



Un peu de Génétique Médicale...



Hélène Cavé
UF de Biochimie et Biologie Moléculaire

✓ Les mutations

mutations géniques

mutations chromosomiques

conséquences des mutations

✓ Maladies génétiques et transmission

✓ Le diagnostic génétique

Incidence des maladies génétiques

- ✓ Il existe plus de 7000 maladies génétiques
- ✓ 1 humain sur 10 au moins est atteint d'une maladie génétique, qui le plus souvent apparaît à l'âge adulte
- ✓ Chaque être humain est porteur de 5 à 10 anomalies génétiques asymptomatiques
 - Gènes mutés sans phénotype connu à l'état hétérozygote (chaque humain porte 1 à 3 mutations récessives)
 - Mucoviscidose : 1/20
 - SMA : 1/30
 - surdité AR : 1/15
 - Translocation  quilibr e : 1/250

Maladies génétiques les plus fréquentes

Chez l'adulte

- Hypercholestérolémie familiale : 1/200
- Cancer du sein (5% de 1/10 → 1/200 F) & colon
- Hémochromatose : 1/400

Chez l'enfant

- Trisomie 21 : 1/800
- Mucoviscidose : 1/2500
- Amyotrophie spinale : 1/3000
- Surdités congénitales : 1/3000

A quoi sert la Génétique médicale ?

GENETIQUE CLINIQUE (« consultation de génétique »)

Pour le patient atteint

- Diagnostic clinique
- Information et soutien du patient et/ou de ses parents
- Participation / organisation / supervision de la prise en charge médicale et socio-éducative

Pour les grossesses futures

- Fixer le risque de récurrence
- Informer des possibilités et limites du diagnostic anténatal
- Information génétique (« conseil génétique »)

Pour la famille

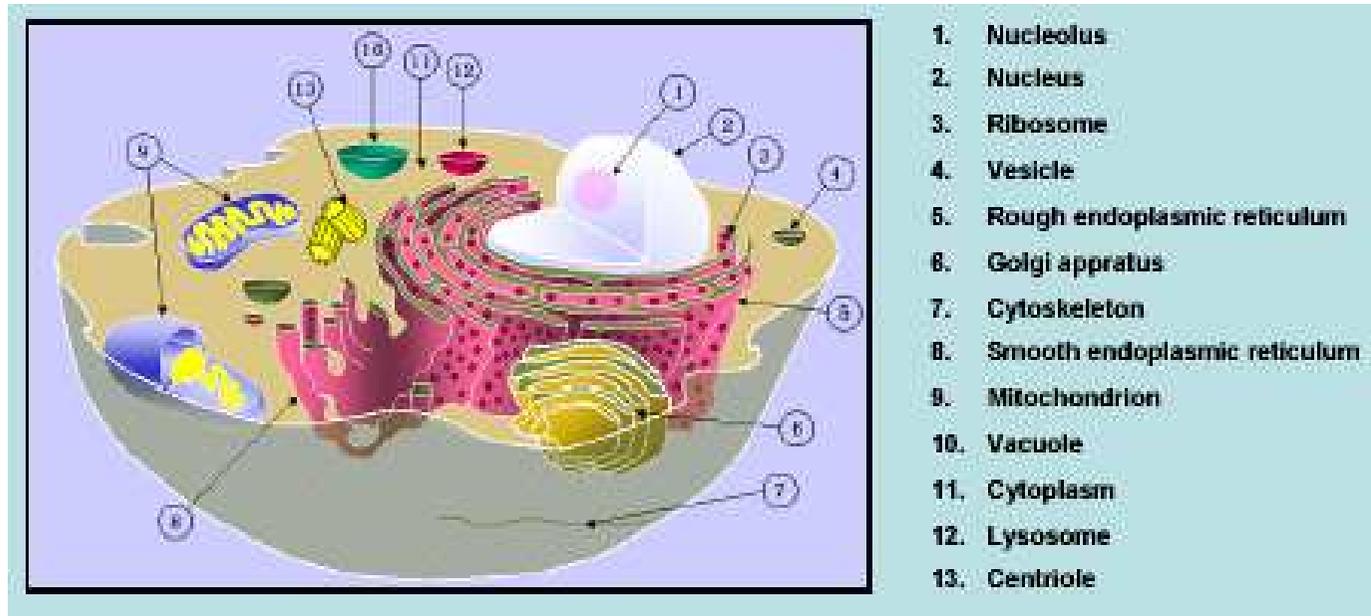
- Dépistage des personnes à risque

GENETIQUE BIOLOGIQUE (à but diagnostique)

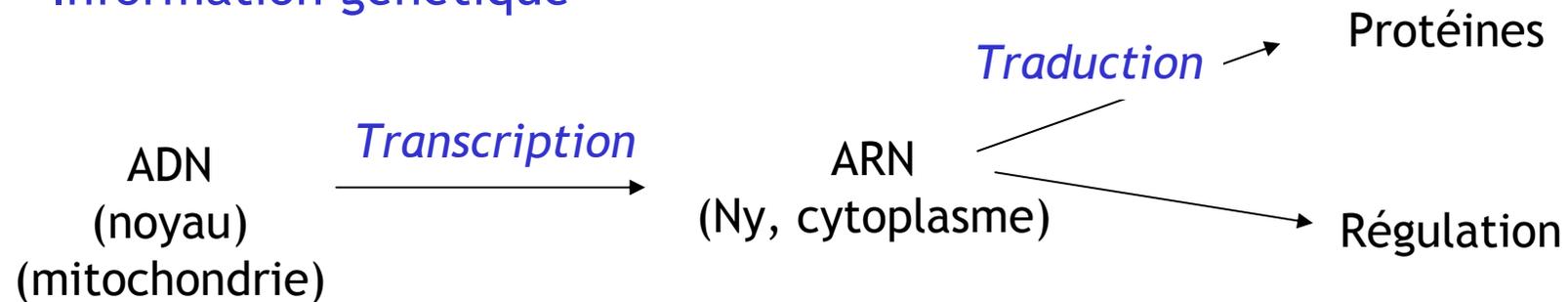
- Cytogénétique (chromosomes)
- Biologie moléculaire (gènes)
- Biochimie (analyses fonctionnelles, phénotype biologique)

THERAPEUTIQUES SPECIFIQUES

Que trouve-t-on dans une cellule ?

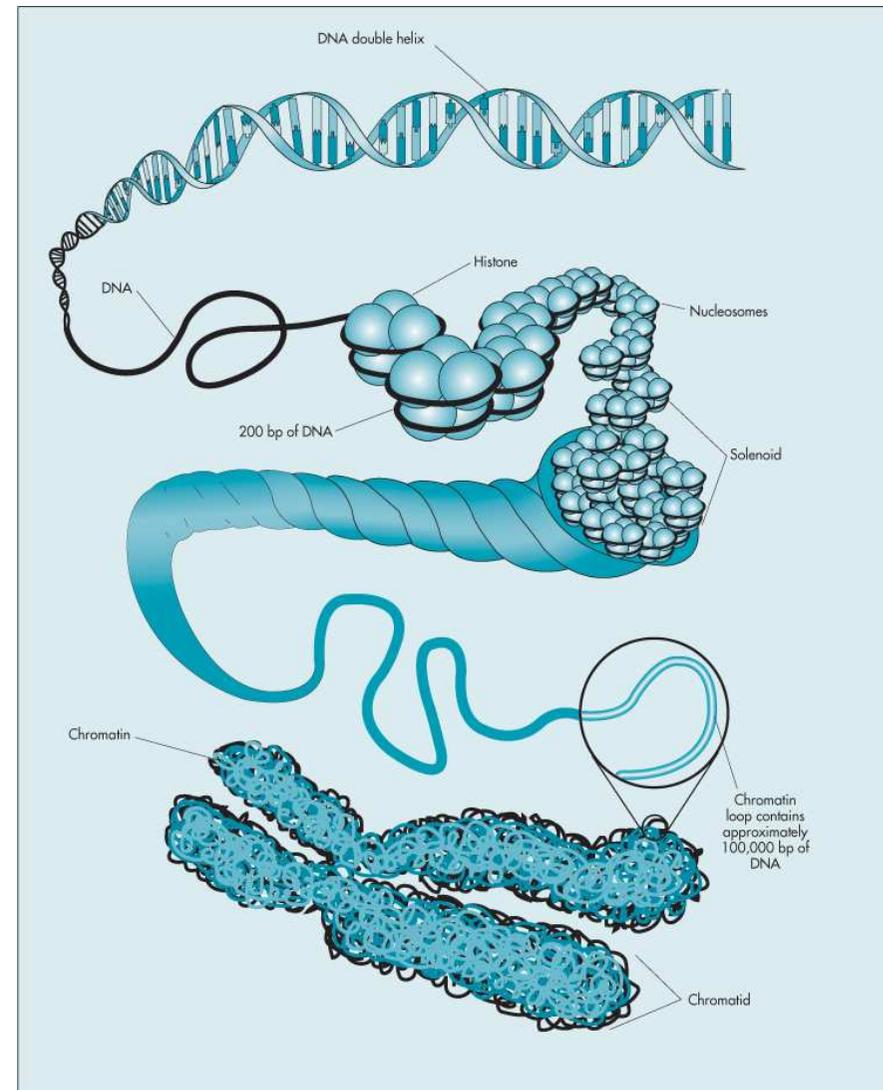


Information génétique



Organisation de l'information génétique

- ✓ 2 mètres d'ADN
nucléotides ATGC...
- ✓ 30 000 gènes
- ✓ 2 x 23 chromosomes
 - 3 000 000 000 bases (3000 Mb)
 - 600 bandes
- 1 chromosome
 - Moyenne : 150 Mb
 - 250 à 2500 gènes
- Dans une bande chromosomique
 - 50 gènes
 - 5 Mb
- ✓ Génome mitochondrial

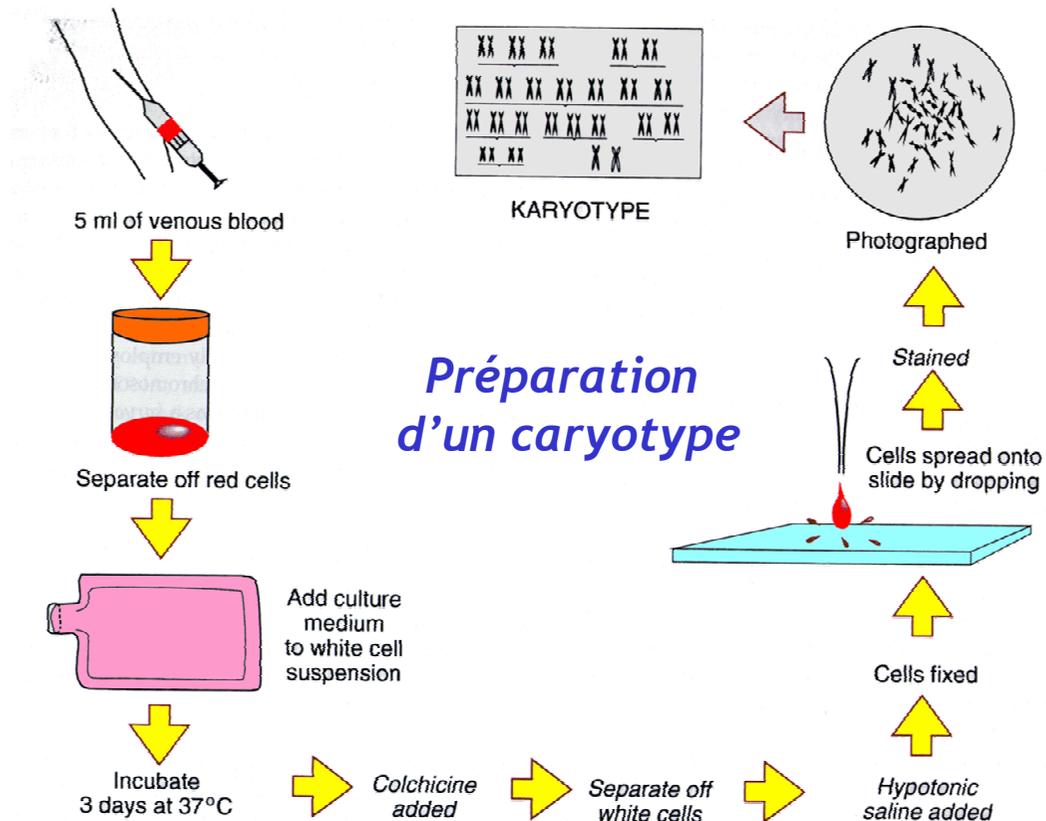


Maladies génétiques & mutations

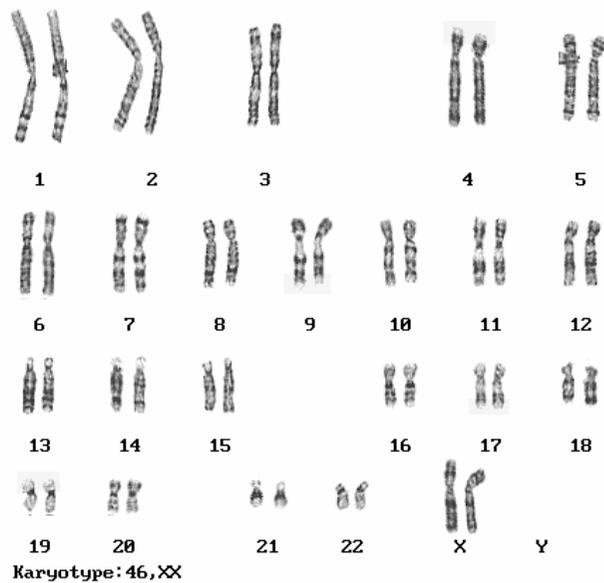
- ✓ Mutations chromosomiques
- ✓ Mutations géniques

Les chromosomes

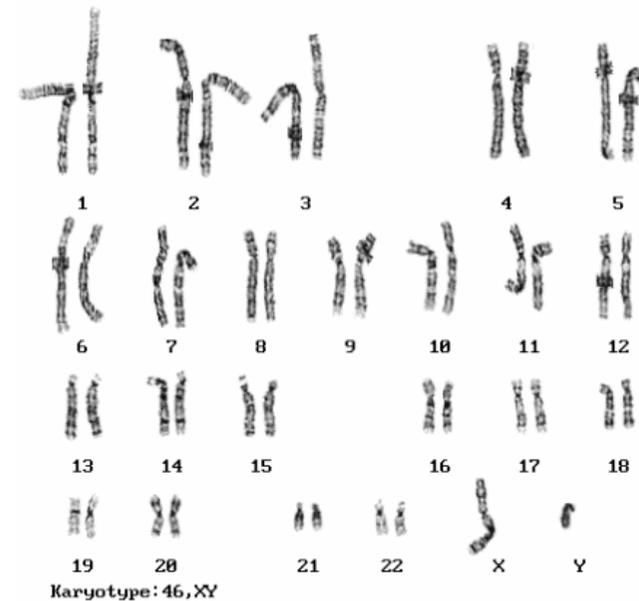
- ✓ Deviennent visibles au microscope optique au moment de la division cellulaire (mitose) en raison de la condensation.
- ✓ Formé de 2 chromatides identiques (chromatides sœurs) jusqu'à la fin de la métaphase



Caryotype normal



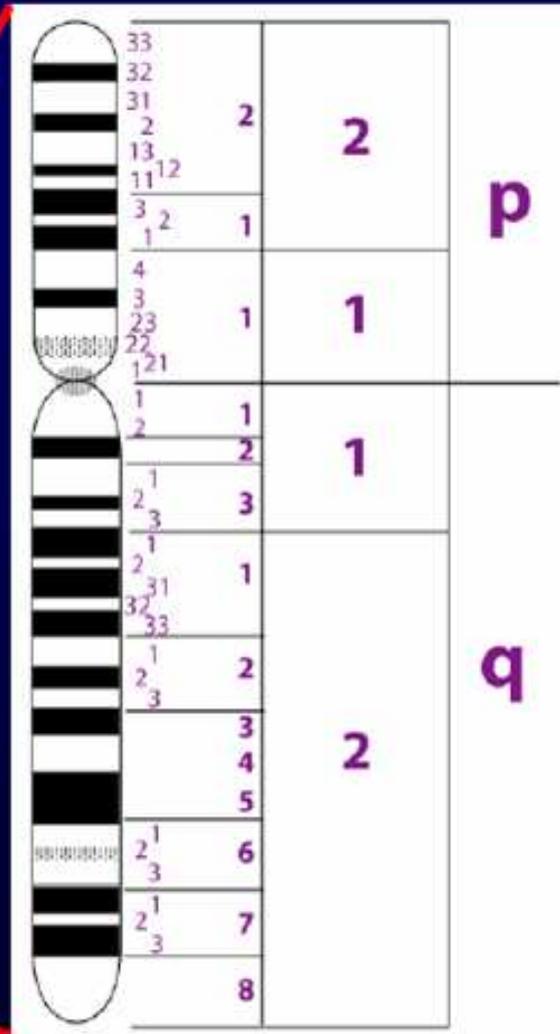
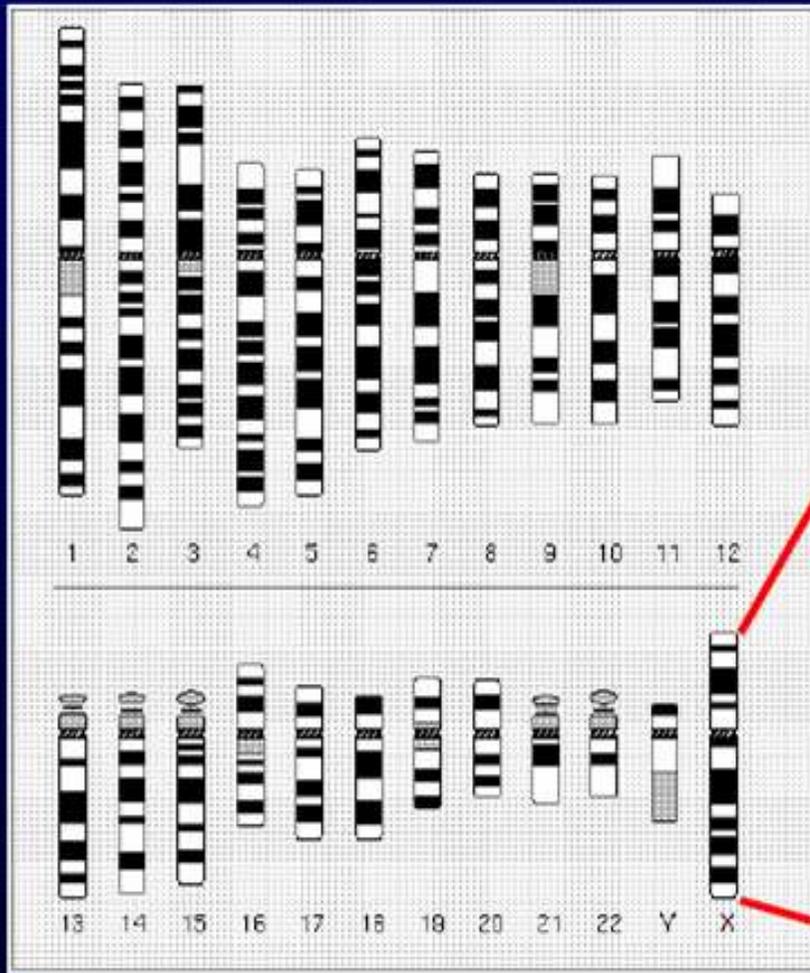
46, XX



46, XY

- ✓ Anomalies du nombre de chromosomes (aneuploidie)
- ✓ Altération de la structure des chromosomes (remaniements chromosomiques)

Bras, bandes et sous-bandes



Anomalies chromosomiques

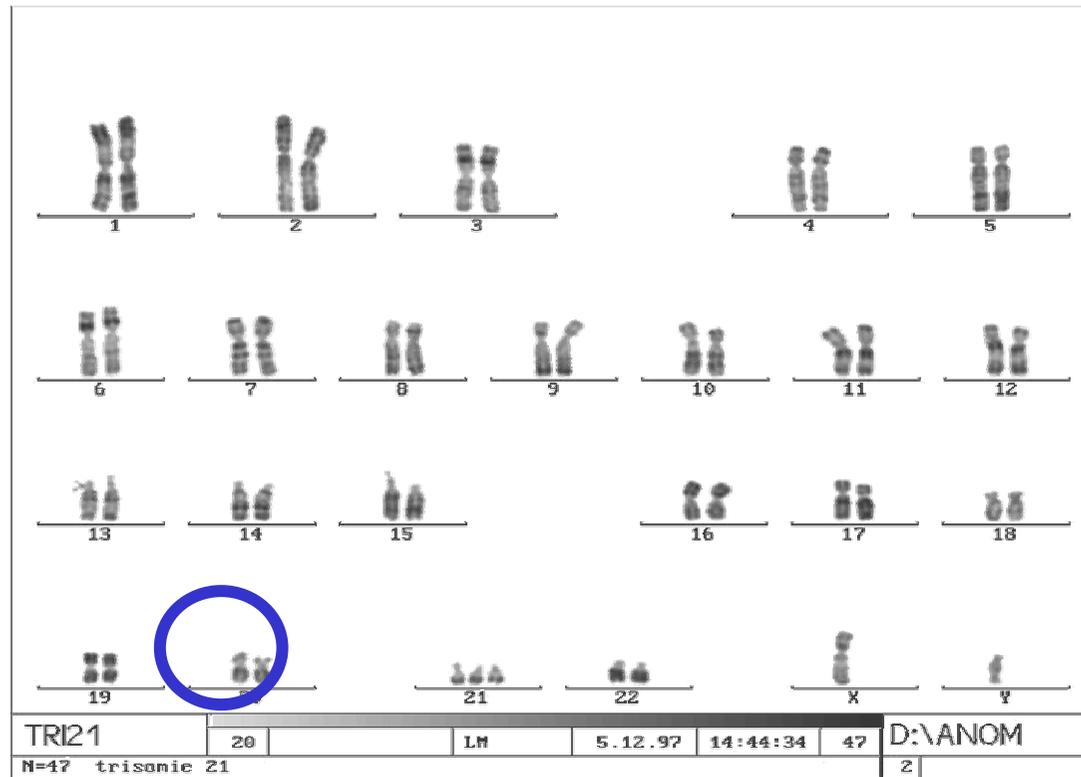
- ✓ 1/250 naissances

- ✓ Anomalies de nombre
 - Trisomie
 - Monosomie
 - Triploidie

- ✓ Anomalies de structure
 - Duplication
 - Délétion
 - Translocation réciproque (échange de fragments)
 - Translocation robertsonnienne (fusion entre chr. acrocentriques : 13, 14, 15, 21, 22)

Anomalies de nombre

Trisomie 21

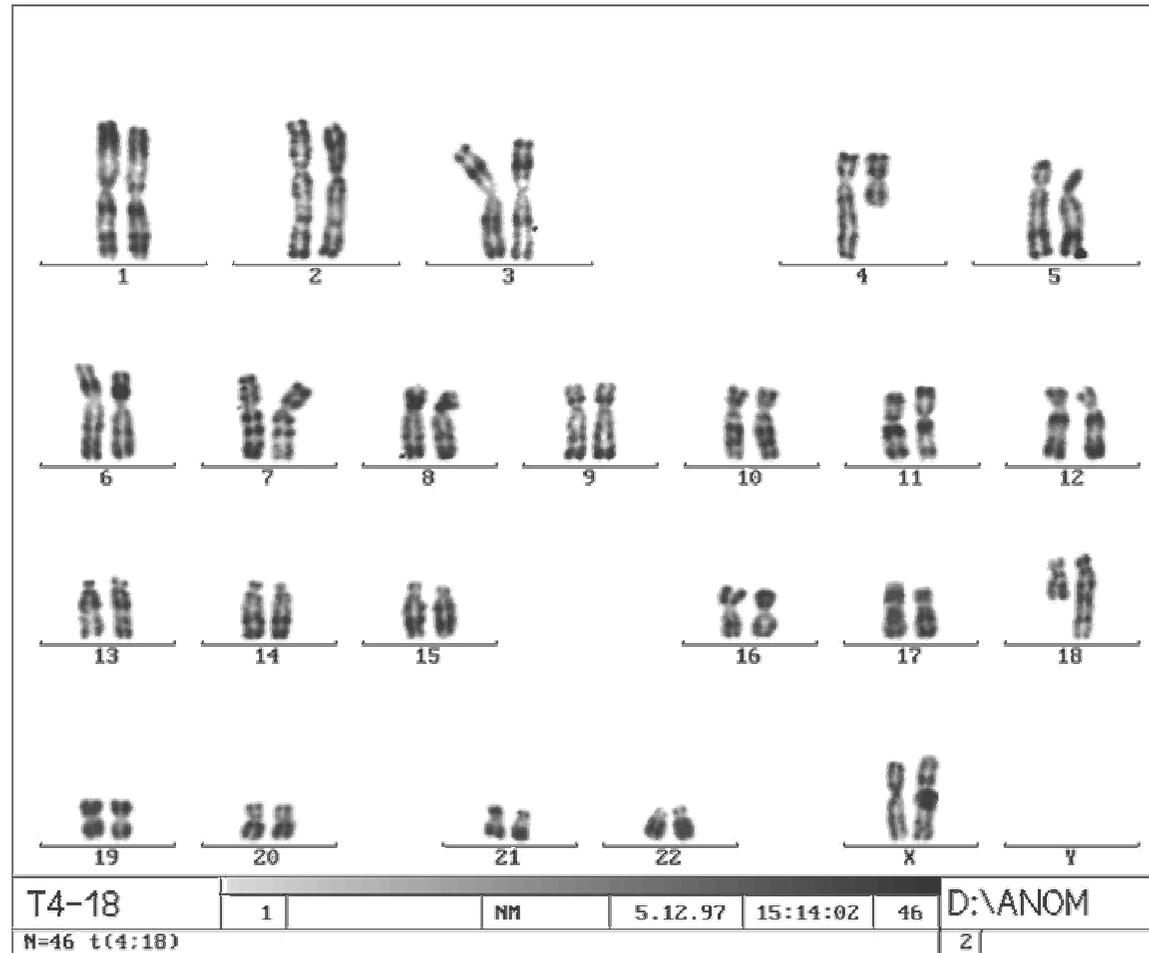


Fréquence des anomalies de nombre

	spontaneous abortion	live birth
Trisomy:		
1-3	1.4%	0
4-5	0.6%	0
6-12	3.7%	0
13-15	4.8%	0.02%
16-18	9.8%	0.02%
19-20	0.4%	0
21-22	5.2%	0.13%
Sex chromosomes:		
XYY	0.03%	0.05%
XXY	0.03%	0.05%
XO	9.0%	0.009%
XXX	0.14%	0.05%
Polyploidy:		
Triploid	8.5%	0
Tetraploid	9.7%	0
TOTAL	46.5%	0.34%

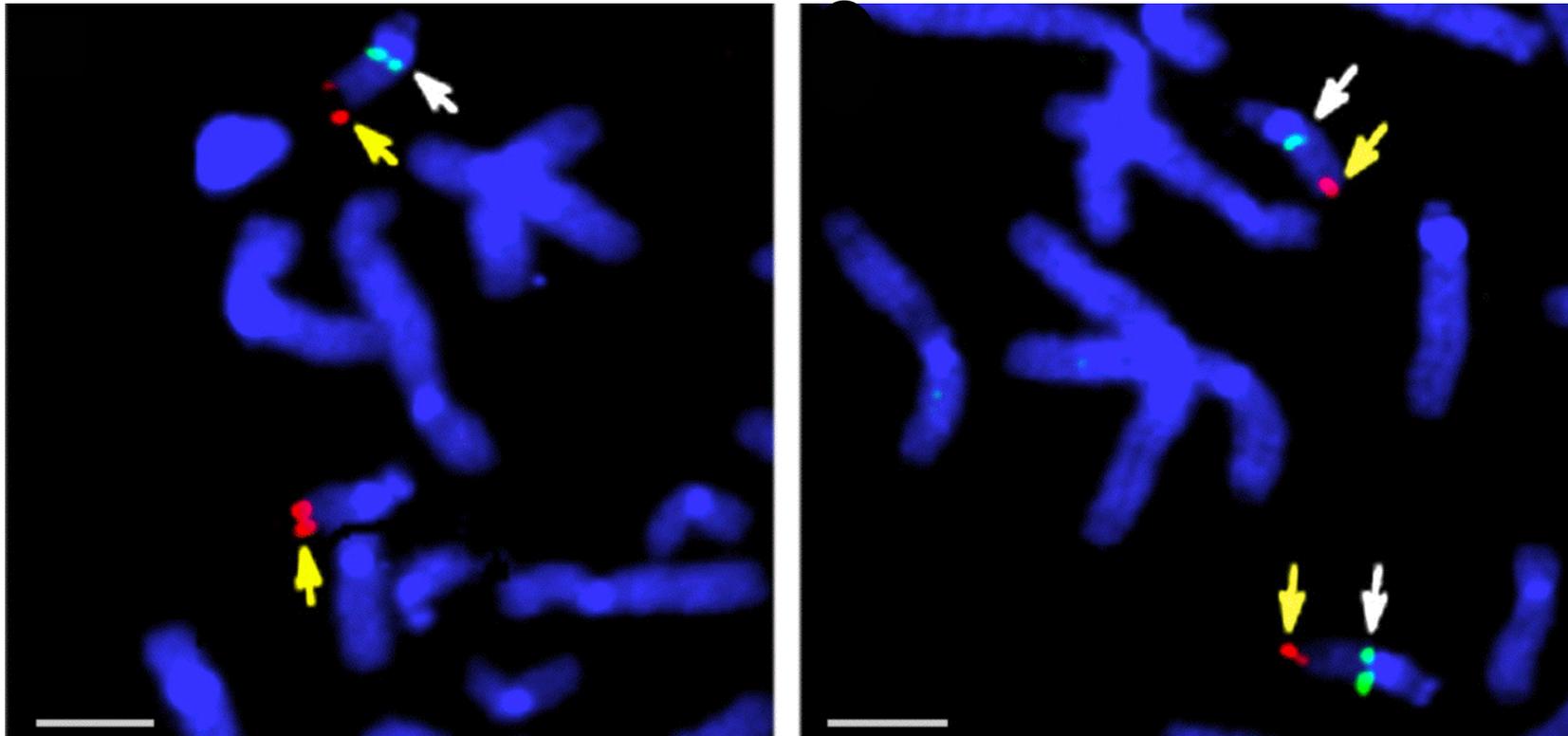
Chiffres donnés à titre indicatif

Translocation réciproque équilibrée 46, XX, t(4;18)(q13;q22)

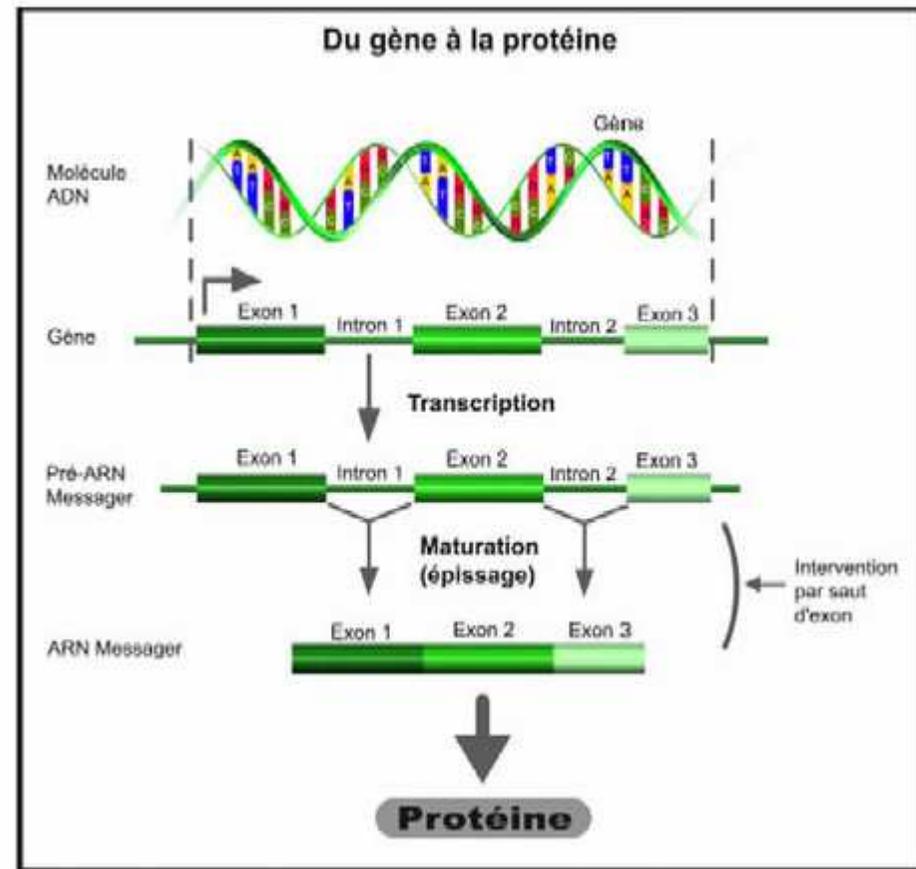
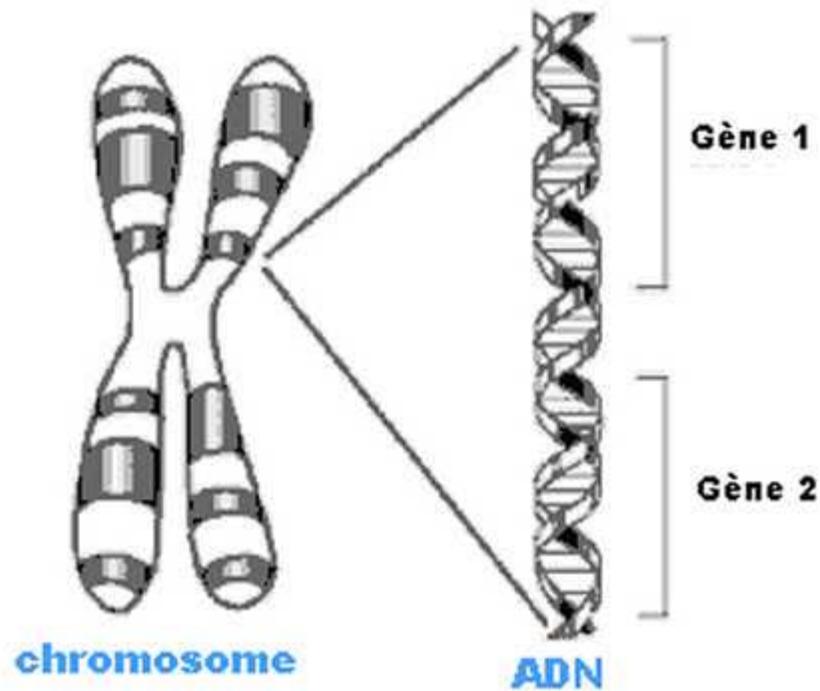


Hybridation *in situ* fluorescente (FISH)

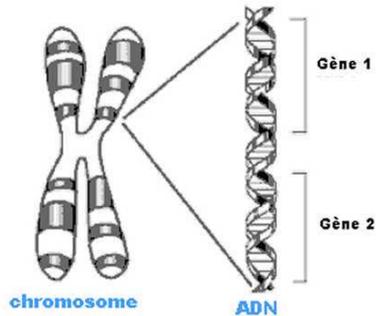
Diagnostic ciblé par la clinique



Qu'est-ce qu'un gène ?



Gènes codant pour des ARN non traduits en protéines



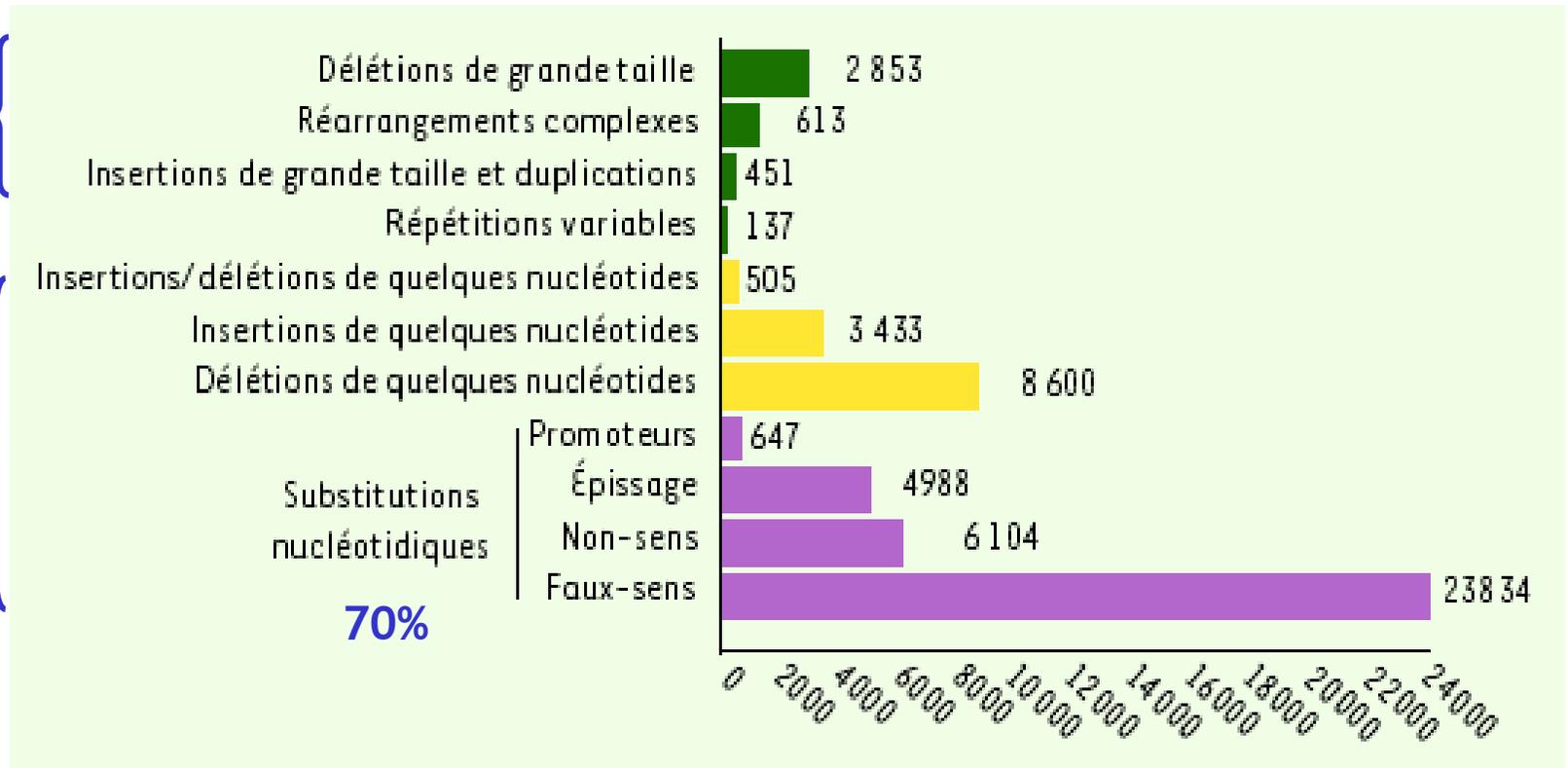
Les mutations géniques

Human Genome Mutation Database

<http://www.hgmd.org>

Mutations de grandes tailles

Mutations de petites tailles



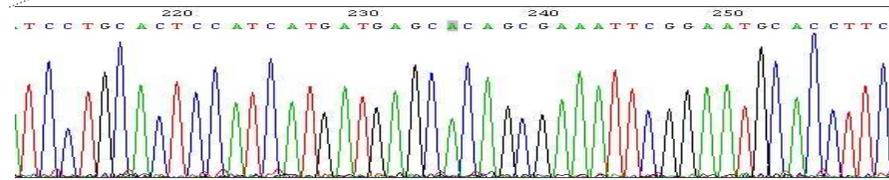
Recherche de mutations de petite taille



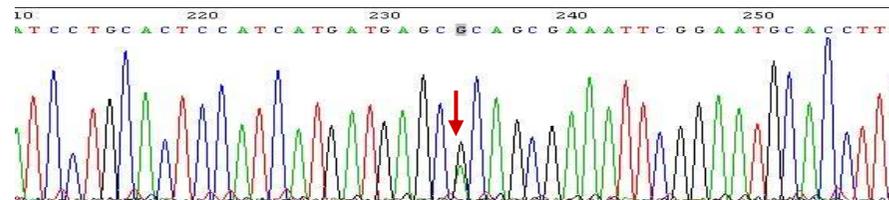
Séquençage

- Région codante
- Jonctions intron/exons

Séquence de référence
(bases de données)



Séquence du patient



Substitution de nucléotide hétérozygote

TGG TCC ATG GGC AAA TAT



TGG TCC ATG GGG AAA TAT

Mutation synonyme

TGG TCC ATG GGC AAA TAT
 Trp Ser Met Gly Lys Tyr
 N° 218 219 220 221 222 223



TGG TCC ATG GGG AAA TAT
 Trp Ser Met Gly Lys Tyr

Le code génétique est dégénéré...

1er	2ème				3ème
	U	C	A	G	
U	UUU Phe	UCU Ser	UAU Tyr	UGU Cys	U
	UUC Phe	UCC Ser	UAC Tyr	UGC Cys	C
	UUA Leu	UCA Ser	UAA Stop	UGA Stop	A
	UUG Leu	UCG Ser	UAG Stop	UGG Trp	G
C	CUU Leu	CCU Pro	CAU His	CGU Arg	U
	CUC Leu	CCC Pro	CAC His	CGC Arg	C
	CUA Leu	CCA Pro	CAA Gln	CGA Arg	A
	CUG Leu	CCG Pro	CAG Gln	CGG Arg	G
A	AUU Ile	ACU Thr	AAU Asn	AGU Ser	U
	AUC Ile	ACC Thr	AAC Asn	AGC Ser	C
	AUA Ile	ACA Thr	AAA Lys	AGA Arg	A
	AUG Met	ACG Thr	AAG Lys	AGG Arg	G
G	GUU Val	GCU Ala	GAU Asp	GGU Gly	U
	GUC Val	GCC Ala	GAC Asp	GGC Gly	C
	GUA Val	GCA Ala	GAA Glu	GGA Gly	A
	GUG Val	GCG Ala	GAG Glu	GGG Gly	G

Mutation faux sens

TGG	TCC	ATG	GGC	AAA	TAT
Trp	Ser	Met	Gly	Lys	Tyr
N° 218	219	220	221	222	223

↓

TGG	TCC	ATG	AGC	AAA	TAT
Trp	Ser	Met	Ser	Lys	Tyr

Remplacement de la Guanine (G) par une Adénine (A)
en position 661 de la séquence codante,
induisant le remplacement de l'acide aminé Glycine
par une Serine en position 221

Substitution hétérozygote
c.661C>A (p.Gly221Ser) ou (p.G221S)

Mutation non sens

TGG	TCC	ATG	GGC	AAA	TAT
Trp	Ser	Met	Gly	Lys	Tyr
N° 218	219	220	221	222	223

↓

TGG	TCC	ATG	AGC	TAA	TAT
Trp	Ser	Met	Gly	Stop	

Remplacement de l'Adénine (A) par une Thymine (T)
en position 664 de la séquence codante,
induisant le remplacement de l'acide aminé Lysine
par un codon stop après l'acide aminé 221

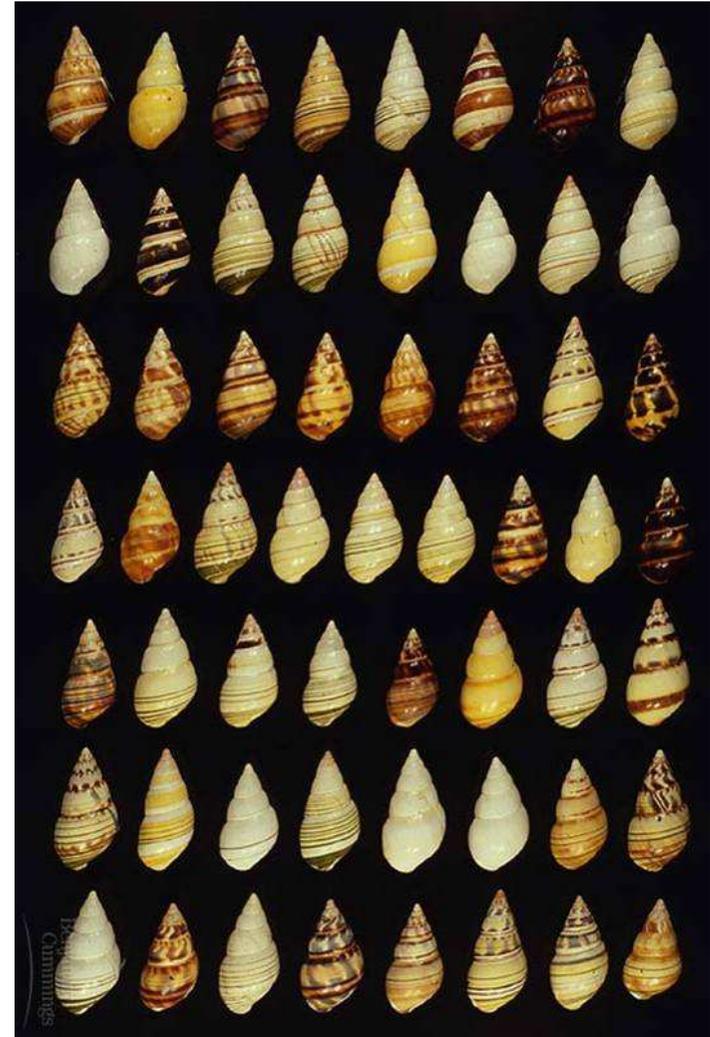
Substitution hétérozygote
c.664A>T (p.Lys222X) ou (p.K222X)

Conséquences des mutations

Bases chromosomiques et moléculaires des maladies génétiques



Benjamin
Cummings



Benjamin
Cummings

Mutation ou polymorphisme ?

(cas d'une mutation faux sens)

délétère

Sans conséquence
Pathologique (SNP)

Séquence conservée
au cours de l'évolution ?

Changement
biochimique
important au niveau
de l'acide aminé

Substitution trouvée
chez d'autres malades ?

Altération
de la fonction protéique ?
Modélisation

Substitution absente
d'une population témoin ?

Ségrégation avec la maladie
ou
Néomutation chez un enfant
dont les parents ne sont
pas malades

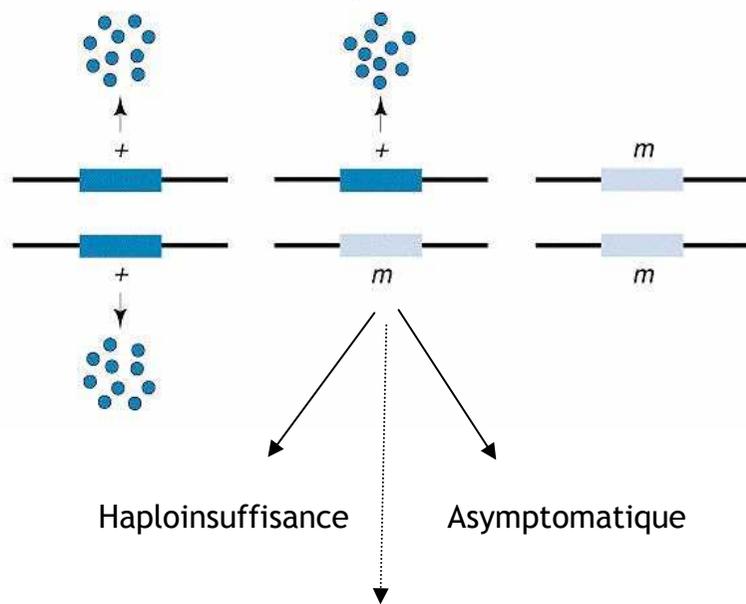
Etudes fonctionnelles
de la protéine mutée
In vitro / in vivo

Une mutation peut altérer la fonction d'une protéine

- ✓ Perte de fonction
- ✓ Gain de fonction
- ✓ Nouvelle fonction

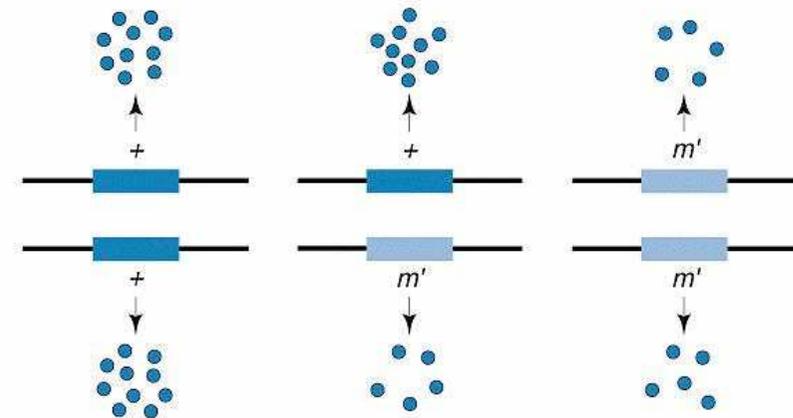
Mutation « perte de fonction »

Mutation « nulles »



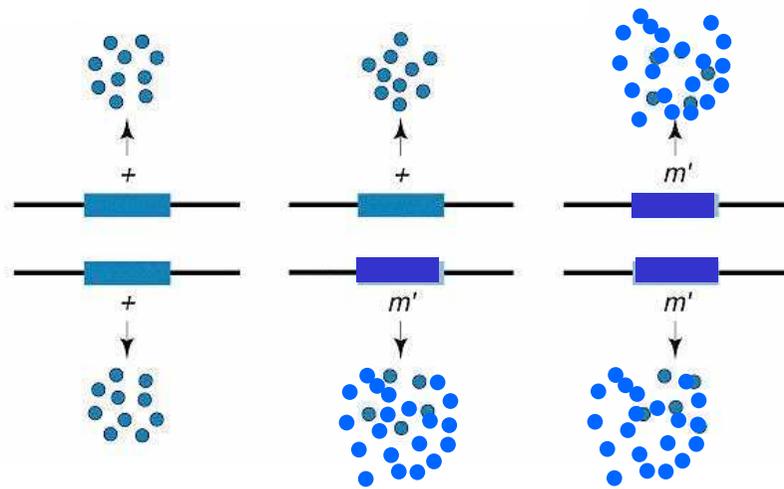
Si production protéique
-Toxicité
-Effet dominant négatif : mutation antimorphe

Mutation hypomorphes



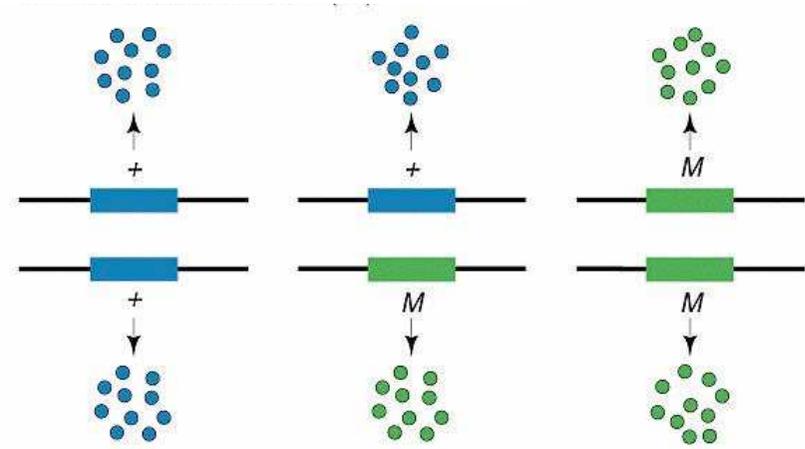
Modification « gain de fonction »

Mutation hypermorphe



*Surexpression
ou forme hyperactive*

Mutation néomorphes



*changement de fonction
(ex : changement de cibles, ...)*

Gènes & maladies

1 gène → 1 maladie

1 mutation (achondroplasie, drépanocytose)

N mutations (hétérogénéité allélique)

1 gène → N maladies

Exemple : gène β globine et β thalassémie, drépanocytose

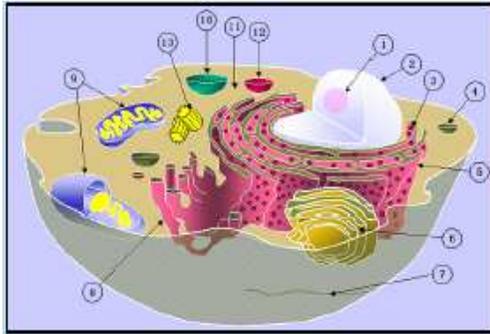
N gènes (« ou ») → 1 maladie

(hétérogénéité génétique)

N gènes (« et ») → 1 maladie

maladie polygénique

Maladies génétiques & transmission

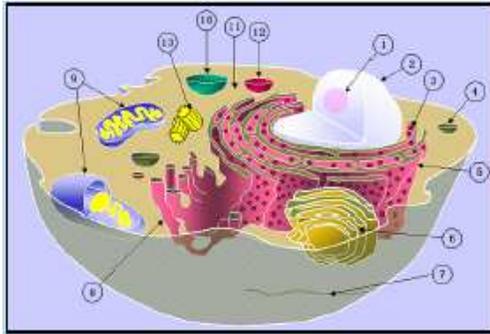


Les 2 génomes

Génome nucléaire

Hérédité biparentale

- Autosomes
 - 2 copies de chaque gène / cellule
 - 1 paternelle / 1 maternelle
- Gonosomes (XY)
 - Régions pseudo-autosomiques : 2 copies de chaque gène / cellule
 - Régions spécifiques
 - Femmes XX : 2 copies / cellule MAIS une seule copie fonctionnelle (**Lyonisation**)
 - Hommes XY : 1 copie



Les 2 génomes

Génome mitochondrial

Hérédité exclusivement maternelle

- Quelques gènes de la chaîne respiratoire
- Cycle indépendant de la mitose
- Copies multiples / cellule
- Répartition aléatoire à la mitose
- **Hétéroplasmie** : mosaïque génomique
 - Mitochondries différentes dans une même cellule
 - Le % de chaque type peut évoluer au cours du temps dans une cellule

Modes de transmission classiques

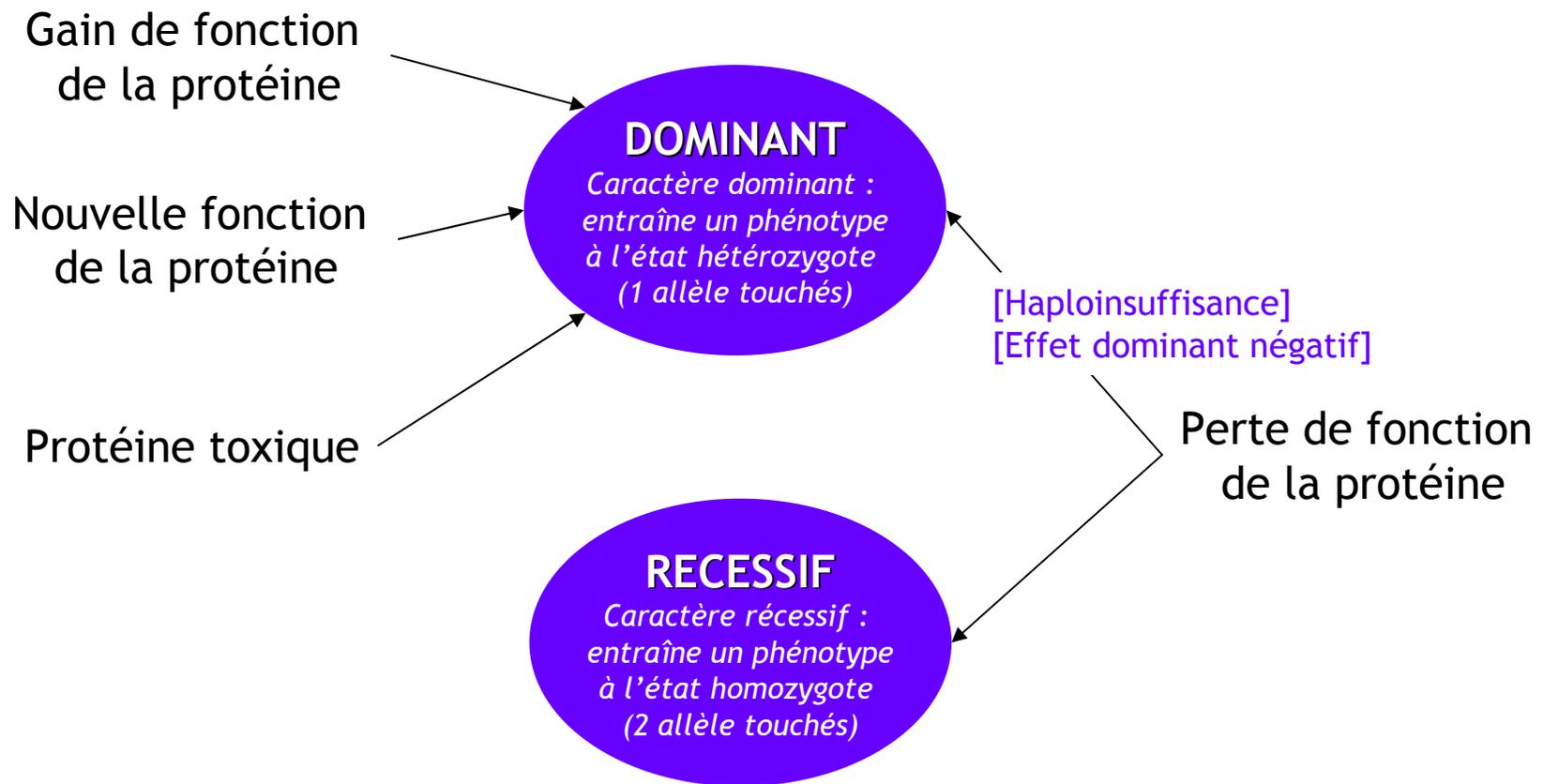
- ✓ Monogénique
 - Hérité autosomique dominante (AD)
 - Hérité autosomique récessive (AR)
 - Hérité liée à l'X
 - Dominante (XLD)
 - Récessive (XLR)

- ✓ Hérité chromosomique

- ✓ Hérité mitochondriale

- ✓ Hérité soumise à empreinte parentale

Conséquences fonctionnelles des mutations & transmission des maladies génétiques



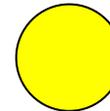
Arbre généalogique

Symboles

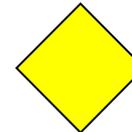
- Patient
 - Sa fratrie
 - Parents
 - Leur fratrie
 - Leur descendances (cousins)
 - Grands-parents
 - Et plus si nécessaire...
-
- Attention
 - Unions multiples
 - Décès & Fausse-couches
 - Fiabilité ???



Homme



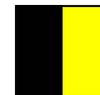
Femme



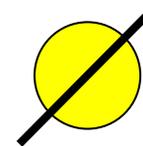
Sexe ?



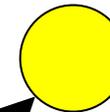
Fausse-couche



Porteur sain (AR/XL)



Décédé



Cas index

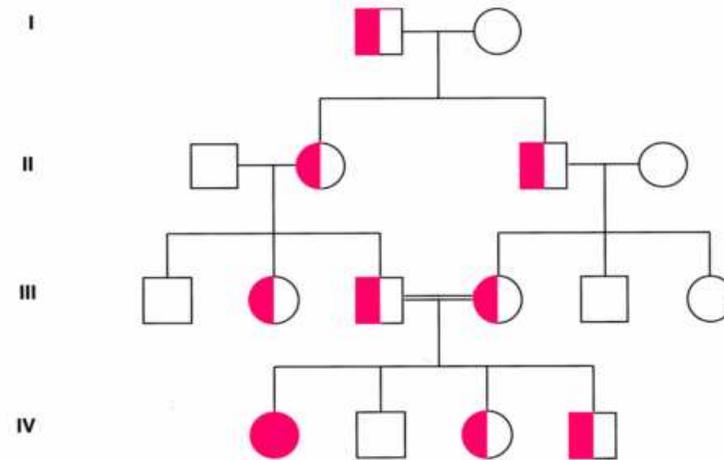


Malade

Hérédité récessive

Caractère récessif : entraîne un phénotype à l'état homozygote (2 allèle touchés)

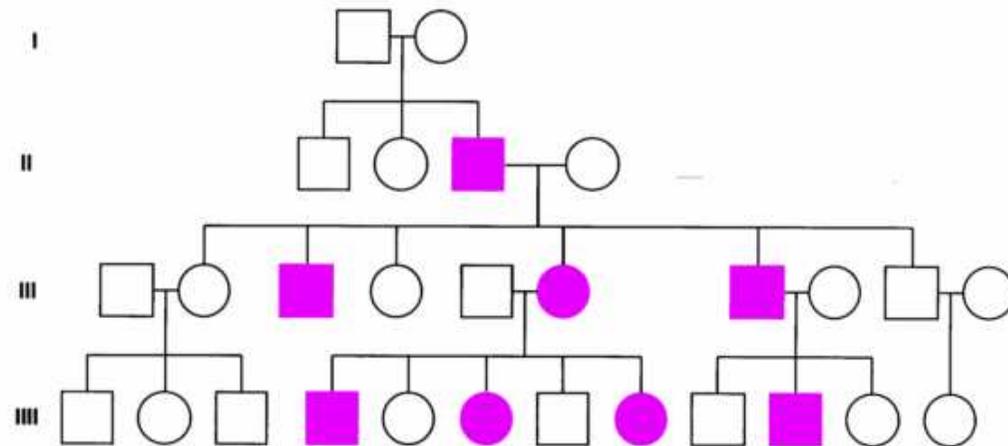
- ✓ Horizontale
 - parents sains
 - enfants atteints
 - Souvent « cas isolé » (petites familles)
- ✓ Favorisée par la consanguinité
- ✓ Risque de transmission
 - 25%
 - M = F
 - Un frère/sœur sain à 2/3 chance d'être hétérozygote



Hérédité dominante

Caractère dominant : entraîne un phénotype à l'état hétérozygote (1 allèle touché)

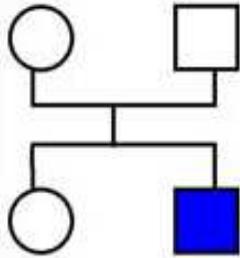
- ✓ Transmission verticale
 - De génération en génération
 - Ancêtre fondateur
- ✓ Toujours sporadique si létal (avant l'âge de la reproduction)
- ✓ Homozygotie généralement létale



Hérédité dominante

Cas d'un malade isolé / saut de génération

Caractère dominant : entraîne un phénotype à l'état hétérozygote (1 allèle touché)

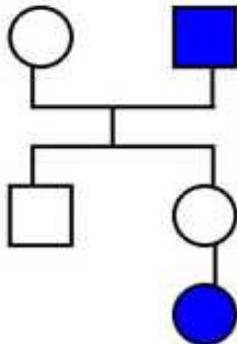
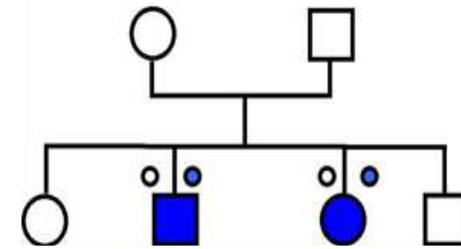


néo-mutation

la mutation est survenue dans un gamète

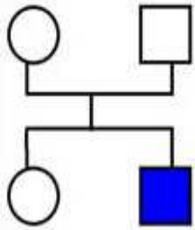
mosaïque germinale

mutation dans une cellule germinale
(donne plusieurs gamètes)



pénétrance incomplète

Coefficient de pénétrance 0 à 100%
Peut varier avec l'âge



Néomutation

La mutation est survenue dans un gamète

Fréquence néomutation spontanée pour 1 gène donné
= 1/10.000 à 1/10.000.000 gamètes

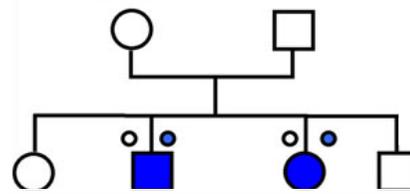
selon

- Taille du gène (NF1, DMD, hémophilie A,...)
- « Sensibilité » spécifique de certaine séquence d'ADN (hot spot)
- Age du parent → augmentation de fréquence
- Exemple : 1 éjaculat de 3ml (> 20.000.000 spermatozoïdes/ml)
→ au moins 6000 spermatozoïdes mutés / éjaculation...

Risque de récurrence de la maladie théoriquement nul ou très faible

Mosaïcisme

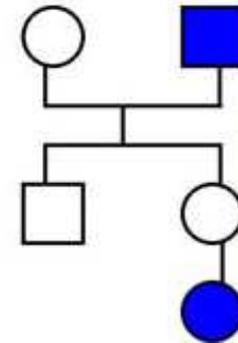
- Une mutation survenant lors des premières étapes de division
→ transmission clonale
 - Mosaïcisme somatique
 - Mosaïcisme germinale
- Mosaïcisme germinale
 - Absence de mutation au niveau somatique
 - Présence d'une mutation ou d'une aberration chromosomique en mosaïque au niveau germinale
 - Fréquence habituelle : 1 à 5% des cas AD
 - Particulièrement fréquent dans DMD et hémophilie (15-20%)



Pénétrance incomplète et/ou retardée

Coefficient de pénétrance = nombre d'individus atteints
phénotypiquement / nbre d'individus atteints
génétiquement

- ✓ Si la pénétrance est **incomplète**
 - Un sujet muté peut sembler normal
 - Un sujet normal peut donc porter une mutation et la transmettre



- ✓ Si la pénétrance est **retardée**
Exemple: maladie neurodégénérative et cancers génétiques de l'adulte
 - Un sujet muté devient malade au cours du temps
 - Au moment de concevoir ses enfants, un sujet muté peut encore être asymptomatique

pénétrance incomplète (quantitatif) \neq Expressivité variable (qualitatif)

Manifestations variables chez des individus différents

Hérédité dominante

Risque de transmission

- ✓ Pour 1 parent atteint ayant 1 enfant atteint : 50%, M et F
- ✓ Pour un parent sain d'enfant atteint : environ 1%
 - Mosaique germinale
 - Attention : pénétrance incomplète ou d'expressivité retardée
- ✓ Un sujet sain, au sein de la même famille, a une probabilité quasi-nulle (probabilité d'une néomutation) d'avoir un enfant atteint

Hérédité mendélienne

Difficultés pratiques

- ✓ Déterminer un mode de transmission est difficile en pratique
 - Familles très petites
 - Souvent 1 seul cas → pas de conclusion possible

- ✓ Une même maladie peut avoir plusieurs modes de transmission
 - Ex : Surdité : AD, AR, XLR, mitochondrial*
 - Ex : Rétinite pigmentaire: AD, AR, XLR*
 - En raison d'une hétérogénéité génétique (plusieurs gènes)
 - Pour un même gène, en fonction de la nature des mutations et de leur effet

- ✓ Difficultés d'interprétation
 - Néomutation
 - Pénétrance incomplète / retardée
 - Mosaicisme germinal
 - Exclusion de paternité
 - Disomie uniparentale

Le diagnostic génétique

Diagnostic génétiques d'une maladie

Identification de la mutation responsable de la maladie

Bénéfice direct

- ✓ Confirmation d'un diagnostic /Diagnostic différentiel de la maladie
- ✓ Diagnostic présymptomatique préventif (PCU, hypothyroïdie)
- ✓ Meilleur pronostic si présymptomatique (MEN2, polypose rectocolique)
- ✓ Typage de l'anomalie génétique en cause
 - Pronostic
 - Diagnostic prénatal

Bénéfice indirect

Dépistage des couples à risque et conseil génétique avant la naissance d'un 2ème enfant

Diagnostic génétiques d'une maladie

Identification de la mutation responsable de la maladie

Difficulté variable

- ✓ Mutation récurrente ou hétérogénéité allélique
- ✓ Homogénéité ou hétérogénéité allélique
- ✓ Différents types de mutation (délétions, mutations ponctuelles, ...)
- ✓ Gène(s) de grande taille

Dans certaines maladies, toutes les mutations ne sont pas identifiables (diagnostic d'exclusion impossible)

NB : Attention aux cas des patients ayant subi une greffe de moelle

Particularités du diagnostic génétique

- ✓ Caractéristiques de l'information génétique
 - Très personnelle (identité génétique)
 - Pourtant partagée (parents, groupes)
 - Etudes familiales / secret médical

- ✓ Génome : patrimoine de l'humanité
 - Polymorphisme
 - combinaison aléatoire

- ✓ Permet de remonter dans les générations

- ✓ Permet de réduire les possibles futurs

Diagnostic génétique

Aspects éthiques & légaux

Laboratoire de diagnostic

Agrément pour la réalisation de tests génétiques (agence de biomédecine)

Agrément spécifique pour la réalisation de tests prénataux

Diagnostic génétique du sujet atteint

- ✓ Consentement éclairé pour l'examen des caractéristiques génétiques
- ✓ Signature par le patient ou ses 2 parents (enfant mineur) et par le médecin référent
- ✓ Les résultats seront rendus uniquement au médecin référent

Diagnostic génétique chez les apparentés

Un diagnostic présymptomatique chez un sujet apparenté non atteint ne peut être réalisé chez un sujet mineur que s'il existe un bénéfice direct pour le sujet

Cas du diagnostic prénatal

Dossier examiné en staff pluridisciplinaire

Décret no 2000-570 du 23 juin 2000 fixant les conditions de prescription et de réalisation des examens des caractéristiques génétiques d'une personne

- *Art. R. 145-15-4.* - Le **consentement**, prévu à l'article L. 1131-1, de la personne à qui est prescrit l'examen de ses caractéristiques génétiques doit être libre et éclairé par une information préalable comportant notamment des indications sur la portée de l'examen dans le respect des dispositions de l'article 35 du 6 septembre 1995 portant code de déontologie médicale. **Ce consentement est donné par écrit.**
- Lorsque la personne concernée est un mineur, le consentement doit être donné, dans les conditions de l'alinéa précédent, par les titulaires de l'autorité parentale.

Test d'un mineur

- *Art. R. 145-15-5.* - Chez un patient présentant un ou des symptômes d'une maladie génétique, la prescription d'un examen des caractéristiques génétiques ne peut avoir lieu que dans le cadre d'une consultation médicale individuelle.
- Lorsque l'examen doit être effectué sur un mineur, il ne peut être prescrit que si celui-ci peut personnellement en **bénéficier** dans sa prise en charge ou si des **mesures préventives ou curatives** peuvent être prises pour sa famille.

Diagnostic génétique

Aspects éthiques & légaux

PARADOXE

Le dépistage des caractéristiques génétiques est très réglementé lorsqu'il s'adresse à l'ADN

Aucune législation ne réglemente un test biochimique/autre aboutissant au même résultat

Exemple:

électrophorèse de l'Hb et drépanocytose

Symptôme précoce (aréflexie du CMT)

Diagnostic prenatal

Diagnostic prénatal

(loi de bioéthique 1994 et modifs)

- ✓ Le DPN s'entend des pratiques médicales ayant pour but de détecter *in utero* chez l'embryon ou le fœtus une maladie d'une particulière gravité

- ✓ Il peut conduire à
 - Traiter l'enfant *in utero*
 - Organiser sa prise en charge dès la naissance (environnement médical/chirurgical adapté)
 - Interrompre la grossesse (IMG) lorsque l'anomalie détectée est d'une particulière gravité ET incurable au moment du diagnostic
 - Si les parents en expriment la demande
 - Après avis favorable d'un Centre Pluridisciplinaire de DPN
 - Sans limite de terme

Diagnostic prenatal

Aspects éthiques & légaux

Code de la Santé Publique - Art. L2213-1 (suite)

L'interruption volontaire d'une grossesse peut, à toute époque, être pratiquée si deux médecins membres d'une équipe pluridisciplinaire attestent, après que cette équipe a rendu son avis consultatif, [...], qu'il existe une forte probabilité que l'enfant à naître soit atteint d'une affection d'une particulière gravité reconnue comme incurable au moment du diagnostic.