

PHEOCHROMOCYTOME ET LA MALADIE DE VON HIPPEL-LINDAU :

APPORT DE LA BIOLOGIE MOLECULAIRE

Auteurs : **Dr A. KASSOUL^a**, Dr A. TALBI^a, Pr A. CHIKOUCHE^a, Dr M. AIT ABDELLAH^b, Dr K. OUERDANE^c, Mme K. BEDDAR^a, Mme H. BOUMAAZA^a, Mlle N. ZERAOULIA^a, Mme F. OUKRINE^a, Mlle M. OUATIA^a, Pr L. GRIENE^a

^a *Laboratoire de biochimie et de génétique moléculaire, université Alger I, laboratoire d'hormonologie, CPMC, Alger, alger ;* ^b *Laboratoire de biochimie et de génétique moléculaire, université Alger I, alger ;* ^c *Service d'endocrinologie, CPMC, Alger, alger*

INTRODUCTION

Les phéochromocytomes sont des tumeurs du tissu chromaffine de la médullosurrénale qui, dans 20 à 25% des cas, surviennent dans le cadre d'une maladie héréditaire.

Les principales maladies associées aux formes familiales de phéochromocytomes sont : la Néoplasie Endocrinienne Multiple (NEM2 A/B), Neurofibromatose de type 1 (NF1) ou la maladie de Von Hippel-Lindau (VHL) et rarement le syndrome paragangliome/phéochromocytome (Gènes SDH).

La maladie de Von Hippel-Lindau « VHL » (OMIM: 193300) est une affection rare, à transmission autosomale dominante, à pénétrance élevée et complète vers 65 ans, prédispose au développement à la fois à des tumeurs bénignes et malignes richement vascularisées touchant plusieurs organes: le système nerveux central et la rétine (hémangioblastomes), le rein (kystes, cancer rénal à cellules claires), pancréas (kystes, tumeurs neuroendocrines), les glandes surrénales (**phéochromocytomes**) et le sac endolymphatique (tumeurs).

Son incidence est estimée à 1/40000 naissances.

La maladie de VHL est due à des mutations germinales inhibitrices du gène suppresseur de tumeur VHL, localisé sur le chromosome 3p25-26. Une classification clinique de la maladie de VHL existe, basée sur la présence ou l'absence d'un phéochromocytome:

Type de VHL	Hémangioblastomes	RCC	Phéochromocytomes
1	Risque élevé	Risque élevé	Risque faible
2a	Risque élevé	Risque faible	Risque élevé
2b	Risque élevé	Risque élevé	Risque élevé
2c	Risque faible	Risque faible	Risque élevé

Tableau 1 : Les types de la maladie de VHL.

Le diagnostic de la maladie repose sur des critères cliniques, radiologiques, biologiques et génotypiques.

Le diagnostic génotypique du VHL est actuellement réalisable dans notre laboratoire, il est basé sur la recherche de mutations localisées au niveau du gène VHL.

OBJECTIFS

Notre étude a pour but de :

- Poser le diagnostic génotypique (de certitude) de la maladie de VHL chez des patients, cas index, présentant un phéochromocytome.
- Réaliser un dépistage présymptomatique chez les apparentés du cas index porteurs encore asymptomatiques de la mutation.

MATERIEL ET METHODE

1/ Patients

- ADN génomique de dix cas index, présentant tous un phéochromocytome a été isolé à partir de leucocytes du sang périphérique recueilli après obtention consentement éclairé de chaque patient.
- Tous nos patients proviennent du service d'Endocrinologie, du centre PIERRE ET MARIE CURIE d'Alger, dont deux sont membre de la même famille.

2/METHODE : Analyse génotypique du gène VHL par séquençage direct

- Amplification du gène VHL par PCR (Polymerase chain reaction)
- Séquençage direct des produits amplifiés selon la méthode de Sanger, avec Big Dye Terminator Cycle Sequencing V1.1 (Applied Biosystem), sur le séquenceur : Genetic Analyzer AB Prism 3130 d'Applied Biosystem.

RESULTATS

Les résultats du séquençage de l'exon 1 et 2 sont représentés dans le tableau 2 et l'image 1:

La variation de séquence	Patients	Localisation	Impact sur la séquence protéique
C244G	Cas index 1	Exon 1	R82G
C319G	Cas indes 2 et 3	Exon 1	R107G
G389T	Cas index 4	Exon2	V130G

Tableau 2: résultats du séquençage direct du gène VHL

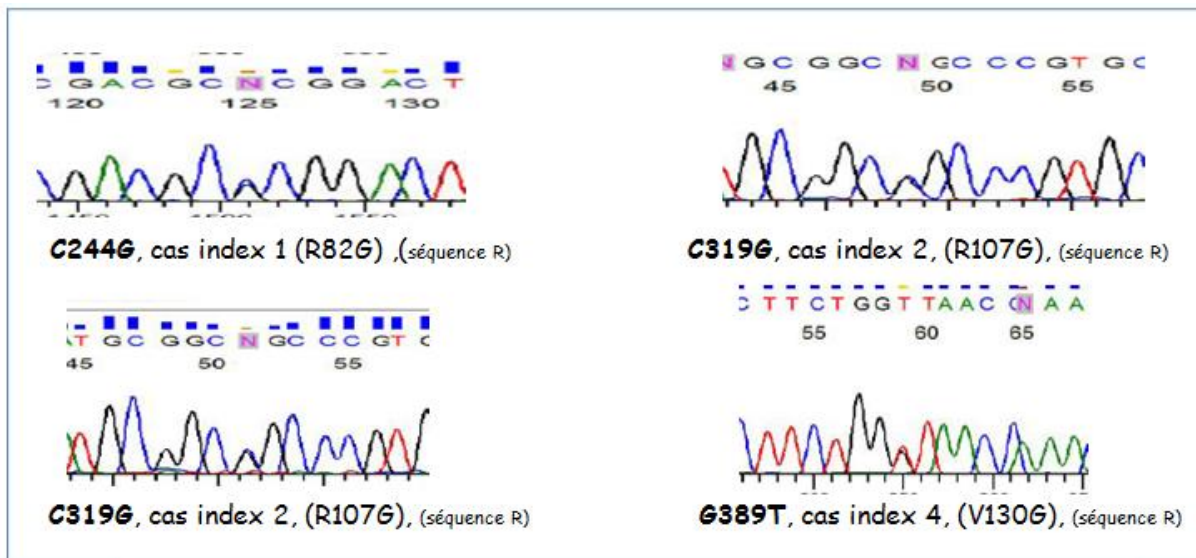


Image 1: profils de l'électrophorégramme des quatre cas index, représentant les variations de séquence hétérozygotes retrouvées

L'exon 3 est en cours d'exploration

DISCUSSION

Dans notre étude, nous avons identifié deux mutations faux sens à l'état hétérozygote chez trois patients : R82G et R107G.

Ces deux mutations ont été décrites comme responsables de la maladie de VHL de type 2 associée à un haut risque de développement d'un phéochromocytome mais n'ont pas été identifiées comme des Hot Spots.

La variation de séquence V130G retrouvée a été décrite comme une variation de séquence de signification inconnue dont l'impact sur la pathologie n'est pas élucidé.

Le premier cas index est une femme de 25 ans, ayant un phéochromocytome bilatéral, le premier a été développé à 15 ans et le second à 18 ans.

Le deuxième cas index est un homme qui a développé un phéochromocytome gauche à l'âge de 11 ans, puis un phéochromocytome droit à l'âge de 35 ans, des kystes rénaux ont été décelés à l'imagerie, et son père avait déjà présentés de multiples kystes rénaux.

Le troisième patient est la sœur du deuxième cas index, et a été aussi recrutée comme un cas index, elle a été opérée à l'âge de 11 ans pour un phéochromocytome bilatéral, et à l'âge de 39 ans, elle a développé une tumeur neuroendocrine du pancréas.

Le cas index, chez qui on a retrouvé la variation de séquence V130G, est une femme enceinte de 29 ans ayant un phéochromocytome bilatéral.

L'analyse génotypique de l'exon 1 et l'exon 2 de deux autres femmes, cas index, qui ont développés un phéochromocytome bilatéral et un unilatéral à l'âge de 42 ans et 31 ans respectivement est sans anomalies.

L'âge moyen de la survenue du phéochromocytome dans le cadre de la maladie de VHL est de 27ans (5-58), et les mutations germinales ont été identifiées dans 40% des phéochromocytomes familiaux ou bilatéraux.

Notre analyse va s' étendre sur l'ensemble des apparentés des cas index afin de dépister les porteurs de la mutation familiale de ceux qui ne le sont pas, ce qui va permettre de la mise en route d'une surveillance appropriée et régulière des porteurs asymptomatiques (TDM, échographie abdominale, IRM, fond d'œil ,scintigraphie, dosage des catécholamines urinaires,...) et de rassurer définitivement ceux qui en sont indemnes.

CONCLUSION

- La maladie de VHL est parmi les principales causes génétiques de survenue du phéochromocytome.
- Le test génétique permet de poser le diagnostic de certitude de la pathologie, ce qui va avoir un important impact sur la gestion des différents aspects cliniques de la maladie.
- La surveillance adéquate des porteurs de la mutation familiale (symptomatiques et asymptomatiques) permet de réduire la morbi-mortalité liée à la maladie.