

MAI pratiques pour les francophones

ATELIER « Indication et interprétation des tests génétiques »

Isabelle Jérù et Isabelle Toutou

5 Septembre 2009



Réseau national du diagnostic génétique des maladies auto-inflammatoires héréditaires

<http://genmai.chu-montpellier.fr/>

Préambule

MALADIES MONOGENIQUES (hérédité simple ou Mendélienne) ET MALADIES MULTIFACTORIELLES

Les maladies monogéniques (Ex: fièvres récurrentes héréditaires - FRHs)

Un arbre généalogique bien renseigné peut apporter des informations précieuses sur le mode de transmission. Deux modes de transmission sont observés dans les FRHs :

- Transmission dominante: une mutation causale chez le cas index, retrouvée chez un des deux parents dans la très grande majorité des cas. Dans le cas inverse, on parle de mutation « *de novo* » (apparition de la mutation dans l'un des gamètes parentaux). Des mutations *de novo* ont été identifiées chez certains patients TRAPS et CAPS (forme CINCA surtout).
- Transmission récessive: deux mutations causales chez le cas index, une sur chaque chromosome (vérifiable par l'analyse de l'ADN des parents). Le risque d'être malade augmente en cas de consanguinité.

Les maladies multifactorielles (Ex: Crohn, Behçet)

Elles sont dues aux effets conjoints de facteurs génétiques de susceptibilité et de l'environnement. Chaque gène a un effet très faible et insuffisant pour déclencher à lui seul la maladie. L'analyse moléculaire d'un gène ne peut donc pas signer le diagnostic.

LES DIFFERENTS VARIANTS DE SEQUENCE

Il faut différencier :

- Les mutations causales: variants de séquence de l'ADN directement responsables d'une maladie.
- Les polymorphismes: variants de séquence de l'ADN non pathologiques.
- Entre les deux: les facteurs génétiques de susceptibilité (facteurs de risque) aux maladies communes (ex : HLAB51 dans la maladie de Behçet).

Différents éléments sont à prendre en compte pour déterminer le caractère pathogène d'une variation de séquence :

- Test fonctionnel : analyse biologique ou test *in vitro* démontrant que la protéine normale se comporte différemment de la protéine mutée.

Dans le cas des FRHs, il n'existe un test fonctionnel que pour les MKD (dosage du mévalonate urinaire et/ou mesure de l'activité enzymatique de la mévalonate kinase à partir de lymphocytes).

- Ségrégation de la mutation avec le phénotype dans la famille. Cependant, la très grande majorité des patients adressés pour un diagnostic moléculaire de FRH sont des cas sporadiques.
- Sévérité putative de la mutation sur la structure de la protéine (ex : codon stop - X - conduisant à une protéine tronquée ; mutation « *frameshift* » - fs - conduisant à un décalage du cadre de lecture et, le plus souvent, à une protéine tronquée).

Ce type de mutations est exceptionnel dans les FRHs. La quasi totalité des mutations connues à ce jour sont des mutations faux-sens (remplacement d'un acide aminé par un acide aminé différent).

- Présence de la mutation dans la population générale (information disponible dans les banques de données, ou par l'étude de cohortes de sujets sains de même origine).
- Présence de la mutation dans une région de la protéine très conservée au cours de l'évolution.
- Présence de la mutation dans un domaine fonctionnel de la protéine (ex : site catalytique).

LES DIFFERENTES STRATEGIES DE DIAGNOSTIC

(Les techniques utilisées sont indiquées dans le compte-rendu de résultats)

Recherche de mutations connues :

Rapides et peu onéreuses, ces techniques nécessitent la connaissance de la mutation à rechercher (Indication : recherche familiale d'une mutation identifiée chez le cas index, confirmation par une deuxième technique de la présence d'une mutation identifiée par séquençage...).

Exemple : RFLP (*restriction fragment length polymorphism*), cette technique peut être utilisée si la mutation conduit à la création ou à la perte d'un site de digestion enzymatique.

Techniques de criblage :

Ces techniques permettent de rechercher des mutations sans a priori sur les variations à identifier.

Exemples :

- DGGE (électrophorèse en gradient dénaturant), dHPLC (chromatographie), HRM (courbes de fusion) : ces techniques rapides ne permettent que de détecter la présence d'une variation de séquence dans une région et doivent être complétées par une seconde technique pour en déterminer précisément la nature.
- Séquençage: permet de lire base à base toute la séquence de la région génétique ciblée.

INTERPRETATION DES RESULTATS

Les résultats des analyses génétiques doivent être interprétés en fonction :

- du mode de transmission de la maladie (récessive ou dominante)
- du ou des types de mutations trouvées
- de l'exhaustivité du test (recherche de mutations fréquentes ou criblage de tout le gène).

Il est très difficile, long, et coûteux de rechercher l'ensemble des anomalies pouvant survenir dans un gène. Une telle approche est incompatible avec un diagnostic de routine. Ainsi, une analyse génétique de routine, qui ne confirme pas le diagnostic clinique, n'exclue pas formellement ce diagnostic. Il n'est par exemple pas rare de ne trouver qu'une seule mutation du gène *MEFV* chez des patients présentant des signes cliniques très évocateurs de FMF; avec les données actuelles, nous ne savons pas si il existe des mutations du gène *MEFV* non détectées par la méthode utilisée ou si le patient possède une ou des mutations responsables d'une autre maladie auto-inflammatoire de symptomatologie proche.

Le caractère pathogène de certains variants de séquence, décrits initialement comme des mutations causales, est de plus en plus discuté, soit parce qu'ils sont fréquents dans la population générale (par exemple E148Q pour la FMF, R92Q et P46L pour le TRAPS, et V198M pour les CAPS), soit parce qu'il s'agit de variants rares dont le caractère pathogène reste à déterminer. Cette notion sera rapportée de façon homogène par tous les laboratoires du réseau sous la forme suivante: "En l'état actuel des connaissances on ne peut conclure à l'implication de ce génotype dans la maladie".

CAS N°1

Monsieur J, 75 ans d'origine alsacienne a présenté cet été un épisode de douleur aiguë de la hanche. Un prélèvement est adressé pour test génétique de FMF.

- Quel élément initial rend improbable une FRH ?
- Quel élément supplémentaire rend improbable la FMF ?

CAS N°2

Amélie, 10 ans, vous est adressée en consultation par un de vos collègues. Elle présente une fièvre à 40°C, des douleurs abdominales et des arthralgies depuis 4 jours. Sa mère est originaire de Barcelone et son père de Marseille. Vous pensez à une maladie auto-inflammatoire.

- Quel test biochimique allez-vous demander pour conforter votre hypothèse en première intention?

Le résultat montre des valeurs supérieures à la normale. L'examen clinique et l'interrogatoire vous apprennent que la patiente présente fréquemment ce type de crises (une fois par mois en moyenne) mais ne révèlent aucun autre symptôme.

- Quelle autre information permettra d'orienter le diagnostic ?

Les parents Marc et Caroline ont apporté avec eux les résultats de l'analyse du gène *MEFV* (impliqué dans la FMF) réalisée précédemment chez leur fille. La recherche des mutations les plus fréquentes a mis en évidence la mutation M680I à l'état hétérozygote.

- Qu'en pensez-vous ?

Vous interrogez Caroline, et elle vous indique que son père, son frère et sa nièce ont parfois de la fièvre, des douleurs musculaires et des manifestations cutanées. Elle, par contre, est asymptomatique.

- Que faites-vous ?
- Quels documents allez-vous adresser au laboratoire avec le prélèvement ?

CAS N°3

Une jeune femme d'origine arménienne présente des monoarthrites récurrentes et unilatérales des petites articulations depuis l'âge de 4 ans. Ces douleurs sont associées à des pics de fièvre à 39,5°C, et des poussées érythémateuses. Elle prend de la colchicine à la dose de 1 mg par jour depuis l'âge de 10 ans avec une efficacité moyenne. Elle est enceinte. Son mari est aussi arménien. Il n'y a aucun antécédent de maladie auto-inflammatoire chez les apparentés de cette patiente et de son mari. L'analyse moléculaire (séquençage de l'exon 10 du gène *MEFV*) a conduit à l'identification de la mutation M694V à l'état hétérozygote.

- L'analyse moléculaire confirme-t-elle le diagnostic ?
- Les patients souhaitent un diagnostic prénatal pour leur enfant, que leur dites-vous ?
- Quelle décision prenez-vous pour la colchicine pendant et après la grossesse ?

CAS N°4

Monsieur X, d'origine juive séfarade, vient en consultation pour des épisodes récurrents de fièvre à 39°C (2 fois par mois) accompagnés de douleurs abdominales et thoraciques. Il présente un syndrome inflammatoire biologique avec une CRP à 45 mg/L en crises. L'analyse moléculaire de *MEFV* a identifié 2 mutations causales (M694V et V726A) à l'état hétérozygote.

- Le laboratoire indique qu'il pourrait être pertinent de faire l'analyse de *MEFV* chez les parents asymptomatiques de Mr X. Pourquoi ?

Le père de Mr X est M694V hétérozygote et sa mère présente 2 mutations V726A et K695R à l'état hétérozygote.

- Que concluez-vous pour Mr X ?
- Que pensez-vous du résultat de la mère de Mr X ?

CAS N°5

Une petite fille de 6 mois est hospitalisée pour la 3^{ème} fois pour méningite aseptique. Elle présente régulièrement de la fièvre et une éruption maculo-papulaire fugace avec une CRP à 140 mg/L. Comme toutes les autres investigations sont négatives, une analyse du gène *NLRP3* est faite (exon 3). Le résultat revient « présence de la mutation c.443G>A ; p.Cys148Tyr » à l'état hétérozygote.

- Que veulent dire ces chiffres et lettres ?
- Quel diagnostic allez-vous poser ?
- Devez-vous faire une enquête familiale ?

La mère de la patiente souhaite avoir un deuxième enfant.

- Quel est le risque pour que ce deuxième enfant soit porteur de la mutation ?

CAS N°6

Un jeune homme turc est adressé pour test génétique de maladie périodique. Son frère est atteint avec le génotype M694V homozygote. Sur la fiche clinique sont notés un fébricule à 38°C, des arthralgies et aphtes buccaux. Pas d'autre information.

- Est-ce suffisant pour faire un test génétique de FMF ?

Le test génétique indique la présence de la mutation M694V à l'état hétérozygote.

Un interrogatoire plus systématique retrouve une aphtose bipolaire, une perte de la vue quelques mois plus tôt (l'ophtalmologue interrogé signale une uvéite). Des tâches violacées sont présentes sur le corps. Le typage HLA revient HLAB51.

- Quel est votre diagnostic ?
- Pourquoi y-a-t-il une mutation du gène de la FMF ?

CAS N°7

Une jeune femme d'une quarantaine d'année d'origine cévenole est adressée pour test génétique de FMF et MKD. Elle présente depuis l'enfance de la fièvre à répétition, avec des poussées d'urticaire au changement de température, des arthromyalgies bilatérales surtout au niveau des mains, des aphtes buccaux, des acouphènes et brûlures oculaires. Aucun traitement ne la soulage (colchicine, cortisone, et même anti-TNF et anti-IL1). Sa mère présente des symptômes proches et a été étiquetée depuis des années « polyarthrite rhumatoïde ». Sa fille présente des symptômes moins sévères. Sa grand-mère maternelle et son frère sont asymptomatiques.

On ne trouve pas de mutations dans les gènes de la FMF et du MKD.

- Discuter l'indication

Un test génétique (gènes du CAPS et du TRAPS) a été réalisé sur toute la famille, y compris les personnes non symptomatiques. Deux variants R92Q (gène du TRAPS) et V198M (gène du CAPS) ont été retrouvés chez le cas index et sa mère. Un seul variant est retrouvé chez la grand-mère maternelle et la fille (R92Q) du cas index, et chez son frère (V198M).

- Dessiner l'arbre généalogique et déterminer le mode de transmission
- Commenter ce résultat