

Option génétique

Cours n°8

Prof : Mr Cornelis

Génétique des maladies multifactorielles :
Application à la polyarthrite rhumatoïde

Introduction : Les maladies multifactorielles sont les plus fréquentes des maladies et elles comportent des facteurs génétiques qui sont à utiliser avec une grande prudence car on ne sait pas encore bien s'en servir.

Le problème en ce moment est qu'il y a des organismes qui proposent à des particuliers et à des fins commerciales, de leur dévoiler leur génome et ainsi leurs chances de développer telle ou telle maladie. En France il existe une réglementation pour protéger la population mais ceci a déjà commencé aux Etats-Unis. Le problème est que certaines de ces maladies sont peut être sous le contrôle de facteurs psychologiques déclenchants donc de savoir qu'on est prédisposé à telle ou telle maladie pourrait, sous l'effet de l'inquiétude créé un terrain propice au développement de la maladie.

1) Les facteurs génétiques dans les maladies multifactorielles

A] Existence de facteurs génétiques dans les
maladies

multifactorielles

a) Définition du phénotype

- Dans les maladies multifactorielles, on peut avoir des traits quantitatifs, données qui sont mesurables, par exemple l'HTA ou des traits qualitatifs, non mesurables, on a le trait ou pas, par exemple on a la polyarthrite rhumatoïde (PR) ou pas.
- Il y a des maladies où il y a des équivalents de phénotype comme par exemple la taille (?), la pharmaco-génétique c'est-à-dire quelle est la réponse à un traitement donné et quelle est la part de la génétique dans cette réponse et les endophénotypes qui sont un sous groupe de maladies données.

b) Génétique épidémiologique

Pour calculer la part de la génétique dans les maladies multifactorielles, on procède à plusieurs types d'études :

- Dans les études d'agrégations familiales, on cherche à savoir quelle est la prévalence de la maladie chez les apparentés par rapport à la prévalence dans la population
 - on calcule le rapport de prévalence « lambda s » (lambda s signifie que les apparentés sont les frères et sœurs, on dit aussi les apparentés germains)
 - Si le rapport apparentés/population ≥ 1 alors on peut penser qu'il y a des facteurs génétiques.
 - on peut ensuite faire une interprétation de ce qui est génétique et ce qui est environnemental.
- Dans les études de jumeaux,
 - on calcule le rapport de taux de concordance chez les monozygotes et les dizygotes. On cherche la prévalence de la maladie chez le 2ème jumeau quand le premier est atteint.

-si ce taux est plus élevé chez les vrais jumeaux que chez les faux et que leur environnement est le même, alors on peut conclure qu'il y a des facteurs génétiques.

- Dans les études de ségrégation (pas encore faisables mais dans quelques années) dans lesquelles on collecte un grand nombre d'arbres généalogiques, on voudrait modéliser le nombre de gènes impliqués et leur importance respective et identifier des sous unités mono géniques.

c) Facteurs génétiques de maladies multifactorielles (pas important)

Voici quelques facteurs génétiques et les maladies dans lesquelles ils sont impliqués :

- HLA dans les maladies auto immunes
- INS dans le diabète insulino-dépendant
- ApoE dans la maladie d'Alzheimer
- NOD 2 dans la maladie de Crohn
- PTPN22 dans la PR
- Ces gènes sont bien identifiés dans ces maladies mais le détail du mécanisme par lequel ils mènent à la maladie est inconnu.

B] Intérêt de la recherche de facteurs génétiques dans les maladies multifactorielles.

L'intérêt est de proposer des tests génétiques que si cela est pertinent.

En effet, dans les maladies multifactorielles la VPP est souvent limitée, c'est-à-dire que la probabilité d'avoir la maladie si le test est positif est souvent faible mais l'inquiétude générée chez le malade qui aura un test positif est trop importante donc

on fait le test que chez quelqu'un qui présente une combinaison de facteurs (symptômes, facteurs de risque, antécédents familiaux)

Il y a aussi un intérêt physiopathogénique, on cherche à comprendre les mécanismes de la maladie par l'étude des facteurs génétiques, en effet souvent on ne connaît pas le mécanisme déclencheur, par exemple, dans l'HTA on sait que la pression augmente car les résistances augmentent mais on ne sait bien pourquoi les résistances augmentent. On cherche aussi à trouver des pistes thérapeutiques en fonction des gènes, des allèles à risque et des interactions avec l'environnement.

2) Stratégie de la recherche

A] Stratégie de recherche actuelle

On prend de grands échantillons d'ADN de familles phénotypées.

On a deux types de familles :

- les paires de germains (frères et sœurs) atteints/ASP
- les trios, 1 personne atteinte et ses 2 parents la plupart du temps non atteints → cela permet de mettre au clair les chromosomes atteints

On fait des études de liaison dans les familles ASP : on cherche s'il y a, chez des frères et sœurs atteints, des portions de chromosome qui se ressemblent.

Sur ces échantillons d'ADN, on fait un criblage du génome pour identifier des régions qui ont des facteurs génétiques et on recherche des loci de la maladie.

On fait des études d'association dans les familles trio, on choisit des gènes candidats, on recherche les allèles à risque dans les ADN des familles atteintes et on confirme par réplification (quand on trouve la même chose dans des échantillons indépendants faits par des équipes différentes)

B] La polyarthrite rhumatoïde (PR)

a) Généralités

C'est la 1ère maladie auto-immune qui a été découverte, elle touche entre 0.4 et 1% de la population. Elle est à prédominance féminine, 75% des personnes atteintes sont des femmes. Dans la majorité des cas elle débute aux alentours de 45 ans mais ça peut être plus tôt. Elle provoque des atteintes articulaires des mains, des pieds... ce sont d'abord des douleurs, puis des gonflements, puis il y a une destruction des articulations. La physiopathologie de la maladie est mal connue mais il y a manifestation des phénomènes d'auto immunité.

Cette maladie a un coût majeur pour la santé publique : 674 M d'euros/an
et les nouvelles biothérapies sont onéreuses : + 150 M d'euros/an.

Maladie handicapante, qui ne tue pas (rarement) mais qui diminue l'espérance et la qualité de vie.

b) Facteurs génétiques de la PR

- Dans les études familiales on a déterminé que :
 - le risque pour les apparentés de 1^{er} degré est multiplié par 10 et comme le risque initial est de 0.4 % le risque des apparentés devient donc de 4 % ce qui est très faible
 - le risque pour les jumeaux monozygotes est multiplié par 30 ce qui donne un risque de 12 % qui est aussi assez faible
- Le gène de susceptibilité qui a été clairement identifié est HLA-DRB1 mais on ne connaît pas le mécanisme par lequel les personnes qui ont cet allèle développent la maladie. D'autres gènes seraient impliqués comme PTPN 22 mais on ne sait pas comment.

c) Intérêt de la recherche des facteurs génétiques dans la PR

Au niveau du test génétique, l'identification de facteurs génétiques permet de faire le diagnostic chez des personnes symptomatiques. En effet quelqu'un qui a les symptômes de la PR et qui en plus a le facteur génétique est considéré comme atteint de la PR. Les tests génétiques vont aussi permettre de préciser le pronostic chez une personne dont la maladie est débutante c'est-à-dire si c'est une forme avec un potentiel destructeur important ou si c'est un profil associé à une forme moins pénible de la maladie

Au niveau physiopathogénétique, le but est de comprendre le mécanisme de la maladie pour pouvoir trouver un traitement définitif. Pour agir sur la maladie il faudrait que l'on comprenne comment le variant HLA-DRB1 agit sur la maladie. On fonde beaucoup d'espairs sur la liste des facteurs génétiques qui s'allonge en espérant qu'au moins l'un d'eux va nous permettre de comprendre le rôle de HLA-DRB1 en mettant en évidence une interaction entre ce gène et un autre variant allélique. Par exemple, on sait que HLA joue un rôle dans l'augmentation de peptides antigéniques et que PTPN22 joue un rôle dans la production d'auto anticorps. Il se pourrait que la maladie soit déclenchée par une infection bactérienne chez des individus qui ont un profil génétique particulier, cette bactérie déclencherait la production d'auto anticorps par mimétisme moléculaire. Si c'était le cas le traitement serait un vaccin contre cette bactérie.

Il existe un organisme européen pour la PR, l' ECRAF (the european consortium on rheumatoid arthritis families), qui s'occupe de mettre en commun les ADN de familles atteintes dans différents pays d'Europe pour mettre en évidence des facteurs génétiques communs.

d) Etude de liaison. Grillage du génome. Génome Scan.(Familles ASP)

Pour faire les études de liaison, on utilise l'ADN de familles avec plusieurs personnes atteintes. On fait un génotypage de marqueurs multialléliques qui sont les

microsatellites et de marqueurs bi alléliques qui sont les SNP (single nucleotide polymorphism)

On recherche des loci (régions d'ADN) avec écart aux lois de Mendel sous la forme d'un excès de partage allélique, c'est-à-dire que dans les familles de germains atteints on cherche les régions qui ont des similitudes, plus qu'entre des germains non atteints.

i) Analyse de germains atteints

Partage	2/2	1/2	0/2
Probabilité	25%	50%	25%

On détermine pour chacune des familles dans quel cas de figure on se trouve, est-ce que les parents ont transmis les mêmes allèles aux 2 enfants ou pas.

Dans le 1^{er} cas, le père a transmis son premier chromosome à ses 2 filles et la mère a aussi transmis son 1^{er} chromo à ses 2 filles. La proba de ce genre de familles est de 25% (chacun des parents a 50% de chances de transmettre le même chromo à chaque fille).

Dans la 2^{ème} famille, les 2 germains partagent soit le chromo paternel soit le chromo

maternel. La probabilité est de 50%.

Dans la 3^{ème} famille, le père transmet son 1^{er} chromo à son 1^{er} enfant et l'autre chromo au 2^{ème} enfant donc ces 2 germains ne partagent rien des chromos paternels. La mère fait pareil donc ils ne partagent rien du tout. La proba est de 25%.

La probabilité de transmission d'un même allèle par un parent à ses 2 enfants est de 50% donc globalement, il faut chercher les marqueurs pour lesquels il y a un excès d'allèles partagés de 50%.

ii) 1^{er} criblage du génome dans la PR 326 marqueurs/90 familles

p	régions	marqueurs	partage
≤ 0.0001	HLA	3	67%
≤ 0.05	26	35	56-66%

Il y a une seule région où il y a un partage d'allèles significatif, c'est la région HLA où le partage est de 67%. Il y a également un partage allélique dans la région 26 mais il n'est pas assez élevé pour que l'on soit sûr qu'il est impliqué. La majorité des personnes qui seront positifs pour la région 26 seront des faux positifs.

Le criblage du génome a été fait dans plusieurs pays (Japon, USA, GB) et seul HLA est constamment répliqué. La difficulté est que l'on recherche des combinaisons des dizaines de facteurs et probablement que les facteurs statistiques sont trop difficiles à mettre en place pour sortir à chaque fois.

e) Etude d'association des gènes candidats (familles trio)

On part d'un gène candidat sur lequel on a des doutes qu'il joue un rôle dans la physiopathogénie de la PR, on fait l'hypothèse d'un allèle de susceptibilité.

Les variants que l'on recherche sont présents chez moins de 10% de la population. Lorsque l'on trouve un variant, on l'associe à la maladie mais cette association ne signifie pas que l'allèle est forcément impliqué dans la physiopathogénie, il peut être simplement un marqueur d'1 haplotype. 1 haplotype est une combinaison d'allèles sur un chromosome donné.

- Association allèle/maladie
 - allèle fonctionnel « m » impliqué dans la physiopathogénie

 - allèle en « déséquilibre de liaison » avec l'allèle m
 - =associé à l'allèle m
 - =en combinaison haplotypique préférentielle
 - =inclus dans un même bloc haplotypique

haplotype : combinaison d'allèles sur un chromosome donné

f) Carte des SNP

- ≥ 3 millions

- blocs d'association alléliques / « déséquilibre de liaison »
- caractérisation des SNP fonctionnels
- influence de la population étudiée
- défaut d'exhaustivité : reséquençage +++

3) Perspectives de développement de la recherche et d'utilisation des résultats

Il y a des perspectives de développement dans le domaine de l'épidémiogénétique (facteurs d'environnement) et dans la recherche de mécanismes de traitement.

La VPP est limitée dans les tests génétiques pour les maladies multifactorielles, il faut donc utiliser les tests génétiques avec beaucoup de précautions.

	Maladie +	Maladie –
Test +	Vrai+	Faux+
Test -	Faux -	Vrai –

$$VPP = \text{Vrai+} / \text{test +}$$

HLA-DRB1

Population générale

	M +	M -	
Test+	7	393	400
Test -	3	597	600
	10	990	

On prend 1000 personnes de la population générale. La prévalence de la PR étant de 1 %, on a donc 10 personnes atteintes. La sensibilité (la proba d'avoir le signe si on est malade) pour ce facteur est de 70% donc sur les 10 malades on en a 7 qui ont le facteur HLA. La spécificité (proba de ne pas avoir le signe si on n'est pas malade) est de 60% donc sur les 990 non atteints 597 n'ont pas le facteur HLA. 40% de la population générale possède le signe.

Donc, malgré que la sensibilité et la spécificité du test soient élevées, la VPP (proba d'être malade si on a le signe) est très faible \leq à 2%.

Donc ce test n'a aucun intérêt dans la population générale.

HLA-DRB1

Individus symptomatiques

	M +	M -	
Test +	7	12	19
Test -	3	18	21
	10	30	

On prend 40 personnes qui ont mal aux mains et aux pieds. Dans 75% des cas, les douleurs vont disparaître et les gens n'auront pas la PR et dans 25 % des cas ce sera la PR. Sur les 30 personnes qui n'ont pas la PR, 30% ont le facteur génétique. Ici la VPP est égale à $7/19=37\%$. Donc le test est plus pertinent chez des personnes symptomatiques. Cependant on est loin des tests des maladies monogéniques comme la drépanocytose où la VPP est de 100 %. C'est ce qui est difficile dans les maladies multifactorielles, en effet si on a un test positif, c'est un argument en faveur de la maladie mais ce n'est pas un argument formel.

HLA-DRB1

Apparentés symptomatiques

	M +	M -	
Test +	3	57	60
Test -	1	39	40

On prend 100 personnes qui sont des enfants de personnes atteintes. 4 % vont développer la PR. 70 % ont le facteur génétique. Prévalence du facteur génétique plus élevée que dans la population générale car transmission du gène par les parents atteints. Ici la VPP est de 5% ce qui est à peu près proche de la VPP dans la population générale. Donc même si ce sont des apparentés de personnes atteintes, la proba qu'ils développent la maladie s'ils ont HLA est très faible.

HLA-DRB1

Apparentés symptomatiques

	M +	M -	
Test +	7	18	25
Test -	3	12	15
	10	30	

VPP = 28% ce qui est faible, il faut éviter d'inquiéter à tort les patients et leur famille.

Tous facteurs génétiques confondus pour la PR

Population générale

M + M -

Test +	10	70	80
Test -	0	920	920
	10	990	

Sur les 80 personnes qui ont les facteurs génétiques, il y a 7 fois plus de personnes non atteintes que de personnes atteintes. VPP = 12% donc dans à peu près 9 cas sur 10, les personnes qui ont les facteurs génétiques ne développeront pas la maladie.

Individus symptomatiques

	M +	M -
Test +	10	2
Test -	0	28

Chez des individus symptomatiques qui ont tous les facteurs génétiques prédisposant à la maladie, la VPP est de 83%.