



Mise à jour du spectre des mutations du gène *Men1* au cours de l'hyperparathyroïdie familiale: la c.758C>T Ser253Leu serait un simple polymorphisme

S. Oueslati ^{1,*}, Y. Amri ², S. Hadj Fredj ², S. Mahjoubi ³, A. Guesmi ¹, R. Mahjoub ¹, S. Hammemi ¹, T. Messaoud ¹, I. Kammoun ³, A. Bibi ^{1,*}

¹Laboratoire De Biologie Clinique-Unité De Recherche 17sp01: Biologie Moléculaire Appliquée À L'étude Des Hyperlipoprotéïnémies, Diabète Et Hormones-Institut National De Nutrition Et De Technologie Alimentaire - Tunis (Tunisie),

²Laboratoire De Biochimie Et De Biologie Moléculaire-Laboratoire De Recherche Lr00sp03-hôpital D'enfants Béchir Hamza - Tunis (Tunisie),

³Service D'endocrinologie -maladie De La Nutrition B, Institut National De Nutrition Et Des Technologies Alimentaires - Tunis (Tunisie)

Introduction

L'hyperparathyroïdie primitive familiale (HPTF) représente à nos jours 5 à 10% de l'ensemble des HPT. Celles-ci apparaissent dans un contexte de néoplasie endocrine multiple (NEM) de type 1, de type 2A ou de type 4 ou de syndrome HPT-tumeur de la mâchoire. Elles peuvent aussi être évoquées lors d'une hypercalcémie hypocalciurique familiale ou isolée (FIHP=familial isolated hyperparathyroidism).

Au cours de ce travail, nous nous sommes proposés de réaliser une étude moléculaire d'une HPTF évoquée chez une famille Tunisienne. Le diagnostic de NEM1 a été évoqué en présence de signes cliniques et biologiques en faveur d'une hyperparathyroïdie avec une anamnèse familiale.

Patients & Méthodes :

Notre étude a été réalisée chez une famille Tunisienne originaire de la région de Djerba. Elle est composée de six membres atteints d'hyperparathyroïdie sur deux générations (Figure 1). Une population témoin de 30 individus sains (ne présentant pas d'HPT) a également été incluse dans l'étude génétique.

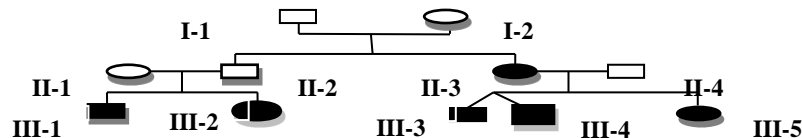
Les patients ont bénéficié d'un bilan biologique qui a comporté:

- ❖ Un bilan hormonal et vitaminique : PTH, vitamine D, cortisol, FSH, LH, TSH.
- ❖ Un bilan rénal : créatinine, clairance de créatinine, urée, acide urique, sodium, potassium.
- ❖ Un bilan phosphocalcique : calcium, phosphates, phosphatases alcalines.
- ❖ Un bilan lipidique : cholestérol, cholestérol- LDL, cholestérol-HDL, triglycérides.
- ❖ Une étude moléculaire du gène *MEN1* par séquençage direct sur analyseur automatique de type ABI Prism 310.
- ❖ Une modélisation bioinformatique des variations nucléotidiques identifiées par logiciel SIFT, Polyphen2, SwissPdb Viewer, I-Mutant, SMD ainsi que Phyre2

Résultats & discussion :

Données cliniques et biologiques

Au sein de la famille d'étude, nous avons distingué un premier groupe formé de 3 patients (II-3, III-2 et III-4) présentant des symptômes liés à l'HPTF: hypercalcémie, lithiase rénale, maladies ostéoarticulaires, asthénie, insomnie, et un deuxième groupe de 3 patients quasiment asymptomatiques (III-1, III-3 et III-5). L'examen clinique des patients asymptomatiques a retrouvé une chute des cheveux et des troubles dentaires. Ces derniers seraient en rapport avec l'action de résorption médiée par la PTH.



Les cercles indiquent les femmes, les carrés indiquent les hommes, le cercle et le carré noir indiquent les cas index

Figure 1: Arbre généalogique de la famille étudiée

• Les trois patients symptomatiques (II-3, III-2, III-4) ont présenté des valeurs de PTH normale, à la limite supérieure de la normale ou élevée respectivement de 19.92, 61.18 et 102.3 pg/ml. Seul le patient III-4 a présenté une hypercalcémie à 2.72 mmol/L en rapport avec l'élévation de la PTH. Cela nous permet de constater que l'hypercalcémie est variable et non constante au cours de l'HPTP, et se trouve certainement liée à l'importance de l'hypersecrétion de PTH. Nos résultats sont en accord avec les données de la littérature rapportant une augmentation de la calcémie causée par des concentrations élevées de PTH (Dang et al. 2016). Une hypophosphatémie a été constatée chez 3 patients (III-1, III-4, III-5) dont deux présentent une valeur de PTH normale. Un déficit en Vitamine D a été également constaté chez tous les patients. En effet, L'excès de PTH stimule la 1 α -hydroxylase rénale et favorise la transformation de la 25(OH) D en 1,25-(OH) D.

Données moléculaires : résultats du séquençage direct de l'ADN

La présence de signes cliniques et biologiques en faveur d'une hyperparathyroïdie avec une anamnèse familiale positive ont permis de poser le diagnostic d'une hyperparathyroïdie primitive familiale de type MEN1. La recherche de mutations ou de variations nucléotidiques dans les régions codantes: les exons 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, et 10 du gène *MEN1* a révélé la présence, au niveau de l'exon 4, de la variation de séquence: **c.758C>T (Ser253Leu)**. Cette variation a été retrouvée à l'état hétérozygote chez tous les membres de la famille (Figure2).

Cette variation de séquence a été décrite dans un registre suédois en 2007 (Tham et al, 2007), dans une famille présentant une HPTP. Les auteurs stipulent que cette variation semble coder pour une ménine moins stable, mais moins rapidement dégradée par rapport aux mutations associées avec un phénotype de néoplasie endocrine multiple de type 1. Elle a été également rapportée chez une famille Belge en 2015 (Potorac et al, 2015).

Etude bioinformatique

L'alignement multiple de plusieurs séquences peptidiques par le logiciel Polyphen-2 a montré que l'acide aminé Ser253 n'est pas conservé chez toutes les espèces analysées. La prédiction de l'effet de cette variation de séquence est complétée par une autre analyse de stabilité protéique sur logiciel I-Mutant. Le RI (Reliability Index) est calculé à partir du moment où un signe de changement de stabilité est prédit dans la séquence de la protéine. Le RI est entre 0 et 10, la maladie est prédite par un indice de fiabilité > 0,5 (figure 3).

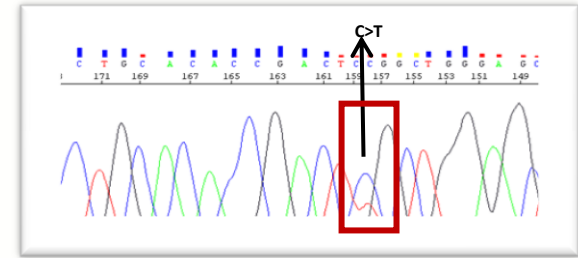
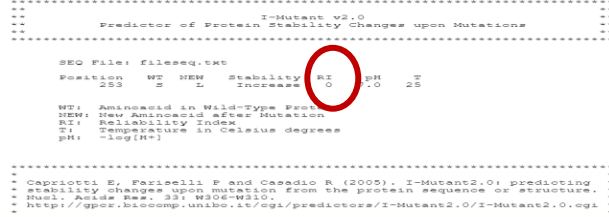


Figure 2: La variation de séquence c.758C>T Ser253Leu au niveau de l'exon 4



L'analyse bioinformatique que nous avons réalisée a écarté tout effet pathogène de cette variation et l'a plutôt identifiée comme polymorphisme neutre, d'autant plus que l'acide aminé Serine en position 253 n'est pas conservé chez toutes les espèces.

Conclusion

Les résultats de notre étude ont permis de mettre à jour le registre de mutations du gène *MEN1* en identifiant la variation de séquence c.758C>T Ser253Leu comme étant un polymorphisme neutre. Malgré le fait qu'une corrélation nette génotype-phénotype n'existe pas pour les mutations MEN1, il paraît quand même que certaines d'entre elles prédisposent vers le phénotype plus léger de FIHP. Des recherches supplémentaires doivent être menées pour expliquer ces différences. L'analyse moléculaire et bioinformatique constitue une étape essentielle dans la compréhension des phénotypes et dans l'établissement des corrélations phénotype-génotype pour une meilleure prise en charge.

Ser253Leu

(hu)	TDSLE
(ms)	TDSLE
(zf)	TDSTE
(dr)	SDCVE

Figure 3: Résultat de la prédiction de la stabilité protéique en présence de la variation de séquence c.758C>T Ser253Leu.