

Etude Du Gène RET Dans La Néoplasie Endocrinienne Multiple 2, A Propos De 20 Cas

L.bouguenouch^{1,2}, H.Sayel¹, K.Ouldin^{1,2}

1: Unité de génétique médicale CHU Hassan II, Fès

2 : Faculté de médecine et de pharmacie, Fès

Auteur correspondant: Bouguenouch Laila, professeur assistant de génétique

Résumé: La néoplasie endocrinienne multiple type2 est un syndrome génétique rare caractérisé par le développement de tumeurs dans trois glandes endocrines : la thyroïde, la partie centrale des glandes surrénales et les glandes parathyroïdes. Elle est causée par des mutations de la ligne germinale dans le proto-oncogène RET et des corrélations spécifiques génotypes-phénotypes influencent la gestion clinique.

Notre travail, concerne plus précisément la classification, la détermination des caractéristiques cliniques, et l'application de la biologie moléculaire pour l'analyse du matériel génomique de patients atteints de NEM 2. En outre, nous discutons les progrès récents dans la base moléculaire sous-jacente au NEM 2, et fournissons des directives sur la façon dont ces tests génétiques pourraient être utilisés pour la prise en charge clinique des patients affectés ainsi que les autres membres de la famille à risque.

Mots clés : NEM 2, Proto-oncogène RET ; Exons ; Cancer médullaire de la thyroïde ; Phéochromocytome ; Hyperparathyroïdie

Date of Submission: 08-06-2019

Date of acceptance: 25-06-2019

I. Introduction

Il est aujourd'hui admis que le développement d'une tumeur résulte de l'altération des processus de contrôle de la croissance, de l'organisation et de la mort cellulaire. Ces altérations sont le résultat de l'acquisition de mutations dans deux types principaux de gènes : les proto-oncogènes, qui codent pour des protéines qui interviennent le plus souvent dans les voies de signalisation régulant le cycle cellulaire, et les gènes suppresseurs de tumeurs qui sont impliqués dans le contrôle du cycle cellulaire et aussi dans l'adhésion cellulaire.[1]

Le terme « néoplasie endocrinienne multiple de type 2 » désigne un syndrome génétique rare qui est du à des mutations germinales activatrices du protooncogène RET codant un récepteur à activité tyrosine-kinase et qui est caractérisé par l'apparition indépendante de changements bénins ou malins de plusieurs organes endocriniens (la thyroïde, la parathyroïde et la glande surrénalienne) ainsi que des changements occasionnels des neurones, des muscles et du tissu conjonctif. Les glandes affectées par NEM2 peuvent sécréter des quantités excessives d'hormones dans la circulation sanguine, ce qui peut entraîner une variété de symptômes. [2]

Le diagnostic de la NEM 2 implique le diagnostic d'un carcinome médullaire de la thyroïde (CMT), celui du phéochromocytome (PHEO) et d'une éventuelle hyperparathyroïdie primitive (HPTP). [3]

Ce travail porte sur 20 patients issus de différentes familles marocaines présentant une NEM 2 dans le but de déterminer la prévalence des mutations du gène RET dans ce groupe de patients et étudier sa corrélation génotype-phénotype.

II. Matériels Et Méthodes

Il s'agit d'une étude rétrospective portant sur 20 patients non apparentés conduite au service de génétique médicale du CHU Hassan II Fès, étalée sur une durée de 3ans. Les données cliniques et paracliniques ont été recueillies ainsi que l'arbre généalogique de chaque famille.

Après consentement éclairé, un prélèvement du sang périphérique sur tube EDTA a été réalisé suivi d'une extraction d'ADN par kit et quantification par dosage spectrophotométrique. Une réaction PCR des échantillons d'ADN est réalisée par la suite pour amplifier les exons 10, 11, 13, 15 et 16 du gène RET. Le contrôle d'ADN amplifié se fait par une électrophorèse sur gel d'agarose avant de procéder au séquençage du fragment amplifié selon la méthode sanger qui permet l'identification des mutations recherchées. La vérification des séquences est réalisée grâce au programme BLAST prime.

Dès l'identification de la mutation germinale de RET chez le cas index, le diagnostic de NEM 2 est formel et doit conduire au dépistage génétique familial par la recherche directe de la mutation familiale sur l'ADN génomique des membres de la famille susceptibles d'être atteints après obtention de leur consentement

éclairé : fratrie, ascendants et descendants directs, puis sur les branches collatérales de la famille en fonction des résultats positifs obtenus.

Compte tenu de l'importance du résultat (positif ou négatif) pour la prise en charge du patient, cette analyse devra être confirmée par un second prélèvement indépendant.

III. Résultats

Durant cette étude réalisée sur une durée de 3 ans nous avons recensé 20 cas, 6 hommes et 14 femmes, le sexe ratio était donc 1H/3F. L'âge de nos patients variait entre 18 et 63 ans, avec un âge moyen de 38,9 ans. En corrélant l'âge avec le sexe, toutes les tranches d'âge examinées présentaient une nette prédominance féminine.

Pour ces 20 patients, Les résultats de l'examen anatomopathologique ont montré la présence du CMT chez 65 % des patients et le PHEO chez 35 % tandis que l'HPTP n'était présente que chez 10% seulement. Le bilan biologique a montré un taux élevé de calcitonine chez 9 cas (45 %). 8 cas présentaient des troubles au niveau des catécholamines sécrétés (40 %) alors que 4 avaient un taux élevé de parathormones (20 %).

Les 20 patients ont fait l'objet d'une analyse moléculaire, visant à amplifier les exons 10, 11 du gène RET, Ces exons ont été ensuite séquencés.

6 mutations ont été détectées à l'état hétérozygote au niveau de l'exon 11 du gène RET, 4 patients étaient porteurs de la mutation c.1900T>C (p.C634R), un patient porteur de la mutation c.1901G>A (p.C634Y) et un autre porteur de la mutation c.1902C>G (p.C634W).

Les exons 13, 15 et 16 du gène RET ont été analysés chez les cas qui n'ont pas présenté de mutations au niveau des exons 10 et 11 montrant la présence de la mutation bénigne c.2712C>G (p.S904S) à l'état hétérozygote chez un patient. Aucune mutation n'a été retrouvée au niveau de l'exon 16.

IV. Discussion

Au cours des 10 dernières années, différentes mutations du gène RET ont été bien caractérisées, surtout après l'introduction du dépistage génétique RET dans le traitement de tous les patients atteints de CMT, à la fois héréditaire et sporadique.

D'après la base de données ARUP Laboratories (University of Utah Department of Pathology - http://www.arup.utah.edu/database/MEN2/MEN2_display.php), plus de 175 mutations germinales du proto-oncogène RET ont été identifiées au cours des 20 dernières années, et il a été démontré que les mutations communes sont localisées dans huit exons (exons 8, 9, 10, 11, 13, 14, 15, 16). Auparavant, l'approche pour le dépistage des membres de la famille de ce trouble héréditaire autosomique dominant comportait des analyses répétées avec mesures CT basales et / ou stimulées. En 1993, deux groupes différents ont identifié les mutations de proto-oncogène RET comme cause de cas héréditaires et de syndromes NEM 2 [4], et les tests génétiques RET sont devenus la méthode de dépistage progressivement.

Dans notre pays, vu les conditions socio-économiques des patients, la NEM 2 est diagnostiquée tardivement, à un âge où toutes les thérapeutiques s'avèrent inefficaces. Dans cette étude, le séquençage des deux exons 10 et 11 du proto-oncogène RET nous a permis d'identifier 6 mutations pathogènes dans une série comprenant 20 patients (30% des patients de notre série), ce résultat est relativement élevé par rapport à celui de la littérature [5] (Figure 1). Cette différence pourrait s'expliquer par le faible effectif de l'échantillon. Une autre étude marocaine était la première à s'intéresser au statut de la mutation RET dans la NEM 2 au Maroc, elle a porté sur 9 cas. Les mutations ont été identifiées chez trois cas (33%).

Parmi tous les 6 porteurs de mutations 5 cas avaient un CMT (83,33%), 2 un PHEO (33,33%), et 1 seul cas une HPTP (16,66 %). Ces résultats sont proches de ceux retrouvés dans d'autres séries. Les résultats de notre étude affirment que la mutation de l'exon 11 au codon 634 est de loin la mutation la plus fréquente en cause de NEM 2 au Maroc par rapport aux autres mutations retrouvées du gène RET. Cette haute fréquence pourrait refléter la présence d'un point mutationnel chaud sur le proto-oncogène RET. Nos résultats sont en corrélation avec les résultats du Consortium International de Mutations RET [6].

Selon différentes séries, la présence d'une mutation spécifique au codon 634 a été associée à un PHEO et /ou HPTP, nous avons observé cette association dans seulement 2 cas. L'étude multicentrique EUROMEN a montré que la mutation RET la plus répandue dans la population européenne était au codon 634 [7], de l'autre côté, l'analyse multicentrique du réseau ItaMEN a démontré que le codon 634 de l'exon 11 était le codon le plus affecté [8]. Ces données concordent avec les résultats de notre série.

L'acide aminé en position 634 est situé dans la région riche en cystéine du domaine extracellulaire RET. Des tests fonctionnels ont montré qu'une mutation au niveau de l'une de ces cystéines leur permet de former des ponts di-sulfure intermoléculaires conduisant à une dimérisation de RET indépendamment du ligand. Celle-ci est suivie d'une activation du domaine tyrosine kinase à l'origine de la prolifération non contrôlée des cellules [9].

Dans notre étude c.1900T>C (p.C634R) était la mutation la plus fréquente (4/6, 66,66%), suivi des substitutions c.1901G>A (p.C634Y) (1/6, 16,66%) et c.1902C>G (p.C634W) (1/6, 16,66%). Ces résultats sont semblables à ceux rapportés dans de nombreuses populations comprenant des séries arabes saoudiennes [10], allemandes [11], iraniennes [12] et turques [13].

Cependant, chez les patients algériens [14], et espagnols [15], c.1901G>A (p.C634Y) était la mutation la plus répandue dans ce codon. Ces différences dans les mutations en plus des fréquences de distribution peuvent être attribuables à l'origine ethnique et aux emplacements géographiques des patients, ainsi qu'à la composition et à la taille de l'échantillon. La mutation c.1900T>C (p.C634R) est connue pour être associée à une forme sévère de CMT avec un risque intermédiaire de développement précoce et de progression de CMT (niveau de risque C). En effet, les patients qui portent la mutation p.C634R peuvent avoir des signes d'hyperplasie ou cancer même avant l'âge de 5 ans.

V. Conclusion

L'utilisation de la biologie moléculaire et de la génétique est devenue désormais un outil clé dans le diagnostic de la NEM 2. L'identification d'une mutation pathogénique chez un cas index nous donne l'opportunité d'entamer une stratégie de dépistage chez les membres de la famille à risque permettant de poser le diagnostic parfois à un stade très précoce de la maladie. Elle permet d'améliorer considérablement la qualité du conseil génétique sollicité par les parents et de répondre avec précision à de nombreuses questions sur le caractère héréditaire de la NEM 2, les risques pour les enfants à venir et son évolution.

Cette étude réalisée sur 20 patients suivis à l'unité de génétique médicale et d'oncogénétique du CHU Hassan II de Fès, a pu mettre en évidence le rôle des examens génétiques dans l'établissement du diagnostic, de l'étiologie et de la démarche thérapeutique.

Pour élargir la surface de l'étude, et comme perspective, les recommandations suivantes peuvent être proposées : augmenter la taille de l'échantillonnage pour les patients, centraliser l'étude, étudier les autres exons susceptibles d'être mutés chez les cas négatifs.

Etant donné que le proto-oncogène RET présente plusieurs mutations dans les différents exons, les méthodes de séquençage à haut débit sont porteuses de grands espoirs en termes d'innovations médicales notamment dans le diagnostic moléculaire. Comme cette application reste irréalisable dans le contexte actuel, une collaboration avec des équipes étrangères serait la bienvenue.

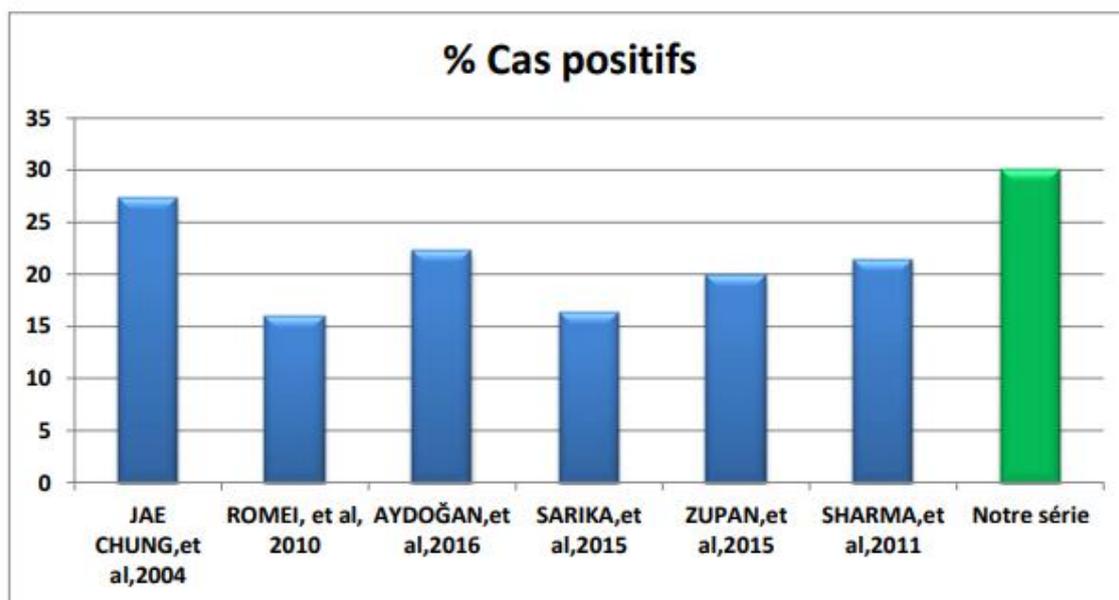


Figure 1 : Comparaison de la prévalence de la mutation RET de notre série avec les autres séries de la littérature

Conflit d'intérêt

Les auteurs ne déclarent aucun conflit d'intérêts.

Références Bibliographiques

- [1]. JAE CHUNG, Yun, KIM, Hyung-Hoon, KIM, Hyun-Jin, et al. RET proto-oncogene mutations are restricted to codon 634 and 618 in Korean families with multiple endocrine neoplasia 2A. *Thyroid*, 2004, vol. 14, no 10, p. 813-818.
- [2]. SARIKA, H. L., PAPHATHOMA, Alexandra, GAROFALAKI, Maria, et al. Genetic screening of patients with medullary thyroid cancer in a referral center in Greece during the past two decades. *European journal of endocrinology*, 2015, vol. 172, no 4, p. 501-509.
- [3]. ZUPAN, Andrej et GLAVAC, Damjan. The development of rapid and accurate screening test for RET hotspot somatic and germline mutations in MEN2 syndromes. *Experimental and molecular pathology*, 2015, vol. 99, no 3, p. 416-425.
- [4]. MULLIGAN, Lois M, KWOK, John BJ, HEALEY, Catherine S., et al. Germ-line mutations of the RET proto-oncogene in multiple endocrine neoplasia type 2A. *Nature*, 1993, vol. 363, no 6428, p. 458-460.
- [5]. SHARMA, B. P. et SARANATH, D. RET gene mutations and polymorphisms in medullary thyroid carcinomas in Indian patients. *Journal of biosciences*, 2011, vol. 36, no 4, p. 603-611.
- [6]. BERNDT, Ilona, REUTER, Marlene, SALLER, B., et al. A new hot spot for mutations in the ret protooncogene causing familial medullary thyroid carcinoma and multiple endocrine neoplasia type 2A. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 1998, vol. 83, no 3, p. 770-774.
- [7]. FRANK-RAUE, K, HÖPPNER, W., FRILLING, A., et al. Mutations of the ret protooncogene in German multiple endocrine neoplasia families: relation between genotype and phenotype. German Medullary Thyroid Carcinoma Study Group. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 1996, vol. 81, no 5, p. 1780-1783.
- [8]. ROMEL, Cristina, MARIOTTI, Stefano, FUGAZZOLA, Laura, et al. Multiple endocrine neoplasia type 2 syndromes (MEN 2): results from the ItAMEN network analysis on the prevalence of different genotypes and phenotypes. *European Journal of Endocrinology*, 2010, vol. 163, no 2, p. 301-308.
- [9]. SANTORO, Massimo, CARLOMAGNO, Francesca, ROMANO, Alfredo, et al. Activation of RET as a dominant transforming gene by germline mutations of MEN2A and MEN2B. *Science*, 1995, vol. 267, no 5196, p. 381.
- [10]. QARI, Faiza. RET codon 618 mutations in Saudi families with multiple endocrine neoplasia Type 2A and familial medullary thyroid carcinoma. *Annals of Saudi medicine*, 2013, vol. 33, no 2, p. 155.
- [11]. RAUE, Friedhelm et FRANK-RAUE, Karin. Genotype-phenotype correlation in multiple endocrine neoplasia type 2. *Clinics*, 2012, vol. 67, p. 69-75.
- [12]. ALVANDI, Ehsan, AKRAMI, Seyed Mohammad, CHIANI, Mohsen, et al. Molecular analysis of the RET proto-oncogene key exons in patients with medullary thyroid carcinoma: a comprehensive study of the Iranian population. *Thyroid*, 2011, vol. 21, no 4, p. 373-382.
- [13]. AYDOĞAN, Berna İmge, YÜKSEL, Bağdagül, TUNA, Mazhar Müslüm, et al. Distribution of RET mutations and evaluation of treatment approaches in hereditary medullary thyroid carcinoma in Turkey. *Journal of clinical research in pediatric endocrinology*, 2016, vol. 8, no 1, p. 13.
- [14]. CHIKOUCHE, A., MESKINE, D., BOUDISSA, M., et al. Screening à la recherche de mutation du gène RET chez des patients avec cancer médullaire de la thyroïde isolé à Alger. In : *Annales d'Endocrinologie*. Elsevier Masson, 2014, Vol. 75, no. 5, p. 366.
- [15]. SÁNCHEZ, Beatriz, ROBLEDO, Mercedes, BIARNES, Josefina, et al. High prevalence of the C634Y mutation in the RET proto-oncogene in MEN 2A families in Spain. *Journal of medical genetics*, 1999, vol. 36, no 1, p. 68-70.

L.bouguenouch1. “ Etude Du Gène RET Dans La Néoplasie Endocrinienne Multiple 2, A Propos De 20 Cas.” *IOSR Journal of Dental and Medical Sciences (IOSR-JDMS)*, vol. 18, no. 6, 2019, pp 70-73.