

Intervention du Docteur Lydie Da Costa le 18 /10/2015

Service d'Hématologie Biologique Hôpital Robert Debré Paris :

Diagnostic Génétique de l'Anémie de Blackfan-Diamond

L'Anémie de Blackfan-Diamond (ABD) est une maladie génétique, très hétérogène (c'est-à-dire pouvant s'exprimer de façon très différente aussi bien cliniquement que biologiquement chez les personnes atteintes).

Transmission : soit de façon sporadique (les parents n'ont pas la maladie)

Soit de façon dominante (un des 2 parents a la maladie) dans 45% des cas.

Mutation : On retrouve une mutation dans un gène d'une protéine ribosomique chez 2/3 des patients (RPS 19 , RPL5, RPL11.....)

Chez les personnes chez lesquelles on n'a pas retrouvé de gène muté, il peut s'agir de gènes non encore identifiés.

La recherche d'une mutation est importante car elle peut permettre l'étude de la transmission génétique lors d'une grossesse, un éventuel diagnostic pré-natal, le choix d'un donneur (dans la fratrie) en cas de projet de greffe...

Phénotypes silencieux : il s'agit de personnes ayant des signes biologiques de la maladie (macrocytose isolée (gros globules rouges), augmentation de l'adénosine désaminase érythrocytaire (enzyme du globule rouge), éventuellement une mutation dans un gène de protéine ribosomique) mais n'ayant pas d'anémie (taux d'hémoglobine dans les limites inférieures des normes). Ces personnes peuvent transmettre la maladie à leurs enfants. Elles ne peuvent pas être donneur de greffe à un frère ou une sœur ayant la maladie de Blackfan-Diamond.

Génotype de l'ABD : De très nombreuses mutations touchant les gènes des protéines ribosomiques ont été découvertes, la plus fréquente (25% des cas) étant la mutation RPS19. Les autres mutations RPS24, RPL5, RPL11, RPS17....ont été retrouvées avec des fréquences moindres. Dans 19% des cas aucune mutation n'a pas encore été retrouvée.

En 2014 : 2 nouveaux gènes, qui ne sont pas des gènes codant pour les protéines ribosomiques : **gène TSR2**, mais qui code pour une protéine qui intervient dans le processing des pré-ARN a été découvert chez des patients atteints de la maladie. Une mutation du gène **GATA-1** a été découverte chez 2 frères ayant l'anémie de BD mais également des épisodes de neutropénie (baisse des globules blancs) et de thrombopénie (baisse des globules plaquettes). 7 patients décrits dans le monde.

Diagnostic génétique de l'ABD :

Il faut : un prélèvement sanguin dont le volume est adapté à l'âge du patient, un consentement signé par les parents si le patient est mineur, l'arbre généalogique du patient et une lettre du médecin prescripteur. Tout ceci est à envoyer au service d'Hématologie biologique de l'Hôpital Robert Debré.

Actuellement, 1248 personnes ont été étudiées. : 339 patients français, 543 personnes apparentées (parents, frères et sœurs), 239 patients étrangers, et 127 personnes apparentées aux patients étrangers.

On recherche d'abord des mutations dans le gène le plus fréquemment impliqué : RPS19, puis, s'il n'est pas muté, 2 gènes un peu moins fréquents : RPL5/RPL11, puis s'ils ne sont pas trouvés mutés : RPS10/RPS26, et si la recherche est toujours négative : on recherche des grandes délétions, et en l'absence de délétion, on recherche des mutations dans les gènes RPS7/RPS17/RPS24/RPS35a, puis, si la recherche est toujours négative, on effectue le séquençage d'exomes (on séquence toutes les séquences des gènes qui codent pour une protéine). On recherche donc d'abord les anomalies les plus fréquentes puis les moins fréquentes.

Séquençage : la méthode de référence : méthode Sanger est une méthode longue et coûteuse. D'où le développement des techniques **NGS** (Next Sequencing Generation) avec un coût réduit et le développement du séquençage d'exome (plateforme Imagine, Necker, LABEX GR-EX) qui séquence tous les gènes de tous les chromosomes mais avec un coût encore très important. Ces 2 techniques sont maintenant utilisées dans l'ABD.

Technique classique : la PCR (*polymerase chain reaction*) comporte différentes étapes : extraire l'ADN, faire de nombreuses copies du gène, les purifier, révéler les mutations et les lire.

L'ADN contient toute la mémoire des gènes : cela peut être comparé à un livre, les gènes étant des phrases et les exons des mots. Il peut y avoir des fautes d'orthographe ou de syntaxe qui correspondent aux mutations.

Exemple de **mutation faux sens** : *RPS19* : on change un mot dans la phrase « je déteste les épinards » devient « j'aime les épinards »

Mutation non sens : la phrase s'arrête trop tôt : « je déteste les épinards » devient je déteste les »

Délétions : Il manque un mot dans la phrase et des mots qui n'ont rien à voir avec la phrase apparaissent « je déteste les épinards » devient « je déteste pleut jambon chaussettes mouillées »

Insertions : on ajoute un mot dans la phrase et des mots qui n'ont rien à voir avec la phrase apparaissent : « je Casimir déteste tour Eiffel et Puy de Dôme dans un bateau »

En Conclusion :

La génétique de l'ABD n'est pas facile et longue :

- 16 gènes impliqués
- Il existe des phénotypes silencieux
- Des gènes restent à découvrir
- Le conseil génétique n'est pas facile.

Le NGS va permettre d'aller plus vite en testant en une fois tous les gènes (50% des patients porteur d'une mutation)

La recherche des grandes mutations va permettre de diagnostiquer 18% des patients

Le séquençage d'exome va permettre de découvrir un gène inconnu dans l'ABD