



RONÉOS DFGSP2 2020 - 2021

UE PL2.18 : BMOL 3

Date : 29/09/20

Enseignant : TRIAN THOMAS

Plage horaire : 10h30-12h30

N°ISBN : 978-2-37366-088-3

Ronéistes

LAROCHE Bertille -bertille.laroche@orange.fr
ESSOBAI OMAIMA- omaimaessobai@gmail.com

Les maladies génétiques

Plan du cours :

IV- Les arbres génétiques

- A. Conventions
- B. Exemples d'arbres

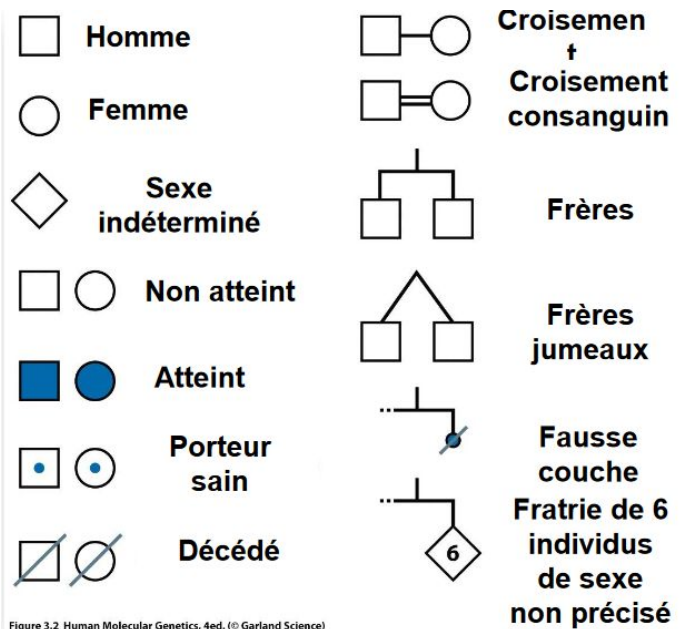
V-Exemples et diagnostic des maladies génétiques

- A. Hémochromatose
- B. La mucoviscidose

IV- Les arbres

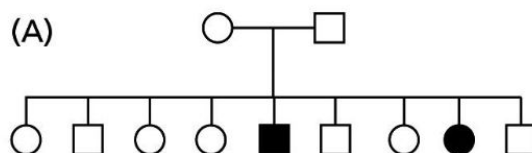
A. Convention

Il existe une nomenclature internationale de représentation des individus dans un arbre génétique :

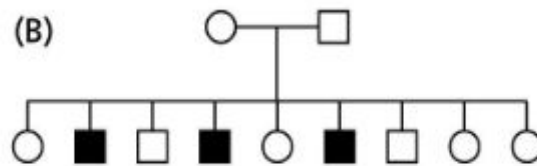


B. Exemples d'arbres

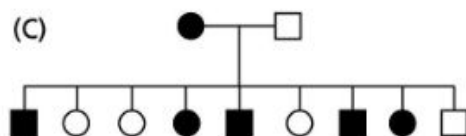
Dans cet arbre (A) il y a un couple avec 9 enfants dont 2 enfants atteints, une fille et un garçon, la maladie est **autosomique récessive**, les parents sont porteurs sains.



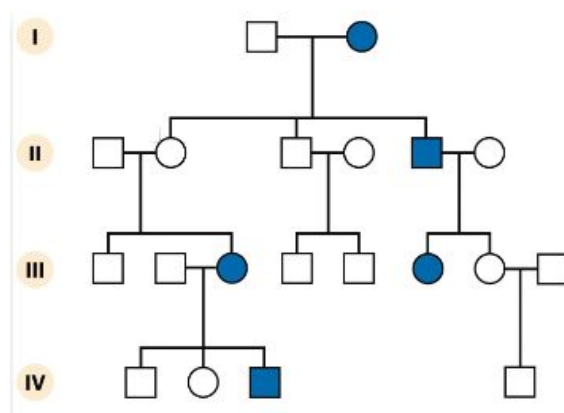
Ici (B) seul les garçons sont touchés, on peut penser que c'est une **maladie récessive liée à l'X**. Les parents ne sont pas malades mais transmettent le gène.



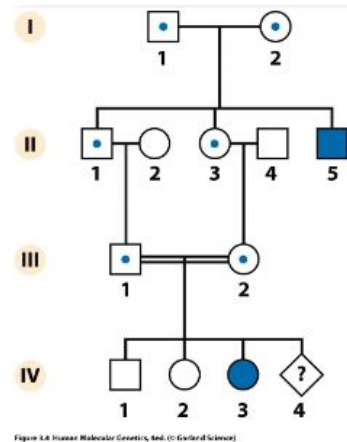
Transmission **autosomique dominante** (C) :



On est face, ci-dessous, à une **maladie autosomique dominante** car toutes les générations sont touchées. On peut expliquer que l'un des sujets de la génération II ne soit pas atteint, par la présence d'un saut de génération. On parle de **pénétrance incomplète**, le sujet est porteur du gène délétère **mais n'a pas de symptômes phénotypiques de la maladie**.



Ici on a une maladie avec une **transmission autosomique récessive**. On fait apparaître ceux qui sont porteurs sains. De plus dans cette famille, on a de la consanguinité qui augmente la probabilité d'avoir un enfant malade.



Pour les maladies génétiques liées à l’X, on va parler de 2 notions importantes :

Les vectrices obligatoires :

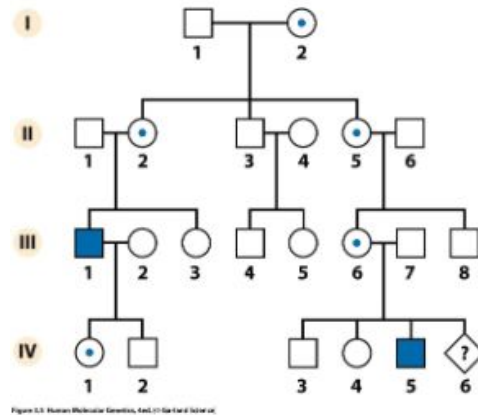
C’est une femme qui a un garçon malade avec des antécédents familiaux. Quand le père n’est pas malade, c’est qu’il n’a a priori pas le X muté mais que la mère a elle, le X muté. Comme elle a 2 X elle n’exprime pas la maladie. Mais elle a donné son X muté à son fils. C’est donc une vectrice obligatoire.

On est vecteur obligatoire quand on est mère d’un garçon malade ou quand on est la fille d’un père atteint de la maladie. Parce que le père n’a qu’un X donc si il est malade, son X est forcément muté et donc le transmet à sa fille.

Par exemple dans l’arbre on a, la fille IV.1 qui est la fille d’un père malade.

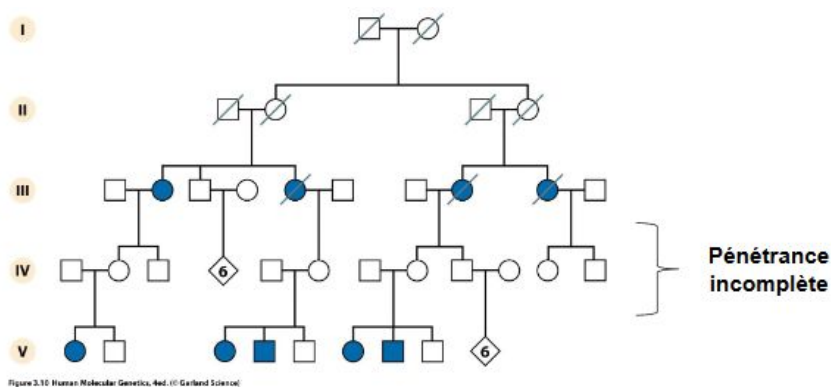
Les vectrices potentielles :

Ce sont des femmes comme dans le cas II.2 ou III.6, elles sont mères d’un garçon qui est malade sans antécédents familiaux ou ce sont des femmes qui ont des antécédents familiaux mais qui n’ont pas encore donné naissance à un garçon malade. On estime donc qu’elles sont vectrices potentielles.



Ci-dessous on a un exemple d'arbre pour une **cytopathie mitochondriale**. Dans cet arbre, la génération III est atteinte alors que la IV ne l'est pas, ceci est typique des maladies mitochondriales, pour des raisons d'homo-/hétéroplasmie, car dans chaque cellule on a, à la fois des mitochondries mutées et des mitochondries non mutées et donc il faut atteindre un certain seuil pour voir phénotypiquement des caractères de la maladie.

Ce seuil phénotypique est constitué du seuil biochimique (dépend du génotype mitochondrial, des mutations et de la proportion de molécules mutées) et du seuil énergétique (spécificité tissulaire).

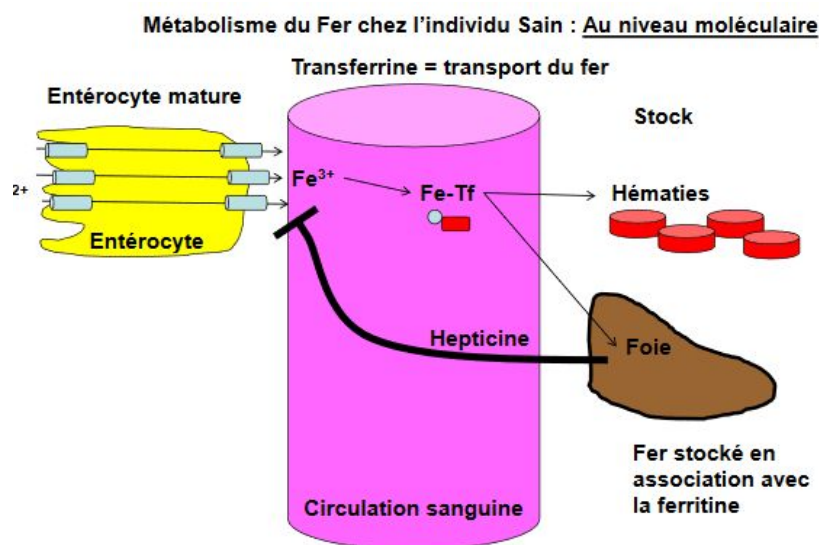


V- Exemples et Diagnostiques

A. Hémochromatose

C'est une maladie assez fréquente et assez contraignante qui agit sur le **métabolisme du fer**. Le fer est absorbé à partir de l'alimentation par les entérocytes qui vont le faire passer dans la circulation sanguine. Le fer va alors se lier aux transferrines pour être stocké dans les hématies et également le foie. D'un point de vue cellulaire, il y a des transporteurs de fer qui vont faire rentrer le fer de l'alimentation dans les entérocytes.

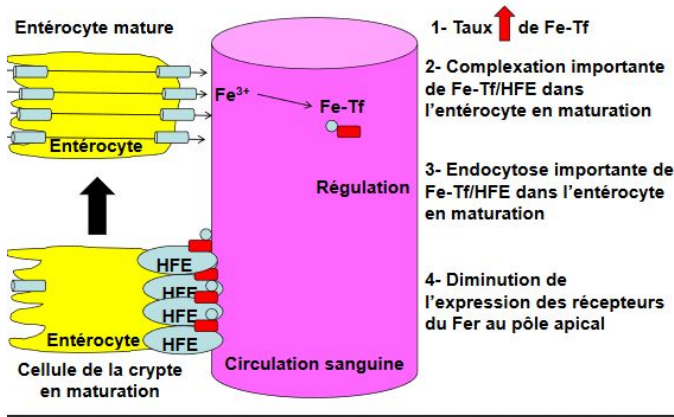
Chez un patient sain, la concentration du fer est **régulée**. Quand il y a trop de fer dans le foie, ce dernier va envoyer une hormone, l'**hepcidine**, qui va diminuer l'absorption du fer par les entérocytes.



Il y a également un autre moyen de réguler le fer, organisé avec les récepteurs des entérocytes. Les entérocytes vont mûrir dans des cryptes de l'intestin et vont se diriger vers la paroi intestinale où ils vont avoir la charge d'absorber ce qu'il faut du bol alimentaire. Ces entérocytes vont exprimer plus ou moins de transporteurs au fer pendant cette maturation. Quand le corps va avoir besoin de fer, il va y avoir un signal pour augmenter le nombre de transporteurs à la surface des entérocytes et donc faire rentrer plus de fer dans l'organisme. Si il y a trop de fer, il va y avoir un signal pour diminuer l'expression du récepteur au fer pour diminuer l'absorption de celui-ci.

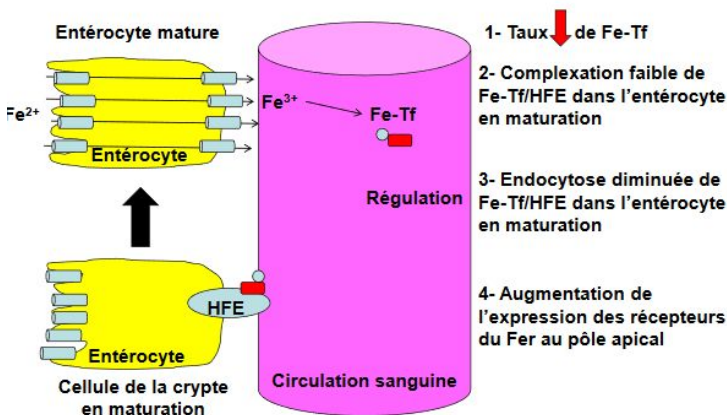
Si il y a un taux important de fer associé à la transferrine, une complexation entre le fer lié à la transferrine et la **protéine HFE**, un récepteur au niveau basal des entérocytes qui ne sont pas matures. La formation de ce complexe va provoquer une **endocytose importante** du complexe fer/transferrine/HFE dans l'entérocyte et cela va entraîner une **diminution de l'expression des récepteurs du fer** au pôle apical.

Métabolisme du Fer chez l'individu Sain : Au niveau moléculaire

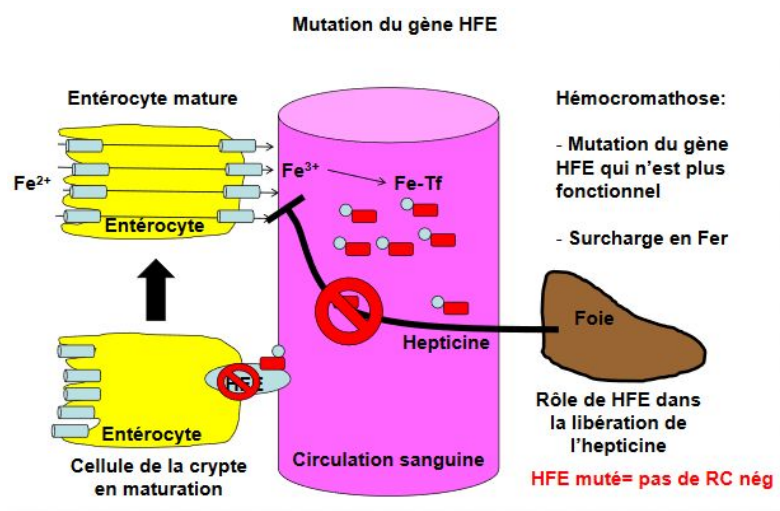


Si le taux de fer associé à la transferrine est faible, il va y avoir **une faible complexation** entre fer et transferrine au niveau de la protéine HFE. Cela va diminuer l'endocytose et il y aura donc une **plus forte expression des récepteurs au niveau apical**.

Métabolisme du Fer chez l'individu Sain : Au niveau moléculaire



Chez le malade, le **gène HFE est muté**, il n'y a pas de relais d'information où le fer lié à la transferrine va plus ou moins s'associer à HFE pour réguler l'expression de ces récepteurs. Les entérocytes surexpriment les récepteurs au fer, l'absorption du fer n'est pas régulée, les patients présentent une **surcharge de fer**, car il n'y a **pas de régulation** et il y a une **absorption de fer en continue**, il n'y a pas de rétrocontrôle négatif. La régulation par l'hepcidine (qui normalement fait diminuer l'expression) ne fonctionne plus car elle fait également intervenir la protéine HFE au niveau du foie.



Symptômes cliniques de l'hémochromatose :

Le patient va présenter une **surcharge en fer généralisée** dans l'organisme ce qui va provoquer de nombreuses **atteintes viscérales et métaboliques** avec des symptômes qui n'apparaissent qu'autour de 30/40 ans.

Le tableau clinique est large : asthénie chronique, douleurs ostéoarticulaires (lombalgies dues à l'ostéoporose), mélanodermie=coloration grisâtre de la peau, hépatomégalie, diabète, trouble du rythme cardiaque, insuffisance cardiaque, impuissance chez l'homme et ménopause précoce chez la femme.

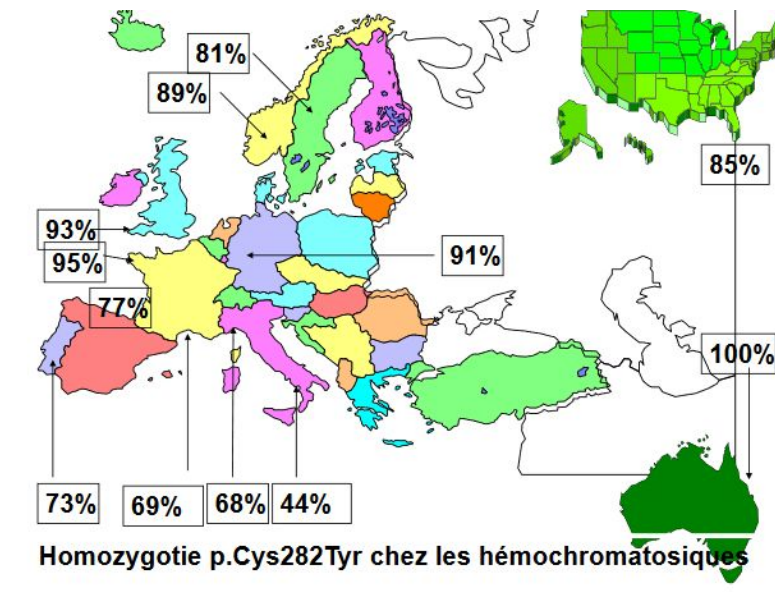
Diagnostic :

On va diagnostiquer la maladie lors de **l'apparition de signes cliniques évocateurs** ou en présence d'une cytolyse hépatique chronique que l'on repère grâce aux transaminases (ALAT et ASAT) qui vont être libérées du fait de la dégradation du foie. Lors du diagnostic d'orientation, le fer sérique va être dosé ainsi que la Transferrine. On va regarder si le coefficient de saturation de la transferrine est supérieur à 45%, et on va doser la Ferritine.

Au niveau génétique, il y a **plusieurs cas d'hémochromatose**, celle qui nous intéresse est celle de type 1, qui présente la mutation au niveau du gène HFE, c'est une **transmission autosomique récessive**, sur le bras court du chromosome 6. Il y a d'autres types d'hémochromatose qui sont à la marge, on n'a donc pas besoin de connaître ces différents sous types.

On diagnostique la maladie par analyse génétique, on va former un **arbre génétique** donc consulter les données familiales. On prend en compte les éléments personnels, l'âge et l'origine du patient (caucasien, africain, italien) car la présence de la mutation principale *p.Cys282Tyr* n'est pas la même dans les **différentes régions du monde**, comme on peut le voir sur la carte.

Par exemple en Italie il n'y a que 44% des personnes atteintes d'hémochromatose qui présentent cette mutation tandis qu'en Australie 100% des personnes atteintes d'hémochromatose possèdent cette mutation.



On va rechercher la mutation la plus souvent retrouvée, *p.Cys282Tyr*, et on va chercher d'autres mutations, si elle n'est pas présente.

Si un patient est porteur de cette maladie à l'état homozygote, on peut le voir avec le **diagnostic moléculaire**.

Si le patient est hétérozygote, cela n'explique pas son hémochromatose car c'est une maladie récessive. On ira d'autres chercher d'autres gènes pour savoir s'il n'est pas **hétérozygote composite**.

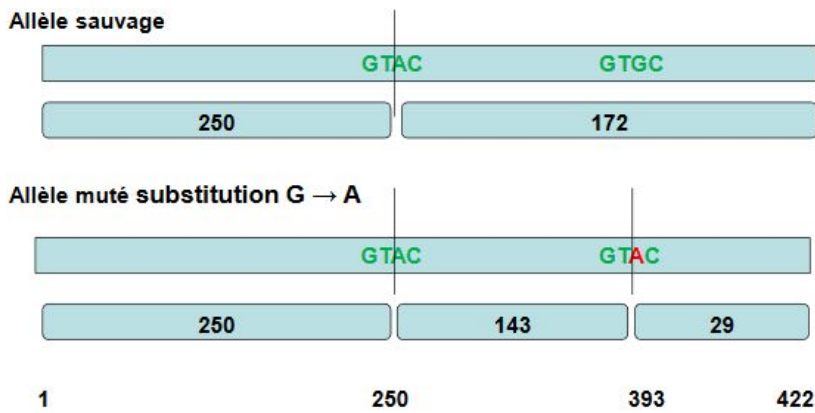
Si le patient ne présente pas cette mutation, alors on va aller rechercher d'autre mutations.

Diagnostic génétique :

La mutation principale est une **substitution de TGC en TAC dans l'exon 4 du gène HFE**. On va remplacer une CYS par une TYR. Cette mutation a une particularité, on peut la détecter par une technique de biologie moléculaire, **la technique RFLP**. Cela veut dire que la mutation qui est présente va faire apparaître un site de restriction pour une enzyme (endonucléase = coupe à l'intérieur de la molécule d'ADN une séquence connue).

Cette enzyme de restriction va couper au niveau des séquences GTAC.

L'allèle sauvage ne présente qu'une séquence GTAC alors que l'allèle muté en présente 2. Donc sur l'allèle sauvage, on observe un seul site de coupure ce qui donnera **2 fragments** alors que sur l'allèle muté on en trouve 2, ce qui donnera **3 fragments**.

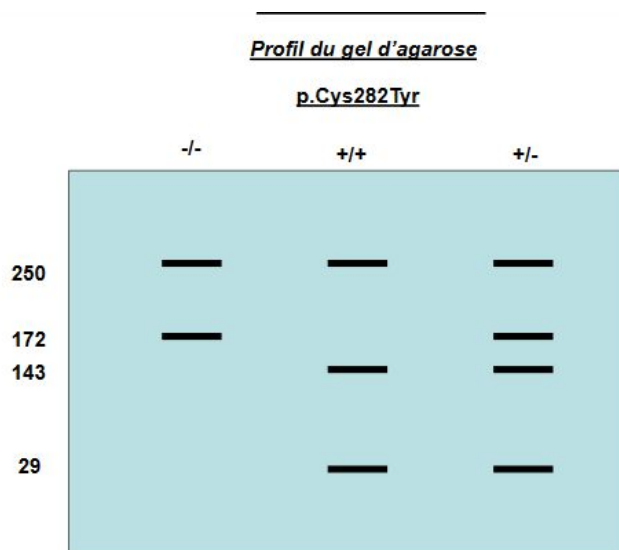


On va pouvoir étudier la taille des fragments par électrophorèse sur un gel d'agarose en présence de bromure d'éthidium et étudier le type de profil de chaque patient.

Si un patient est homozygote sain : on peut voir **2 fragments** (250 et 172 pdb).

Si un patient est homozygote muté : on peut voir **3 fragments** (250, 143 et 29 pdb)

Si un patient est hétérozygote : on peut voir **4 fragments** avec un allèle sain (250 et 172 pdb) et un allèle muté (250, 143 et 29 pdb).



Grâce à cette technique, on va pouvoir savoir à partir de l'ADN d'un patient, amplifier la région qui nous intéresse par PCR, ensuite en faisant agir mon enzyme de restriction et en faisant migrer les différents fragments obtenus après digestion, on va pouvoir savoir si le patient est homozygote sain, hétérozygote ou homozygote muté.

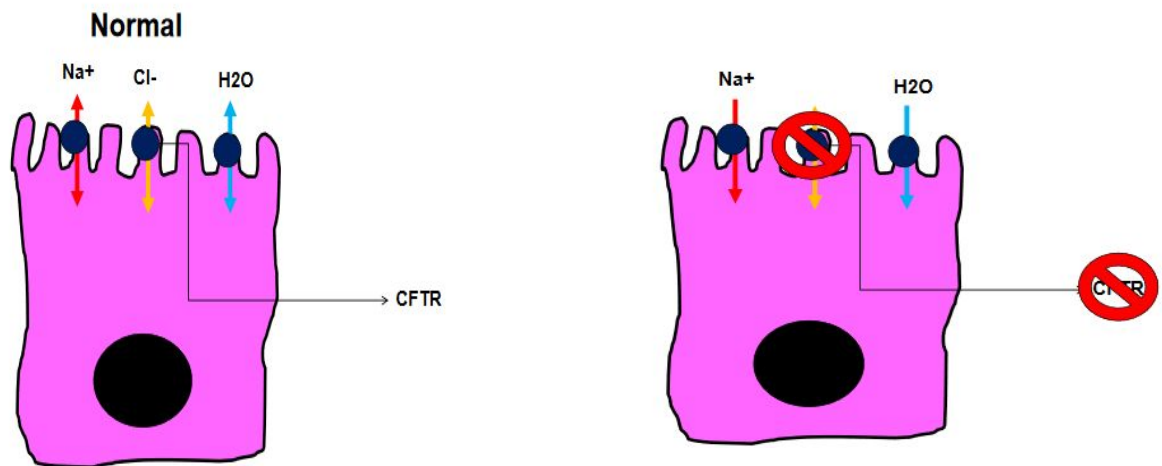
B. Mucoviscidose

En anglais *cystic fibrosis pancreas*, car on a découvert en premier les lésions pancréatiques liées à la maladie.

Typiquement, c'est une **maladie pédiatrique** avec **atteinte pulmonaire et des troubles digestifs**, il y a une grande variabilité de l'expression de la maladie en fonction de l'âge certains patients sont plus concernés par des troubles digestifs et d'autres respiratoires. La sévérité est variable également.

Il y a très **peu de traitements**, la kinésie respiratoire, l'antibiothérapie, des extraits pancréatiques, des transplantations cœur-poumon lorsque plus rien ne fonctionne.

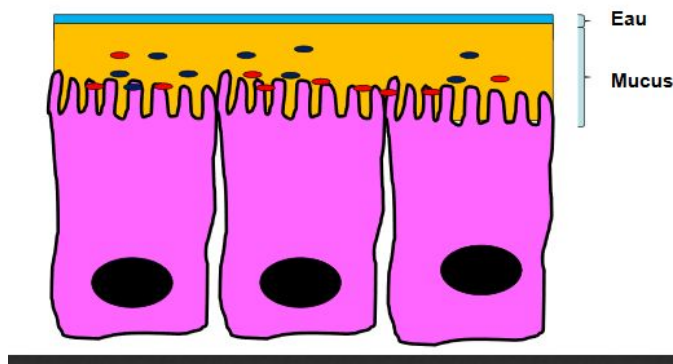
Cette maladie provient **la mutation du gène CFTR**, c'est un gène qui permet de produire la protéine CFTR qui se trouve dans la membrane plasmique des cellules et qui est un canal chlore qui permet le **transport du chlore à l'extérieur de la cellule**.



Dans un **épithélium bronchique normal**, les cellules épithéliales bronchiques vont sécréter du mucus. Ce gel va se trouver entre ces cellules et une fine couche d'eau à la surface du mucus. Cela permet aux virus, bactéries, poussières, champignons de ne pas coloniser nos bronches car ils vont être piégés dans l'eau avec ce mucus au dessus des cellules. Donc les pathogènes ne vont jamais réussir à atteindre les cellules épithéliales bronchiques.

Cela va fonctionner grâce à des canaux ioniques à la surface (pôle apical) des cellules épithéliales qui laissent passer le sodium, le chlore et l'eau. et le **mouvement d'ions va permettre la production du mucus**.

Chez les patients atteints les canaux sont mutés, il n'y a donc plus d'échange de chlore ce qui va augmenter énormément la quantité de mucus et donc une **épaisse couche de mucus va se former et une très fine couche d'eau à la surface**. Les bactéries vont réussir à rentrer à l'intérieur du mucus et infecter les cellules du patient. L'antibiothérapie sert à traiter ces infections à répétitions.



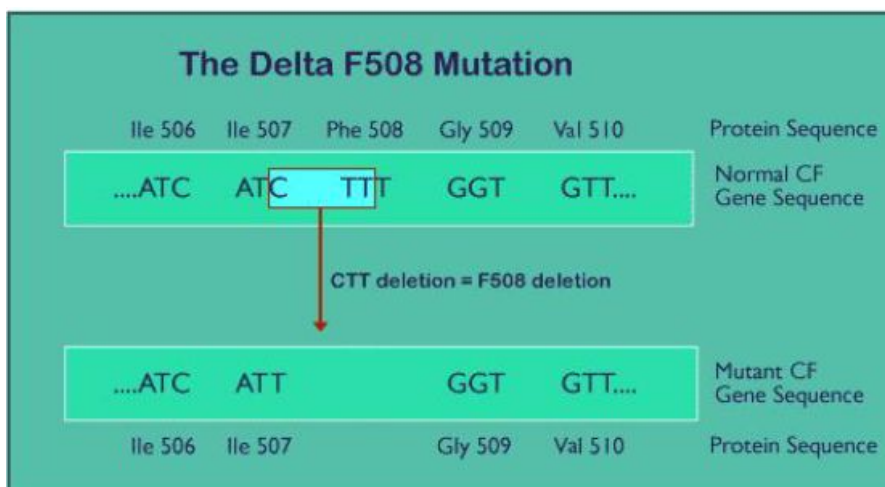
En terme génétique, le gène CFTR est un **grand gène** de 250kb avec 27 exons. Il se situe sur le bras long du chromosome 7. Il y a plus de 1000 mutations répertoriées de ce gène, c'est pour cela qu'il y a différentes sévérités de la maladie. Certaines mutations vont atteindre moins sévèrement le canal. C'est pour cela que l'on classe ces mutations de manière différente :

La classe I : il ne va pas y avoir de transcription.

D'autres où il va y avoir une transcription et une traduction mais cela va s'arrêter au niveau du Golgi.

Certaines mutations vont faire que le canal va quand même venir à la surface de la cellule mais il va être déficient, ne pas fonctionner ou alors il va fonctionner mais il sera moins efficace.

La mutation la plus retrouvée est la **mutation $\Delta F508$** : une délétion de 3 nucléotides en position 508, on perd une phénylalanine en position 508.

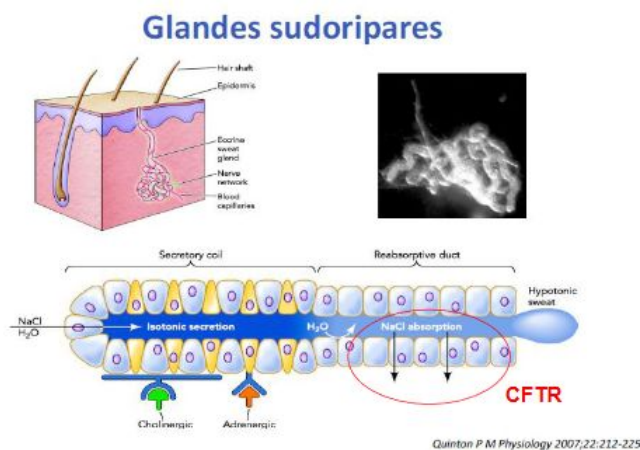


Le diagnostic génétique se fait s'il y a déjà eu un enfant dans la fratrie, si on sait qu'il y a des problèmes familiaux, un diagnostic prénatal peut être fait mais également un diagnostic néonatal en allant chercher des échantillons biologiques foetaux.

Il existe des tests biologiques facile à réaliser chez l'adulte, notamment le test de la sueur.

Le canal CFTR est également **présent dans la peau dans les glandes sudoripares**, quand on transpire il capte les ions chlore dans la sueur et les réabsorbe.

Si le canal CFTR est muté lorsque l'on mesure la **concentration de chlore** dans la sueur, elle va être **plus importante** que la normale. On va donc suspecter un **défaut d'efficacité** de CFTR. Attention on ne pourra pas affirmer la maladie avec ce test, il va falloir aller chercher les mutations par la suite. Mais c'est tout de même un bon indice.



Quand il faut aller chercher la source du problème, on utilise la **technique du Reverse dot blot** :

On effectue une **PCR** du gène d'intérêt et on va le marquer avec de la **biotine**. On hybride cela sur une **bandelette d'hybridation** qui contient les séquences complémentaires de plusieurs mutations connues pour la mucoviscidose.

La séquence va s'hybrider sur la séquence complémentaire, donc là où il y a potentiellement une mutation. On va pouvoir, en révélant la biotine, savoir où est ce que le fragment du patient s'est raccroché. Chaque bande correspond à une **mutation spécifique**. On va pouvoir regarder si le patient est porteur de l'une de ces nombreuses mutations connues pour la mucoviscidose.



La mucoviscidose est détectée très rapidement, **au 3^{ème} jour de vie**. Chaque nourrisson va être testé pour savoir la présence ou absence de la mucoviscidose. On va faire une première analyse simple, qui est d'aller regarder la **trypsine immunoréactive** qui va permettre d'évaluer l'état de santé du pancréas du nourrisson.

Le dépistage néonatal :

Il faut savoir que chez tous les enfants qui naissent on teste 5 maladies. On prélève un peu de sang, au niveau du talon pour détecter : **la phénylcétonurie, la mucoviscidose, l'hypothyroïdie congénitale, l'hyperplasie congénitale des surrénales et la drépanocytose**. On les dépiste car ce sont des maladies génétiques **assez répandues**, c'est un **problème de santé publique**. L'intérêt de les dépister c'est que l'on sait que ces maladies plus elles sont soignées tôt moins il y a de problèmes. Cela va coûter cher de dépister tout le monde mais au final cela coûtera moins cher car on pourra traiter plus tôt et avoir moins de cas graves.

L'hypothyroïdie congénitale est une anomalie du développement de la glande thyroïde qui touche 1 enfant sur 3000. Elle provoque la **diminution de la production d'hormones thyroïdiennes**. Les conséquences sont graves : ralentissement psychomoteur, problèmes de croissance, difficulté à maintenir la température corporelle, diminution du tonus musculaire et problèmes de transit intestinal. Le **traitement** est très **efficace**, il faut donner des **hormones de substitution**. En dépistant aussi tôt cette maladie, on va donner à l'enfant directement les hormones de substitution et il y aura quasiment pas de conséquences chez cet enfant. Si on ne dépiste pas ça, la prise en charge sera plus tardive et l'enfant aura des séquelles.

L'hyperplasie congénitale des surrénales est une maladie qui atteint les glandes surrénales. Elle touche 1 enfant sur 15000. Les enfants ont un **traitement hormonal à vie**.

La drépanocytose provoque une modification de la forme des hématies, ce qui peut provoquer des problèmes vasculaires importants. Dans cette maladie il y a une notion de **population à risque**, avec des zones du globe qui sont plus à risques : les Antilles, Afrique subsaharienne, Amérique du Sud, Inde... La drépanocytose est dépistée seulement si le nourrisson a 1 des 2 **parents originaires d'une région à risque**, si un seul des parents est originaire et l'autre n'est pas connu, s'il y a existence **d'antécédent de syndrome drépanocytaire dans la famille** et s'il existe un doute sur les 3 critères.

Le but du Tp que l'on va faire, va être de déterminer à partir de cellules de patient si le patient est atteint ou non d'hémochromatose. On va rechercher une mutation et on essaiera de déterminer si le patient est porteur de la mutation à l'état homozygote ou hétérozygote ou non porteur de la mutation.