

# La mucoviscidose : du gène CFTR au conseil génétique

---

**Collège National des Enseignants et Praticiens de Génétique Médicale**

C. FÉREC

Laboratoire de Génétique Moléculaire – C.H.R.U. Brest

Directeur de l'Inserm U613

« Génétique Moléculaire et Génétique Epidémiologique »

**Date de création du document**    2010-2011

## Table des matières

<b>I</b>	<b>Le gène CFTR et ses mutations.....</b>	<b>5</b>
<b>II</b>	<b>Les classes de mutations.....</b>	<b>6</b>
<b>III</b>	<b>Les relations génotype/phénotype.....</b>	<b>6</b>
<b>IV</b>	<b>ApPort de la connaissance du gène au diagnostic de la mucoviscidose.....</b>	<b>7</b>
	<b>IV.1 Diagnostic moléculaire.....</b>	<b>8</b>
	<b>IV.2 Dépistage néonatal.....</b>	<b>9</b>
<b>V</b>	<b>Le conseil génétique.....</b>	<b>9</b>
	<b>V.1 Prise en charge des couples à risque de 1/4.....</b>	<b>9</b>
	<b>V.2 Prise en charge des couples à risque de 1/2 .....</b>	<b>11</b>
	<b>V.3 Couples à risque a priori de 1/120.....</b>	<b>12</b>
	<b>NOTE(S) DU CHAPITRE .....</b>	<b>12</b>
<b>VI</b>	<b>Le diagnostic de mucoviscidose au cours de la grossesse.....</b>	<b>13</b>
<b>VII</b>	<b>La prise en charge des couples confrontés à un problème de stérilité par absence de canaux déférents.....</b>	<b>13</b>
<b>VIII</b>	<b>Les pathologies associées à des dysfonctionnements de la protéine CFTR (CFTR-RD)...</b>	<b>14</b>
<b>IX</b>	<b>Les espoirs thérapeutiques.....</b>	<b>14</b>
<b>X</b>	<b>Annexes.....</b>	<b>16</b>

La mucoviscidose, encore appelée fibrose kystique du pancréas, est classiquement considérée comme la plus fréquente des maladies génétiques graves de l'enfant dans les populations d'Europe du nord ouest et d'Amérique du nord. Les progrès qui ont été accomplis au cours des dernières décennies dans la prise en charge de cette maladie ont conduit à améliorer considérablement l'espérance de vie des patients, et aujourd'hui près de la moitié d'entre eux sont des adultes.

L'expression clinique de la maladie se traduit essentiellement par une atteinte pulmonaire et digestive (1). Au plan pulmonaire, il s'agit d'une broncho-pneumopathie chronique obstructive caractérisée par une production d'un mucus abondant épais, colonisé par une flore spécifique. *Staphylococcus aureus* et *Haemophilus influenzae* sont les premiers microorganismes retrouvés dans la flore, suivis quelques années voire quelques dizaines d'années plus tard, par une colonisation par *Pseudomonas aeruginosa*. Cette colonisation marque en général un tournant dans l'histoire de la maladie et son éradication devient difficile. Des atélectasies surviennent chez environ 5 % des patients et le pneumothorax est une complication fréquente. L'atteinte pulmonaire est responsable de l'essentiel de la morbidité et de la mortalité de la maladie.

Au plan gastro-intestinal, la manifestation clinique la plus précoce est la présence d'un iléus méconial qui survient chez 15 % environ des nouveau-nés. La maladie pancréatique - une insuffisance du pancréas exocrine - est présente chez 85 % des enfants à la naissance. La suffisance pancréatique est génétiquement déterminée, présente chez les enfants porteurs d'au moins une mutation peu sévère. Enfin, 95 % des hommes ont une absence de canaux déférents se traduisant par une stérilité par azoospermie excrétoire. La fertilité chez les femmes est également diminuée, mais le nombre de grossesses chez les femmes atteintes de mucoviscidose est en augmentation constante depuis deux décennies.

La mucoviscidose se transmet sur le mode autosomique récessif, et elle affecte un nouveau-né sur 4500 en France avec des différences loco-régionales significatives en terme d'incidence (une naissance pour 3000 en Bretagne, une naissance pour 7000 en Languedoc Roussillon) (2).

La maladie a été décrite pour la première fois par Fanconi en 1938 sous le nom de fibrose kystique du pancréas (3). Elle a par la suite été mieux diagnostiquée dans la seconde moitié du 20ème siècle à la suite des travaux de Di Sant' Agnese, qui découvrit que la sueur de ces enfants était anormalement riche en sel et proposa un test biologique : le test de la sueur mesurant la concentration en ion chlorure (Cl-) et en sodium de la sueur. Une valeur du test supérieure à 60 mEq/l reste aujourd'hui le test diagnostique de référence et est très spécifique de la maladie (4).

Le gène responsable de la mucoviscidose – le gène *CFTR* (pour Cystic Fibrosis Transmembrane conductance Regulator) – a été identifié en 1989 (5-7). Cette date a marqué un tournant dans l'histoire de la maladie. La connaissance du gène a permis de progresser non seulement en matière de diagnostic, mais elle a également ouvert de nouvelles perspectives en terme de compréhension de la physiopathologie de la maladie avec l'espoir de mise au point de thérapies spécifiques de la maladie.

## I LE GÈNE *CFTR* ET SES MUTATIONS

---

Le gène *CFTR* est le premier gène situé sur un autosome qui a été cloné grâce à une stratégie réussie de clonage positionnel. Alors que les généticiens n'avaient aucune connaissance de la protéine responsable de la maladie, par une stratégie de liaison génétique ils sont parvenus d'abord à cartographier le gène en 7q (8) puis à s'en rapprocher pour finalement réussir à le cloner en 1989 (5-7).

Composé de 27 exons et s'étendant sur 180 kb, ce gène code pour une protéine transmembranaire de 1 480 acides aminés qui est un canal chlorure régulé par l'AMPc (Adénosine MonoPhosphate cyclique) (9). Ce canal de faible conductance est un régulateur d'autres canaux, en particulier des canaux sodiques comme le canal ENaC (*Epithelial Na Channel*) ou le canal chlorure à rectification sortante (ORCC, *Outwardly Rectifying Chloride Channel*) ( (10;11).

L'étude moléculaire du gène *CFTR* a été réalisée dans le cadre d'une collaboration internationale exemplaire menée sous l'égide du découvreur du gène – Lap Chee Tsui – au travers d'un Consortium International d'Etude des Mutations du Gène (Cystic Fibrosis Gene Mutation Analysis : <http://www.genet.sickkids.on.ca>) (12) dans lequel plus de 100 laboratoires dans le monde ont, depuis 20 ans, colligé en temps réel les résultats de leurs travaux.

Nous avons aujourd'hui une connaissance approfondie de la pathologie moléculaire du gène *CFTR*, qui se caractérise par la présence d'une mutation très fréquente : la délétion F508del correspondant à la perte d'une phénylalanine en position 508 de la protéine (nomenclature officielle selon les recommandations de la Human Genome Variation Society : p.Phe508del). Cette délétion est présente sur plus de deux chromosomes mutés sur trois. La fréquence de quatre autres mutations dépasse le seuil de 1 % (G542X (p.Gly542X) ; G551D (p.Gly551Asp) ; 1717-1G>A (c.1585-1G>A) ; W1282X (p.Trp1282X)) et à côté de cela, il existe aujourd'hui 1800 mutations répertoriées, dispersées au sein des 27 exons du gène. Ce sont souvent des événements rares ou privés, témoignant de l'extraordinaire variabilité allélique présente dans le gène *CFTR* (13).

Le type de mutations, leurs fréquences varient beaucoup selon l'origine géographique et ethnique des patients (14), et il est important, pour orienter le laboratoire dans sa recherche de mutations, de bien documenter les origines géographiques des patients et de leurs parents. Pour illustrer ceci, on peut rappeler que la mutation W1282X est la mutation la plus fréquente dans la population juive Ashkénaze (15) tandis que la mutation G551D rend compte de 5 % des mutations dans les populations d'origine celte (16). La mutation G542X est fréquente dans les populations du pourtour méditerranéen.

## II LES CLASSES DE MUTATIONS

---

Les 1800 mutations de ce gène, qui sont essentiellement des mutations ponctuelles, ont pu être réparties en cinq classes selon l'impact qu'elles produisent sur la fonction de la protéine (17) :

- Les mutations de classe 1 sont des mutations non sens ou des délétions/insertions, plus rarement de grande délétions conduisant à une absence d'expression de la protéine CFTR à la surface de la membrane apicale des cellules épithéliales.
- Les mutations de classe 2 conduisent à des anomalies de repliement et de trafic intracellulaire de la protéine (la mutation F508del appartient à la classe 2).
- Les mutations de classe 3 impactent la régulation de la protéine CFTR et sont souvent des mutations faux sens situées au niveau des domaines NBF (*Nucleotide Binding Fold*) où se lie l'ATP.
- Les mutations de classe 4 sont des mutations faux sens situées dans le canal transmembranaire et ces mutants affectent la conductance du canal CFTR.
- Les mutations de classe 5 correspondent à des anomalies moléculaires qui affectent la transcription. Elles diminuent quantitativement la quantité de transcrits normalement exprimés et donc *in fine* la quantité de protéine CFTR exprimée à la membrane.

## III LES RELATIONS GÉNOTYPE/PHÉNOTYPE

---

La découverte des mutations du gène *CFTR* a, depuis 20 ans, ouvert un champ nouveau de recherche qui nous permet de mieux comprendre les relations entre le génotype et le phénotype, et par là même, de mieux comprendre l'influence respective de la génétique et de l'environnement sur la variabilité de l'expression clinique observée chez les patients atteints de mucoviscidose (18).

Selon leur impact sur la fonction de la protéine, on considère de façon un peu schématique que les mutations peuvent être classées en « mutations sévères » où l'on range les mutations de classe 1, 2 et 3, ou en « mutations peu sévères » où l'on retrouve les mutations de classe 4 et 5 (19).

Les mutations dites sévères sont associées, sur le plan phénotypique, à une insuffisance pancréatique et à une atteinte pulmonaire qui débute dans l'enfance. Ce sont les formes de présentation classique de la maladie et les patients homozygotes F508del en sont les exemples les plus fréquemment rencontrés (20).

En revanche, l'association d'une mutation que l'on qualifie de peu sévère et d'une mutation sévère, ou l'association de deux mutations peu sévères conduit en règle générale à une fonction pancréatique exocrine conservée que l'on nomme suffisance pancréatique et à une colonisation pulmonaire plus tardive par le *Pseudomonas aeruginosa*. Cette forme d'expression clinique plus modérée se traduit pour ces patients par une espérance de vie d'environ 50 ans alors qu'elle se situe aujourd'hui autour de 30 ans pour les formes sévères qui sont, dans leur grande majorité, représentées par des patients porteurs à l'état homozygote de la mutation F508del (21).

Ces données sont établies à partir de larges cohortes de patients (généralement issues des registres de mucoviscidose), si elles sont parfaitement vérifiées statistiquement, il n'en demeure pas moins que l'on peut observer une grande variabilité à l'échelle individuelle. Ainsi, un patient donné porteur de deux mutations sévères peut parfaitement présenter un phénotype relativement « peu sévère » pendant de nombreuses années et, à l'inverse, la présence d'une mutation qualifiée *a priori* de « peu sévère » chez un patient peut parfois s'accompagner d'une évolution rapide vers l'insuffisance respiratoire terminale. Ces données de corrélation génotype/phénotype doivent être maniées avec prudence car, si elles sont globalement vraies lorsque l'on analyse un groupe de patients, elles doivent être utilisées avec la plus grande précaution à l'échelle individuelle.

Au-delà des mutations portées par le patient, la variabilité de l'expression de la maladie est aussi largement influencée par des facteurs d'environnement (tabagisme, pollution, facteurs socio-économiques, compliance au traitement, ...) et par d'autres facteurs génétiques que l'on appelle des gènes modificateurs (gènes impliqués dans la réponse immunitaire, dans l'inflammation, ...) (22).

#### **IV APPORT DE LA CONNAISSANCE DU GÈNE AU DIAGNOSTIC DE LA MUCOVISCIDOSE**

---

Le diagnostic de mucoviscidose reste par essence un diagnostic clinique qui repose sur des critères de consensus définis par Rosentein et Cutting (23). Ces critères sont les suivants :

- association, chez un patient, d'un ou plusieurs traits phénotypiques de la maladie ou existence d'un apparenté atteint ou existence d'un test de dépistage néonatal positif,

- et présence d'un test de la sueur positif en deux occasions ou présence d'une mutation causale en double exemplaire.

L'évolution des techniques de biologie moléculaire a été considérable au cours de ces vingt dernières années. L'avènement de la technique d'amplification génique, la PCR a révolutionné la génétique et la biologie en général.

Il n'en demeure pas moins que le test de la sueur reste le test biologique de première intention devant tout tableau clinique évocateur de mucoviscidose. On considère qu'un test de la sueur est positif s'il est supérieur à 60 mEq/L, intermédiaire s'il est compris entre 30 et 60 mEq/L, et, négatif s'il est inférieur à 30 mEq/L.

#### **IV.1 DIAGNOSTIC MOLÉCULAIRE**

Aujourd'hui la stratégie d'étude du gène est bien codifiée. Devant un tableau clinique de suspicion de mucoviscidose, la première étape, la plus simple, est de rechercher la présence de mutations fréquentes. Pour ce faire, il existe aujourd'hui de nombreux kits qui permettent de dépister en quelques heures une trentaine de mutations du gène, mutations qui sont les plus fréquemment rencontrées dans le monde. L'étude de ces 30 mutations permet, dans 60 % des cas, d'établir le génotype du patient. Les deux mutations sont alors identifiées ; elles sont soit identiques et le patient est homozygote pour la mutation considérée, soit différentes et le patient est dit hétérozygote composite.

Si le génotype est incomplet parce qu'il manque une ou deux mutations, l'étude du gène est poursuivie par une technique dite de balayage, qui permet au niveau de chacun des exons du gène de mettre en évidence la présence d'une anomalie moléculaire confirmée par une réaction de séquençage. Au terme de ce balayage complet des 27 exons du gène, les 1800 mutations sont recherchées et s'il reste encore un allèle non identifié, il faut mettre en place une technique de recherche de grand réarrangement (délétion/duplication). Ces anomalies rendent compte de 2 % des anomalies du gène *CFTR* (24-26).

Au terme de cette recherche, il reste environ 1 à 2 % des sujets atteints de mucoviscidose (selon l'origine géographique ou ethnique) pour lesquels au moins une mutation n'est pas caractérisée. Il est probable qu'il s'agit chez ces patients de mutations introniques ou de mutations situées dans les régions régulatrices en 5' ou en 3' du gène.

Aujourd'hui, le taux de couverture des mutations pour un patient dépend, au-delà de son origine géographique ou ethnique, des techniques et des stratégies d'analyse utilisées, ainsi que des capacités du laboratoire à mettre en place et à maîtriser les techniques les plus sophistiquées d'étude du gène. Dans beaucoup de pays d'Europe du nord ainsi qu'aux Etats-Unis ou au Canada, ce taux de couverture atteint de 95 à 98 %. Ceci illustre bien le fait

que l'on n'est pas aujourd'hui en mesure d'avoir un taux de couverture de 100 % des mutations du gène *CFTR*.

## IV.2 DÉPISTAGE NÉONATAL

Mis en place dans les années 90 dans quelques régions de France ainsi que dans quelques pays dans le monde, le dépistage néonatal a reposé initialement sur la présence dans le sang des nouveau-nés, au 3ème jour de vie, d'une hypertrypsinémie positive. Ce test était sensible mais peu spécifique. La découverte du gène et de ses mutations fréquentes a conduit à proposer un test de dépistage original associant le dosage du trypsinogène et la recherche des mutations les plus fréquentes du gène. Ceci a permis d'associer la sensibilité de l'hypertrypsinémie à la spécificité du dépistage des mutations du gène *CFTR* et d'aboutir à un test de dépistage qui est maintenant en place en France depuis 10 ans et qui s'étend progressivement à tous les pays européens et aux Etats-Unis. Ce dépistage permet de diagnostiquer précocement la maladie et d'assurer dans les centres cliniques spécialisés (les CRCM : Centres de Ressources et de Compétences sur la Mucoviscidose) la prise en charge précoce des enfants atteints (27;28).

Ce test de dépistage en deux étapes conduit à identifier quelques nouveau-nés simplement hétérozygotes. Ces familles sont adressées en consultation de conseil génétique pour bien les informer sur le statut d'hétérozygote asymptomatique de leur enfant, vérifier l'origine paternelle ou maternelle de la mutation et repérer le cas échéant les couples à risque de 1/4 qui pourront bénéficier lors d'une prochaine grossesse d'un diagnostic prénatal. Bien évidemment il ne s'agit pas d'un dépistage des hétérozygotes en population et le nombre d'hétérozygotes ainsi repéré est faible au regard de la fréquence des hétérozygotes au sein de la population (1/35).

## V LE CONSEIL GÉNÉTIQUE

---

Lorsqu'un diagnostic de mucoviscidose est posé, au delà de la prise en charge de l'enfant en milieu spécialisé, une prise en charge génétique s'impose pour le couple et ses apparentés (28). C'est en ayant en main l'ensemble des connaissances accumulées depuis 20 ans que l'on peut proposer un conseil génétique (*cf.note : 1*) éclairé aux patients, à leurs familles et plus largement à leur apparentés. Nous allons détailler les différentes situations dans lesquelles un conseil génétique doit être proposé aux familles.

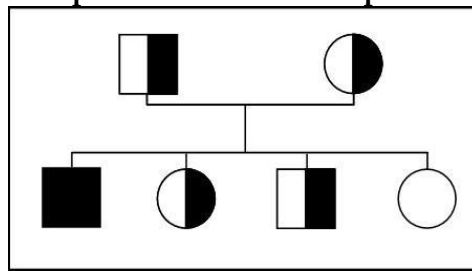
Il faut rappeler que pour cette maladie de transmission récessive dont l'incidence observée varie de 1/3000 à 1/7000 selon les régions, le taux de porteurs de l'allèle muté dans la population est de 1/30 à 1/35.



## V.1 PRISE EN CHARGE DES COUPLES À RISQUE DE 1/4

Dans cette situation, les deux parents sont hétérozygotes c'est-à-dire porteurs asymptomatiques d'une mutation dans le gène *CFTR* (**Figure 1**). Dans la très grande majorité des cas, il s'agit de couples qui ont donné naissance à un enfant atteint lors d'une précédente grossesse. Il peut également s'agir de couples qui ont été identifiés à la suite d'un dépistage en cascade réalisé dans les familles à risque (où la naissance d'un enfant atteint a déclenché une recherche des porteurs chez les apparentés) ou suite à la détection d'un intestin hyperéchogène lors du suivi échographique des grossesses.

Figure 1 : Représentation d'un couple à risque de 1/4



Le risque de récurrence à chaque grossesse étant de 25 %, un conseil génétique sera proposé à ces couples. Une information complète leur sera donnée sur la maladie elle-même, sur le risque de récurrence à chaque grossesse et une possibilité de diagnostic prénatal, s'ils le souhaitent, leur sera proposée (29).

Ce diagnostic prénatal sera possible par choriocentèse dès 11 semaines d'aménorrhée voire un peu plus tard à partir de 16 semaines d'aménorrhée par amniocentèse. Dans tous les cas, le diagnostic sera réalisé par biologie moléculaire et l'on recherchera dans l'ADN fœtal la présence ou l'absence des mutations du gène *CFTR* identifiées chez les parents. Le statut du fœtus - non porteur, hétérozygote ou atteint - sera déterminé. On s'assurera, pour chaque diagnostic prénatal, de la présence de matériel paternel, ce test reposant sur l'étude des microsatellites situés à proximité du gène ou sur l'ensemble du génome. Le résultat du diagnostic prénatal est obtenu en 48 heures. Dans 98 % des cas, les mutations paternelles et maternelles sont connues et le diagnostic est direct par recherche de ces mutations au niveau de l'ADN fœtal. Si l'une des mutations n'est pas connue, on s'appuiera sur un diagnostic indirect en utilisant des marqueurs polymorphes intra ou extra géniques qui caractérisent le chromosome porteur de l'allèle délétère inconnu (30).

Nous avons récemment fait le bilan de notre activité de 15 années de diagnostic prénatal de mucoviscidose et nous avons pu montrer que la spécificité de l'analyse de biologie moléculaire était de 100 % (31). Il faut également noter à ce propos que la très grande majorité (96 %) des couples à risque de 1/4; pour lesquels le diagnostic de mucoviscidose fœtale est porté opte pour une demande d'Interruption pour motif Médical de la Grossesse (IMG).

Une seconde possibilité peut être proposée à ces couples à risque de 1/4. Il s'agit du diagnostic préimplantatoire réalisé dans le cadre d'une procréation médicalement assistée, après une technique d'ICSI (Intra Cytoplasmic Sperm Injection) qui permet d'injecter l'ADN d'un spermatozoïde dans un ovocyte (32). Il s'agit ensuite d'analyser au stade 6/8 cellules le blastocyste en prélevant une cellule et en analysant le statut de ce futur embryon, et ensuite de ne réimplanter que les embryons non atteints. Ces techniques moléculaires très sophistiquées exigent un très haut niveau de technicité. Le diagnostic préimplantatoire est réservé à quelques laboratoires (il y a en trois en France : CHRU Montpellier - Mireille Claustres ; APHP, Paris - Arnold Munnich ; CHRU Strasbourg - Stéphane Viville). Le délai d'attente est long, ce qui en limite l'accès, et sont considérées comme prioritaires les femmes qui ont déjà dû subir plusieurs IMG à la suite de diagnostics prénatals malheureusement positifs.

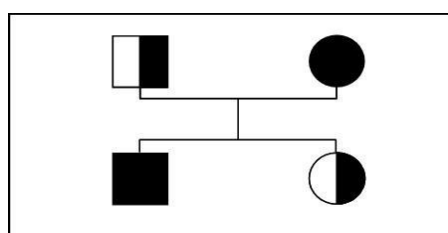
## V.2 PRISE EN CHARGE DES COUPLES À RISQUE DE 1/2

Les progrès réalisés ces dernières décennies dans la prise en charge de la mucoviscidose font que les patients sont de plus en plus nombreux à avoir des projets de vie de couples et des désirs d'enfants, et à solliciter un conseil génétique dans ce cadre.

Les femmes atteintes de mucoviscidose ont une fertilité normale dans 80 % des cas, tandis que les hommes sont stériles dans plus de 98 % des cas par agénésie bilatérale des canaux déférents. Ces derniers doivent donc être adressés vers un spécialiste pour confirmer ou non l'azoospermie et proposer, le cas échéant, une assistance médicale à la procréation.

Les patients atteints de mucoviscidose transmettant obligatoirement une des deux mutations dont ils sont porteurs, le risque pour leur couple d'avoir un enfant atteint avant toute étude de biologie moléculaire est élevé (1/60 i.e.  $1 \times 1/30 \times 1/2$ ). Il est donc primordial de réaliser une étude exhaustive du gène *CFTR* chez le conjoint, afin d'écartier le maximum de mutations et de pouvoir réduire le risque résiduel de mucoviscidose. En écartant 98 % ou 99 % des mutations selon l'origine du conjoint, le risque résiduel de mucoviscidose pour ce couple rejoint le risque d'un couple pris au hasard dans la population générale. En revanche, si le conjoint se révèle être hétérozygote, le couple devient à risque de 1/2; (**Figure 2**), et un diagnostic prénatal leur sera proposé dans le cadre d'une consultation de génétique.

Figure 2 : Représentation d'un couple à risque de 1/2



### V.3 COUPLES À RISQUE A PRIORI DE 1/120

Il s'agit de couples dans lesquels l'un des partenaires est porteur à l'état hétérozygote d'une mutation dans le gène *CFTR*. Le risque a priori pour ces couples avant toute analyse de génétique est de 1/120 ( $1/2 \times 1/30 \times 1/2$ ).

Le but de l'étude moléculaire va être de modifier cette probabilité *a priori* de 1/120 en probabilité *a posteriori* après avoir analysé le gène *CFTR* chez le conjoint *a priori* non porteur. Une première étude simple recherchant la présence éventuelle de la mutation F508del et des 30 mutations les plus fréquentes du gène permet d'écarter environ 90 % des mutations du gène (ce taux de couverture peut varier légèrement selon les régions de France et l'origine ethnique des sujets). Si l'on s'arrête à ce niveau d'analyse du gène, le risque résiduel pour ce couple est de 1/1200. Ceci est satisfaisant mais nous avons pour habitude de proposer une étude plus complète du gène par criblage systématique des exons les plus fréquemment mutés, ce qui nous permet d'écarter au moins 95 % des mutations du gène et de proposer à ces couples un risque résiduel de mucoviscidose pour leurs enfants de 1/2500. Ce risque devient proche du risque encouru par un couple pris au hasard dans la population générale.

Lorsqu'une mutation est identifiée chez le conjoint du porteur, nous sommes alors en présence d'un couple à risque de 1/4; et la prise en charge correspond à celle décrits précédemment.

#### NOTE(S) DU CHAPITRE

1 : Les calculs de risque décrits dans ce chapitre sont réalisés en considérant un taux de porteurs de 1/30, qui correspond au risque moyen pour un individu d'être hétérozygote en Europe.

## VI LE DIAGNOSTIC DE MUCOVISCIDOSE AU COURS DE LA GROSSESSE

---

L'examen systématique par échographie des femmes au cours de la grossesse a conduit les gynécologues ou les échographistes à identifier dans le suivi de certaines grossesses la présence d'un intestin hyperéchogène. Cette image anormale, qui est le plus souvent détectée lors de l'échographie du deuxième trimestre, est associée (selon les expériences rapportées dans la littérature) dans 3 % à 9 % des cas à un diagnostic de mucoviscidose *in utero* (33;34). La détection d'une telle image justifie donc la réalisation d'une étude du gène *CFTR* chez le couple.

Au cours de notre propre expérience reposant sur 15 ans de suivi des naissances en Bretagne, nous avons pu colliger très précisément le nombre de nouveau-nés atteints durant

cette période et pu mesurer très précisément qu'aujourd'hui 10 % des enfants atteints de mucoviscidose étaient diagnostiqués *in utero*, suite à la découverte d'un intestin hyperéchogène (34;35).

Ces couples sont confrontés à la décision importante et brutale de garder l'enfant ou de demander une IMG. La consultation de conseil génétique est importante et indispensable à ce stade. Il faudra informer le couple des connaissances que nous avons aujourd'hui de la mucoviscidose, de son évolution clinique et les accompagner au mieux dans leur prise de décision. Il faudra également les informer du risque de récurrence de 25 % pour les grossesses suivantes.

## **VII LA PRISE EN CHARGE DES COUPLES CONFRONTÉS À UN PROBLÈME DE STÉRILITÉ PAR ABSENCE DE CANAUX DÉFÉRENTS**

---

La stérilité masculine par absence de canaux déférents est la plus fréquente des causes de stérilité masculine. Peu de temps après la découverte du gène *CFTR*, il était rapporté que ce gène était pour une large part impliqué dans la survenue de cette absence de déférents chez le petit garçon (36). Dans plus de 50 % des agénésies, on trouve au moins une mutation du gène *CFTR* et dans 30 % on trouve l'association d'une mutation et d'une seconde anomalie discrète du gène que l'on qualifie de variant. L'exemple classique d'un tel type de variant est le variant 5T de l'intron 8 du gène qui s'accompagne d'un taux diminué d'ARN normalement transcrit et donc d'un taux diminué de protéine *CFTR* (37;38).

Ces hommes stériles sont à risque *a priori* de 50 % d'être porteurs et il importe de les voir en conseil génétique, d'une part, pour leur expliquer la relation qui existe entre leur stérilité et le gène de la mucoviscidose, voire d'écarter chez eux toute forme de mucoviscidose paucisymptomatique et d'autre part d'étudier le gène *CFTR* chez leur conjointe. Il importe d'identifier et de pouvoir informer les couples à risque de  $\frac{1}{4}$  de mucoviscidose car ces couples aujourd'hui vont pouvoir bénéficier dans le cadre d'un projet parental de fécondation *in vitro* par des techniques d'*ICSI*, avec un taux de succès non négligeable puisque 40 % de ces fécondations *in vitro* vont aboutir à la naissance d'un enfant (32).

## **VIII LES PATHOLOGIES ASSOCIÉES À DES DYSFONCTIONNEMENTS DE LA PROTÉINE CFTR (CFTR-RD)**

---

L'étude des relations génotype/phénotype a permis de montrer qu'il existait non seulement une variabilité allélique associée à l'expression clinique de la maladie mais qu'il existait (comme décrit ci-dessus dans le cas de l'agénésie des déférents) des pathologies associées qui impliquent un dysfonctionnement de la protéine *CFTR*.

On range sous ce terme de CFTR-RD (CFTR-related disorder) les pathologies du *CFTR* qui ne remplissent pas les critères diagnostiques de mucoviscidose, mais qui sont dues à des dysfonctionnements de la protéine *CFTR*. On va retrouver ici certaines formes d'agénésies des déférents, de pancréatites chroniques, de dilatation des bronches voire d'hypertrypsinémie néonatale (39).

## **IX LES ESPOIRS THÉRAPEUTIQUES**

---

Peu de temps après la découverte du gène, la communauté médicale et scientifique s'est enthousiasmée pour le développement et la mise en place d'une thérapie génique de la mucoviscidose. Des vecteurs adéno et lentiviraux mais également des vecteurs de synthèse ont été construits, des essais cliniques de phase 1 ont été menés, mais il fallu se rendre à l'évidence dans les années 2000 que l'on était encore loin d'une possibilité de traitement par thérapie génique. D'une part, l'expression par les adénovirus était transitoire et immunogène, les cellules souches de l'épithélium pulmonaire ne sont pas identifiées. Par ailleurs, la cible essentielle, c'est-à-dire l'épithélium pulmonaire, est remaniée, inflammatoire et encombrée de mucus, ce qui rend très aléatoire l'efficacité des transfections par des vecteurs viraux ou de synthèse. On constate aujourd'hui un retour à des travaux plus fondamentaux à la fois de vectorologie qui doivent permettre de trouver un vecteur idéal et de biologie cellulaire avant d'envisager à nouveau la mise en place d'essais cliniques.

L'espoir aujourd'hui vient du développement de petites molécules qui sont de deux types : les unes appelées « correcteurs » et les secondes « potentiateurs ». Les premiers ont pour objectif de corriger l'adressage défectueux à la membrane de la protéine CFTR et le mauvais repliement de la protéine, et les seconds visent à potentialiser l'ouverture du canal chlorure. Une molécule - le Vertex 770 - est ressortie d'un crible réalisé par une firme pharmaceutique la firme Vertex. Des essais de phase 2/3 sont en cours actuellement, avec des premiers résultats encourageant obtenus sur des patients porteurs de la mutation G551D (40). Ces travaux illustrent bien la démarche actuelle engagée dans la recherche de thérapies ciblées reposant sur la connaissance du génotype des patients et soulignent l'importance du dépistage néonatal précoce et la connaissance exhaustive des mutations du gène, préalable indispensable à la mise en place de ces nouvelles thérapeutiques.

## **CONCLUSION**

Le gène *CFTR* a été cloné en septembre 1989. Très rapidement la mutation la plus fréquente du gène a été identifiée - la délétion F508del - et aujourd'hui plus de 1800 mutations ont été rapportées dans ce gène. Le développement des techniques de biologie moléculaire nous permet désormais en quelques jours d'identifier l'une de ces 1800 mutations et de confirmer

ou d'infirmier dans les meilleurs délais un diagnostic de mucoviscidose chez une personne suspectée d'être porteuse de la maladie. Nous pouvons également écarter, chez les conjoints de sujets hétérozygotes, la probabilité d'être porteurs et modifier de façon considérable cette probabilité (si on a pu écarter 95 % des mutations, le risque d'être porteur passe de 1/30 à 1/600).

L'organisation de la prise en charge du diagnostic moléculaire de la mucoviscidose a été bien structurée en France grâce à l'organisation en réseau mise en place par les laboratoires français et ce grâce aux financements de la DHOS (Direction de l'Hospitalisation et de l'Organisation des Soins). Cette organisation du diagnostic moléculaire, la mise en place du dépistage systématique en période néonatale, conjointement avec la mise en place des CRCM organisant la prise en charge clinique des enfants au sein de service dédié et spécialisé dans la prise en charge de la maladie, tout cela a contribué à améliorer notamment l'espérance de vie des enfants atteints de mucoviscidose en France (41). Les laboratoires de génétique moléculaire se répartissent en trois niveaux de compétence : les laboratoires de niveau 1 peuvent étudier à l'aide d'un kit les principales mutations du gène, les laboratoires de niveau 2 peuvent rechercher les mutations rares et les laboratoires de niveau 3 sont les laboratoires de référence en charge des dossiers difficiles, de la formation et de la veille technologique. Ces derniers sont au nombre de quatre en France (CHRU Brest - Claude Férec ; APHP, Hôpital H. Mondor, Créteil - Michel Goossens ; CHRU Montpellier - Mireille Claustres ; APHP, Hôpital Cochin, Paris - Thierry Bienvenu).

Ce maillage du territoire permet d'offrir aux patients, quelle que soit leur situation en France, un diagnostic moléculaire de qualité permettant de donner aux patients et à leur famille un conseil génétique éclairé. Conseil génétique qui peut être simple dans le cadre de couples à risque de 1/4; avec des mutations connues, mais qui peut s'avérer complexe lorsque l'on se trouve confronté à la présence de mutations rares dont l'impact sur la fonction n'est pas prouvé.

Enfin la connaissance du gène, de la protéine et la meilleure compréhension de la physiopathologie de la maladie, permettent d'entrevoir le développement de thérapies spécifiques des dysfonctionnements de la protéine CFTR.

## **X ANNEXES**

---

### **BIBLIOGRAPHIE**

- (1) Welsh MJ, Ramsey BW, Accurso FJ, Cutting GR. Cystic fibrosis. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, Childs B, Vogelstein B, editors. : The Metabolic and Molecular Basis of Inherited Disease. 8th ed. New York: McGraw Hill; 2001. p. 5121-88.

- (10) Ismailov II, Awayda MS, Jovov B, Berdiev BK, Fuller CM, Dedman JR et al : Regulation of epithelial sodium channels by the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator. *J Biol Chem* 1996;271:4725-32.
- (11) Schwiebert EM, Egan ME, Hwang TH, Fulmer SB, Allen SS, Cutting GR et al. : CFTR regulates outwardly rectifying chloride channels through an autocrine mechanism involving ATP. *Cell* 1995;81:1063-73.
- (12) Tsui LC. : Cystic Fibrosis Mutation Database.
- (13) Bobadilla JL, Macek MJ, Fine JP, Farrell PM. : Cystic fibrosis: a worldwide analysis of CFTR mutations - Correlation with incidence data and application to screening. *Hum Mutat* 2002;19:575-606.
- (14) : Cystic Fibrosis Genetic Analysis Consortium. Population variation of common cystic fibrosis mutations. *Hum Mutat* 1994;4:167-77.
- (15) Shoshani T, Augarten A, Gazit E, Bashan N, Yahav Y, Rivlin Y et al. : Association of a nonsense mutation (W1282X), the most common mutation in the Ashkenazi Jewish cystic fibrosis patients in Israel, with presentation of severe disease. *Am J Hum Genet* 1992;50:222-8.
- (16) Férec C, Audrézet MP, Mercier B, Guillermit H, Moullier P, Quéré I et al : Detection of over 98% cystic fibrosis mutations in a Celtic population. *Nat Genet* 1992;1:188-91.
- (17) Welsh MJ, Smith AE. : Molecular mechanisms of CFTR chloride channel dysfunction in cystic fibrosis. *Cell* 1993;73:1251-4.
- (18) : Cystic Fibrosis Genetic Analysis Consortium. Correlation between genotype and phenotype in patients with cystic fibrosis. *N Engl J Med* 1993;329:1308-13.
- (19) Zielenski J, Tsui LC. : Cystic fibrosis: genotypic and phenotypic variations. *Annu Rev Genet* 1995;29:777-807.:777-807.
- (2) Recommandation : Registre Français de la Mucoviscidose. Rapport 2007
- (20) Kerem E, Corey M, Kerem BS, Rommens J, Markiewicz D, Levison H et al. : The relation between genotype and phenotype in cystic fibrosis - analysis of the most common mutation (DF508). *N Engl J Med* 1990;323:1517-22.
- (21) Férec C, Mercier B, Audrézet MP. : Les mutations de la mucoviscidose : du génotype au phénotype. *Médecine/Sciences* 1994;10:631-9.
- (22) Cutting GR. : Modifier genes in Mendelian disorders: the example of cystic fibrosis. *Ann NY Acad Sci* 2010;1214:57-69.



- (23) Rosenstein BJ, Cutting GR. : The diagnosis of cystic fibrosis: a consensus statement. Cystic Fibrosis Foundation Consensus Panel. *J Pediatr* 1998;132:589-95.
- (24) Audrézet MP, Chen JM, Raguénès O, Chuzhanova N, Giteau K, Le Maréchal C et al. : Genomic rearrangements in the CFTR gene: extensive allelic heterogeneity and diverse mutational mechanisms. *Hum Mutat* 2004;23:343-57.
- (25) Niel F, Legendre M, Bienvenu T, Bieth E, Lalau G, Sermet I et al. : A new large CFTR rearrangement illustrates the importance of searching for complex alleles. *Hum Mutat* 2006;27:716-7.
- (26) Férec C, Casals T, Chuzhanova N, Macek M, Jr., Bienvenu T, Holubova A et al. : Gross genomic rearrangements involving deletions in the CFTR gene: characterization of six new events from a large cohort of hitherto unidentified cystic fibrosis chromosomes and meta-analysis of the underlying mechanisms. *Eur J Hum Genet* 2006;14:567-76.
- (27) Scotet V, De Braekeleer M, Roussey M, Rault G, Parent P, Dagorne M et al. : Neonatal screening for cystic fibrosis in Brittany, France: assessment of 10 years' experience and impact on prenatal diagnosis. *Lancet* 2000;356:789-94.
- (28) Munck A, Sahler C, Briard M, Vidailhet M, Farriaux JP. : [Cystic fibrosis: the French neonatal screening organization, preliminary results]. *Arch Pediatr* 2005;12:646-9.
- (29) McIntosh I, Raeburn JA, Curtis A, Brock DJ. : First-trimester prenatal diagnosis of cystic fibrosis by direct gene probing. *Lancet* 1989;2:972-3.
- (3) Fanconi G, Uehlinger E, Knauer C. Das : Coeliakiesyndrom bei angeborener zystischer Pankreasfibromatose und Bronchiektasien. *Wien Med Wochenschr* 1936;86:753-6.
- (30) Férec C, Verlingue C, Audrézet MP, Guillermit H, Quéré I, Raguènes O et al. : Prenatal diagnosis of cystic fibrosis in different European populations : application of denaturing gradient gel electrophoresis. *Fetal Diagn Ther* 1993;8:341-50.
- (31) Scotet V, Duguépéroux I, Audrézet MP, Blayau M, Boisseau P, Journel H et al. : Prenatal diagnosis of cystic fibrosis: the 18-year experience of Brittany (western France). *Prenat Diagn* 2008;28:197-202.
- (32) Handyside AH. : Preimplantation genetic diagnosis after 20 years. *Reprod Biomed Online* 2010;21:280-2.
- (33) Simon-Bouy B, Satre V, Férec C, Malinge MC, Girodon E, Denamur E et al. : Hyperechogenic fetal bowel: a large French collaborative study of 682 cases. *Am J Med Genet A* 2003;121A:209-13.



- (34) Scotet V, De Braekeleer M, Audrézet MP, Quéré I, Mercier B, Duguépéroux I et al. : Prenatal detection of cystic fibrosis by ultrasonography: a retrospective study of more than 346,000 pregnancies. *J Med Genet* 2002;39:443-8.
- (35) Scotet V, Duguépéroux I, Audrézet MP, Audebert-Bellanger S, Muller M, Blayau M et al. : Focus on cystic fibrosis and other disorders evidenced in fetuses with sonographic finding of echogenic bowel: 16-year report from Brittany, France. *Am J Obstet Gynecol* 2010;203:592-6.
- (36) Dumur V, Gervais R, Rigot JM, Lafitte JJ, Manouvrier S, Biserte J et al. : Abnormal distribution of CF delta F508 allele in azoospermic men with congenital aplasia of epididymis and vas deferens. *Lancet* 1990;336:512.
- (37) Chillon M, Casals T, Mercier B, Bassas L, Lissens W, Silber S et al. : Mutations in the cystic fibrosis gene in patients with congenital absence of the vas deferens. *N Engl J Med* 1995;332:1475-80.
- (38) Mercier B, Verlingue C, Lissens W, Silber Sherman J, Novelli G, Bonduelle M et al : Is congenital bilateral absence of vas deferens a primary form of cystic fibrosis ? Analyses of the CFTR Gene in 67 Patients. *Am J Hum Genet* 1995;56:272-7.
- (39) Bombieri C, Claustres M, De Boeck K, Derish N, Dodge J, Girodon E et al. : Recommendations for the classification of diseases as CFTR-related disorders. *J Cyst Fibros* 2011;10:86-102.
- (4) Di Sant'Agnese PA, Darling RC, Perera GA, Shea E. : Abnormal electrolyte composition of sweat in cystic fibrosis of the pancreas. *Pediatrics* 1953;12:549-63.
- (40) Accurso FJ, Rowe SM, Clancy JP, Boyle MP, Dunitz JM, Durie PR et al. : Effect of VX-770 in persons with cystic fibrosis and the G551D-CFTR mutation. *N.Engl.J Med.* 2010;363:1991-2003.
- (41) Roussey M, Desrues B, Turck D, Perez T, Wallaert B, : Centres de soins pour la mucoviscidose de Rennes et de Lille. Centres de soins d'adultes pour la mucoviscidose : critères requis, organisation pratique. *Rev Mal Respir* 2000;17:733-8.
- (5) Rommens JM, Iannuzzi MC, Kerem B, Drumm ML, Melmer G, Dean M et al : Identification of the cystic fibrosis gene: chromosome walking and jumping. *Science* 1989;245:1059-65.
- (6) Riordan JR, Rommens JM, Kerem B, Alon N, Rozmahel R, Grzelczak Z et al. : Identification of the cystic fibrosis gene: cloning and characterization of complementary DNA. *Science* 1989;245:1066-73.
- (7) Kerem BS, Rommens JM, Buchanan JA, Markiewicz D, Cox TK, Chakravarti A et al. : Identification of the cystic fibrosis gene: genetic analysis. *Science* 1989;245:1073-80.

- (8) Tsui LC, Buchwald M, Barker D, Braman JC, Knowlton R, Chumm JW et al. : Cystic fibrosis locus defined by a genetically polymorphix DNA marker. Science 1985;230:1054-7.
- (9) Anderson MP, Gregory RJ, Thompson S, Souza DW, Paul S, Mulligan RC et al. : Demonstration that CFTR is a chloride channel by alteration of its anion selectivity. Science 1991;253:202-4.