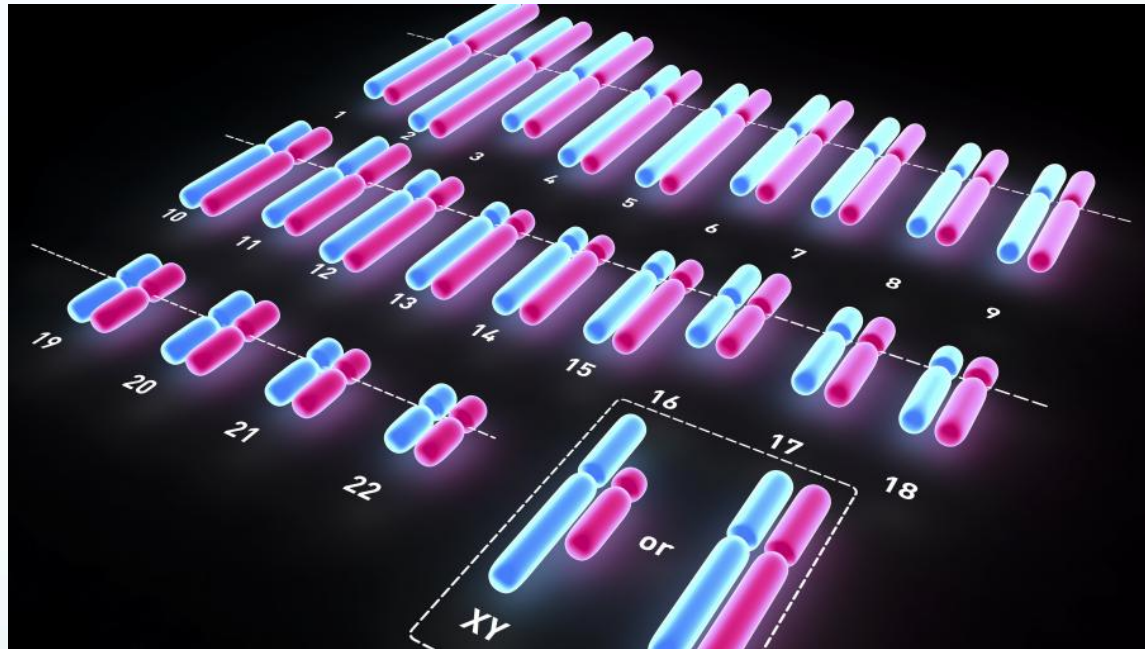


# Génétique du calcium urinaire



**Participants:** Valentina, Elodie, Emanuele et Athimed

**Mentor:** Tanguy Corre

**Université de Lausanne**

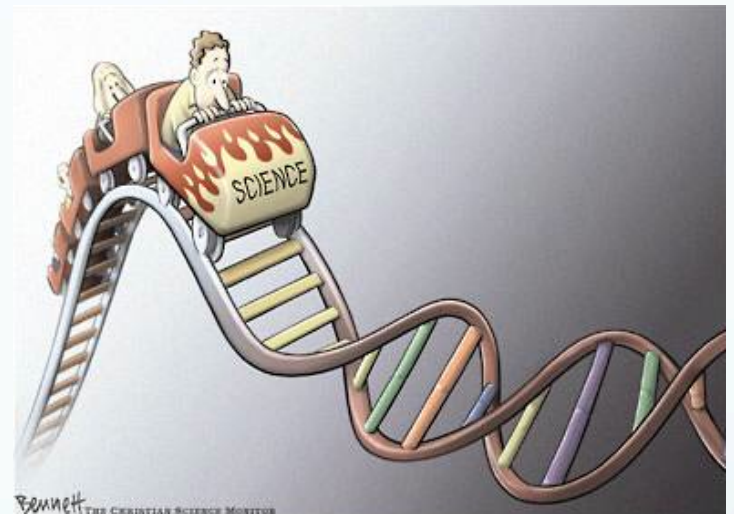
# Calcium

- Nécessaire au bon fonctionnement de toutes les cellules
- Important pour :
  - 1) construction des dents et des os
  - 2) fonctions cardiaques
  - 3) contractions musculaires
  - 4) signalisation nerveuse
  - 5) coagulation du sang



# Concentration en calcium urinaire

- Biomarqueur important pour divers dysfonctionnements vasculaires et rénaux
- Trait qui varie entre individus
- Partie de cette variation est déterminée génétiquement
- Existe encore peu d'étude sur la concentration en calcium urinaire



# Dysfonctionnements liés à une concentration calcique urinaire anormale

- **Hypocalciurie** (<50mg pour 24h)

→ Éclampsie

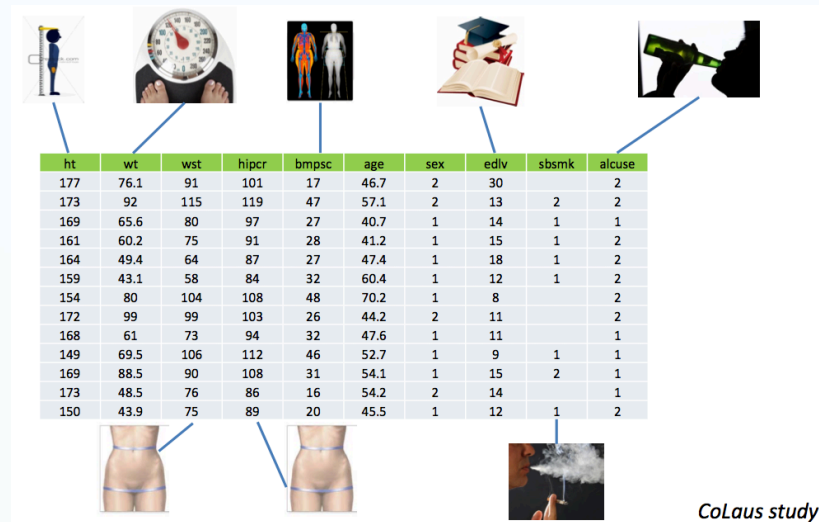
- **Hypercalciurie** (>150 mg pour 24h)

→ Diminution des fonctions rénales

→ calculs rénaux

→ insuffisance rénale

# But de notre Projet



Source : Polycopier « Analyse multivarié » du professeur Zoltan

Identifier les loci du génome qui sont à l'origine d'une variation significative de la concentration en calcium dans l'urine chez les différents individus de l'étude CoLaus

# Déroulement du projet



# Variables phénotypiques utilisées

Age

Sexe

Créatinine

**Calcium**

Sodium

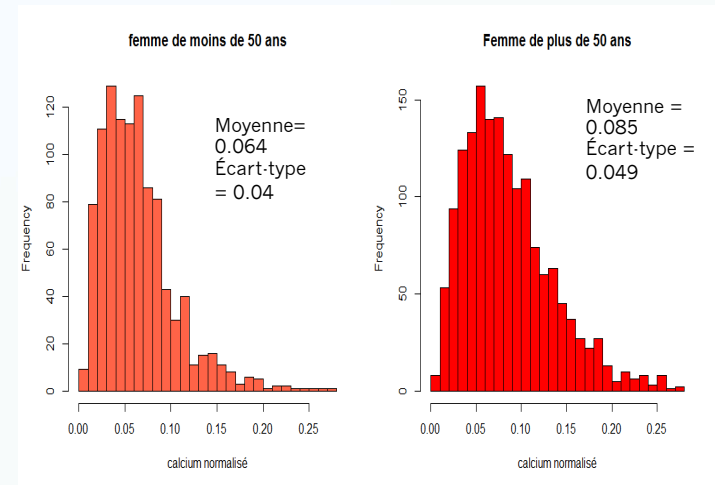
Potassium

Magnésium

Electrolytes urinaires  
[mg/dL]

# Utilisation des phénotypes

- Effet du sexe
- Effet de l'âge



- Calcium corrigé par la créatinine
- **Ratio** du calcium avec tous les électrolytes.
  - Calcium / sodium
  - Calcium / potassium
  - Calcium / magnésium



# Utilisation des données



# Données utilisables

- Génotypées, donnant une valeur de 0,1 ou 2
- Imputées selon des valeurs HapMap

	rs12524	rs23625	rs25652	rs25653	rs16252	rs7363	rs771151	rs771152	rs5541
Affy500K	■	?	?	■	?	?	■	?	?
Affy6.0	■	?	■	■	?	?	■	?	■
Illumina330	●	●	●	●	●	●	●	●	●
Illumina1M	●	●	●	●	●	●	●	●	●
HapMap	◆	◆	◆	◆	◆	◆	◆	◆	◆

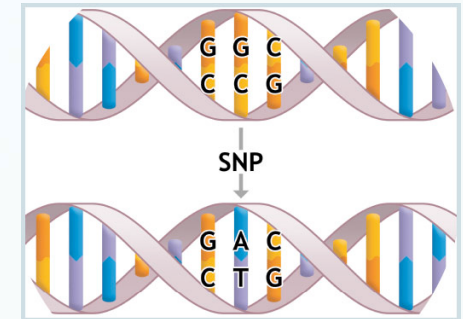
# Vérification de la validité

- Données utilisables si:
- L' équilibre de Hardy-Weinberg est respecté
- La callrate > 0.9
- La fréquence allélique > 0.01
- $R^2 > 0.3$  pour une données imputée



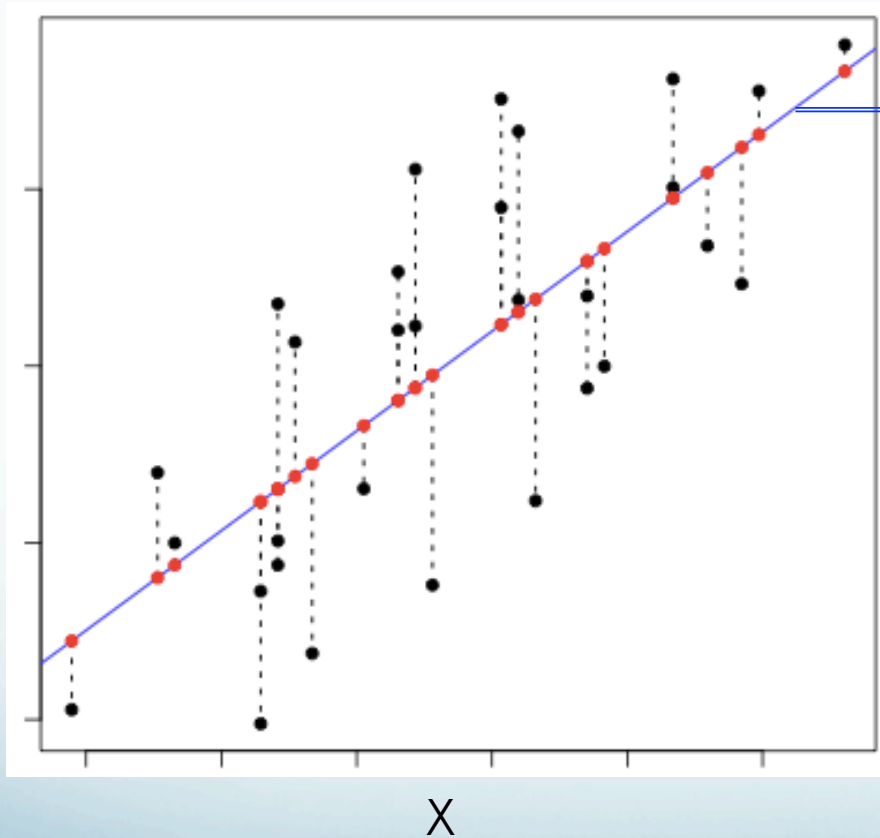
# SNP candidats sélectionnés

- Trouvés dans des articles traitants du calcium urinaire et du calcium sérique :



- ⇒ Associés à la densité minérale osseuse
- ⇒ Se trouvent dans la partie régulatrices ou promoteur d'un gène codant pour un récepteur lié au calcium
- ⇒ Connus pour favoriser l'ostéoporose, les troubles calciques

# Régression linéaire



→ Droite de régression linéaire

Observation:  $Y' = h + \beta x + \varepsilon$       Prédiction:  $Y = h + \beta x$

**y**: réponse (variable expliquée)  
**x**: prédicteur (variable explicative)  
 **$\beta$**  (pente): coefficient de régression  
**h**: ordonnée à l'origine de la droite  
 **$\varepsilon$**  (se): Erreur (Pointillé)

# Correction de Bonferroni

Plus de chances de rejeter l'hypothèse nulle par hasard



Obligation de rectifier le seuil de significativité

$$\text{Nouveau seuil : } \alpha = \frac{0.05}{\text{nbr de tests effectués}} = \frac{0.05}{36} = \underline{\underline{0.00139}}$$

# Résultats obtenus

## Ratio Calcium/Créatinine

SNP	1	2	3	4	5	6	7	8	9
P-value	0.1964	0.6579	0.5729	0.059	0.2425	0.3034	0.088	0.4912	0.1585
béta	0.0347	0.0091	0.0117	0.0402	-0.0433	0.0288	0.0363	0.0203	0.0276
se	0.0269	0.0206	0.0208	0.0213	0.0371	0.0222	0.0213	0.0294	0.0196

## Ratio Calcium/Magnésium

SNP	1	2	3	4	5	6	7	8	9
P-value	0.0869	0.3926	0.2876	0.0004	0.6057	0.1508	0.1569	0.7127	0.1886
béta	0.0467	0.0179	0.0224	0.0759	0.0194	0.0323	0.0305	-0.011	0.0261
se	0.0273	0.0209	0.021	0.0216	0.0375	0.0225	0.0215	0.0299	0.0198

# Résultats obtenus

## Ratio Calcium/Sodium

SNP	1	2	3	4	5	6	7	8	9
P-val.	0.2734	0.9993	0.8478	0.1223	0.361	0.2789	0.1634	0.8812	0.6468
béta	0.0298	0	-0.004	0.0333	-0.0342	0.0243	0.03	0.0045	0.0091
se	0.0272	0.0209	0.0211	0.0216	0.0375	0.0225	0.0215	0.0298	0.0198

## Ratio Calcium/Potassium

SNP	1	2	3	4	5	6	7	8	9
P-val.	0.2497	0.2319	0.0906	0.3747	0.1591	0.8417	0.5216	0.7522	0.4353
béta	0.0326	-0.0261	-0.0373	0.0199	-0.055	0.0047	0.0144	0.0098	-0.0162
se	0.0283	0.0219	0.0221	0.0224	0.0391	0.0234	0.0225	0.0311	0.0208

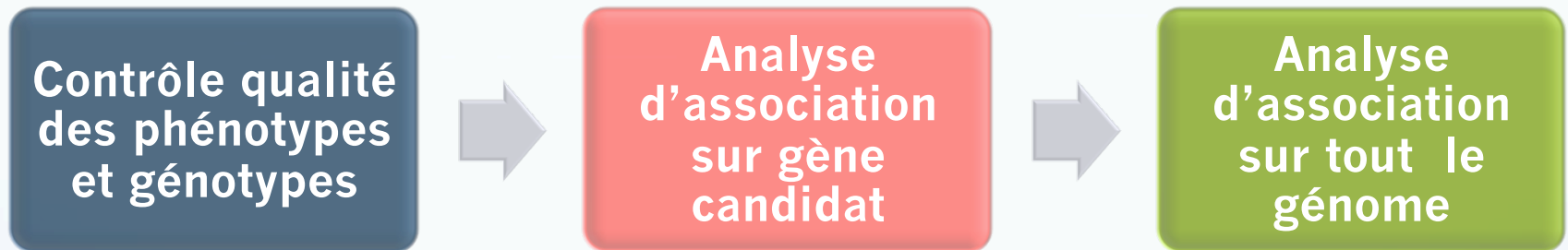


# SNP significative

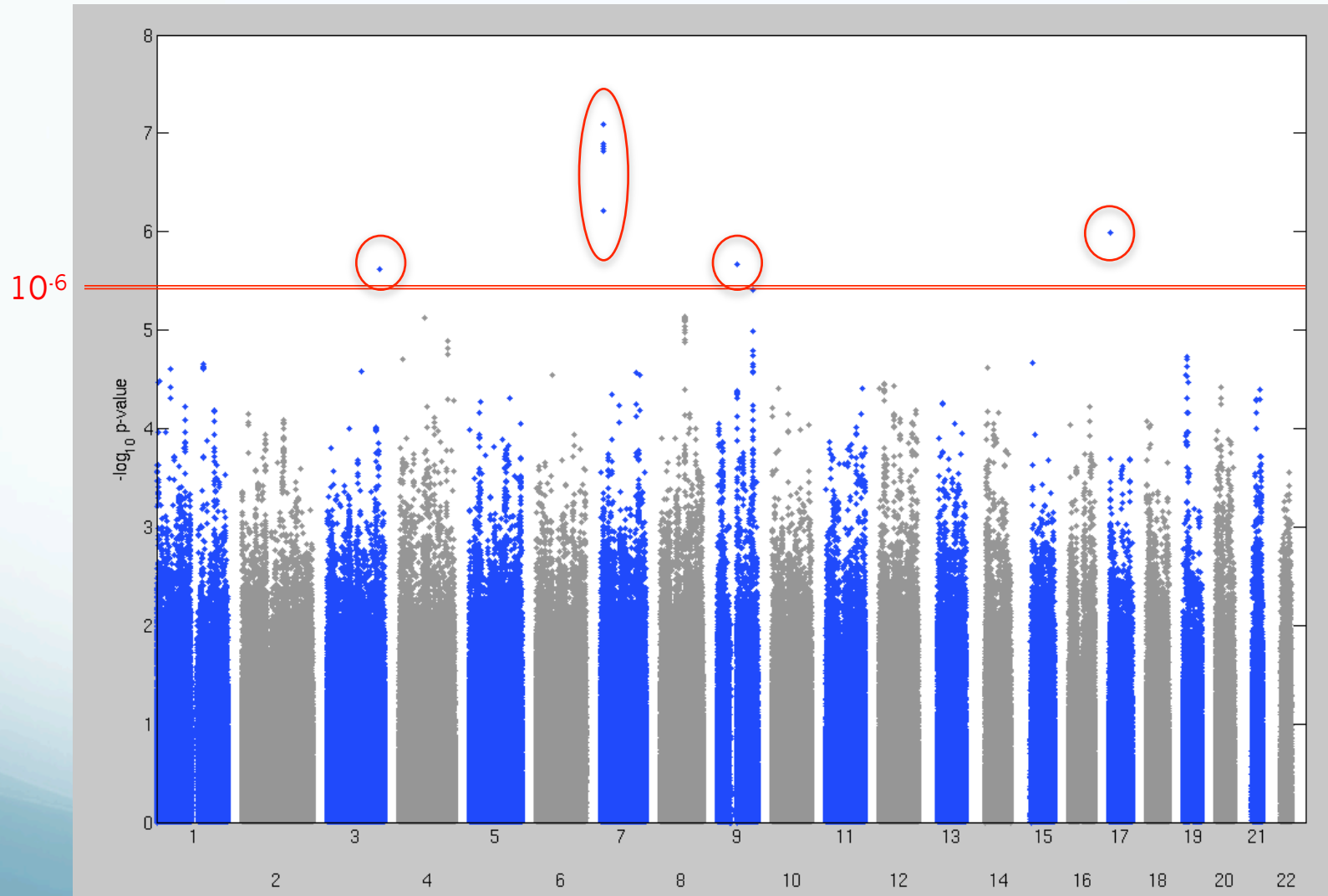
RS 1570669

- Impliqué dans les troubles calcémiques
  - ➡ Calcémie = Taux plasmatique de calcium
- Changement G ➡ A
- Localisé dans l'intron du gène codant pour le cytochrome P450
  - ➡ Exprimé au niveau du foie, aide à l'excrétion des substances dans les urines, en les rendant plus polaires

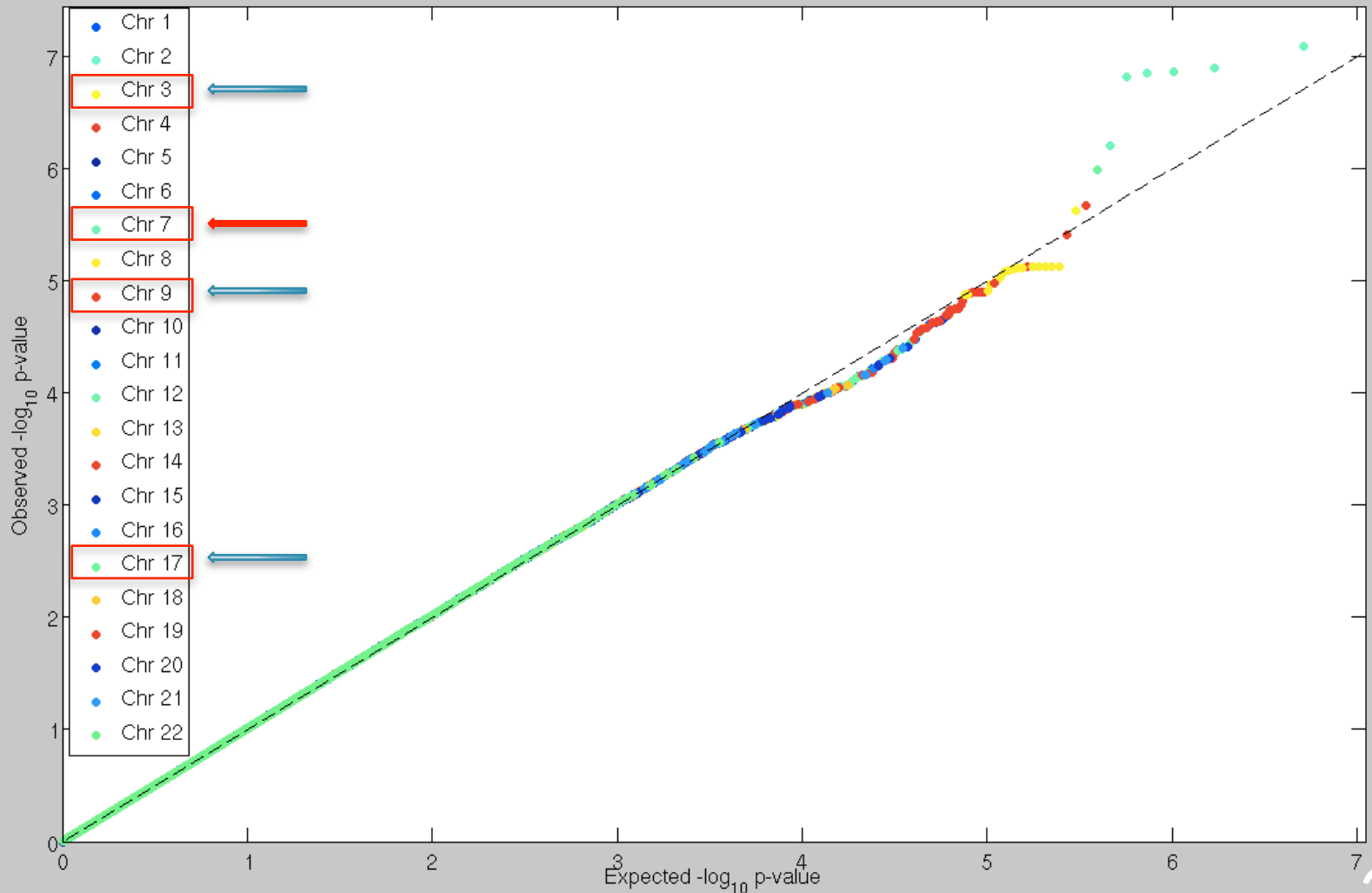
# Déroulement du projet



# Ratio Calcium/créatinine Manhattan plot



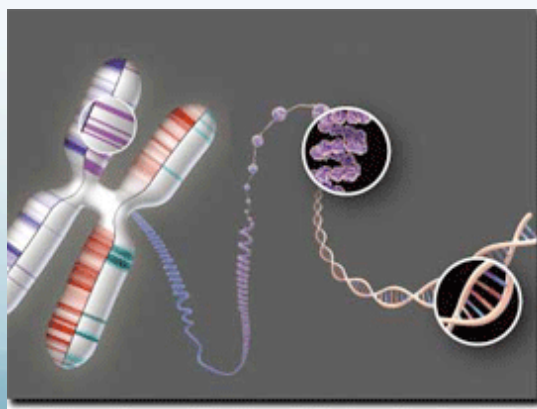
# Ration calcium/créatinine QQ Plot



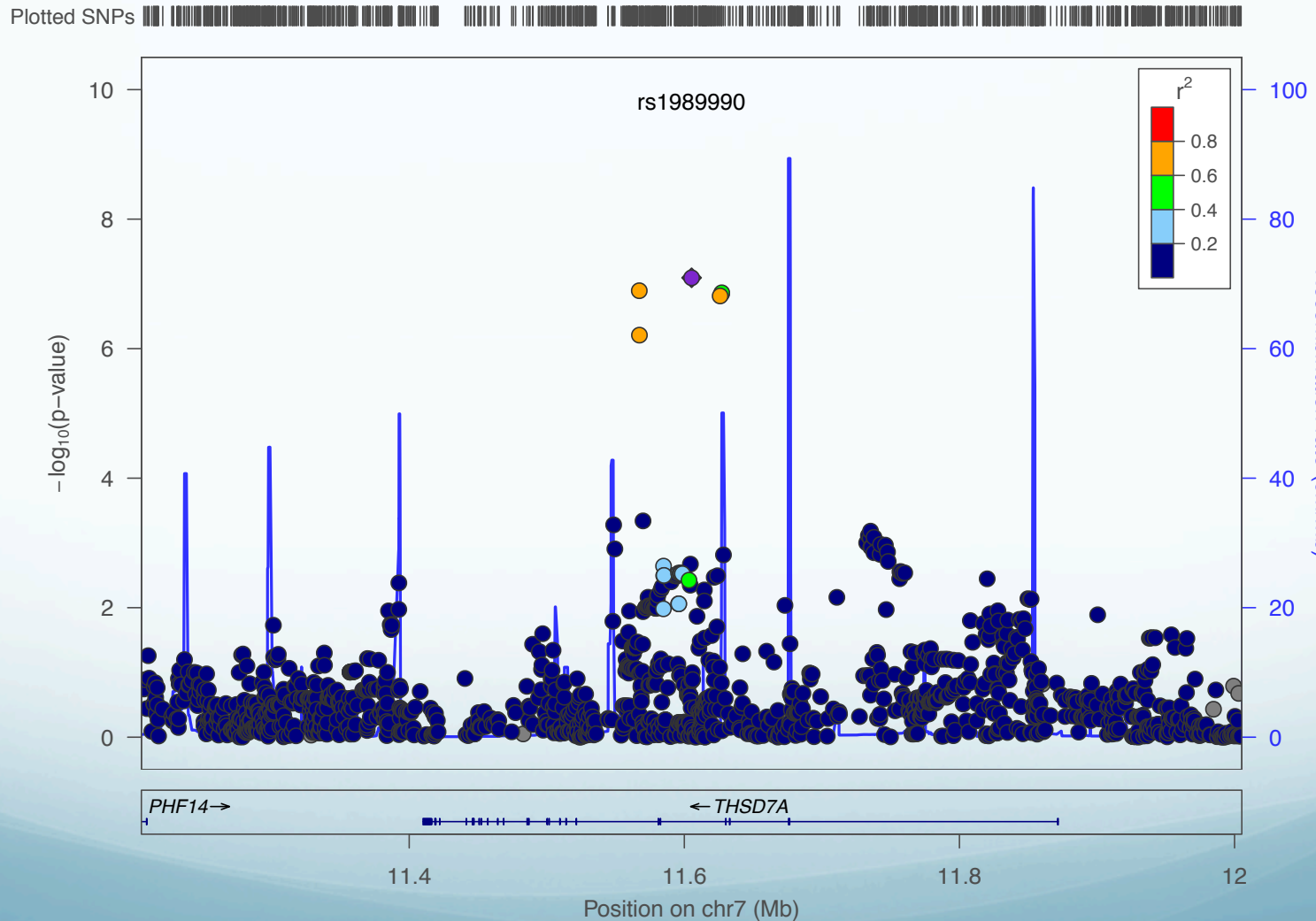
# SNP significatives

Colonne1	name	chromosome	position	strand	allele1	allele2	build	effallele	effallelefreq
1120984	rs10240390	7	11340515	+	G	A	36	G	0.0156
1120987	rs17164717	7	11340610	+	G	A	36	G	0.0164
1121128	<b>rs1989990</b>	7	11378538	+	C	A	36	C	0.0145
1121197	rs17164840	7	11399288	+	C	G	36	C	0.0166
1121199	rs17164850	7	11400356	+	G	A	36	G	0.0162
1121200	rs10486150	7	11400463	+	G	A	36	G	0.016

n	beta	sebeta	Rsq	Imputation_type	call	pHWE	pvalue
4710	-0.427	0.0808	0.9851	0	0	0.805	1.27E-07
4710	-0.3917	0.0786	0.9998	1	0.9972	0.7191	6.18E-07
4710	-0.442	0.0824	1	1	0.9938	0.0691	<b>8.04E-08</b>
4710	-0.4829	0.092	0.7212	0	0	0.8806	1.53E-07
4710	-0.5009	0.0952	0.6876	0	0	0.9218	1.42E-07
4710	-0.5167	0.0981	0.6583	0	0	0.9605	1.37E-07

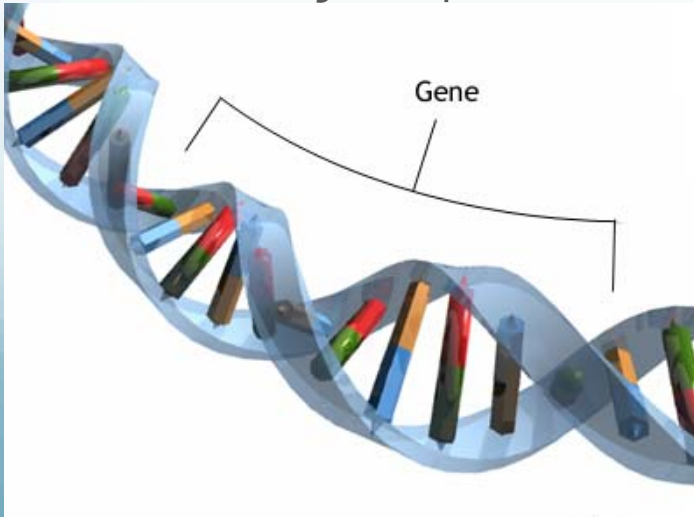


# Zoom sur chromosome 7

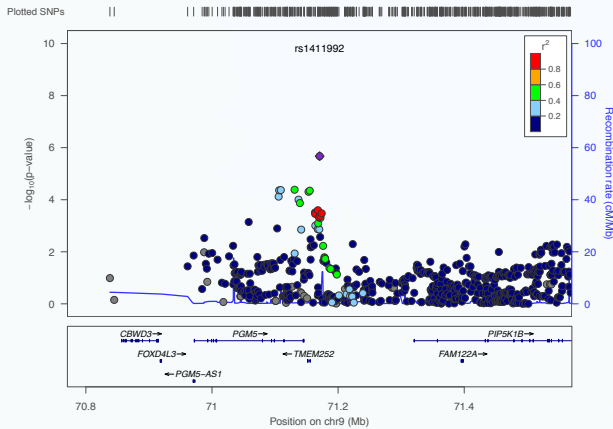


# Chromosome 7

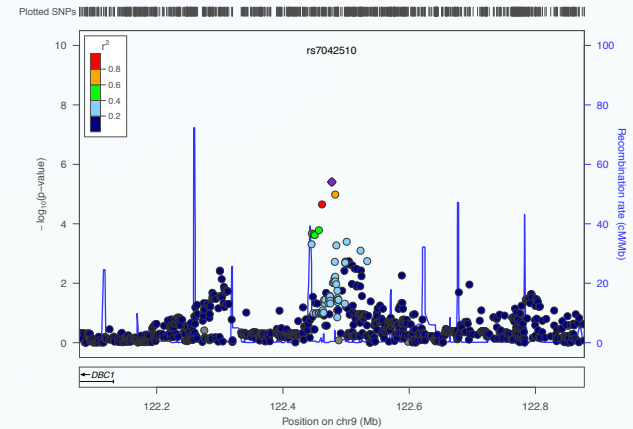
- Un gène : *THSD7A*
  - Variation du gène associée à la faible densité minérale osseuse en cas d'ostéoporose
  - Code pour une protéine associée à l'organisation du cytosquelette



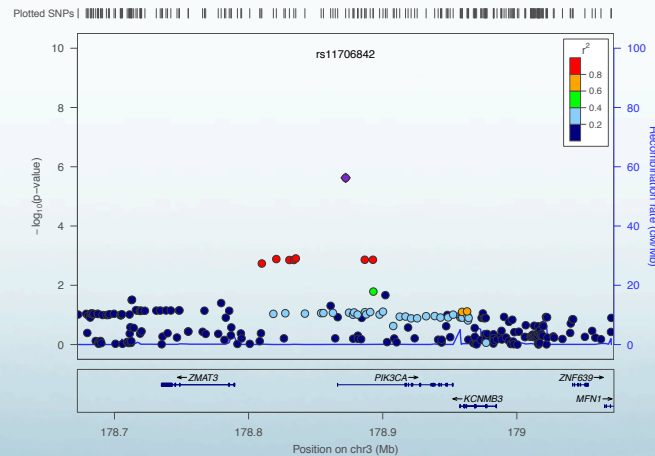
# Zoom sur les autres loci



→ Gènes : *TMEM252*, *PGM5*



→ Aucun gène



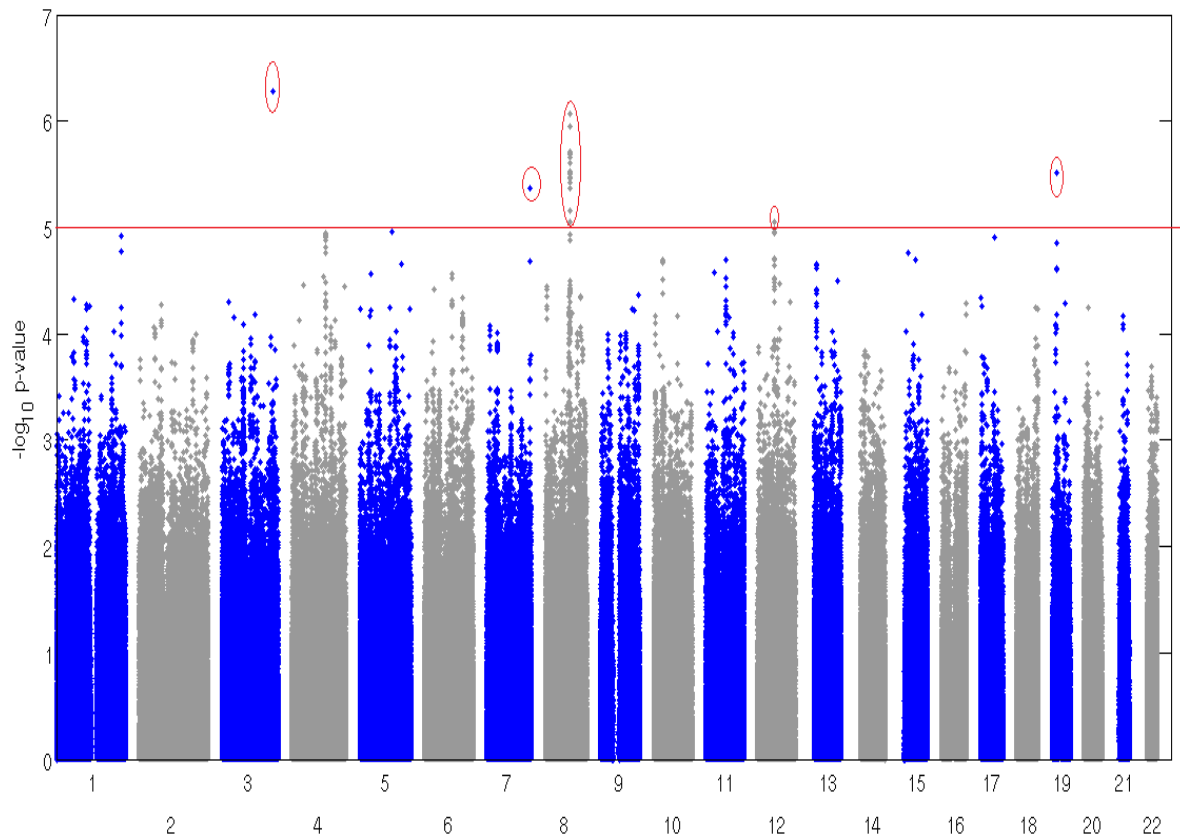
→ Chr. 3 : voir ratio Ca/K



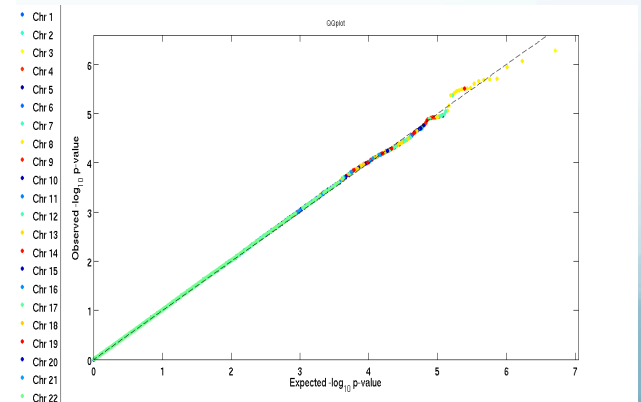
# Chromosome 9 A

- Gene : TMEM252
- Protéine transmembranaire
- Gene : PGM5
- Phosphoglucomutases (EC 5.2.2.2.), such as PGM5, are phosphotransferases involved in interconversion of glucose-1-phosphate and glucose-6-phosphate. PGM activity is essential in formation of carbohydrates from glucose-6-phosphate and in formation of glucose-6-phosphate from galactose and glycogen

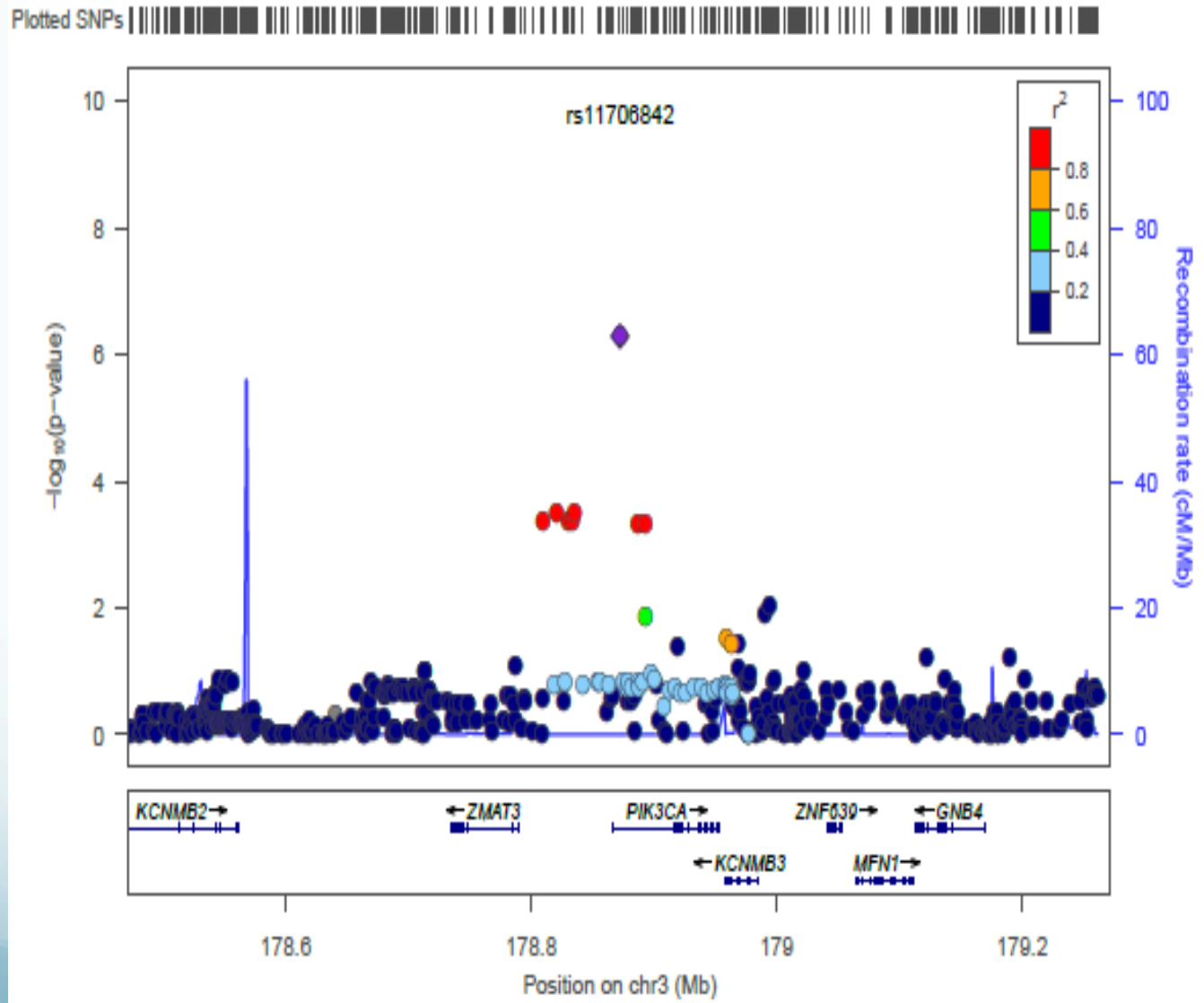
# Ratio calcium/ Potassium



- Seuil :  $10^{-5}$
- Chromosomes avec SNP significative: 3/7/8/12/19



# Chromosome 3

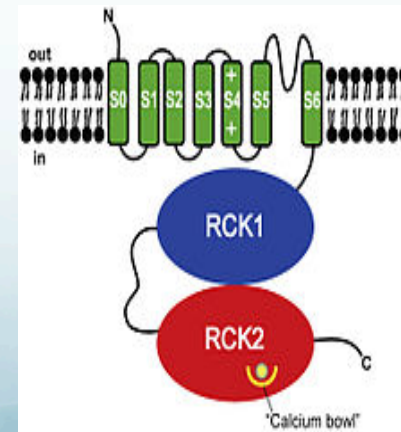


# Gènes retenus

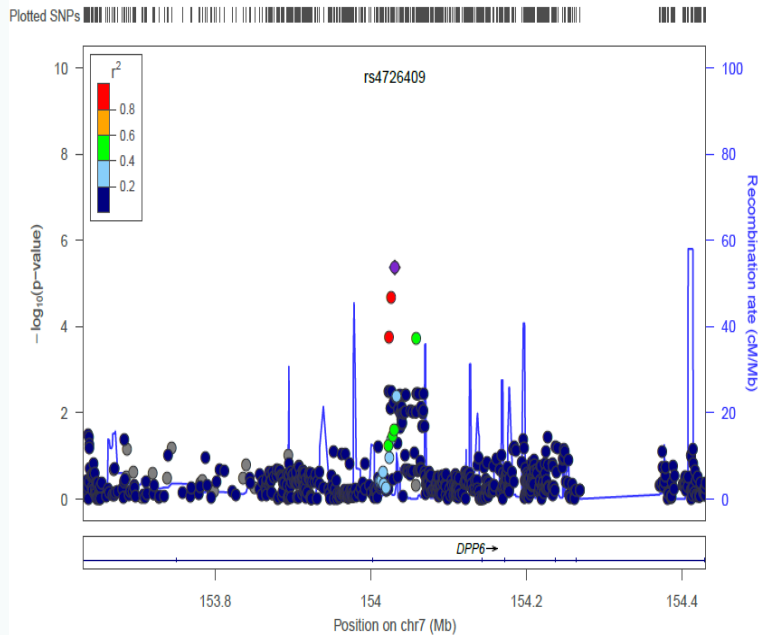
- PIK3CA: phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate 3-kinase. Prolifération cellulaire  
→ PAS bon candidat
- ZMAT3: rôle dans la voie de régulation de la croissance  
→ PAS bon candidat
- **KCNMB3**: code pour un canal potassique sensible au calcium (Bk channel)  
→ BON candidat

# KCNMB3

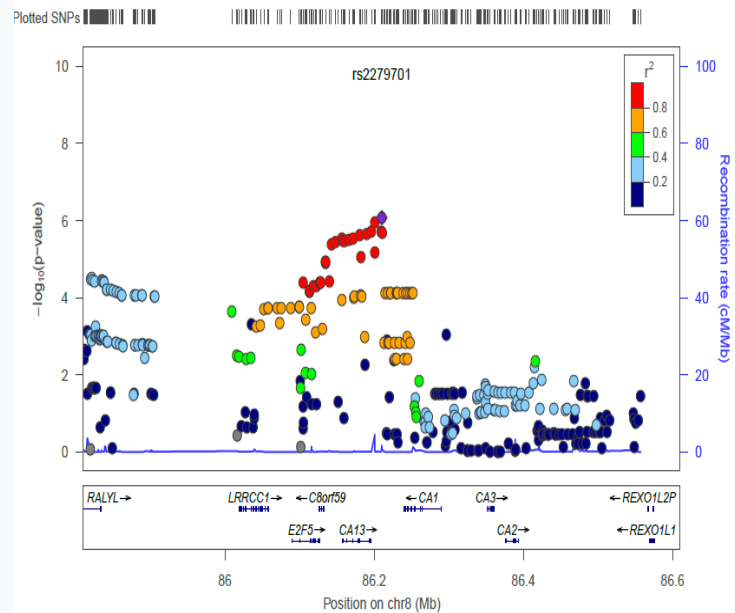
- Signal trouvé pour le ratio calcium/ créatinine **MAIS** plus fort pour le ratio calcium / potassium ( $p=4.2349e-06$  contre  $p=2.37e-6$ )
- Code pour un canal potassique voltage dépendant sensible au calcium
- Important pour le contrôle du tonus des muscles lisses.



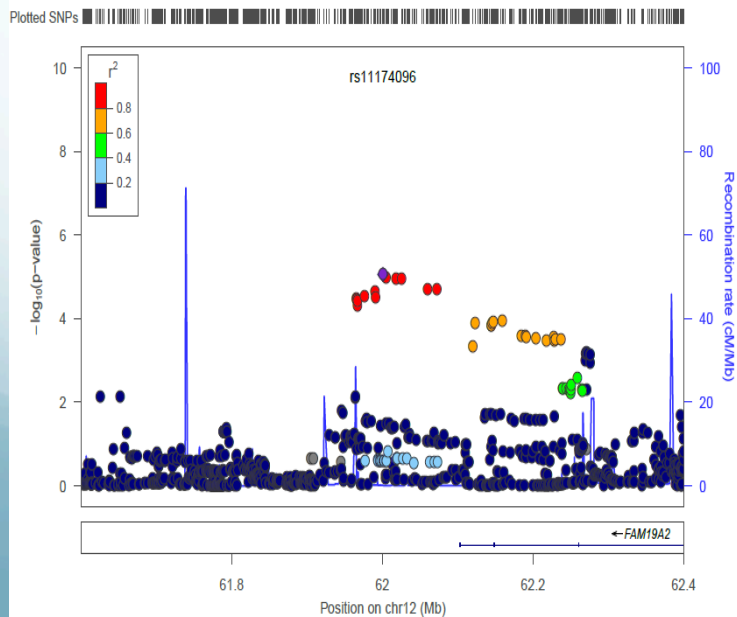
## Chromosome 7



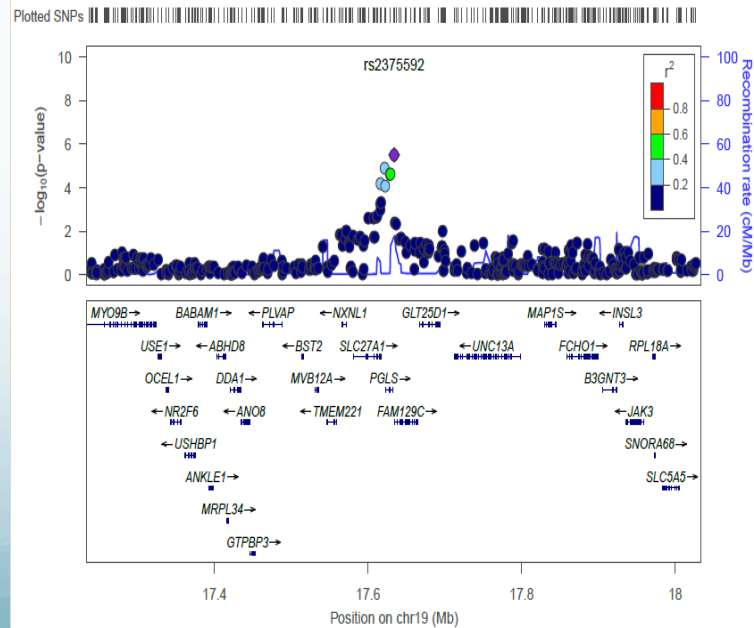
## Chromosome 8



## Chromosome 12

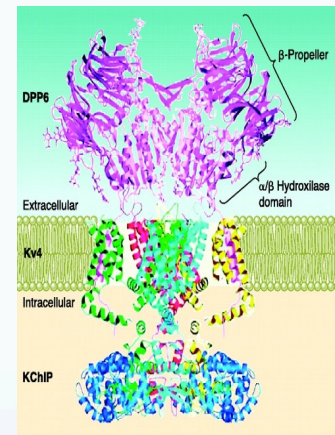


## Chromosome 19

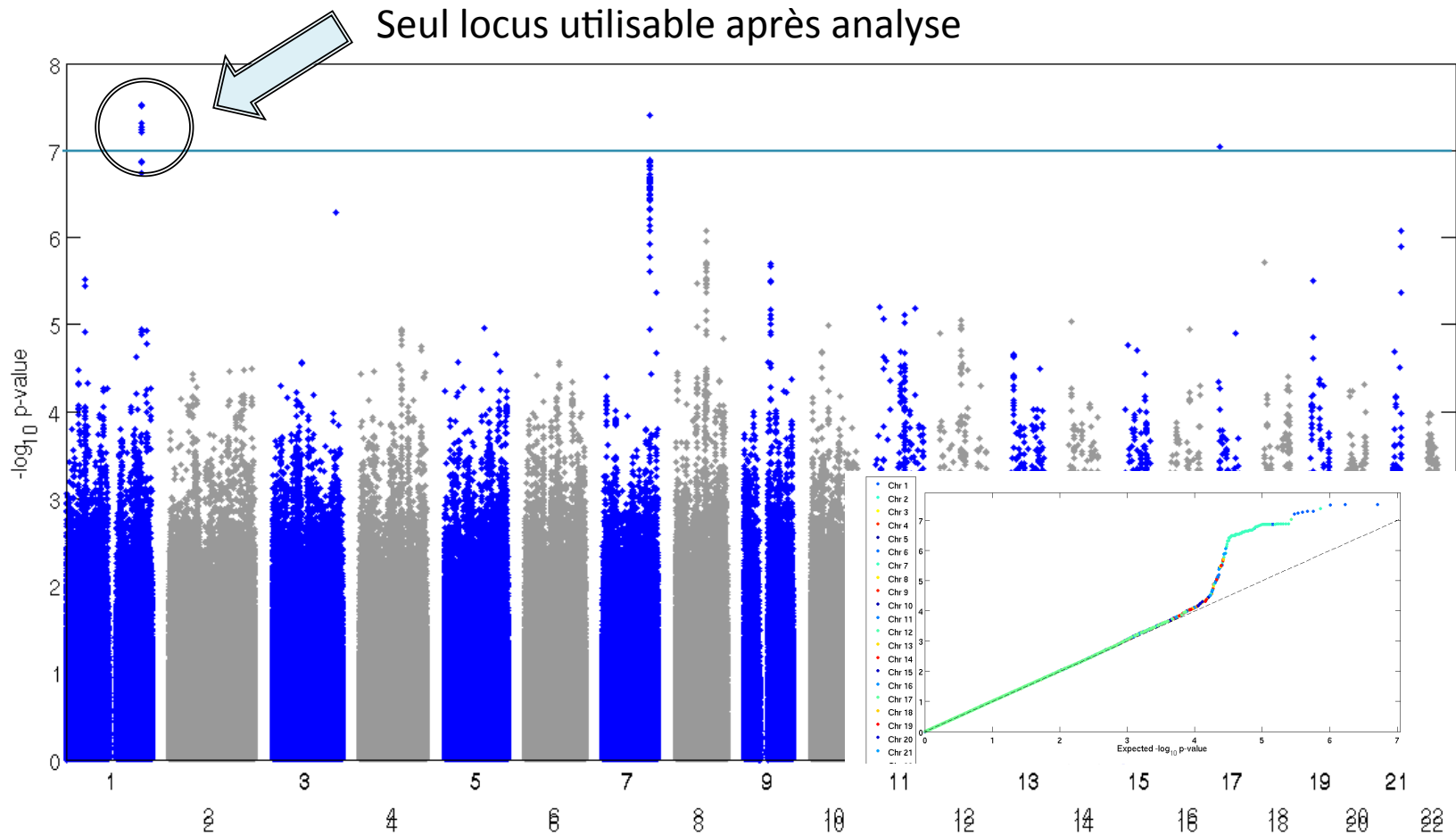


# Gènes sur les chromosomes

- Chromosome 7:
  - DPP6: protéine membranaire de type II. Peut se lier à des canaux potassiques voltage-dépendant  
→ Dû seulement au potassium ?
- Chromosome 8:
  - Zone mal génotypée. Région avec répétitions
- Chromosome 12 et 19:
  - FAM19A2 et FAM129C: famille de gène TAFA avec 5 gènes homologues

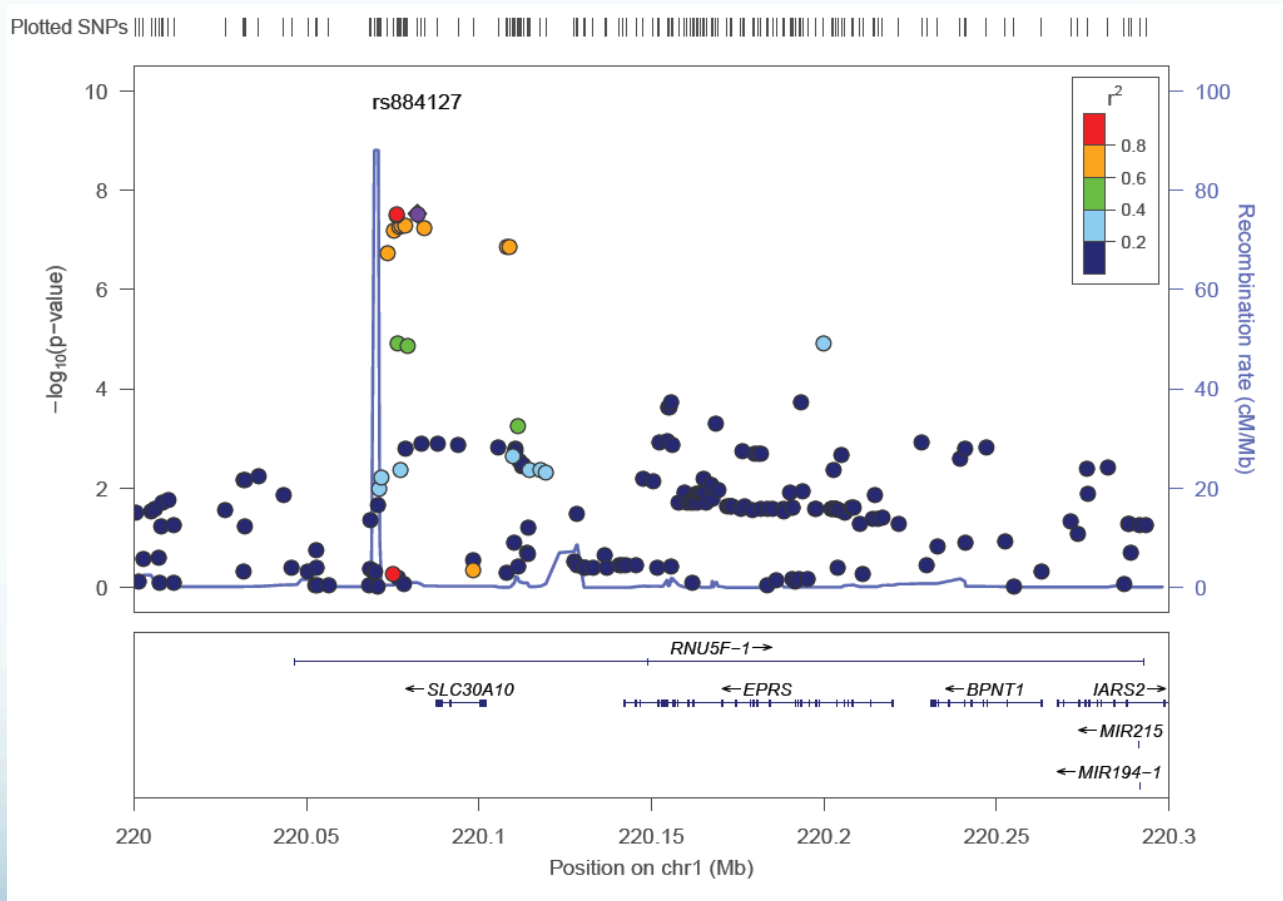


# Manhattan plot du Mg





# Locus zoom



# Gènes candidats

- RNUF5-1, EPRS, BPNT1 ne sont pas des bons candidats
- SLC30A10: joue un rôle dans la régulation du manganèse



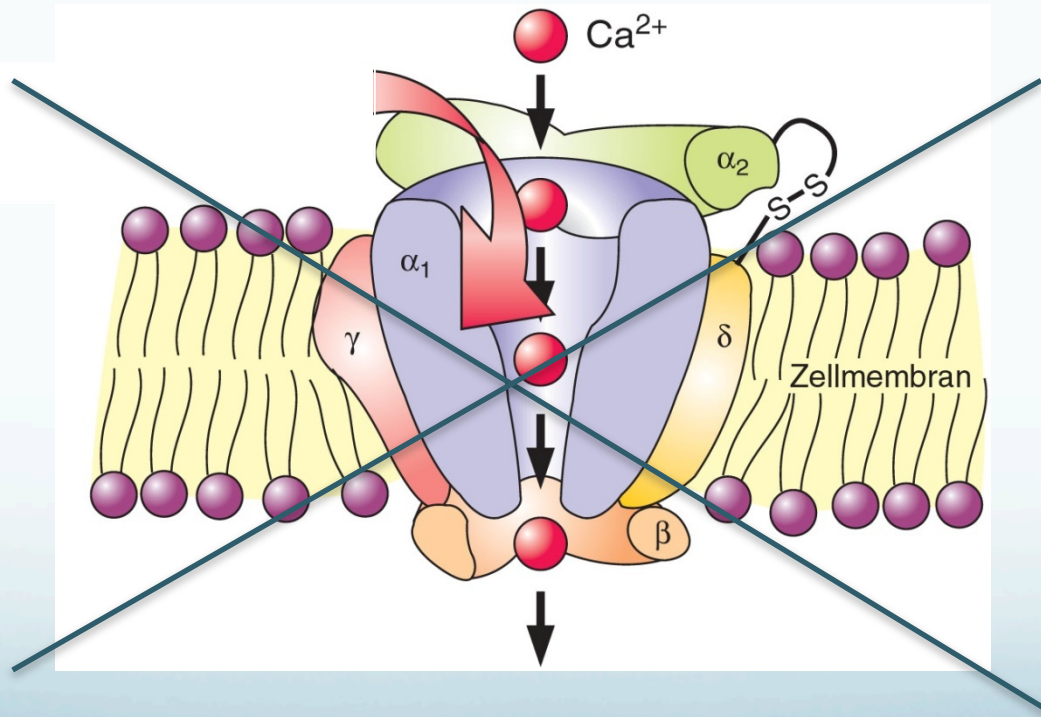
Manganèse



Calcium/Magnésium

# Rôle du manganèse

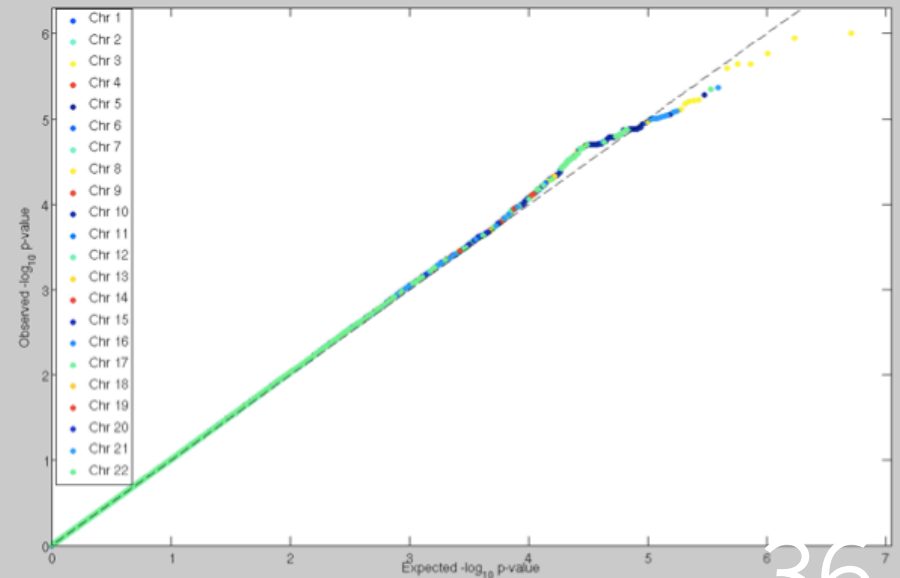
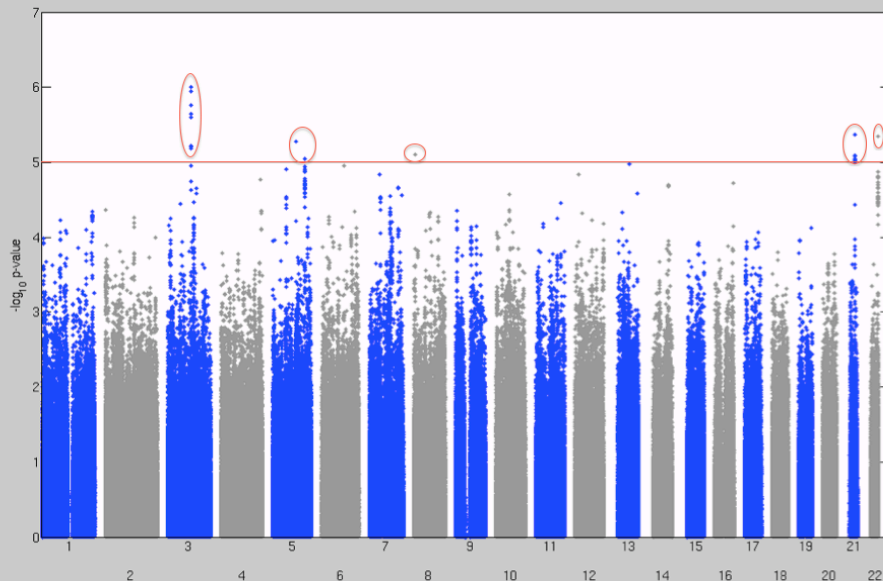
- Une étude sur les lapins a démontré que le manganèse joue un rôle dans la réabsorption calcique dans les reins



# Ratio Calcium / Sodium

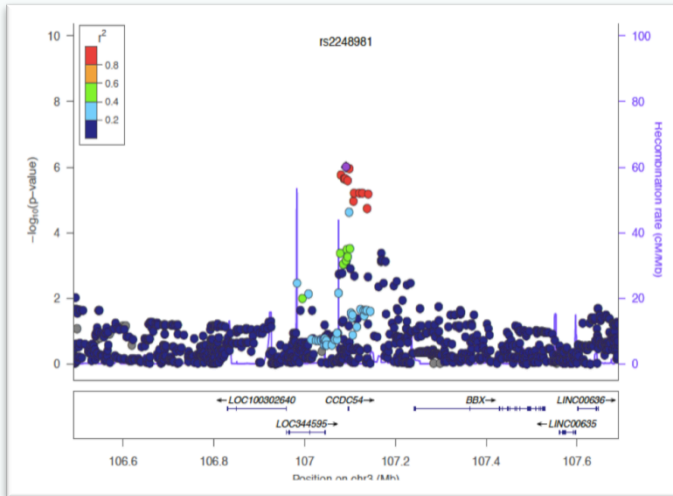
- Seuil :  $10^{-5}$
- Chromosomes avec SNPs significatives :

3/5/**8**/21/22

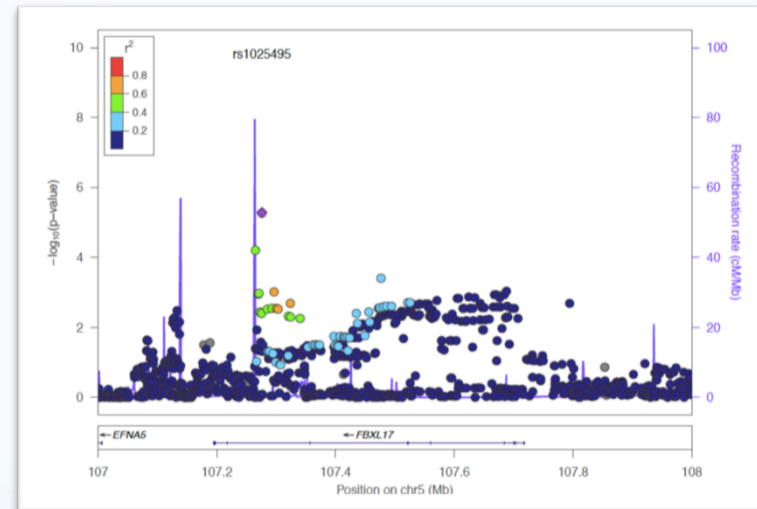


# LocusZoom (LZ)

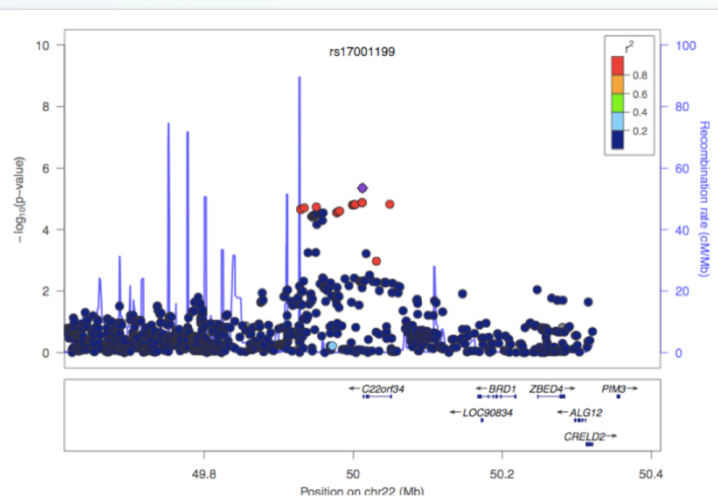
→ Chromosome 3, Gène CCDC54:  
*Coiled-coil domain containing 54*



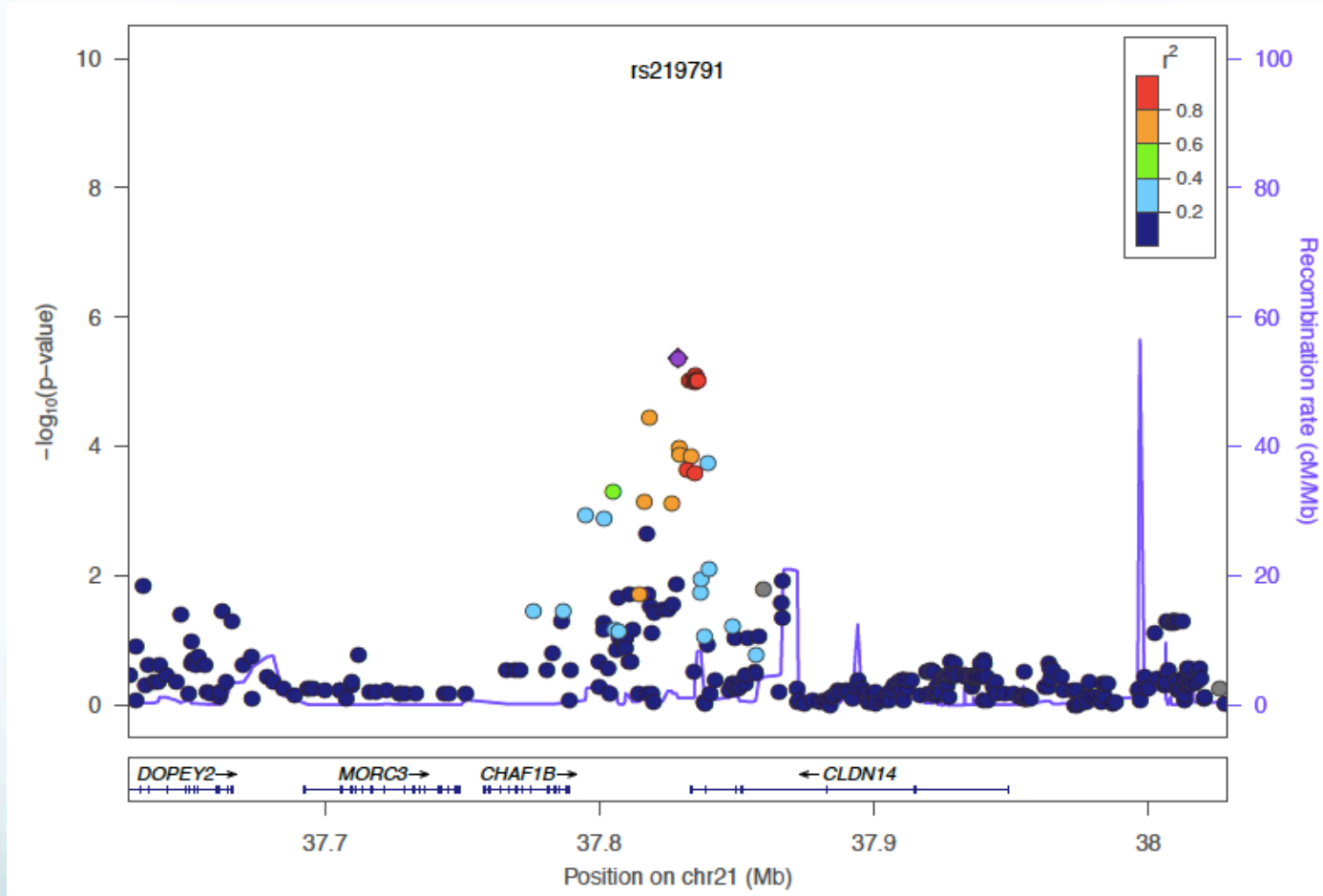
Chromosome 5, Gène FBXL ←  
*Protein-ubiquitin ligase*



→ Chromosome 22, Gène C22orf34:  
*ORF*

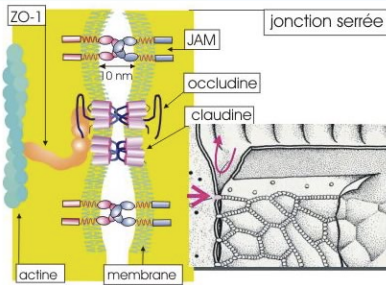


# LZ chromosome 21



**CLDN 14** : Claudine 14

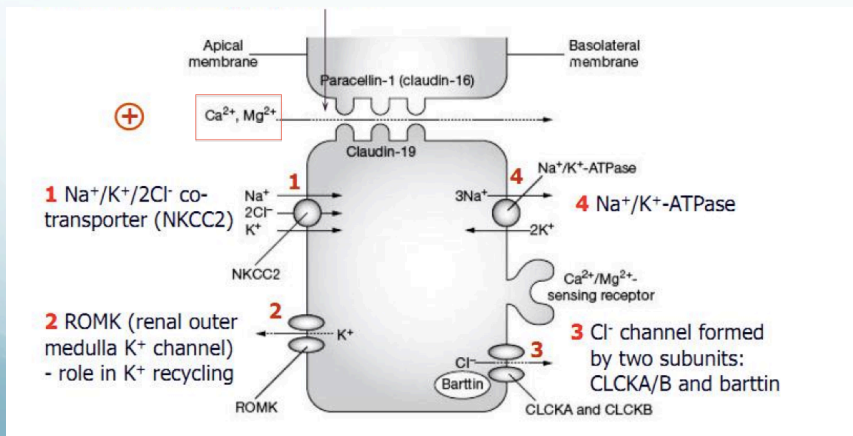
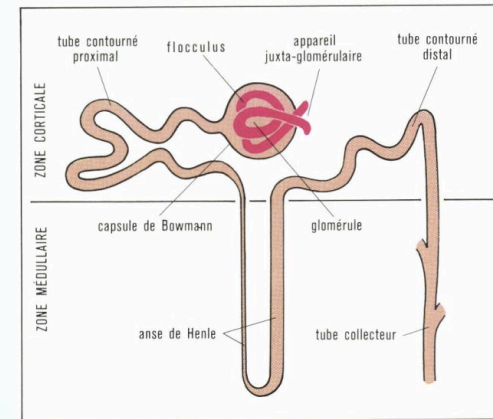
# Famille de protéine claudine



- Protéines des jonctions serrés

- Jonctions serrés

→ Anse de Henle du néphron



- Responsable de la réabsorption du  $\text{Ca}^{2+}$

# Etudes antérieures

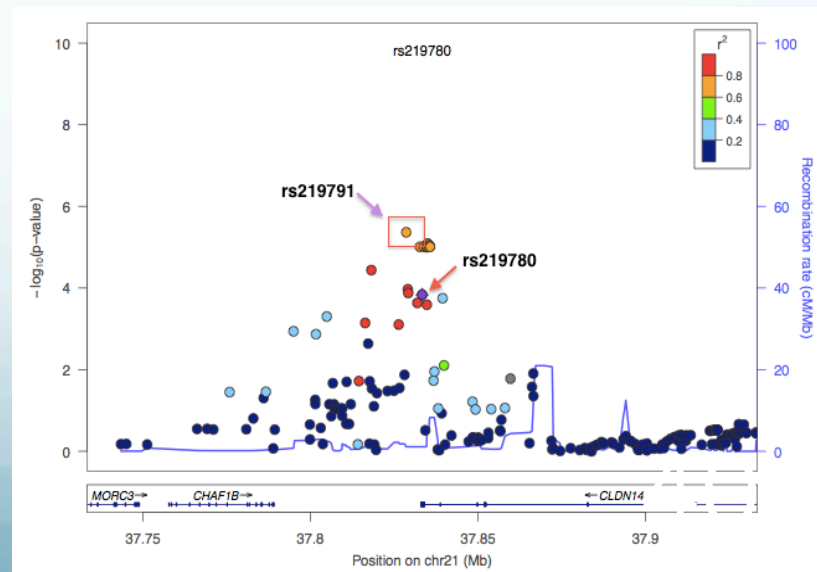
- SNP rs219780



## Sequence variants in the *CLDN14* gene associate with kidney stones and bone mineral density

Gudmar Thorleifsson<sup>1,14</sup>, Hilma Holm<sup>1,2,14</sup>, Vidar Edvardsson<sup>3</sup>, G Bragi Walters<sup>1</sup>, Unnur Styrkarsdottir<sup>1</sup>, Daniel F Gudbjartsson<sup>1</sup>, Patrick Sulem<sup>1</sup>, Bjarni V Halldorsson<sup>1,4</sup>, Femmie de Vegt<sup>5</sup>, Frank C H d'Ancona<sup>6</sup>, Martin den Heijer<sup>5,7</sup>, Leifur Franzson<sup>8</sup>, Claus Christiansen<sup>9</sup>, Peter Alexandersen<sup>10</sup>, Thorunn Rafnar<sup>1</sup>, Kristleifur Kristjansson<sup>1</sup>, Gunnar Sigurdsson<sup>11</sup>, Lambertus A Kiemeny<sup>5,6</sup>, Magnus Bodvarsson<sup>12</sup>, Olafur S Indridason<sup>12</sup>, Runolfur Palsson<sup>12</sup>, Augustine Kong<sup>1</sup>, Unnur Thorsteinsdottir<sup>1,13</sup> & Kari Stefansson<sup>1,13</sup>

- Relation entre les deux SNPs





# Conclusion du projet

- Pour la suite :
  - Réplicats
  - Etudes fonctionnelles
- Choix du seuil de significativité suggestif
- Chanceux quand aux résultats obtenus

# Feedback

- Sujet de recherche intéressant
- Acquisition de nouvelles connaissances
- Bon suivi du projet
- Etude de cas concrets

