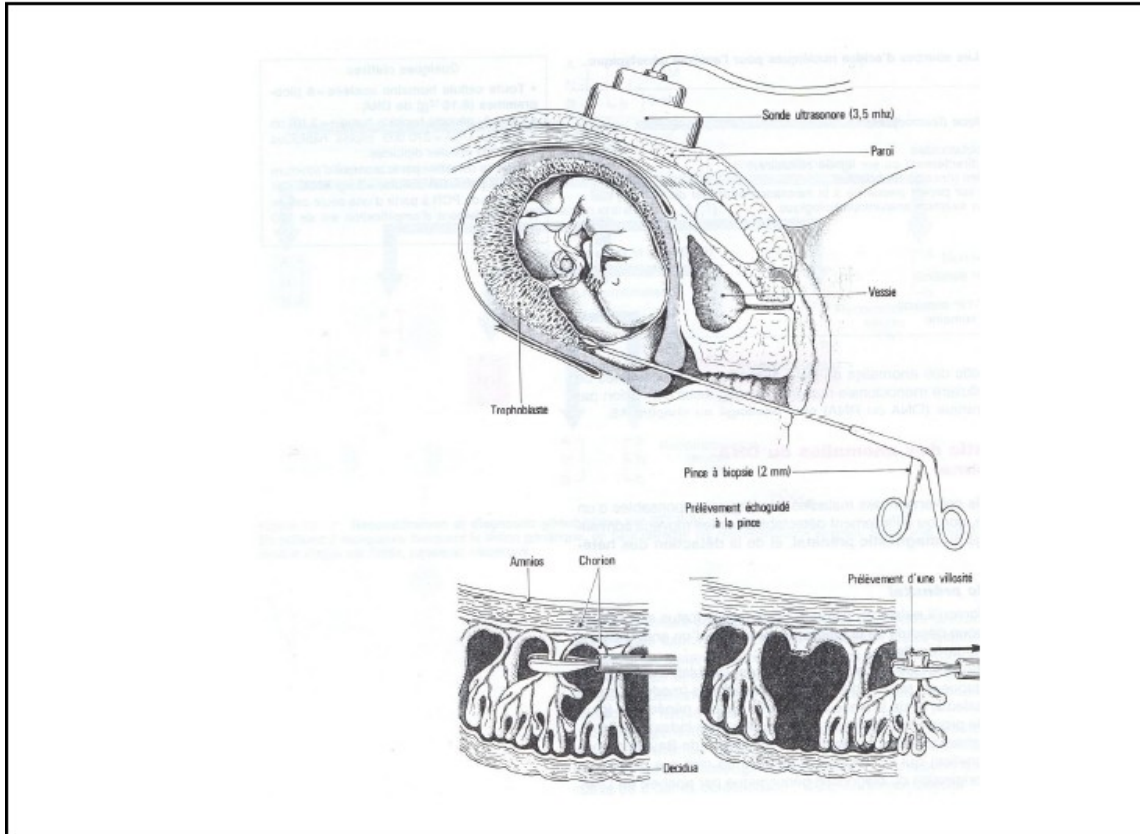
#### **Situations particulières :**

Paternité, dans le cas d'un donneur de sperme on ne peut pas tester toute les maladies qui existent...

IAD/accueil d'embryon.

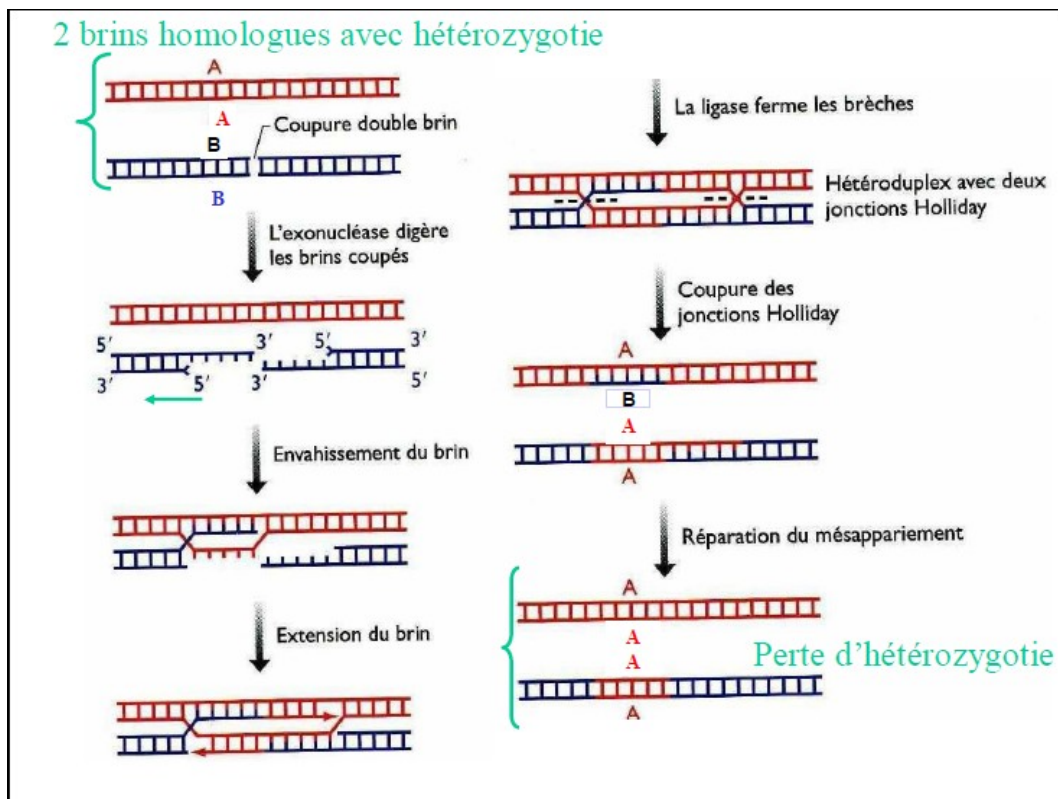
Découverte fortuite d'une autre pathologie.

"alors ca c'est tout un blabla que vous avez déjà vu hein, je fais ca très rapidement les sites de mutation, les sites d'épissage, les mutation synonymes et non synonyme".



biopsie trophoblastique. Au stade ou le placenta est encore diffus, on traverse le col pour prendre un bout de trophoblaste d'origine foetale se fait vers la 10 ème semaine. Autre moyen : 15è semaine, ponction amniotique.

La perte d'hétérozygotie :



Par un mécanisme de recombinaison homologue, le fragment qui contient la zone saine est remplacé par un fragment qui contient la zone mutée => homozygotie. On peut voir cela dans les tumeur.

Nb : l'étude génétique peut être faite par prélèvement sanguin grâce aux lymphocytes (cellules qui ont un noyau) et non grâce aux hématies.

### Du gène à la protéine.

Effet de la mutation sur la fonction biologique de la protéine.

Ex : dystrophie de Duchenne et Beckers. C'est le même gène : dystrophin

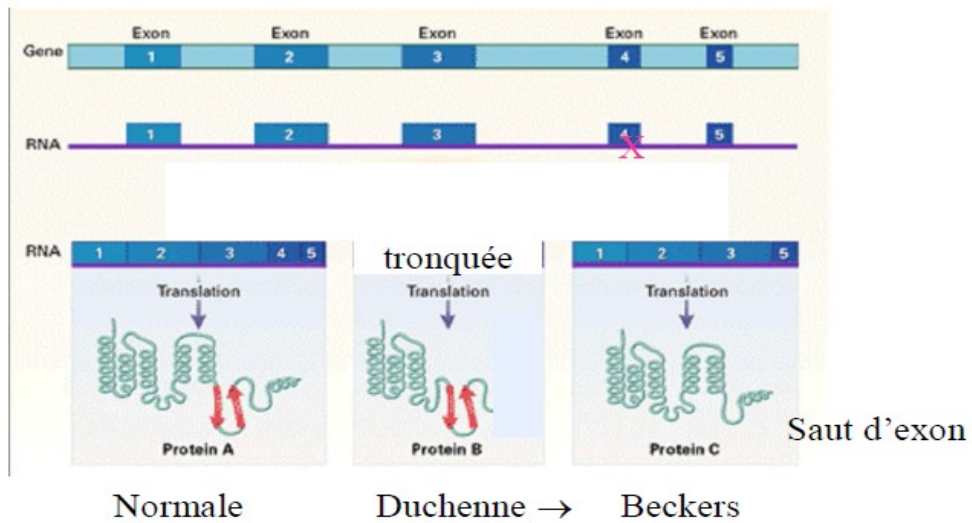
protéine tronquée : stop/épissage= Duchenne

délétion en phase ou "exon skipping" ( la partie c terminale de la dystrophine est conservée) : la protéine est synthétisée et ne présente qu'une altération de sa fonction -> thérapie génique.

Altération génétique =>on a un codon qui va changer, une insertion, une délétion. Ce gène code pour une protéine, on a alors deux cas de figure : soit elle est synthétisée mais n'a pas tout à fait la même séquence donc pas les mêmes propriétés biologiques, soit elle n'est pas du tout synthétisée. Dans la dystrophie musculaire de Duchenne la protéine (dystrophin) n'est pas du tout synthétisée tandis que dans la dystrophie de Beckers, la

protéine est synthétisée mais pas complètement fonctionnelle (seule la partie C terminale est conservée). Ceci se traduit par le caractère morbide de la maladie de Duchenne tandis que la dystrophie de Beckers est moins grave. Cela permet d'envisager de nouvelles pistes thérapeutiques.

## Thérapie génique



**Gain de fonction/perte de fonction.**

**Perte de fonction : récessive.**

Ex du récepteur de la LH.

## Syndrome de résistance à la LH :

Rappel : LH va stimuler les cellules de Leydig. C'est une hormone gonadotrope, stimuline qui va stimuler le testicule. Le récepteur membranaire qui est un RCPG. A cause de la mutation perte de fonction le petit garçon a hérité des deux allèles mutés de ses parents sur le récepteur de la LH. La LH ne peut plus stimuler les cellules de Leydig. Hypoplasie des cellules de Leydig, elle ne vont plus stimuler la synthèse de testostérone.

Pas assez de testostérone pour développer le phénotype masculin.

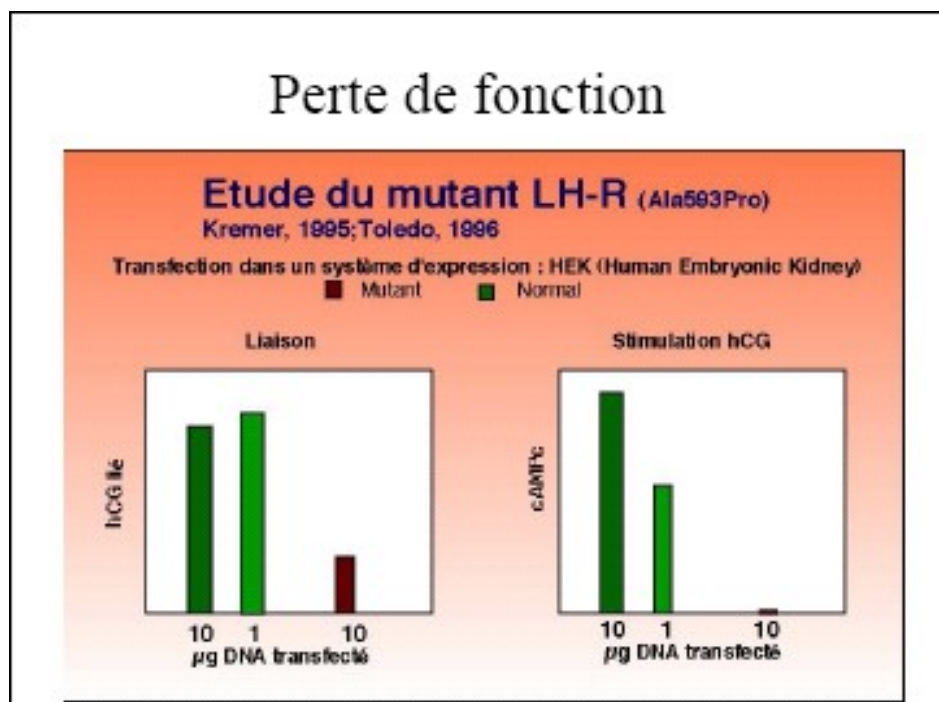
On a une LH trop élevée et la testostérone n'est pas synthétisée.

A la naissance ambiguïté sexuelle (46XY)=pseudohermaphrodisme masculin.

Défaut de sécrétion de testostérone.

(Biopsie testiculaire : pas de cellules de Leydig avant la génétique).

Transmission autosomique récessive.



L'HCG et la LH utilisent le même récepteur. Le récepteur muté est biologiquement inactif, la mutation entraîne une perte de fonction de la molécule.

## **Gain de fonction : dominant.**

Souvent impliqué en cancérologie : voie des tyrosines kinase.

une mutation va conférer une activité supra normale à la molécule.

L'organisme en règle générale tolère bien l'insuffisance mais ne tolère pas dans certaines conditions qu'une protéine soit superactive. En cancérologie on s'aperçoit que certaines mutations donnent à la molécule synthétisée une hyperactivité et quand cette molécule

intervient sur les voies de la division cellulaire, la cellule va trop se diviser et donc proliférer. Les mutations du gène *ret* vont cibler un domaine tyrosine kinase et cette activité tyrosine kinase va phosphoryler des médiateurs cellulaires impliqués dans le développement tumoral.

### Testotoxicose.

Garçon, puberté précoce (avant 4 ans). Croissance précoce mais maturation des cartilages de croissance donc à l'adolescence, l'enfant sera très petit.

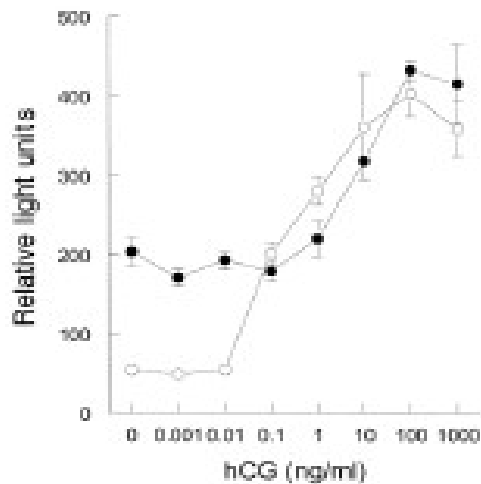
Transmission familiale autosomique dominante.

Testostérone élevée, gonadotrophine indépendante. La testostérone est sécrétée quasiment toute seule.

Mutation TM6 : G578D => "in vitro" : production d'AMPc en l'absence d'agoniste.

## Activité biologique « gain de fonction »

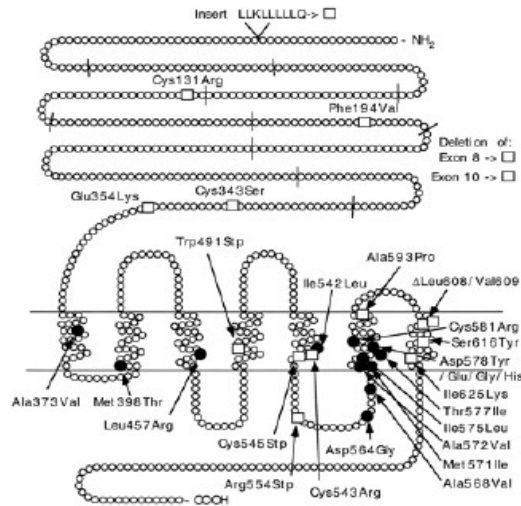
Expression du récepteur mutant dans des cellules COS



Le récepteur est actif sans avoir besoin de ligand. Le récepteur est en conformation active, il est constitutivement actif. C'est un gain de fonction.



# Mutations LH recepneur



Mutations perte de fonction = n'importe où sur le gène.(carré)  
Mutations gain de fonction = dans des domaines ciblé du gène (noir).

**Polymorphismes (“vu en P1”), pas vu cette année.**

-Mutation synonyme  
ex TCA (ser) et TCC (ser)

-Pas d'altération des fonctions biologiques de la molécule synthétisée : la substitution d'un acide aminé au sein d'une protéine ne signifie pas une mutation : il faut le démontrer !

-Variation retrouvée chez plus de 1% des sujets normaux.

SNP=single nucléotide polymorphisme ( dans région non codante) : découvertes du projet génome

Polymorphisme de restriction ( dans région codante ou non)  
fragments de taille différente

De répétition

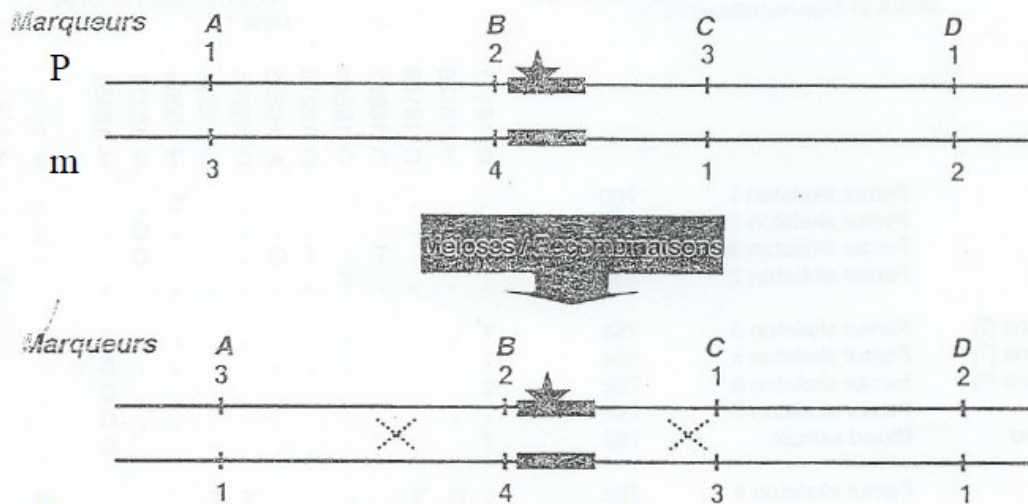
Minisatellites  
Microsatellites  
CNV= copy number variants (>1kb)

### Les haplotypes.

Definition : assortiment d'allèle à des locus différents d'un même chromosome.

## Haplotype 1

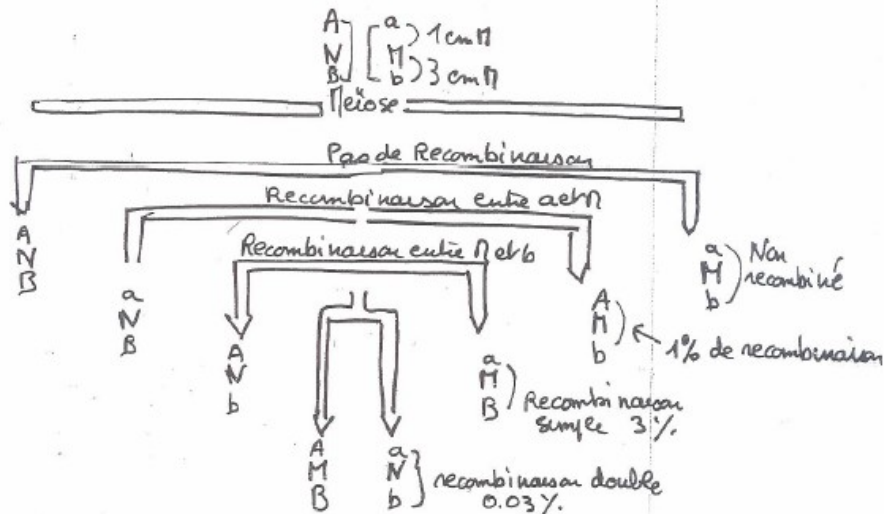
Le chromosome d'origine paternelle et maternelle est marqué par des polymorphismes alléliques sur des locus proches



Un crossing-over méiotique modifie l'agencement des marqueurs

chromosome originaire du père : P  
chromosome d'origine maternelle : m

Exemples : A = site de restriction polymorphe (1 ou 2)  
 M/N = micro satellite  
 b/B = mini satellite



La distance génétique :

site de restriction : deux allèles A & a.

micro satellite : M/N

mini satellite : B/b

1) Pas de recombinaison.

2) Recombinaison A et M = 1% ceci implique que la distance entre le site de restriction et le micro satellite est de 1 centimorgan.

3) Entre les marqueurs M et b on a 3% de recombinaison donc les deux marqueurs sont plus éloignés. => 3 centimorgans. C'est la distance génétique entre deux marqueurs

Exercice

On va édifier un haplotype. Un haplotype c'est un bloc de marqueur qui est toujours transmis ce sont des marqueurs très proche pour lesquels il n'y a pas de recombinaison ils sont tellement les uns à côté des autres qu'ils sont transmis en bloc et ils vont permettre de marquer un chromosome. L'intérêt des haplotypes c'est le clonage positionnel (comment identifier des gènes impliqués dans la maladie) mais c'est aussi une façon de suivre la transmission du gène muté.

Ces gènes sont au niveau du locus et dans ce locus on a identifié des marqueurs et tout ça se transmet en bloc.

On est ici sur le chromosome 19 il y a un certain nombre de marqueurs qui porte un numéro. Ce marqueur est un microsatellite et il a 5 allèles possibles. On a ici un lot de 4 marqueurs. On sait ici que le sujet est malade, on sait que c'est au niveau du chromosome 19 on a le locus au sein des 4 marqueurs mais on a pas la mutation. Chez ce sujet la on va chercher les haplotypes c'est à dire que l'on va chercher les allèles pour chacun des marqueurs pour le marqueur 1193 on a deux allèles (2 et 4).

Donc la il est homozygote au niveau de ce locus la. Cependant on ne peut pas construire d'haplotype ici car on ne sait pas comment ils sont alignés sur les chromosomes donc on n'a besoin des parents.

Maintenant on a les parents: la mère est hétérozygote or l'enfant est hétérozygote donc il a forcément hérité de l'allèle 2 de sa mère donc l'allèle 4 vient du père.

Là, l'enfant est 1 et 2 mais on ne sait pas d'où provient l'allèle 2 cependant le 1 vient obligatoirement du père donc le 2 vient de la mère.

On va pouvoir construire les haplotypes:

application aux exemples:

le 2 vient de la mère, le 4 du père

le 1 vient du père le 2 de la mère

Le 10 vient du père ou de la mère donc on aligne

le 3 vient forcément du père et 2 mère

donc on a vraiment identifié l'haplotype des chromosomes donc on a vraiment identifié les marqueurs du chromosome paternel et maternelle.

L'enfant est malade donc on sait que le gène est muté sur tel ou tel chromosome

L'enfant a hérité des deux chromosomes qui portent le gène muté.

Objectif: Faire du diagnostic pré natal

Cependant ce diagnostic est utilisé quand on ne connaît pas la lésion exacte mais on connaît le locus. On identifie le chromosome du gène lésé: diagnostic indirect étude donc limitée au locus et à la même famille.

Pour le fœtus on fait une biopsie trophoblastique on identifie les différents allèles aux 4 locus donc on n'a plus qu'à reconstruire l'haplotype.

Ici, l'enfant a hérité du chromosome sain de sa mère, cet enfant est hétérozygote car en revanche il a hérité du chromosome atteint de son père.

Le gène de la dystrophie de Duchenne de Boulogne est un gène très compliqué c'est pourquoi on fait une analyse de liaison. Autour du gène on a des marqueurs on sait que c'est le chromosome X qui porte la pathologie ce sont les marqueurs AB. Le père est

a2b1, non pathologique, donc la mère a le a1b1 pathologique et son père lui a transmis le a1b2 qui est normal.

La mère a 3 enfants, 2 filles et 1 garçon donc la première fille (tout à gauche) a hérité du a2b1 de son père (non pathologique) ainsi que le a1b2 de sa mère non pathologique.

Donc la première fille n'est pas atteinte.

La seconde possède le a2b1 de son père et le a1b1 de sa mère qui est lui pathologique donc elle hérite de la maladie par sa mère.

Le garçon qui lui n'a qu'un seul chromosome X a malheureusement hérité du a1b1 de sa mère donc associé au gène morbide.

Le gène est entre les marqueurs bien sûr les marqueurs doivent être très serrés donc qu'il n'y ait pas beaucoup de méiose et l'haplotype doit être en bloc pour pas qu'il y ait de recombinaison

Une des conséquences et le déséquilibre de liaison:

La nous sommes dans le système HLA sur le chromosome 6 et c'est là qu'il y a le chromosome HFE lié à l'hémochromatose. On s'est aperçue qu'une grande partie des personnes ayant le gène muté avait au niveau du système HLA les allèles DR4 et A3 avec une proportion ici A3 70% pour DR4 associée plus faible c'est-à-dire que ces deux allèles sont liés et la HLA A3 est transmise en bloc très peu de recombinaison. Depuis que l'hémochromatose existe ils sont transmis en bloc.

Attention tous les patients ayant l'allèle HLA A3 n'ont pas forcément le gène muté. Il faut bien comprendre que les patients qui sont malades (avec gène muté) 70% ont l'allèle A3 mais tous les patients A3 n'ont pas forcément le gène muté. Cela veut dire qu'à un certain moment un individu a eu une mutation dans le gène HFE et qu'il avait à proximité l'allèle A3 et l'allèle DR4 et que tous les patients qui ont l'allèle A3 descendent tous de ce sujet on appelle ça un effet fondateur: à un certain moment un individu a eu une mutation il avait juste à côté un certain nombre de marqueurs qui ont continué à être transmis avec la mutation (transmis en bloc) et toute sa descendance a gardé les marqueurs puisque ce sont des haplotypes donc juste à côté.