

When I suddenly remember I don't remember
the extrinsic and intrinsic pathways of
coagulation



Génétique des maladies
hémorragiques

Marguerite Neerman-Arbez

Marguerite Neerman-Arbez

1

Objectifs de ce cours

- Connaître les modes de transmissions monogéniques (rappel)
- Connaître la transmission récessive liée à l'X (rappel)
- Connaître les principales anomalies génétiques responsables d'hémophilies
- Connaître d'autres anomalies hémorragiques héréditaires (intégration)

Marguerite Neerman-Arbez

2

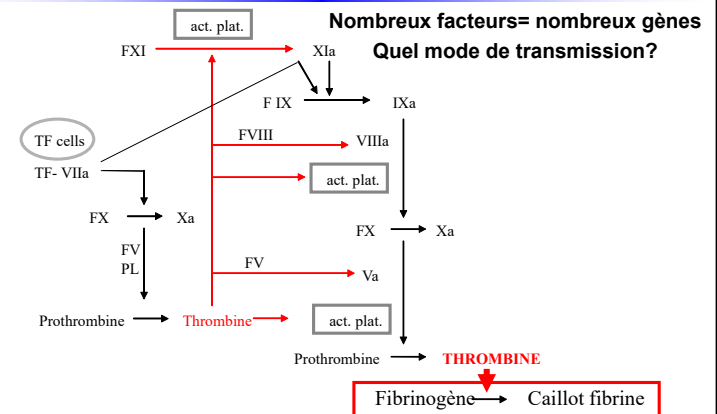
Maladies génétiques

- Transmission mendélienne (rappel)
 - Autosomique (AD,AR)
 - Liée à l'X (XR,XD)

Marguerite Neerman-Arbez

3

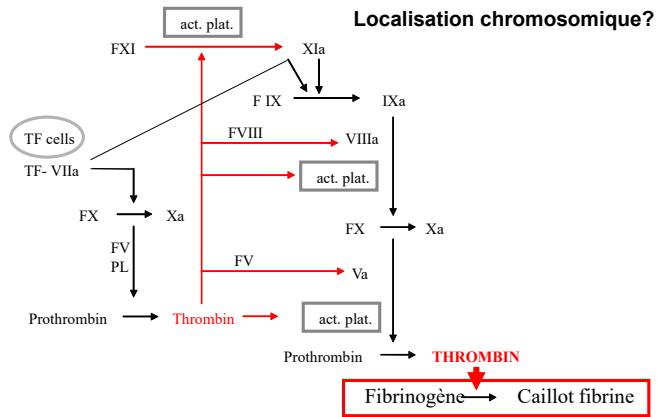
La coagulation (simplifiée!)



Marguerite Neerman-Arbez

4

La coagulation (simplifiée!)



5

Modes de transmission

- **Localisation:**
 - Mode autosomique ou lié à l'X
- **Quantité/qualité de protéine nécessaire à une fonction normale:**
 - Mode récessif ou dominant

6

Déficiences congénitales héréditaires

Facteur (localisation)	Incidence	Transmission
Prothrombine (11p11-q12)	1/1 000 000	AR
Fibrinogène (4q28-31)	1/1 000 000*	AR*/AD
Facteur V (1q23)	1/1 000 000	AR
Facteur VII (13q34)	1/1 000 000	AR
Facteur VIII (Xq28)	1/10 000	XR
Facteur IX (Xq27)	1/50 000	XR
Facteur X (13q34)	1/500 000	AR
Facteur XI (4q35)	1/100 000	AR
Facteur XIII A/B (6p25/1q31)	1/3 000 000	AR

Marguerite Neeman-Arbez

7

Les Hémophilies

- **Hémophilie A:**
 - Déficience facteur VIII (gène *F8C*, Xq28)
 - 1/5'000-10'000 naissances mâles
- **Hémophilie B:**
 - Déficience facteur IX (gène *F9*, Xq27)
 - 1/100'000 naissances mâles

8

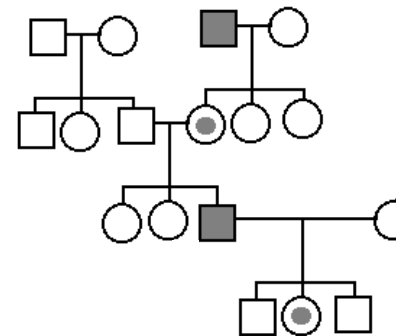
Un peu d'histoire

- Textes Juifs très anciens (Talmud 2eme siècle AD) qui décrivent la mort d'enfants mâles de saignements excessifs suite à la circoncision
 - une règle: on ne circoncisait pas un petit garçon né après deux frères morts de ces saignements
- **Albucasis (1013-1106), médecin Arabe**
- **Dr. John Conrad Otto (1803):**
 - « An account of a haemorrhagic disposition existing in certain families » transmission mère-fils

Marguerite Neeman-Arbez

9

Transmission liée à l'X récessive (XR)



Marguerite Neeman-Arbez

10

Transmission liée à l'X récessive

- **Maladie plus fréquente chez les garçons**
- **Une femme porteuse transmet à 50% des fils (atteints) et 50% des filles (porteuses)**
- **Un homme atteint transmet à toutes ses filles (aucun de ses fils n'est atteint)**
- **En général, une femme porteuse n'est pas atteinte**
- **Proportion significative de mutations de novo**
 - environ 1/3 patients Hémophilie A ou B

Marguerite Neeman-Arbez

11

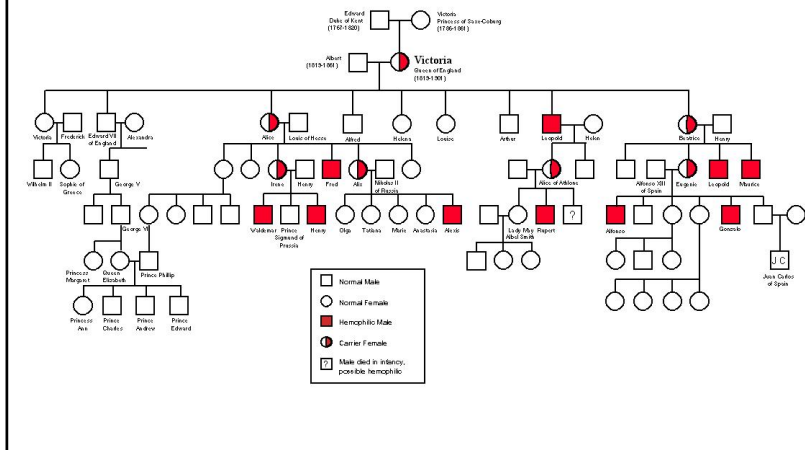
Une maladie « royale »



Marguerite Neeman-Arbez

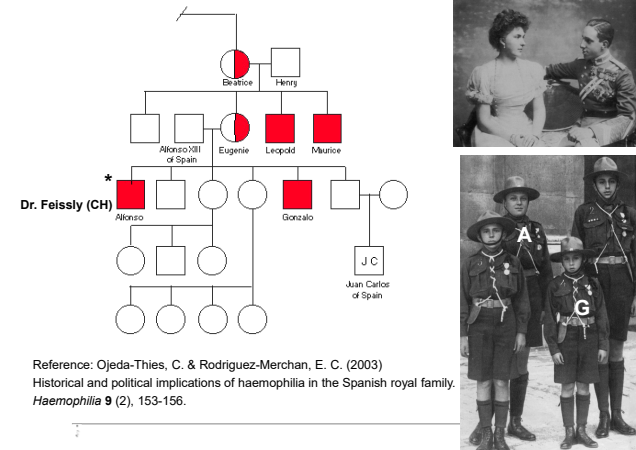
12

La famille royale Européenne



13

La famille royale d'Espagne



14

Encore un peu d'histoire

- **20ème siècle: recherche de la cause (vaisseaux plus fragiles?)**
 - 1944: Pavlosky: le sang d'un patient Hémophile pouvait corriger le défaut de coagulation d'un autre patient Hémophile: découverte fortuite des deux formes d'Hémophilie A et B
 - Années soixante: identification des facteurs de coagulation
- **1960-1970: traitement a base de cryoprécipités puis concentrés de facteurs de coagulation**
- **1982 et 1984: clonage gène F9 et F8 resp.**
- **1990- : facteurs recombinants**

Marguerite Neeman-Arbez

15

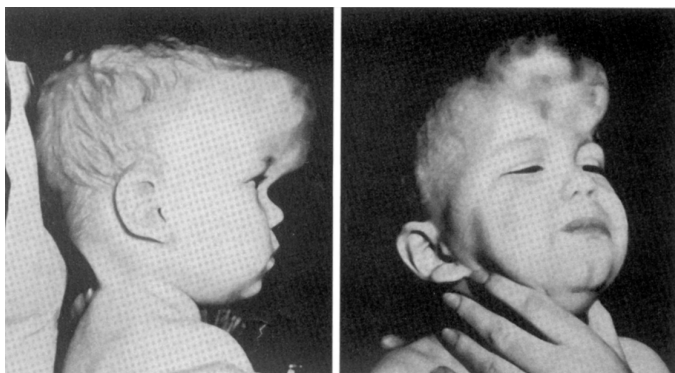
Hémophilie symptômes

- **saignements dans les articulations (hémarthroses)**
 - Genoux > coudes > chevilles > épaules > hanches, poignets
- **saignements dans les tissus mous et les muscles**
 - muscle psoas iliaque (bassin), mollet, avant-bras, bras, tendon d'Achille, siège
- **saignements de la bouche**
 - Coupure, morsure de la langue, perte d'une dent (surtout chez les enfants)
- **saignements urinaires (hématurie)**
- **ecchymoses superficielles**

Marguerite Neeman-Arbez

16

Hématome sub-cutané



(photo: Stefanini M, Dameshek W, in Thompson and Thompson)

Marguerite Neeman-Arbez

17

Arthropathie Hémophilique



Source: Medscape reference

Marguerite Neeman-Arbez 2008

18

Hémophilie sévérité variable

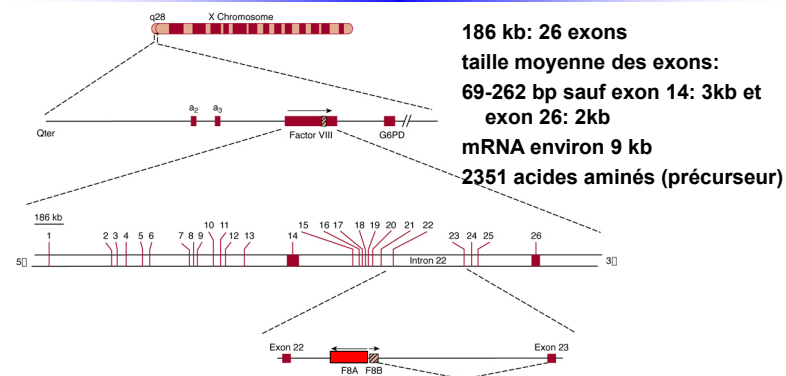
- **Forme sévère:**
 - Activité FVIII ou FIX: < 1% (50% patients)
- **Forme modérée:**
 - Activité FVIII ou FIX: 1%-5% (10% patients)
- **Forme légère:**
 - Activité FVIII ou FIX: 5%-40% (40% patients)

Traitement prophylactique ou sur demande: l'espérance de vie est passée de 1.4 ans en 1900 à 65 ans aujourd'hui
 ! complications possibles: inhibiteurs, infections...

Marguerite Neeman-Arbez

19

Le gène *F8C*



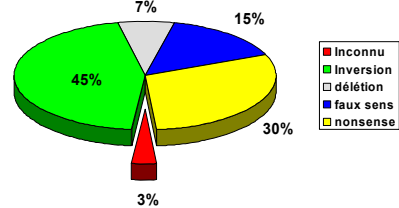
Marguerite Neeman-Arbez

20

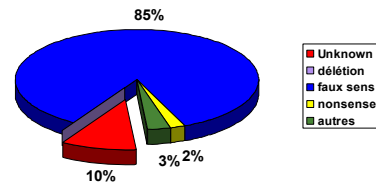
Types de mutations F8C (> 900 décrites)

<http://europium.csc.mrc.ac.uk>

- Sévère



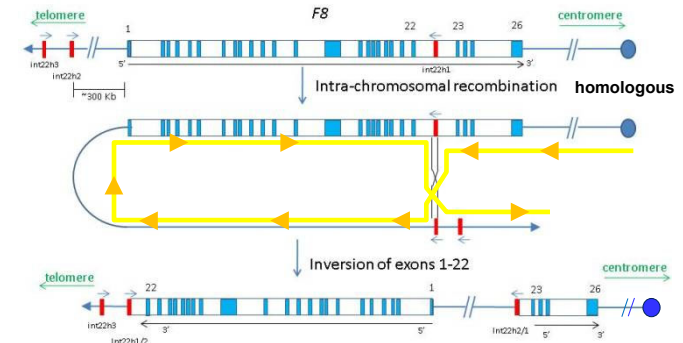
- Léger + modéré



Marguerite Neeman-Arbez

21

Inversion IVS22 par recombinaison homologue

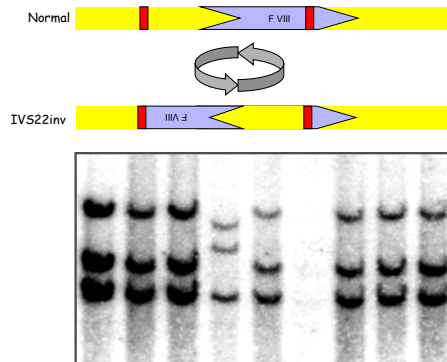


from <http://www.nibsc.ac.uk/>

Marguerite Neeman-Arbez

22

Southern blot: inversion IVS22

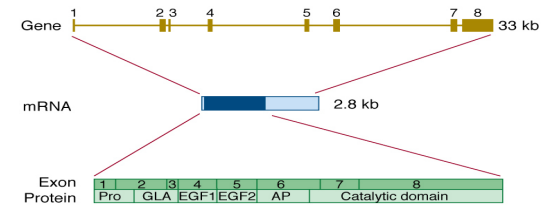


Diapositive de M. Morris

Marguerite Neeman-Arbez

23

Gène F9



33 kb, 8 exons

taille des exons: 25-203 bp sauf exon 8: 1.9 kb (3'UTR)

mRNA: 2803 nt

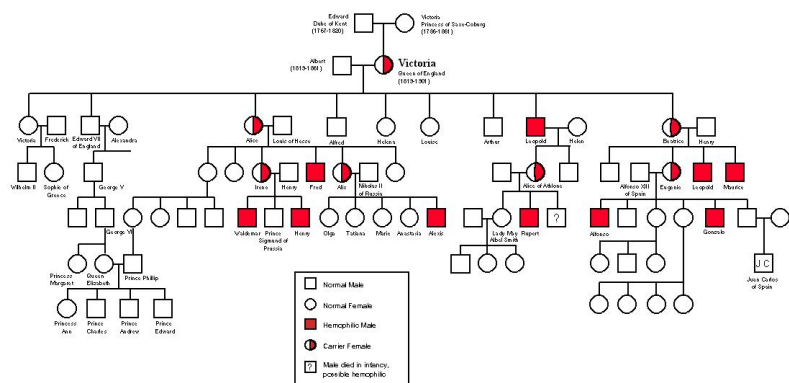
protéine mature 415 acides aminés (serine protéase)

> 2100 mutations décrites

Marguerite Neeman-Arbez

24

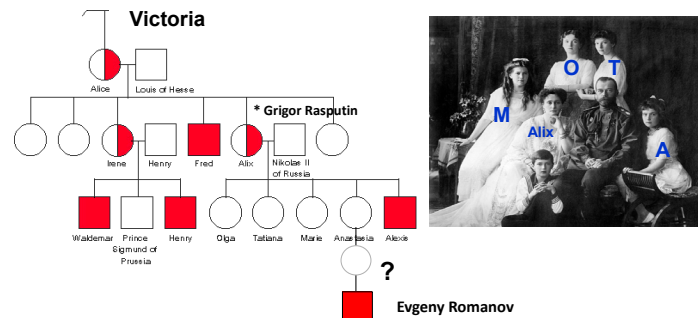
Retour à la famille royale...



Comment identifier la mutation « royale » ?

25

La famille du Tsar Nicolas II



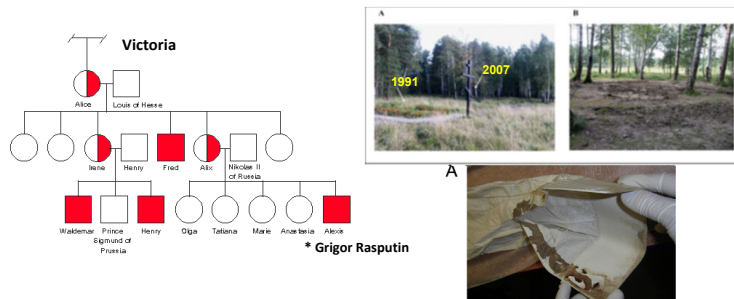
En 1995, un homme âgé de 63 ans, hémophile, déclare qu'il est le petit-fils d'Anastasia Romanova qui aurait échappé au massacre...

Pensez-vous que c'est la vérité?

Speakup: A OUI
B NON

26

La famille du Tsar Nicolas II



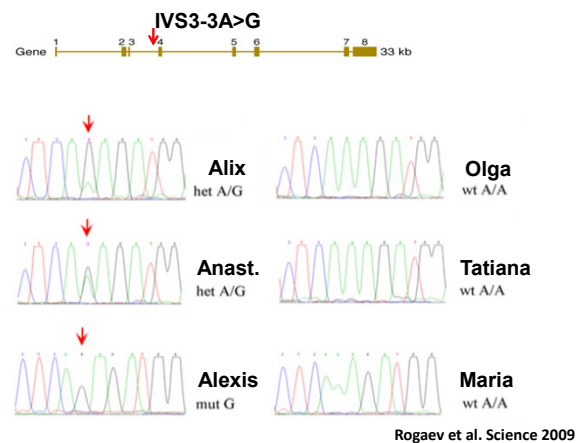
Famille assassinée à Iekaterinbourg le 17 juillet 1918
ossements retrouvés en 1991 et 2007

Défi technique: obtenir de l'ADN analysable à partir de restes, certains abîmés par le feu et l'acide sulfurique:

- > analyses ADN mitochondrial (transmission maternelle) et génomique (Y, transmission paternelle)
- > comparaison avec descendants vivants (non-hémophiles) et tâches de sang sur chemise du Tsar (tentative d'assassinat au Japon en 1891)

27

Rien dans *F8C*, mutation d'un site d'épissage *F9*

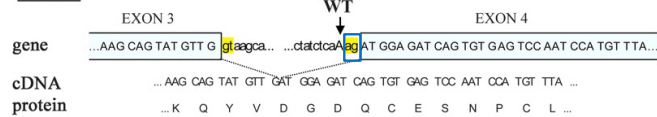


Rogaev et al. Science 2009

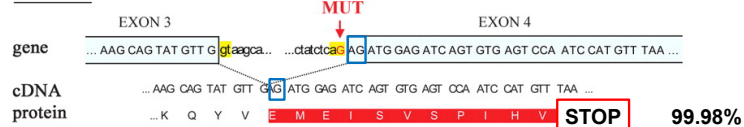
28

Mutation d'un site d'épissage *F9*

F9 WT



F9 MUT

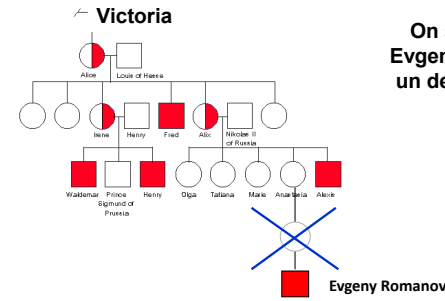


Rogaev et al. Science 2009

(voir TD Génétique)

29

Un dernier mystère....



On sait maintenant que Evgeny Romanov n'est pas un descendant de Victoria

MAIS Trois patients (2 Américains d'origine Européenne, 1 Espagnol) ont la même mutation *F9* IVS3-3A>G . Sont-ils des descendants de la reine Victoria?

Mutations de novo, pas de lien avec la famille royale

30

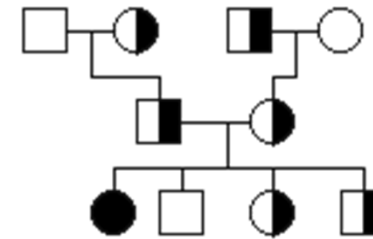
Déficiences congénitales héréditaires

Facteur (localisation)	Incidence	Transmission
Prothrombine (11p11-q12)	1/1 000 000	AR
Fibrinogène (4q28-31)	1/1 000 000	AR/AD
Facteur V (1q23)	1/1 000 000	AR
Facteur VII (13q34)	1/1 000 000	AR
Facteur VIII (Xq28)	1/10 000	XR
Facteur IX (Xq27)	1/50 000	XR
Facteur X (13q34)	1/500 000	AR
Facteur XI "Hémophilie C"(4q35)	1/100 000	AR*
Facteur XIII A/B (6p25/1q31)	1/3 000 000	AR

Marguerite Neeman-Arbez

31

Transmission autosomique récessive



Marguerite Neeman-Arbez

32

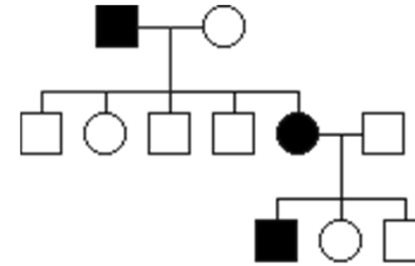
Transmission autosomique récessive

- Les personnes atteintes ont les deux allèles mutés
- Les hétérozygotes ne sont pas atteints
- Le phénotype ne se retrouve typiquement que dans une fratrie
- Chaque enfant d'un couple de porteurs a un risque de 1/4 d'être atteint
- Les deux sexes sont atteints à la même fréquence
- Fréquence augmentée avec consanguinité

Marguerite Neeman-Arbez

33

Transmission autosomique dominante



Marguerite Neeman-Arbez

34

Transmission autosomique dominante

- Le phénotype est présent dans chaque génération
- Un enfant d'un parent atteint a un risque de 1/2 d'être atteint
- Les deux sexes sont atteints à la même fréquence
- Transmission par les deux sexes aux deux sexes
- Homozygotes: rares et très sévères

Marguerite Neeman-Arbez

35

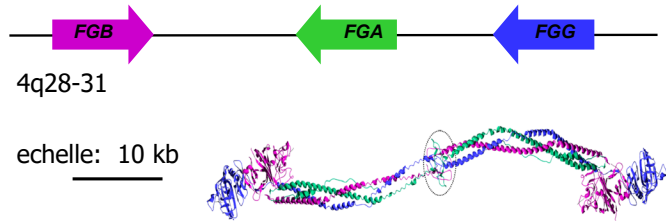
AR: afibrinogénémie congénitale

- incidence 1/1 000 000 environ
- déficience complète de fibrinogène dans la circulation (antigénique et fonctionnel)
- temps de coagulation prolongé à l'infini
 - Sévérité du phénotype variable
- décrite en 1920
- avant 1999, aucun locus génétique identifié

Marguerite Neeman-Arbez

36

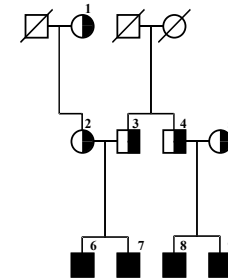
Le locus du fibrinogène



Marguerite Neeman-Arbez

37

Une famille avec afibrinogénémie

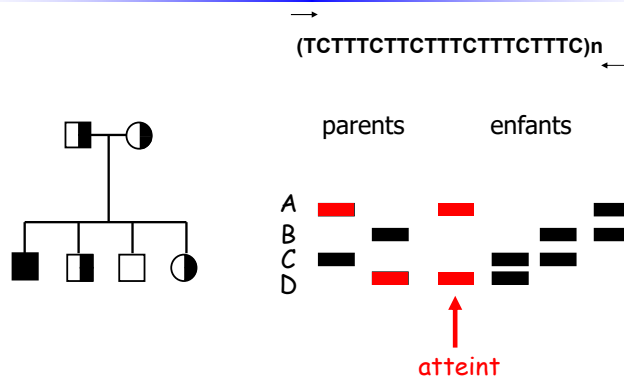


la maladie est-elle liée au locus fibrinogène?

Marguerite Neeman-Arbez

38

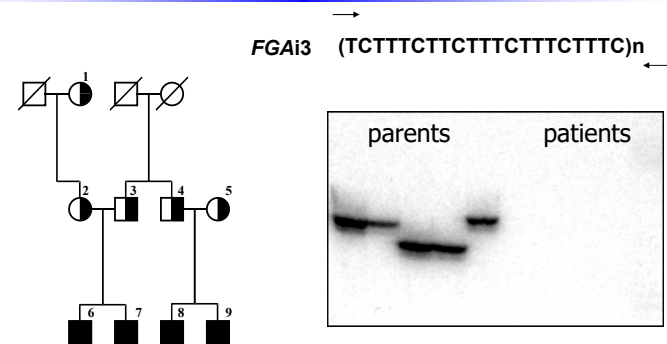
Analyse marqueurs polymorphiques (microsatellites)



Marguerite Neeman-Arbez

39

Une famille avec afibrinogénémie



Marguerite Neeman-Arbez

40

“Fibrinogène Genève”

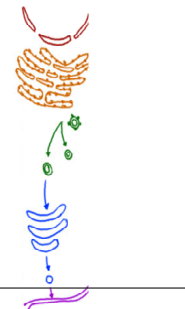
- Des délétions **homozygotes** récurrentes du gène *FGA* (11kb) causent l’afibrinogénémie congénitale (**AR**)
- Première mutation identifiée pour cette maladie
- La nature de la mutation a permis de démontrer que la déficience complète en fibrinogène chez l’humain est compatible avec la vie
- Nombreuses mutations causent la maladie, en **homozygotie** ou **hétérozygotie composée** (! même gène)

Marguerite Neeman-Arbez

41

Mécanismes moléculaires

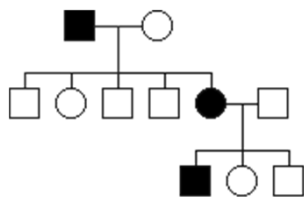
- afibrinogénémie
- au niveau de l’ADN
 - pas d’ADN (grande délétion)
 - au niveau de l’ARN
 - épissage
 - stabilité
 - au niveau de la protéine
 - stabilité
 - assemblage
 - sécrétion
-
- fonction



Marguerite Neeman-Arbez

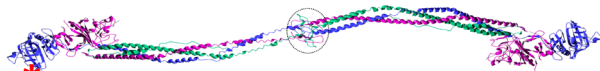
42

Dysfibrinogénémie (AD)



taux fibrinogène antigénique normal
(1.5-3.5 g/L)
taux fibrinogène fonctionnel abaissé

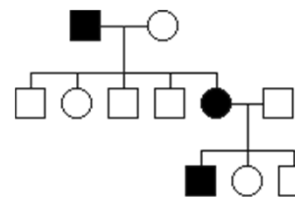
mutations faux-sens **hétérozygotes**
protéine présente circulation



Marguerite Neeman-Arbez

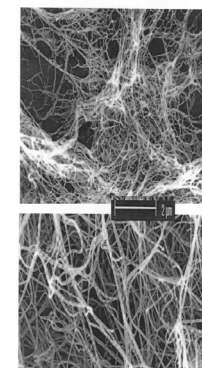
43

Dysfibrinogénémie (AD)



mutations faux-sens **hétérozygotes**
protéine anormale présente circulation

effet **dominant-négatif** de la mutation
rappel: dans des protéines multimériques
on a un effet dominant négatif lorsque
une sous-unité défectueuse empêche la
fonction



mut

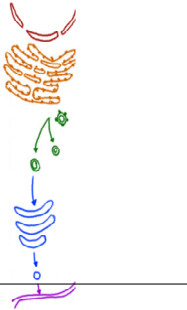
normal

Marguerite Neeman-Arbez

44

Mécanismes moléculaires

- afibrinogénémie**
- au niveau de l'ADN
 - pas d'ADN (grande délétion)
 - au niveau de l'ARN
 - épissage
 - stabilité
 - au niveau de la protéine
 - stabilité
 - assemblage
 - sécrétion
-
- dys-fibrinogénémie**
- fonction



Marguerite Neeman-Arbez

45

A vous...



- Dans tous les exemples précédents, le gène muté est celui qui code pour le facteur de coagulation manquant.
- Pouvez-vous imaginer d'autres mécanismes?

Marguerite Neeman-Arbez

46

Déficiences combinées (pour en savoir plus)

- Déficiency combinée facteurs vitamine K-dépendants (facteurs II, VII, IX, et X):
 - Gènes codant pour la gamma glutamyl carboxylase (2p13) et la vit K epoxide reductase (16p11)
- Déficiency combinée facteurs V et VIII:
 - Gènes: ERIC 53 (18q21); MCFD2 (2p21)

Marguerite Neeman-Arbez

47

A vous...




- Et encore?
- Quels sont les autres acteurs de l'hémostase?

Marguerite Neeman-Arbez

48

Les plaquettes

(pour en savoir plus) 

- **Maladies des plaquettes:**
 - Trop de plaquettes (thrombocytose)
 - Pas assez (thrombocytopénie)
 - **TTP ou Thrombotic thrombocytopenic purpura:** mutation ADAMTS 13, 9q34, vWF cleaving protéase
 - Défauts d'adhésion plaquettaire
 - **Syndrome de Bernard-Soulier:** mutation dans un des gènes codant pour le récepteur vWF = GPIb
 - Défauts d'aggrégation plaquettaire
 - **Thrombasthénie de Glanzmann:** mutation dans gène codant pour GP alpha 2B ou GP IIIa

Marguerite Neeman-Arbez

49

Le facteur de von Willebrand

- **Déficience vWF (12p13)**
 - Nécessaire pour l'adhésion plaquettes à la paroi endothéliale
 - Protéine transport/stabilisatrice pour le facteur VIII
- **1% personnes atteintes**
- **3 formes:**
 - Type 1: niveaux abaissés
 - Type 2: fonction anormale
 - Type 3: déficience complète

Marguerite Neeman-Arbez

50

Etudes d'association cas-contrôles

- **locus ABO: associé à MI (infarctus du myocarde) et thrombose (Bronte-Stewart et al., 1962, Brit Med J): un déficit de groupe «O» parmi les malades/un excès de groupes «non-O»**

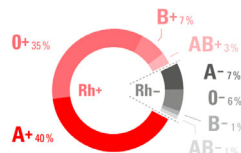
TABLE III.—Percentage Group Frequencies

Blood Group	Controls*	Total (792 Cases)	Controls*	M.I. With (84 Cases)	Without (148 Cases)	Controls*	Acute Myocardial Infarction (160 Cases)
O	42	33.8	42	34.1	41.8	42	43.1
A	38.5	43.7	36.5	46.5	38.9	38.1	35.8
B	13.2	12.1	13.1	14.3	13.2	13.4	13.8
AB	6.0	5.4	6.0	5.2	6.0	5.7	7.5

Summary

In an attempt to obtain data on the interplay of genetic and environmental factors in the development of ischaemic heart disease, blood grouping was carried out on 792 patients attending prothrombin clinics throughout the Cape Peninsula.

There was an excess proportion of groups A and B and a deficiency of O in the patients when compared with controls.



Comment expliquer le rôle protecteur du groupe O?

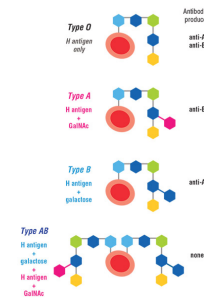
(voir TD Génétique)

Marguerite Neeman-Arbez

51

Etudes d'association cas-contrôles:

- Locus ABO (9q34): associé à MI (infarctus du myocarde) et thrombose veineuse
- On trouve un excès de groupes «non-O» parmi les malades
- Comment expliquer le rôle protecteur du groupe O?



Les personnes avec groupe sanguin «non O» ont des niveaux de vWF environ 25% supérieurs aux personnes avec groupe «O»

(protéolyse et clearance de vWF augmentée chez «O»)

- Chez les «non O»: augmentation des taux circulants de FVIII> prothrombotique

Marguerite Neeman-Arbez 2008

52

Vignette

Ce patient de 19 ans souffre de problèmes hémorragiques importants depuis son enfance. Il a un autre frère et un oncle qui ont la même affection, à savoir une **hémophilie A sévère**. Son père a eu des thromboses veineuses, sa mère est en bonne santé. Son frère, âgé de 26 ans, saigne moins souvent que lui. Sa sœur de 24 ans vient consulter car elle a peur d'avoir un enfant comme son frère cadet.

Marguerite Neeman-Arbez

53

Vignette

Hémophilie A sévère: déterminé selon les taux de FVIII circulants (< 1%)

Mais on peut tenir compte d'autres critères:

- Fréquence des saignements
- Besoin en facteurs coagulants
- Age d'apparition des premiers symptômes
- Présence d'arthropathie dues aux hémarthroses répétées

1) Dessinez l'arbre généalogique de cette famille

2) Comment expliquer qu'un des deux frères saigne moins que l'autre, malgré la même mutation F8?

3) Que pouvez-vous proposer à sa sœur?

Marguerite Neeman-Arbez

54