

DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par :

Houari Oumhanni

Balahouane Manar Sarah

Boubekeur Samira

Pour l'obtention du diplôme de :

MASTER EN SCIENCES BIOLOGIQUES

**Spécialité : Génétique fondamentale et
appliquée**

THEME

***Prédiction *in silico* de l'impact des Variant de Signification
Incertaine du gène KSR2 sur la survenue de l'Obésité
Monogénique***

Soutenu le : 15 Juin 2026

DEVANT LE JURY COMPOSÉ DE :

Présidente	M ^{me} Brahami Nabila	M. C. A	Univ. Mostaganem
Encadrante	M ^{me} Dahmani Chahinez Amira	M. C. A	Univ. Mostaganem
Examineur	Mr Mansouri Toufik	M. A. A	Univ. Mostaganem

Année universitaire : 2025/2026



Remerciements

*Nous tenons tout d'abord à remercier **Allah**, le Tout-Puissant et le Très Miséricordieux, qui nous a donné la force et la patience d'accomplir ce modeste travail.*

Avant de commencer la présentation de ce travail, nous profitons de cette occasion pour remercier toutes les personnes qui ont contribué, de près ou de loin, à la réalisation de ce projet de fin d'études.

*Nos vifs remerciements vont également aux **membres du jury** pour l'intérêt qu'ils ont porté à ce travail en acceptant d'examiner ce mémoire et de l'enrichir par leurs remarques et suggestions.*

*Nous tenons à exprimer notre reconnaissance toute particulière à notre **encadrante, Madame Dahmani Chahinez Amira**, pour nous avoir confié ce travail riche d'intérêt et pour nous avoir guidés à chaque étape de sa réalisation. Malgré ses nombreuses obligations professionnelles, elle nous a toujours réservé un excellent accueil. Ses encouragements constants, sa confiance, sa patience et sa bienveillance méritent toute notre admiration. Ses conseils avisés, son soutien indéfectible et sa disponibilité resteront gravés dans notre mémoire. Aucune expression de gratitude ne sera suffisante pour vous exprimer notre respect et notre reconnaissance.*

*Nous remercions également **Madame Brahami Nabila** pour l'honneur qu'elle nous a fait en acceptant de **présider** ce travail et de siéger au sein de cet honorable jury. Nous lui exprimons notre respect et notre gratitude les plus sincères.*

*Nos remerciements les plus respectueux vont à **Monsieur Mansouri Toufik**, qui a bien voulu nous faire l'honneur d'**examiner** ce travail. Veuillez trouver ici, Monsieur, l'expression de notre reconnaissance et de notre profond respect.*

*Nous tenons à exprimer nos sincères remerciements à **tous les professeurs** qui nous ont enseigné, à nos **très chers parents**, nos **frères et sœurs**, ainsi que nos **collègues et amis**.*

À toutes et à tous, un grand merci !



Dédicace

Grâce à Dieu, dont la bonté permet d'accomplir toute réussite et qui transforme chaque effort en accomplissement.

Je dédie ce travail, fruit de mon parcours, à ceux qui ont été la lumière de mon chemin et mon soutien à chaque étape.

À mon cher père, Boubekour Slímane,

qui m'a appris que la volonté dépasse tous les obstacles et que la persévérance mène toujours au succès.

À ma chère mère, Betahrata Maghniya,

dont les prières m'ont accompagnée à chaque instant, et dont l'amour a été ma force et mon refuge.

À mes frères et sœurs,

qui ont toujours été présents à mes côtés, partageant avec moi aussi bien les moments difficiles que les joies.

À mes chères amies : Houari Oum Haní, Belahouane Manar Sarah et Kaíd Ameer Farah,

vous êtes bien plus que des amies, vous êtes ces belles âmes qui ont illuminé mon parcours.

À celui qui a été mon véritable soutien dans les moments les plus difficiles, Si Ali Hamza,

merci d'avoir été ma force dans mes faiblesses et ma lumière dans l'obscurité.

Le chemin n'a pas été facile, mais il en valait la peine.

Ce succès n'est que le début d'un rêve encore plus grand.

Les efforts d'hier sont la fierté d'aujourd'hui, et les larmes d'hier sont devenues la joie d'aujourd'hui.

Celui qui persévère atteint son but, et celui qui croit en ses rêves finit par les réaliser.

À tous ceux qui ont cru en moi,

ne serait-ce qu'un instant, ce succès porte une part de vous et restera pour moi un souvenir précieux et éternel.



Dédicace

À moi-même,

Malgré la fatigue, les doutes et les moments difficiles, tu n'as jamais abandonné. Tu as continué à avancer, à te relever et à croire en toi, même quand tout semblait incertain.

Je suis fière de toi, de ta force, de ta patience et de ta persévérance.

Aujourd'hui, ce succès est le fruit de ton courage... alors sois fière de toi.

À mon cher Papa Balahouane Nourreddine

Je t'appelle toujours mon super héros, et tu le resteras toujours

Tu m'as appris à ne jamais abandonner, à croire en moi et à avancer malgré toutes les difficultés. Merci pour ton soutien matériel constant, ta patience et tout ce que tu as fait pour moi.

À ma chère Maman Zouzou

Ma source de tendresse et de force. Tu as toujours été présente dans les moments les plus difficiles comme dans les plus heureux. Merci pour ton amour inconditionnel, Si je suis arrivée jusqu'ici aujourd'hui, c'est grâce à toi.

À ma sœur Précieuse Nawel,

Tu es très loin, mais tu me soutiens toujours, autant matériellement que moralement. t'es Ma confidente et mon soutien au quotidien Merci pour ta présence

A mon petit prince Samy et la princesse Nessrine,

puisse Allah vous protéger

À mes Frères, Abderrahmene, Younes et Ahmed,

vous êtes ma force et ma fierté.

*À mes très chères amies Fatima Zohra, Hanaa, Farah, Aïcha,
Bouchra et Samira,*

Qui m'ont toujours soutenue et encouragée durant
toutes ces années universitaires.

Merci pour votre présence, votre sincérité et tous
les moments de joie que nous avons partagés
ensemble.



Dédicace

Avant tout, je rends grâce à Allah, le Tout-Puissant,
De m'avoir donné la force, la patience et le courage nécessaires pour mener à bien ce travail.

Je me dédie ce travail...

Pour chaque nuit de fatigue, chaque moment de doute surmonté, chaque effort fourni en silence. Ce travail est la preuve que la persévérance et la foi en soi permettent d'atteindre ses rêves.

Je suis fière du chemin parcouru et de la force que j'ai trouvée en moi.

Je dédie également ce modeste travail, fruit de longues années de sacrifices, de persévérance et d'espoir,

À mon très cher père, Houari Hamou,

Pour tous les sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma réussite. Merci pour ta confiance, ton soutien et tes précieux conseils.

À ma très chère mère, Mekki Hakima,

Source inépuisable d'amour, de tendresse et de sacrifice. Merci pour tes prières, ton soutien constant et ta présence à chaque étape de ma vie. Que Allah te protège et te garde pour nous.

À mes chers frères et à ma chère sœur, Abdellah, Walid, Wassim et Soundous,

Pour leur amour, leur soutien et leurs encouragements.

À ma très chère tante, Loula,

Pour ton soutien précieux et ton amour inconditionnel. Tu as toujours été d'un grand réconfort pour moi, et j'espère de tout cœur que Allah te récompensera et t'accordera tout le bien que tu mérites.

À ma chère grand-mère,

Pour tes prières sincères qui m'ont accompagnée tout au long de ce parcours. Tu as toujours été une source de bénédiction et de force dans ma vie. Que Allah te protège, te garde en bonne santé et te prolonge la vie.

À mes chères binômes, Manar et Samira,

Avec qui j'ai partagé bien plus qu'un travail : des efforts, des doutes, des moments de stress, mais aussi de joie et de réussite. Merci pour votre patience, votre solidarité et cette belle expérience.

À mes chers amis, Khadidja, Hanaa, Amina, Farah, Hamza et Yacine,

Merci d'avoir été présents dans les moments difficiles comme dans les moments de joie. Votre soutien, votre énergie et votre sincérité ont été une véritable source de motivation.

À toutes les personnes qui ont cru en moi,

Qui m'ont encouragée, soutenue et poussée à ne jamais abandonner.



Résumé

L'obésité monogénique représente une forme rare d'obésité, causée par des mutations affectant un seul gène impliqué dans la régulation de l'appétit, du métabolisme énergétique et de l'équilibre énergétique de l'organisme. Elle se manifeste généralement par une obésité sévère d'apparition précoce et constitue un modèle pertinent pour comprendre les mécanismes moléculaires impliqués dans l'obésité en générale.

Parmi les gènes impliqués, le *KSR2* joue un rôle clé dans la régulation du métabolisme énergétique et de l'homéostasie cellulaire, et ses altérations peuvent contribuer au développement de l'obésité monogénique. Dans ce contexte, cette étude s'est intéressée à l'analyse des effets délétères de mutations faux-sens classées comme Variants à Signification Incertaine (VUS) dans ce gène.

À partir de 873 variants faux sens recensés dans le gène *KSR2* sur GnomAD, nous avons procédé à un processus de plusieurs filtres basés sur des critères différents. Pour une étude *in silico* approfondie, les effets des mutations ont été évalués ensuite à l'aide de plusieurs outils bio-informatiques, notamment SIFT, PolyPhen-2, REVEL, CADD, DynaMut2 et Project HOPE.

Les filtres utilisés ont permis de sélectionner 21 variants du gène *KSR2*. Les analyses prédictives ont montré que la majorité des variants étudiés présentent un caractère délétère dont 96,4 % prédits comme délétères par SIFT et 82,1 % comme probablement délétères par PolyPhen-2. Par ailleurs, l'étude des paramètres structuraux a révélé des altérations de la stabilité et de la dynamique protéique, ainsi que des modifications des propriétés physico-chimiques des acides aminés, susceptibles de perturber les interactions intra-protéiques et le fonctionnement de la protéine *KSR2*. La cohérence des résultats obtenus à partir des différents outils utilisés renforce la fiabilité des approches *in silico* et souligne l'intérêt de combiner plusieurs méthodes pour améliorer la précision des prédictions.

En conclusion, cette étude contribue à une meilleure compréhension de l'impact des mutations du gène *KSR2* et met en évidence l'importance de la bio-informatique dans l'interprétation des variants génétiques. Elle ouvre également des perspectives pour l'amélioration du diagnostic et le développement de stratégies thérapeutiques personnalisées dans le cadre de la médecine de précision.

Mots clés : Obésité monogénique, *KSR2*, mutations faux-sens, mutations VUS, *in silico*.

Abstract

Monogenic obesity represents a rare form of obesity caused by mutations affecting a single gene involved in the regulation of appetite, energy metabolism, and overall energy balance. It is generally characterized by severe, early-onset obesity and constitutes a relevant model for understanding the molecular mechanisms underlying obesity in general.

Among the genes involved, *KSR2* plays a key role in the regulation of energy metabolism and cellular homeostasis, and its alterations may contribute to the development of monogenic obesity. In this context, the present study focused on analyzing the deleterious effects of missense mutations classified as Variants of Uncertain Significance (VUS) in this gene.

From a total of 873 missense variants identified in the *KSR2* gene in the GnomAD database, a multi-step filtering process based on different criteria was applied. Subsequently, the effects of the selected mutations were evaluated through an *in-silico* approach using several bioinformatics tools, including SIFT, PolyPhen-2, REVEL, CADD, DynaMut2, and Project HOPE.

The filtering process led to the selection of 21 variants of the *KSR2* gene. Predictive analyses showed that the majority of the studied variants exhibit a deleterious profile, with 96.4% predicted as deleterious by SIFT and 82.1% as probably deleterious by PolyPhen-2. Furthermore, structural analysis revealed alterations in protein stability and dynamics, as well as changes in the physicochemical properties of amino acids, which may disrupt intra-protein interactions and impair the function of the *KSR2* protein.

The consistency of the results obtained from the different tools strengthens the reliability of *in silico* approaches and highlights the importance of combining multiple methods to improve prediction accuracy.

In conclusion, this study contributes to a better understanding of the impact of *KSR2* gene mutations and emphasizes the importance of bioinformatics in the interpretation of genetic variants. It also provides perspectives for improving diagnosis and developing personalized therapeutic strategies within the framework of precision medicine.

Keywords: Monogenic obesity, *KSR2*, missense mutations, VUS, *in silico*.

الملخص

تُعد السمعة أحادية الجين شكلاً نادراً من أشكال السمعة، وتنتج عن طفرات تؤثر على جين واحد يشارك في تنظيم الشهية والتمثيل الغذائي للطاقة والتوازن الطاقي في الجسم. وتظهر عادةً في شكل سمعة شديدة تظهر في مرحلة مبكرة، وتشكل نموذجاً مناسباً لفهم الآليات الجزيئية المرتبطة بهذه الحالة المرضية.

يلعب جين *KSR2* دوراً أساسياً في تنظيم استقلاب الطاقة والتوازن الخلوي، ويمكن أن تسهم التغيرات التي تصيبه في تطور السمعة أحادية الجين. في هذا السياق، هدفت هذه الدراسة إلى تحليل التأثيرات الضارة لطفرات مغلوطة (Missense) مصنفة كمتغيرات ذات دلالة غير مؤكدة (VUS) في هذا الجين.

انطلاقاً من 873 متغيراً تم تسجيلها في جين *KSR2* على GnomAD، قمنا بعملية تصفية متعددة تستند إلى معايير مختلفة. لإجراء دراسة حاسوبية متعمقة، تم تقييم آثار الطفرات بعد ذلك باستخدام عدة أدوات بيولوجية حاسوبية، بما في ذلك SIFT و PolyPhen-2 و REVEL و CADD و DynaMut2 و Project HOPE.

سمحت المرشحات المستخدمة باختيار 21 متغيراً من جين *KSR2*. أظهرت التحليلات التنبؤية أن غالبية المتغيرات المدروسة لها طابع ضار، حيث تنبأ SIFT بأن 96,4% منها ضارة، بينما تنبأ PolyPhen-2 بأن 82,1% منها ضارة على الأرجح. ما كشفت التحليلات البنيوية عن وجود تغيرات في استقرار البروتين وديناميكيته، بالإضافة إلى تعديلات في الخصائص الفيزيائية-الكيميائية للأحماض الأمينية، مما قد يؤدي إلى اضطراب التفاعلات داخل البروتين والتأثير على وظيفته.

إن توافق النتائج المتحصل عليها من مختلف الأدوات يعزز من موثوقية المقاربات الحاسوبية، ويبرز أهمية الجمع بين عدة طرق لتحسين دقة التنبؤات.

في الختام، تساهم هذه الدراسة في فهم أفضل لتأثير طفرات جين *KSR2* وتسلط الضوء على أهمية المعلوماتية الحيوية في تفسير المتغيرات الجينية. كما أنها تفتح آفاقاً جديدة لتحسين التشخيص وتطوير استراتيجيات علاجية مخصصة في مجال الطب الدقيق.

الكلمات المفتاحية: السمعة أحادية الجين، *KSR2*، طفرات مغلوطة، VUS، الدراسة المعلوماتية الحيوية (*in silico*).

Table des matières

Liste des figures.....	I
Liste des tableaux	II
Liste des abréviations.....	III
INTRODUCTION	1
REVUE BIBLIOGRAPHIQUE.....	5
I. Généralités sur <i>Kinase Suppressor Of Ras 2</i>	6
1. Description du gène <i>KSR2</i>	6
2. Les mutations du gène <i>KSR2</i>	6
3. La protéine <i>KSR2</i>	7
II. Généralités sur l'obésité monogénique	11
1. Définition de l'obésité	11
2. Types d'obésité	11
3. Épidémiologie de l'obésité monogénique	12
4. Physiopathologie de l'obésité monogénique	14
5. Étiologie de l'obésité monogénique	19
6. Stratégies thérapeutiques et perspectives de l'obésité monogénique	21
MATERIEL ET METHODES.....	26
I. Matériel	27
1. Bases de données	27
2. Outils et logiciels d'analyse <i>in silico</i>	30
II. Méthodes	33
1. Construction de la base de données des variants	33
2. Prédiction structurale et dynamique des mutations	34
3. Analyse qualitative et fonctionnelle des variants	34
4. Compilation et priorisation des variants.....	34
RESULTATS ET DISCUSSION	36
I. Résultats	37
1. Résultats de la collecte et du filtrage des variants du gène <i>KSR2</i>	37
2. Résultats de Prédiction structurale et dynamique des mutations.....	40
3. Résultats de l'analyse qualitative et fonctionnelle des variants.....	42
4. Résultats de la compilation et priorisation des variants	44
II. Discussion	45
CONCLUSION.....	47
REFERENCES	49

Liste des figures

Figure 1: Localisation du gène sur le chromosome 12 (adaptée de NCBI Gene, 2025).	6
Figure 2: Structure schématique des domaines conservés de la protéine KSR2 (Martin-Vega & Cobb, 2023).	8
Figure 3: Régulation allostérique de KSR2 : interaction avec RAF et phosphorylation de MEK (Casar & Crespo, 2016).	9
Figure 4: Rôle de KSR2 dans la régulation du métabolisme lipidique via la voie AMPK (Gauche : normal, droite : dysfonction) (Costanzo-Garvey et al., 2009).	10
Figure 5: Principales caractéristiques des formes monogéniques et polygéniques de l'obésité (Loos & Yeo, 2022).	12
Figure 6: Schéma simplifié de la voie leptine-mélanocortine (Farooqi, 2024).	16
Figure 7: Mécanisme d'action du récepteur MC4R dans la régulation de l'appétit (Baldini & Phelan, 2019 ; d'après Cone, 2005).	17
Figure 8: Régulation hypothalamique de la prise alimentaire (Nasrallah & Horvath, 2014). ..	18
Figure 9: Interface de la Base de données gnomAD.	27
Figure 10: Interface de la Base de données ClinVar.	28
Figure 11: Interface de la Base de données UniProt.	29
Figure 12: Interface de la Base de données Ensembl.	29
Figure 13: Interface de la Base de données AlphaFold.	30
Figure 14: Interface de DynaMut2.	32
Figure 15: Interface de HOPE.	32
Figure 16: Résultats des mutations de KSR2 et leurs Z scores correspondants dans gnomAD (gnomAD v4.1.0, 2025).	37
Figure 17: Pyramide de sélection et de reclassification des variants du gène KSR2	38
Figure 18: Histogramme qui représente les résultats des scores de prédiction in silico pour les 28 variantes sélectionnées du gène KSR2	39
Figure 19: Diagramme circulaire qui représente la répartition des effets des variants sur la stabilité protéique selon la valeur de $\Delta\Delta G$	40
Figure 20: Diagramme circulaire qui représente la répartition des effets des variants sur la dynamique protéique.	40
Figure 21: Diagramme circulaire qui représente l'effet des variants sur les interactions intra-protéiques (ponts salins et liaisons H).	41
Figure 22: Histogramme qui représente l'effet des variants du gène KSR2 sur la charge des acides aminés	42
Figure 23: Histogramme qui représente l'effet des variants du gène KSR2 sur la taille des acides aminés.	42
Figure 24: Histogramme qui représente l'effet des variants du gène KSR2 sur l'hydrophobicité des acides aminés.	43
Figure 25: Histogramme qui représente la distribution des 21 variants VUS dans les différents domaines fonctionnels de la protéine KSR2.	43
Figure 26: Diagramme circulaire qui représente la reclassification des 21 variants du gène KSR2.	44

Liste des tableaux

Tableau 1: Critères des filtres appliqués sur les variants du gène KSR2	33
Tableau 2 : Reclassification des variants selon les paramètres structuraux et énergétiques ($\Delta\Delta G$, $\Delta\Delta S$ et HOPE).....	35

Liste des abréviations

- ❖ **ACMG**: American College of Medical Genetics and Genomics
- ❖ **ACTH** : Adrenocorticotrophic Hormone
- ❖ **ADN** : Acide Désoxyribonucléique
- ❖ **AgRP** : Agouti-Related Peptide
- ❖ **AKT** : Protein Kinase B
- ❖ **AMP** : Adenosine Monophosphate
- ❖ **AMPK** : AMP-Activated Protein Kinase
- ❖ **ARC** : Agouti-Related Peptide
- ❖ **ARN** : Acide Ribonucléique
- ❖ **BDNF** : Brain-Derived Neurotrophic Factor
- ❖ **CADD** : Combined Annotation Dependent Depletion
- ❖ **CART**: Cocaine- and Amphetamine-Regulated Transcript
- ❖ **CPE** : Carboxypeptidase E
- ❖ **DAG** : Diacylglycérol
- ❖ **DYRK1B**: Dual Specificity Tyrosine Phosphorylation Regulated Kinase 1B
- ❖ **EMA** : European Médecines Agency
- ❖ **ERK** : Extracellular Signal-Regulated Kinase
- ❖ **FDA** : Food and Drug Administration
- ❖ **GABA** : Gamma-Aminobutyric Acid
- ❖ **GHSR** : Growth Hormone Secretagogue Receptor
- ❖ **GLP-1** : Glucagon-Like Peptide-1
- ❖ **GnomAD** : Genome Aggregation Database
- ❖ **HOPE**: Have (y)Ou viewed my Protein?
- ❖ **IMC** : Indice de Masse Corporelle
- ❖ **JAK2** : Janus Kinase 2
- ❖ **KSR2**: Kinase Suppressor of Ras 2
- ❖ **LEP** : Leptin
- ❖ **LEPR** : Leptin Receptor
- ❖ **L' α -MSH**: Alpha-Melanocyte Stimulating Hormone
- ❖ **MAPK** : Mitogen-Activated Protein Kinase
- ❖ **MC4R** : Melanocortin 4 Receptor

- ❖ **MEK**: Mitogen-Activated Protein Kinase Kinase
- ❖ **MRAP2**: Melanocortin 2 Receptor Accessory Protein 2
- ❖ **NPY** : Neuropeptide Y
- ❖ **NTRK2**: Neurotrophic Receptor Tyrosine Kinase 2
- ❖ **OMS** : Organisation Mondiale de la Santé
- ❖ **PCSK1** : Proprotein Convertase Subtilisin/Kexin Type 1
- ❖ **PhyloP** : Phylogenetic P-values
- ❖ **PI3K** : Phosphoinositide 3-Kinase
- ❖ **PKA** : Protein Kinase A
- ❖ **PLoF** : predicted Loss-of-Function
- ❖ **POMC** : Proopiomelanocortin
- ❖ **PolyPhen-2** : Polymorphism Phenotyping v2
- ❖ **PVN** : Paraventricular Nucleus
- ❖ **RAF** : Rapidly Accelerated Fibrosarcoma kinase
- ❖ **Ras** : Rat sarcoma protein
- ❖ **REVEL** : Rare Exome Variant Ensemble Learner
- ❖ **SH2B1** : SH2B Adaptor Protein 1
- ❖ **SIFT** : Sorts Intolerant From Tolerant
- ❖ **SIM1** : Single-Minded Homolog 1
- ❖ **Splice AI**: Splicing prediction tool based on deep learning
- ❖ **STAT3**: Signal Transducer and Activator of Transcription 3
- ❖ **UniProt** : Universal Protein Resource
- ❖ **VEP** : Variant Effect Predictor
- ❖ **VUS** : Variants of Uncertain Significance
- ❖ **WES** : Whole Exome Sequencing
- ❖ **WGS** : Whole Genome Sequencing
- ❖ $\Delta\Delta G$: Variation de l'énergie libre
- ❖ $\Delta\Delta S$: Variation de l'entropie

INTRODUCTION

L'obésité constitue aujourd'hui un enjeu majeur de santé publique à l'échelle mondiale. Selon l'Organisation Mondiale de la Santé, la prévalence mondiale de l'obésité a triplé entre 1975 et 2016. Actuellement, plus de 1,9 milliard d'adultes dans le monde présentent un surpoids, dont plus de 650 millions sont obèses. Chez les enfants et les adolescents, la situation est également préoccupante, avec environ 213 millions de jeunes concernés par le surpoids ou l'obésité (Alfalogy & Hariri, 2025). Les projections pour les années à venir sont particulièrement alarmantes : d'ici 2035, plus de la moitié de la population mondiale (environ 51 %, soit plus de 4 milliards de personnes) pourrait être en situation de surpoids ou d'obésité (Althumiri et al., 2024). Face à cette épidémie mondiale, la lutte contre l'obésité est devenue une priorité sanitaire internationale.

Longtemps attribuée uniquement à des facteurs environnementaux tels que l'alimentation et la sédentarité, l'obésité est aujourd'hui reconnue comme une maladie multifactorielle dans laquelle les facteurs génétiques jouent un rôle clé. En effet, plusieurs études ont montré que la susceptibilité à l'obésité est fortement influencée par des variations génétiques, en particulier dans les formes d'obésité monogénique (Loos & Yeo, 2022 ; Huvenne et al., 2016). L'obésité monogénique résulte de mutations affectant un gène unique, suffisantes pour induire un phénotype d'obésité sévère et précoce, indépendamment des facteurs environnementaux. Contrairement à l'obésité polygénique commune, ces formes rares suivent un mode de transmission mendélien, le plus souvent autosomique récessif, et sont caractérisées par une hyperphagie majeure débutant dès les premiers mois de vie (Huvenne et al., 2016). La majorité des gènes impliqués codent pour des protéines essentielles de la voie leptine-mélanocortine, une cascade de signalisation hypothalamique qui contrôle la balance énergétique en intégrant les signaux périphériques de satiété et en régulant la prise alimentaire (Clément & Mosbah, 2020). Ces formes rares, bien qu'elles ne représentent que moins de 5 % des cas d'obésité sévère (Farooqi & O'Rahilly, 2014), offrent un modèle d'étude privilégié pour comprendre les mécanismes fondamentaux de la régulation du poids corporel et de l'homéostasie énergétique.

Parmi les gènes impliqués dans ces mécanismes, *KSR2* (Kinase Suppressor of Ras 2) a suscité un intérêt croissant. Ce gène code pour une protéine d'échafaudage (*scaffold protein*) qui intervient dans la régulation du métabolisme énergétique et de la dépense calorique, notamment via son rôle central dans les voies de signalisation MAPK/ERK et AMPK. Des mutations de *KSR2* ont été associées à une diminution de l'oxydation des substrats énergétiques, conduisant à une prise de poids précoce ainsi qu'à une résistance à l'insuline (Pearce et al., 2013).

INTRODUCTION

; Costanzo-Garvey et al., 2009). Contrairement aux gènes classiques de la voie leptine-mélanocortine (*LEP*, *LEPR*, *POMC*, *MC4R*) qui agissent principalement sur l'appétit au niveau central, KSR2 exerce ses effets à la fois sur le métabolisme périphérique (oxydation des acides gras, sensibilité à l'insuline) et central (régulation de la faim et dépense énergétique). Cette double action fait de KSR2 un acteur original et important dans la physiopathologie de l'obésité monogénique.

Parmi les différents types de variants génétiques, les mutations faux-sens (missense) occupent une place particulière. Ces mutations ponctuelles entraînent le remplacement d'un acide aminé par un autre dans la séquence protéique, ce qui peut altérer la structure tridimensionnelle, la stabilité ou la fonction de la protéine sans pour autant interrompre complètement sa synthèse (Ng & Henikoff, 2003). L'impact d'une mutation faux-sens dépend étroitement de la localisation du résidu substitué, de ses propriétés physico-chimiques (charge, taille, hydrophobicité) et du degré de conservation évolutive de la position concernée (Adzhubei et al., 2013). Ainsi, certaines mutations faux-sens peuvent être délétères et contribuer à la pathogenèse de maladies génétiques, tandis que d'autres restent bénignes et sans conséquence fonctionnelle notable.

Cependant, l'interprétation des variations génétiques reste complexe, notamment en ce qui concerne les variants dits « Variants of Uncertain Significance » (VUS). Ces variants représentent un défi majeur en génétique médicale, car leur rôle pathogène n'est pas clairement établi en raison du manque de données bibliographiques, fonctionnelles ou cliniques suffisantes (Richards et al., 2015). Selon les recommandations de l'American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG), la classification des VUS repose sur l'utilisation de critères standardisés combinant des données issues de la population générale (fréquence allélique), des études *in silico*, des analyses fonctionnelles et des études de ségrégation familiale (Richards et al., 2015). Dans le cas spécifique de KSR2, de nombreux VUS sont répertoriés dans les bases de données internationales (gnomAD, ClinVar), mais leur impact réel sur la fonction de la protéine demeure inconnu, ce qui limite le diagnostic moléculaire et le conseil génétique pour les familles porteuses des mutations au niveau de ce gène.

Dans ce contexte, les approches *in silico* se sont imposées comme des outils incontournables en bio-informatique. Elles permettent de prédire l'impact des variants génétiques sur la structure et la fonction des protéines, en s'appuyant sur des outils informatiques qui évaluent la stabilité et la dynamique des protéines à partir de leurs structures tridimensionnelles, ainsi que des bases de données spécialisées plus récentes comme *Ensembl/VEP* et *GnomAD*.

INTRODUCTION

L'objectif principal de ce travail était de réaliser une prédiction *in silico* approfondie de l'impact des variants VUS du gène *KSR2*, afin de mieux comprendre leur implication potentielle dans l'obésité monogénique. Pour atteindre cet objectif, nous avons mis en place une stratégie d'analyse multi-étapes combinant des outils de prédiction de pathogénicité (REVEL, CADD, SIFT, PolyPhen-2, PhyloP) et des analyses structurales et dynamiques avancées (DynaMut2, HOPE, AlphaFold). Cette approche intégrative nous permettra non seulement d'évaluer l'effet de chaque variant sur la stabilité et la flexibilité de la protéine *KSR2*, mais aussi de proposer une reclassification fonctionnelle actualisée (Effet délétère Fort, Effet délétère Modéré, Effet délétère Léger, Effet délétère Incertain). Au final, nous espérons que ce travail contribuera à réduire l'incertitude diagnostique entourant les variants VUS de *KSR2* et facilitera le conseil génétique pour les familles touchées par l'obésité monogénique, en particulier dans les populations où la consanguinité est fréquente, comme c'est le cas en Algérie et dans le monde arabe.

REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

I. Généralités sur *Kinase Suppressor Of Ras 2*

1. Description du gène *KSR2*

Le gène ***KSR2*** (*Kinase Suppressor of Ras 2*) est un gène codant pour une protéine qui joue le rôle de protéine d'échafaudage dans les voies de signalisation cellulaires (Pearce et al., 2013 ; NCBI Gene, 2025). Chez l'humain, ce gène est localisé sur le chromosome 12, plus précisément sur le bras long au niveau de la région 12q24.22-q24.23 (**Figure 1**). Il s'étend sur une région génomique d'environ 515 kb et est composé de 26 exons (NCBI Gene, 2025). Identifié comme un acteur clé dans la régulation du métabolisme énergétique, *KSR2* est souvent décrit comme un "suppresseur de kinase de Ras", indiquant son rôle historique dans la modulation de cette voie de signalisation majeure (Pearce et al., 2013 ; Sino Biological, 2024).

2. Les mutations du gène *KSR2*

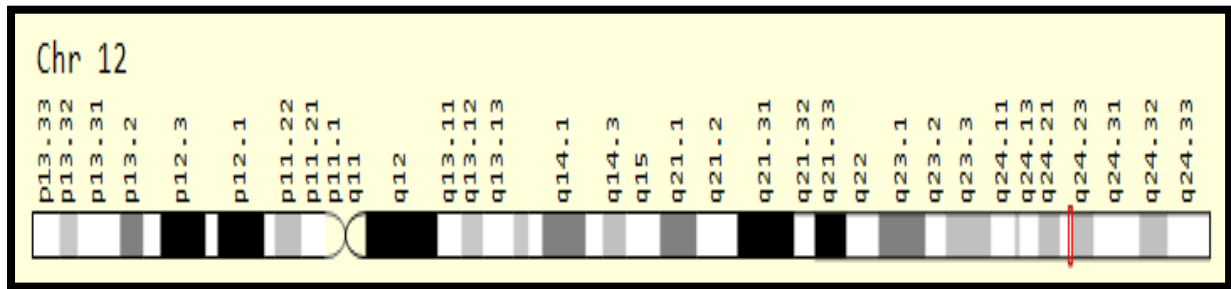


Figure 1: Localisation du gène sur le chromosome 12 (*adaptée de NCBI Gene, 2025*).

Les données disponibles dans la base gnomAD (v4.1.0) montrent que le gène *KSR2* présente différents types de variants génétiques. Les variants synonymes (*synonymous*) sont relativement tolérés avec 477 variants observés pour 517,4 attendus ($Z = 0,97$), indiquant que ce type de variation n'entraîne généralement pas de modification de la séquence protéique.

En revanche, les mutations faux-sens (*missense*) montrent une contrainte évolutive importante avec 873 variants observés pour 1283,2 attendus et un Z-score élevé de 4,18, traduisant une faible tolérance du gène *KSR2* aux substitutions d'acides aminés susceptibles d'altérer la structure et la fonction de la protéine. Ces variants sont souvent classés comme VUS (*Variants of Uncertain Significance*) en raison du manque de données fonctionnelles.

Concernant les variants entraînant une perte de fonction (*predicted loss-of-function, pLoF*), seulement 23 variants ont été observés pour 102,3 attendus, avec un score pLI = 1, suggérant une très forte intolérance du gène *KSR2* à ce type de mutations. Cette intolérance reflète l'importance biologique de *KSR2* dans la régulation du métabolisme énergétique (gnomAD v4.1.0, 2025).

Ainsi, les variants rares potentiellement délétères du gène *KSR2* (*missense* et *pLoF*) peuvent perturber les interactions protéiques et affecter des voies essentielles telles que la voie AMPK et la voie MAPK/ERK, entraînant un déséquilibre énergétique. Sur le plan clinique, ils sont associés à une résistance à l'insuline, une diminution de la dépense énergétique et une hyperphagie, contribuant ainsi au développement de l'obésité monogénique (Pearce et al., 2013).

Dans ce contexte, les approches *in silico* jouent un rôle essentiel dans l'interprétation des variants du gène *KSR2*, notamment les VUS. Des outils bio-informatiques tels que SIFT, PolyPhen-2, REVEL et CADD permettent de prédire l'impact potentiel des mutations sur la structure et la fonction de la protéine, facilitant ainsi l'identification des variants potentiellement pathogènes.

3. La protéine KSR2

3.1. Structure

La protéine KSR2 est une protéine d'échafaudage (scaffold protein) composée d'environ 950 acides aminés, avec un poids moléculaire estimé à ~110 kDa. Elle joue un rôle central dans l'organisation et la transduction des signaux intracellulaires, notamment au sein de la voie MAPK/ERK (*Mitogen-Activated Protein Kinase / Extracellular signal-Regulated Kinase*).

KSR1 et KSR2 : deux protéines homologues

KSR2 appartient à une petite famille de protéines comprenant également KSR1. Les deux protéines partagent une homologie de séquence importante et une structure similaire organisée en domaines conservés (CA1 à CA5). Cependant, leurs profils d'expression tissulaire diffèrent : KSR1 est principalement exprimé dans les testicules, le cerveau et les reins, tandis que KSR2 est largement exprimé dans les tissus métaboliquement actifs, notamment le foie, le muscle squelettique, le tissu adipeux et le système nerveux central. Cette différence suggère que KSR1 et KSR2 ont des rôles physiologiques distincts : KSR1 est davantage impliqué dans la prolifération cellulaire et le développement, alors que KSR2 joue un rôle prédominant dans la régulation du métabolisme énergétique et de l'homéostasie glucidique et lipidique (Costanzo-Garvey et al., 2009 ; Pearce et al., 2013)

La structure de KSR2 est organisée en plusieurs régions conservées appelées CA1 à CA5. À l'extrémité N-terminale, la région CA1 contient un domaine de type SAM (*Sterile Alpha Motif*) impliqué dans les interactions protéine-protéine ainsi que dans la localisation

subcellulaire. La région CA2 est riche en proline et participe aux interactions avec des protéines contenant des domaines SH3. La région CA3 correspond à un domaine riche en cystéine de type C1, permettant l'association de KSR2 à la membrane plasmique via sa liaison au diacylglycérol (DAG).

La région CA4 joue un rôle régulateur et contient plusieurs sites de phosphorylation impliqués dans le contrôle de l'activité et des interactions de la protéine. Enfin, la région C-terminale (CA5) contient un domaine de type kinase (**figure 2**). Bien que structurellement similaire aux kinases sérine/thréonine, ce domaine est catalytiquement inactif et est considéré comme une pseudokinase. Cette caractéristique est essentielle à la fonction de KSR2, qui agit comme une plateforme d'assemblage pour les protéines RAF, MEK et ERK, facilitant leur activation séquentielle au sein de la voie MAPK (Costanzo-Garvey et al., 2009 ; Pearce et al., 2013).

Par ailleurs, KSR2 subit diverses modifications post-traductionnelles, notamment des phosphorylations sur des résidus sérine et thréonine, régulant sa localisation, sa stabilité et ses interactions protéiques. Des études récentes ont également mis en évidence que certaines variations du gène KSR2 peuvent altérer la fonction de la protéine, soulignant l'importance de son intégrité structurale (Abu-Rub et al., 2024).

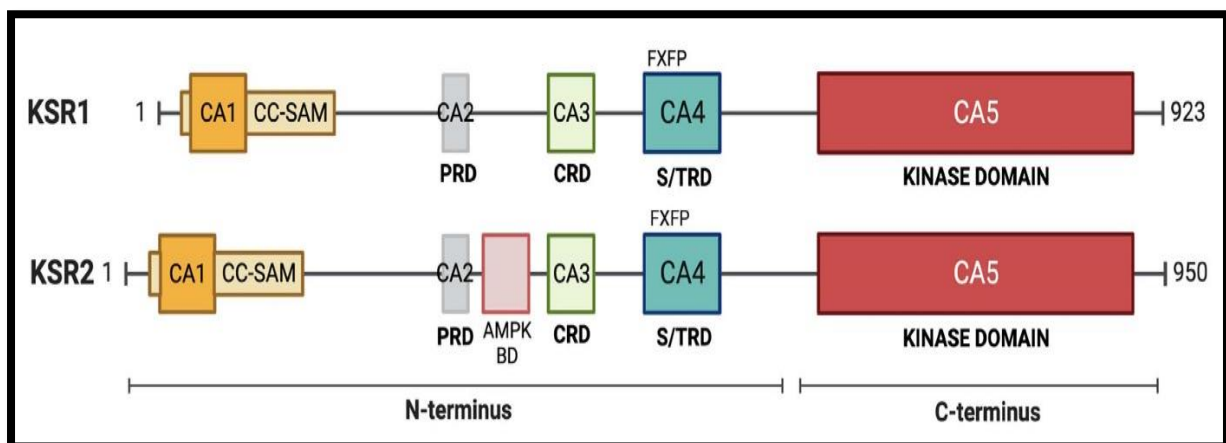


Figure 2: Structure schématique des domaines conservés de la protéine KSR2 (*Martin-Vega & Cobb, 2023*).

3.2. Rôle et fonctions

Le gène *KSR2* code pour une protéine intracellulaire appartenant à la famille des protéines dites « *scaffold* », dont la fonction principale est d'orchestrer et de stabiliser les interactions entre différentes protéines impliquées dans les voies de signalisation cellulaire.

Contrairement aux kinases classiques, KSR2 agit comme une plateforme facilitant la transmission efficace des signaux intracellulaires, notamment au sein de la voie de signalisation Ras-Raf-MEK-ERK, essentielle pour la régulation de la prolifération et du métabolisme cellulaire (Brennan et al., 2011 ; Costanzo-Garvey et al., 2009). Comme l'illustre la **Figure 3**, cette interaction entre KSR et RAF se fait de manière allostérique, permettant le recrutement et la phosphorylation de MEK

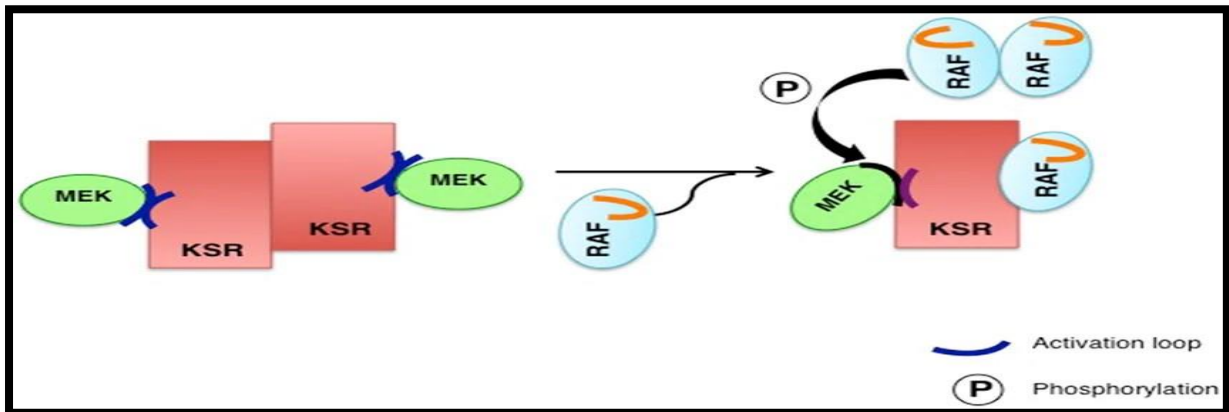


Figure 3 : Régulation allostérique de KSR2 : interaction avec RAF et phosphorylation de MEK (Casar & Crespo, 2016).

*Cette figure illustre le mécanisme de régulation allostérique de KSR2. Dans un premier temps (à gauche), un complexe hétéro-tétramérique KSR2-MEK1 se forme, mais le segment d'activation de MEK1 reste inaccessible. L'interaction de KSR2 avec une protéine RAF régulatrice (en cis) induit un changement conformationnel qui expose la boucle d'activation de MEK. Dans un second temps (à droite), une deuxième protéine RAF (dite « catalytique ») peut alors phosphoryler MEK en trans, activant ainsi la cascade de signalisation MAPK/ERK. Ce mécanisme montre comment KSR2 agit comme une plateforme d'échafaudage facilitant l'interaction entre RAF et MEK. *

Au-delà de son rôle structural, KSR2 est un régulateur majeur de l'homéostasie énergétique via son interaction avec la voie AMPK. La **Figure 4** compare la situation normale et la situation pathologique. En conditions normales, KSR2 active AMPK, inhibe ACC, favorise l'oxydation des acides gras et limite le stockage des triglycérides. En l'absence de KSR2 fonctionnel, cette régulation est altérée, conduisant à une accumulation lipidique excessive (Pearce et al., 2013 ; Costanzo-Garvey et al., 2009).

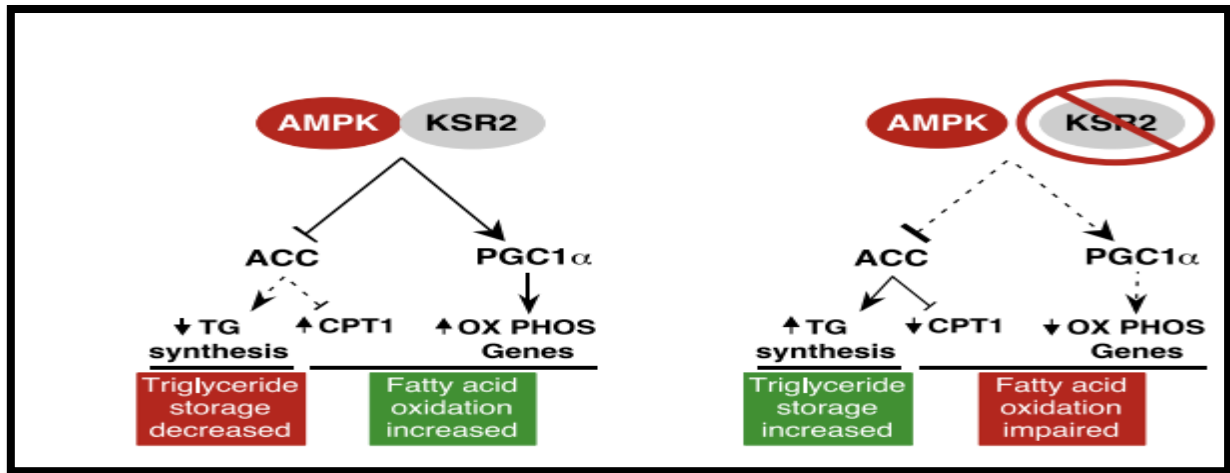


Figure 4: Rôle de KSR2 dans la régulation du métabolisme lipidique via la voie AMPK (Gauche : normal, droite : dysfonction) (Costanzo-Garvey et al., 2009).

*Cette figure présente un modèle de régulation du métabolisme par KSR2. Dans des conditions normales (partie gauche), KSR2 active AMPK, ce qui entraîne l'inhibition de ACC (Acetyl-CoA Carboxylase). Cette inhibition réduit la synthèse des triglycérides (TG) et diminue leur stockage. Parallèlement, KSR2 active PGC1 α , favorisant la phosphorylation oxydative (OX PHOS) et l'oxydation des acides gras. En l'absence d'un KSR2 fonctionnel (partie droite, dysfonction), la voie AMPK est moins activée, ACC n'est plus inhibée correctement, ce qui augmente la synthèse et le stockage des triglycérides. De plus, l'oxydation des acides gras est altérée, contribuant ainsi à une accumulation lipidique excessive et au développement de l'obésité. *

Par ailleurs, KSR2 joue aussi un rôle important dans la régulation du métabolisme glucidique. Il favorise l'entrée du glucose dans les cellules ainsi que son utilisation métabolique via la glycolyse et la phosphorylation oxydative.

En cas de mutation ou d'inactivation de KSR2, ces processus sont moins efficaces, entraînant une diminution de l'oxydation du glucose et une altération de la sensibilité à l'insuline, contribuant ainsi au développement d'une insulino-résistance fréquemment associée à l'obésité (Pearce et al., 2013 ; Revelli et al., 2011).

Le rôle de KSR2 s'étend également au système nerveux central, en particulier au niveau de l'hypothalamus, où il participe à la régulation du comportement alimentaire et de la thermogenèse adaptative. Une dysfonction de KSR2 peut donc entraîner des anomalies de la régulation de la faim et une diminution de la production de chaleur corporelle, aggravant le déséquilibre énergétique global (Gomez et al., 2022).

Contrairement aux gènes classiques de la voie leptine-mélanocortine (LEP, MC4R) qui agissent principalement sur l'appétit au niveau central, KSR2 exerce ses effets à la fois sur le métabolisme périphérique (oxydation des acides gras, sensibilité à l'insuline) et central (régulation de la faim et dépense énergétique). Cette double action fait de KSR2 un acteur

original et important dans la physiopathologie de l'obésité monogénique (Pearce et al., 2013 ; Costanzo-Garvey et al., 2009).

Ainsi, *KSR2* agit comme un intégrateur central des signaux métaboliques, reliant les voies de signalisation intracellulaire aux besoins énergétiques de l'organisme. Les altérations de cette protéine perturbent l'équilibre entre apport et dépense énergétiques, réduisent le métabolisme basal et favorisent l'accumulation de masse grasse, participant directement au développement de l'obésité (Pearce et al., 2013 ; Revelli et al., 2011).

Cette multifonctionnalité explique pourquoi les mutations de *KSR2* peuvent avoir des conséquences physiopathologiques majeures dans l'obésité monogénique.

II. Généralités sur l'obésité monogénique

1. Définition de l'obésité

L'obésité est définie par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) comme une accumulation anormale ou excessive de masse grasse qui présente un risque pour la santé. Elle résulte généralement d'un déséquilibre entre les apports et les dépenses énergétiques. Le diagnostic est principalement basé sur l'indice de masse corporelle (IMC), avec un seuil d'obésité fixé à un $IMC \geq 30 \text{ kg/m}^2$ chez l'adulte (OMS, 2025).

2. Types d'obésité :

L'obésité peut se présenter sous différentes formes selon les mécanismes génétiques et biologiques impliqués. Sur cette base, on distingue principalement deux types d'obésité : l'obésité polygénique, la plus fréquente, et l'obésité monogénique, une forme plus rare d'origine génétique (Farooqi & O'Rahilly, 1997, 2006) (**Figure 5**).

2.1. Obésité polygénique (commune)

L'obésité polygénique (commune) représente plus de 95 % des cas d'obésité chez l'adulte. Elle résulte d'une interaction complexe entre facteurs environnementaux (alimentation hypercalorique, sédentarité) et facteurs génétiques multiples (accumulation de variants à faible effet). Ce type d'obésité apparaît généralement à l'âge adulte et répond habituellement aux mesures hygiéno-diététiques (Loos & Yeo, 2022 ; Goodarzi, 2018).

2.2. Obésité monogénique (rare)

L'obésité monogénique est une forme rare et sévère d'obésité, représentant moins de 5 % des cas d'obésité sévère (Farooqi & O'Rahilly, 2005). Elle est causée par la mutation d'un seul gène essentiel à la régulation centrale de l'appétit, indépendamment des facteurs environnementaux.

Ses caractéristiques principales incluent un début précoce, apparaissant dès la petite enfance, souvent avant l'âge de 2 ans, avec une prise de poids rapide et inexpliquée par les facteurs environnementaux (Farooqi et al., 2020). Cette obésité se distingue par son intensité sévère, avec un indice de masse corporelle (IMC) très élevé dès le plus jeune âge, accompagné d'une hyperphagie majeure caractérisée par une faim insatiable et un comportement compulsif de recherche de nourriture (Friedman, 2019).

Ces mutations sont généralement héritées selon un mode autosomique récessif, ce qui signifie que l'enfant doit recevoir deux copies mutées du gène (une de chaque parent) pour développer la maladie. Cependant, certains gènes comme *MC4R* peuvent suivre un mode de transmission dominant ou récessif avec une pénétrance incomplète. Le principal facteur favorisant l'expression de ces mutations récessives est la consanguinité, très fréquente dans certaines populations, ce qui augmente considérablement la probabilité que deux parents soient porteurs de la même mutation rare (Baron et al., 2020) (**Figure 5**).

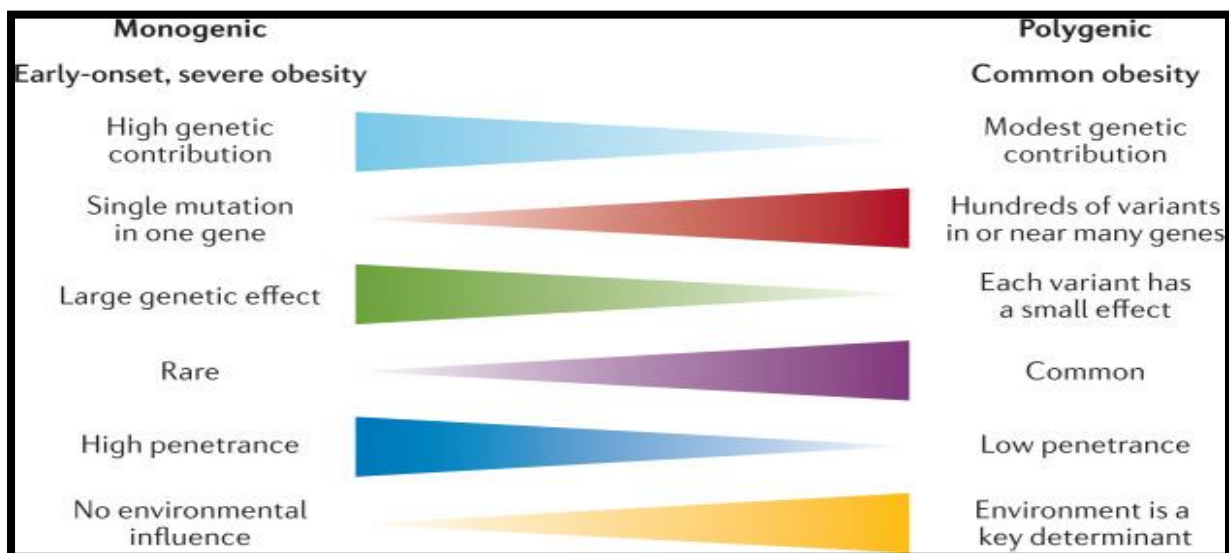


Figure 5: Principales caractéristiques des formes monogéniques et polygéniques de l'obésité (Loos & Yeo, 2022).

3. Épidémiologie de l'obésité monogénique

L'obésité constitue aujourd'hui un enjeu majeur de santé publique à l'échelle mondiale. Selon l'Organisation Mondiale de la Santé, la prévalence mondiale de l'obésité a triplé entre 1975 et 2016. Actuellement, plus de 1,9 milliard d'adultes dans le monde présentent un surpoids, dont plus de 650 millions sont obèses (OMS, 2025). Cependant, l'obésité monogénique reste une forme relativement rare, représentant environ 7 % des cas d'obésité sévère chez l'enfant et l'adolescent.

3.1. Prévalence générale

La prévalence exacte de l'obésité monogénique n'est pas encore parfaitement établie à l'échelle mondiale, principalement en raison d'un diagnostic souvent tardif ou manqué (Huvenne et al., 2016). Les données disponibles indiquent que la prévalence des porteurs de mutations pathogènes ou probablement pathogènes dans les gènes de l'obésité monogénique est en moyenne de 13,24 % dans les populations étudiées, dont 12,31 % pour les mutations hétérozygotes et 0,93 % pour les mutations homozygotes ou hétérozygotes composites (Loos & Yeo, 2022).

3.2. Prévalence par gène

Le déficit en Récepteur mélanocortine4 (*MC4R*) représente la forme la plus fréquente d'obésité monogénique identifiée à ce jour. Sa prévalence dans la population générale est estimée à environ 1 cas pour 2000 naissances, soit 0,5 à 1 % chez les adultes obèses (IMC > 30 kg/m²). Le déficit en *MC4R* concerne 2 à 5 % des patients atteints d'obésité sévère précoce (Farooqi & O'Rahilly, 2014 ; Huvenne et al., 2016).

Les autres formes rares sont beaucoup moins fréquentes. À titre d'exemple, le déficit en leptine (*LEP*) a été diagnostiqué chez moins de 100 patients dans le monde (Farooqi & O'Rahilly, 2014). De même, le déficit en Pro-opiomélanocortine (*POMC*) est extrêmement rare, avec moins de 10 patients rapportés dans la littérature (Clément et al., 2020). Le déficit en Proprotéine convertase subtilisine/kexine type 1 (*PCSK1*) concerne moins de 20 patients dans le monde (Farooqi et al., 2007). Quant au déficit en *KSR2*, il a été identifié dans plusieurs familles mais reste une cause rare d'obésité monogénique (Pearce et al., 2013).

3.3. Variabilité géographique et ethnique

La prévalence de l'obésité monogénique varie considérablement selon les régions et les populations, principalement en raison des différences dans les taux de consanguinité, qui favorisent l'expression des mutations autosomiques récessives, ainsi que des variations dans l'accès au diagnostic génétique (Baron et al., 2020).

En Europe : Une étude multicentrique récente menée par Zorn et al. (2025) a analysé 147 cas d'obésité monogénique dans plusieurs pays européens (Allemagne, France, Royaume-Uni, Espagne, Pays-Bas) (Zorn et al. 2025). En Norvège, Nordang et al. (2017) ont détecté 4 cas (0,8

%) de variants pathogènes dans *MC4R* chez 485 patients atteints d'obésité morbide (Nordang et al. 2017). En Slovaquie, une étude portant sur 268 enfants obèses a identifié 2 cas (0,7 %) de mutations *MC4R* (Petrasova et al., 2015).

Dans les pays arabes : Les taux de prévalence de l'obésité monogénique augmentent en raison de la hausse des taux de mariages consanguins. Selon une revue systématique menée par Abu Hashim et al. (2022), 30 cas d'obésité sévère précoce ont été identifiés dans 8 pays arabes (Arabie saoudite, Koweït, Oman, Jordanie, Algérie, Tunisie, Égypte et Libye), présentant 14 variants pathogènes dans 5 gènes (*LEP*, *LEPR*, *POMC*, *MC4R* et *CPE*). Tous les cas provenaient de familles consanguines, ce qui confirme le rôle majeur de la consanguinité dans l'apparition de l'obésité monogénique dans cette région (Abu Hashim et al. 2022a).

Au Qatar : Une étude spécifique menée par AbouHashem et al. (2022) a révélé que 11 variants rares dans 6 gènes (*MC4R*, *MRAP2*, *ADCY3*, *SH2B1*, *POMC*, *SIM1*) étaient associés à l'obésité sévère, avec une prévalence dépassant 5 % de la cohorte étudiée. Le Qatar se caractérise par un taux de consanguinité atteignant 54 % et une prévalence de l'obésité d'environ 45 % dans la population adulte (AbouHashem et al. 2022b).

En Algérie : La consanguinité est estimée entre 20 et 40 % selon les régions, favorisant l'expression des maladies récessives comme l'obésité monogénique. L'étude d'AbouHashem et al. (2022) a rapporté la seule étude d'un cas algérien d'obésité monogénique issu d'une famille consanguine (AbouHashem et al., 2022a ; Clément, 1998). Cependant, ce nombre limité ne reflète probablement pas la réalité, car aucune étude génétique publiée n'a été menée en Algérie sur ce sujet à notre connaissance. Des investigations supplémentaires sont donc nécessaires pour mieux caractériser l'épidémiologie de l'obésité monogénique en Algérie.

4. Physiopathologie de l'obésité monogénique

L'obésité monogénique résulte d'anomalies génétiques spécifiques perturbant les mécanismes fondamentaux impliqués dans la régulation du poids corporel. La compréhension de ces formes rares d'obésité nécessite une analyse approfondie des voies de signalisation contrôlant l'appétit et la dépense énergétique, notamment la voie leptine-mélanocortine (Loos & Yeo, 2022 ; Mahmoud et al., 2022). L'étude de la physiopathologie permet d'expliquer comment une altération moléculaire peut conduire aux manifestations cliniques observées chez les patients, en perturbant les mécanismes physiologiques normaux impliqués dans l'homéostasie énergétique.

4.1. La voie leptine-mélanocortine

La régulation de la balance énergétique repose sur l'intégration de nombreux signaux hormonaux et neuronaux. Parmi ces systèmes, la voie leptine-mélanocortine constitue l'un des circuits neuroendocriniens majeurs impliqués dans le contrôle de la prise alimentaire et du métabolisme énergétique. L'altération de cette voie est responsable des formes les plus sévères d'obésité précoce (Baron et al., 2020). Cette voie fonctionne principalement au niveau de l'hypothalamus, en particulier dans le noyau arqué (ARC), où les signaux périphériques liés à l'état nutritionnel sont intégrés afin d'ajuster la prise alimentaire et la dépense énergétique.

4.1.1. La leptine et son récepteur

La leptine (LEP) est une hormone peptidique principalement sécrétée par les adipocytes du tissu adipeux blanc. Sa concentration plasmatique est généralement proportionnelle à la masse grasse corporelle et sa sécrétion suit un rythme circadien. Cette hormone joue un rôle essentiel dans la régulation de l'homéostasie énergétique en transmettant au cerveau des informations relatives aux réserves énergétiques de l'organisme (Park & Ahima, 2015).

Lorsque les réserves énergétiques augmentent, les adipocytes libèrent davantage de leptine dans la circulation sanguine. Cette hormone traverse la barrière hémato-encéphalique et agit principalement au niveau de l'hypothalamus en se liant à son récepteur spécifique, appelé récepteur de la leptine (LEPR), exprimé à la surface des neurones hypothalamiques.

L'activation de ce récepteur déclenche plusieurs cascades de signalisation intracellulaire qui aboutissent à une diminution de la prise alimentaire et à une augmentation de la dépense énergétique (Singh et al., 2017).

Le récepteur de la leptine appartient à la famille des récepteurs de cytokines et est largement exprimé dans différentes régions du système nerveux central, notamment dans le noyau arqué de l'hypothalamus. Il est également présent dans certains tissus périphériques, suggérant que la leptine exerce des effets physiologiques variés dans l'organisme (Mahmoud et al., 2022).

Dans la plupart des formes communes d'obésité, les patients présentent des concentrations sériques de leptine élevées, mais cette augmentation ne s'accompagne pas d'une diminution de la prise alimentaire. Ce phénomène est généralement expliqué par le développement d'une résistance à la leptine, caractérisée par une diminution de la sensibilité des neurones hypothalamiques à cette hormone. Cette résistance entraîne une altération du contrôle de l'appétit et favorise l'accumulation excessive de tissu adipeux (Caroline M. Apovian, 2016).

4.1.2. Activation de la voie leptine-mélanocortine

Après sa sécrétion par le tissu adipeux, la leptine atteint le système nerveux central et interagit avec son récepteur au niveau du noyau arqué de l'hypothalamus. Cette interaction active une cascade de signalisation intracellulaire impliquant plusieurs voies moléculaires, notamment JAK2/STAT3, PI3K/AKT et MAPK/ERK, qui participent à la régulation de l'expression de gènes impliqués dans la balance énergétique. La **Figure 6** illustre ces mécanismes de signalisation intracellulaire et leur impact sur l'expression des neuropeptides régulateurs de l'appétit.

L'activation de ces voies stimule les neurones exprimant la pro-opiomélanocortine (POMC) et inhibe les neurones exprimant les neuropeptides NPY et AgRP, responsables de la stimulation de l'appétit. La POMC est ensuite clivée par des enzymes spécifiques appelées prohormone convertases (PCSK1 et PC2), générant plusieurs peptides biologiquement actifs, dont l' α -MSH (*alpha-melanocyte-stimulating hormone*).

L' α -MSH agit ensuite sur le récepteur de la mélanocortine de type 4 (MC4R), un récepteur clé dans la régulation de l'appétit. L'activation de ce récepteur entraîne une augmentation de la production d'AMP cyclique (AMPc), ce qui active différentes voies métaboliques responsables de l'apparition du signal de satiété et de la réduction de la prise alimentaire (Baron et al., 2020).

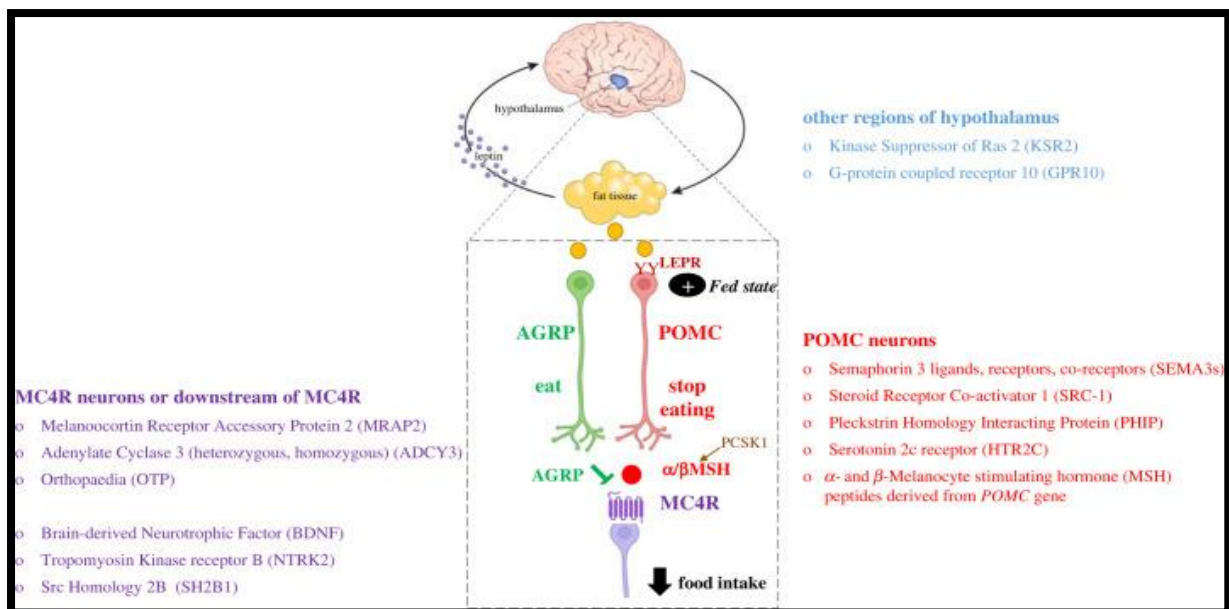


Figure 6: Schéma simplifié de la voie leptine-mélanocortine (Farooqi, 2024).

4.1.3. Rôle du récepteur MC4R dans le contrôle de l'appétit

Le récepteur MC4R constitue l'un des éléments centraux de la régulation de l'équilibre énergétique. Il est fortement exprimé dans le système nerveux central, notamment dans le noyau

paraventriculaire (PVN) de l'hypothalamus. Le fonctionnement détaillé de ce récepteur est représenté dans la **Figure 7**, qui montre les mécanismes d'activation et d'inhibition de MC4R et leurs conséquences sur la prise alimentaire.

Lorsque l' α -MSH se lie à MC4R, le récepteur active la sous-unité Gs de la protéine G, ce qui stimule l'adénylate cyclase et entraîne une augmentation de la production d'AMPc. Cette molécule active ensuite la protéine kinase A (PKA) ainsi que d'autres voies de signalisation intracellulaire, conduisant à la dépolarisation neuronale et à la génération d'un signal de satiété (Kühnen et al., 2016 ; Tao, 2010).

À l'inverse, le neuropeptide AgRP, libéré par les neurones NPY/AgRP, agit comme antagoniste et inverse agoniste du récepteur MC4R. En inhibant la production d'AMPc, il bloque le signal de satiété et favorise la prise alimentaire. L'équilibre entre l'activité de l' α -MSH et celle d'AgRP constitue donc un mécanisme essentiel de régulation de l'appétit

Les altérations fonctionnelles du récepteur MC4R, souvent liées à des mutations génétiques, perturbent ce système de régulation et conduisent à une hyperphagie sévère et à une obésité précoce, ce qui souligne son rôle central dans la physiopathologie de l'obésité monogénique.

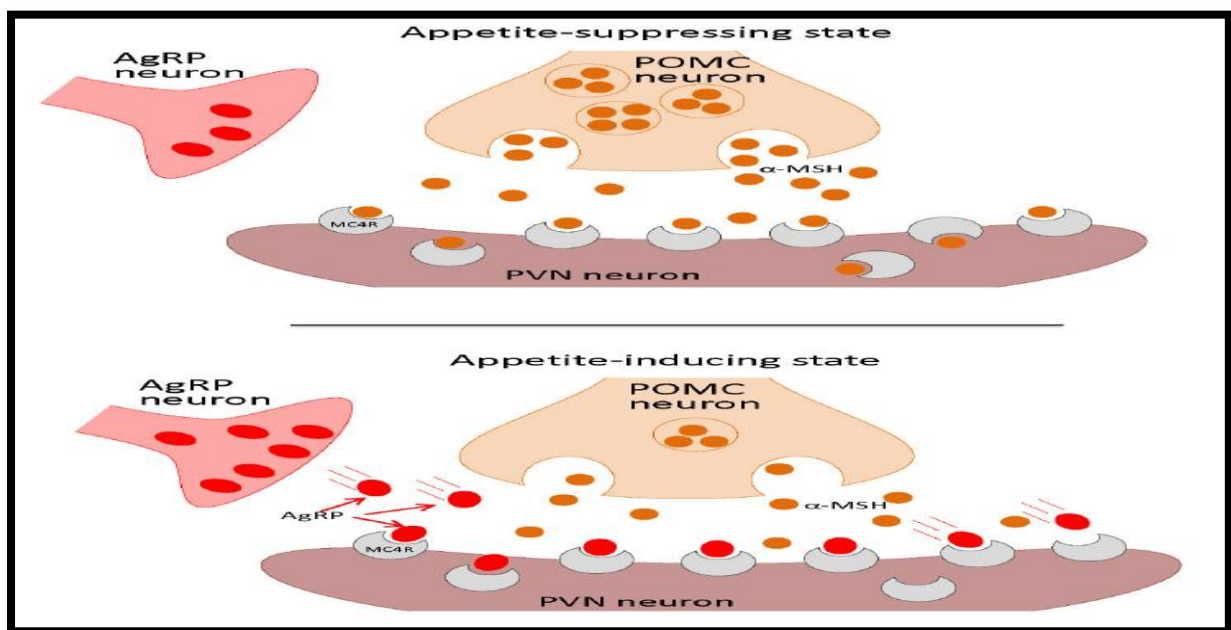


Figure 7: Mécanisme d'action du récepteur MC4R dans la régulation de l'appétit (Baldini & Phelan, 2019 ; d'après Cone, 2005).

4.2. Rôle central de l'hypothalamus dans la régulation de l'appétit

L'hypothalamus constitue la principale structure cérébrale impliquée dans la régulation de l'appétit et de l'homéostasie énergétique. Il intègre les signaux hormonaux et nutritionnels

provenant de la périphérie afin d'adapter la prise alimentaire et la dépense énergétique aux besoins de l'organisme (Perry & Wang, 2012).

Au sein de l'hypothalamus, le noyau arqué (ARC) joue un rôle central en abritant deux populations neuronales aux effets opposés (Cowley et al., 2001) :

- Les neurones POMC/CART, qui induisent la satiété (anorexigènes)
- Les neurones NPY/AgRP, qui stimulent l'appétit (orexigènes).

La **Figure 8** illustre cette organisation complexe, montrant comment ces deux populations neuronales interagissent et sont modulées par les signaux périphériques comme la leptine et la ghréline (adaptée de Duan et al., 2015).

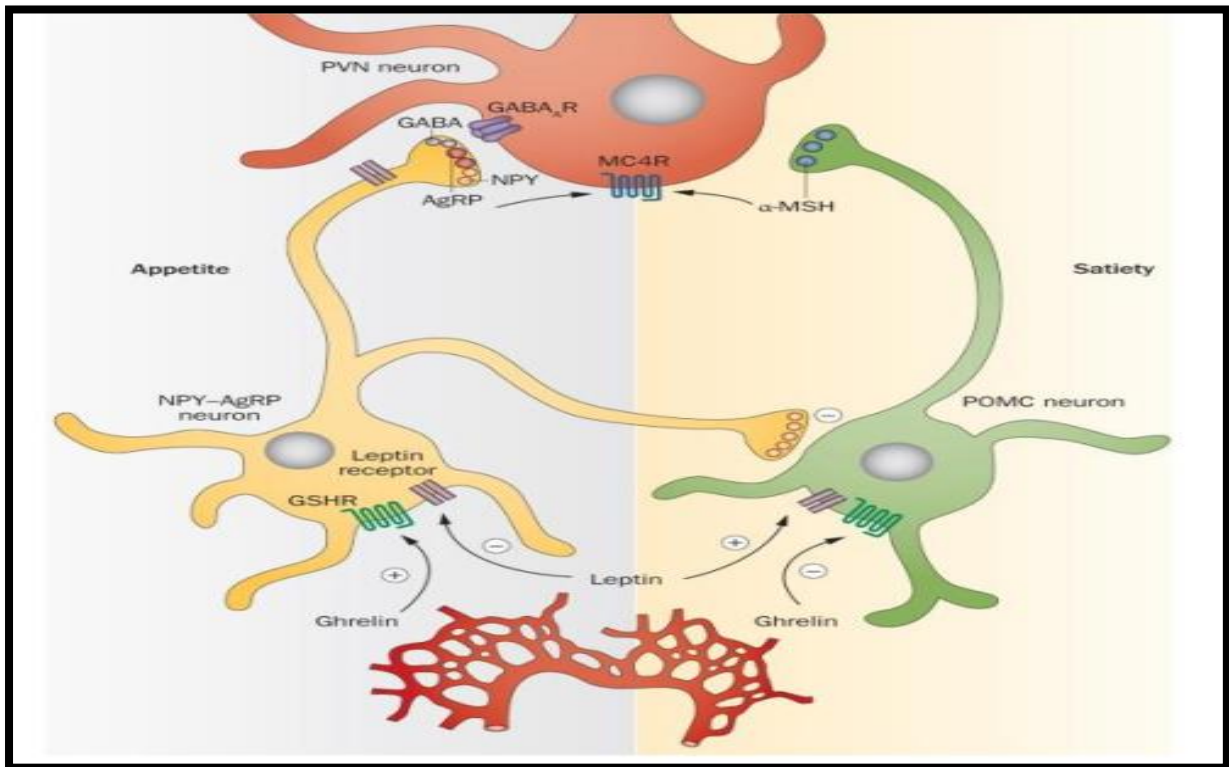


Figure 8 : Régulation hypothalamique de la prise alimentaire (Nasrallah & Horvath, 2014).

Comme le montre la **Figure 8**, les neurones NPY/AgRP projettent leurs terminaisons sur les neurones POMC et inhibent leur activité en libérant notamment l'acide γ -aminobutyrique (GABA) (Nasrallah & Horvath, 2014). L'action de la leptine s'exerce de manière duale : elle stimule les neurones POMC et inhibe les neurones NPY/AgRP au niveau de l'ARC, favorisant ainsi une diminution de la prise alimentaire (Friedman, 2019). À l'inverse, la ghréline, une hormone orexigène sécrétée par l'estomac, se lie à son récepteur (GHSR) exprimé sur les neurones NPY/AgRP pour stimuler la prise alimentaire (Arora & Anubhuti, 2006).

L'équilibre entre l'activité de ces deux systèmes neuronaux, finement régulé par les signaux leptine et ghréline, permet de maintenir un poids corporel relativement stable. Les axones des neurones POMC et NPY/AgRP se projettent vers des noyaux hypothalamiques de second ordre, notamment le noyau paraventriculaire (PVN) et l'aire hypothalamique latérale (LH), où ils modulent l'activité des récepteurs MC4R et d'autres cibles pour ajuster la prise alimentaire et la dépense énergétique (Baldini & Phelan, 2019).

Dans l'obésité monogénique, des mutations affectant les gènes impliqués dans la voie leptine-mélanocortine (*LEP*, *LEPR*, *MC4R*) perturbent cette régulation hypothalamique, entraînant une augmentation de la prise alimentaire, une diminution de la dépense énergétique et, par conséquent, une accumulation excessive de tissu adipeux.

5. Étiologie de l'obésité monogénique

L'obésité monogénique résulte de facteurs étiologiques spécifiques, principalement génétiques, qui la distinguent fondamentalement de l'obésité commune. La cause directe de cette pathologie est la présence d'une mutation rare affectant un seul gène parmi une dizaine identifiés à ce jour, notamment *LEP*, *LEPR*, *POMC*, *PCSK1*, *MC4R*, *BDNF*, *NTRK2*, *SIM1*, *SH2B1*, *KSR2* et *MRAP2*. Ces gènes codent pour des protéines essentielles dans la voie leptine-mélanocortine, un système clé pour la régulation de l'appétit au niveau de l'hypothalamus (Baron et al., 2020).

Ces mutations sont généralement héritées selon un mode autosomique récessif, ce qui signifie que l'enfant doit recevoir deux copies mutées du gène (une de chaque parent) pour développer la maladie.

Le principal facteur favorisant l'expression de ces mutations récessives est la consanguinité, très fréquente dans certaines populations, ce qui augmente considérablement la probabilité que deux parents soient porteurs de la même mutation rare et explique en partie la prévalence plus élevée de certaines formes d'obésité monogénique dans ces populations (Baron et al., 2020) ainsi qu'une hétérogénéité génétique entre populations.

Bien que rares dans la population générale (moins de 5% des cas d'obésité sévère), ces formes sont plus fréquentes dans certaines populations, notamment celles avec un taux élevé de consanguinité. (Farooqi et al., 2007). Le mode de transmission est donc généralement

autosomique récessif, sauf pour certaines mutations (notamment *MC4R*) qui peuvent suivre un mode dominant (Hinney, A., et al. 2013).

En résumé, l'obésité monogénique est caractérisée par une forte composante génétique, modulée par la consanguinité et une hétérogénéité génétique intrarégionale. Ces particularités soulignent l'importance du diagnostic génétique pour une prise en charge adaptée.

5.1. Le gène *LEP* (Leptine) :

Localisé sur le chromosome 7 (7q31.3), le gène *LEP* code pour la leptine, une hormone sécrétée par le tissu adipeux qui agit comme un signal de satiété hypothalamique via son récepteur (NCBI Gene, 2024). Ses mutations provoquent un déficit complet en leptine, avec hyperphagie sévère précoce, obésité morbide et hypogonadisme hypogonadotrope. Heureusement, la leptine recombinante (mètreleptine) est efficace dans ces cas.

5.2. Le gène *LEPR* (Récepteur à la leptine) :

Localisé sur le chromosome 1 (1p31.3), Le gène *LEPR* code pour le récepteur de la leptine, exprimé sur les neurones hypothalamiques. Sa mutation provoque une résistance à la leptine (taux élevés mais non fonctionnels) avec un tableau clinique identique à celui du déficit en leptine : obésité hyperphagique précoce, retard de croissance et insuffisance gonadotrope (NCBI Gene, 2024).

5.3. Le gène *MC4R* (Récepteur mélanocortine 4) :

Localisé sur le chromosome 18 (18q21.32) et constitue le gène le plus fréquemment impliqué dans les formes monogéniques d'obésité, représentant jusqu'à 5 à 6 % des cas d'obésité sévère précoce (NCBI Gene, 2024 ; AbouHashem et al., 2022). Il code pour le récepteur *MC4R*, situé sur les neurones de second ordre dans le noyau paraventriculaire de l'hypothalamus, où son activation par l' α -MSH (mélanocortine) génère un puissant signal de satiété (NCBI Gene, 2024).

5.4. Le gène *POMC* (Pro-opiomélanocortine)

Localisé sur le chromosome 2 (2p23.3), le gène *POMC* code pour un précurseur polypeptidique qui, après clivage enzymatique, génère plusieurs peptides bioactifs dont l' α -MSH (agoniste du récepteur *MC4R*) et l'ACTH (hormone corticotrope). (NCBI Gene, 2024) Les mutations de *POMC* entraînent un tableau clinique caractéristique associant une obésité hyperphagique précoce, une insuffisance surrénalienne par déficit en ACTH (pouvant engager

le pronostic vital en période néonatale) et parfois une hypopigmentation cutanée. (Farooqi & O'Rahilly, 2014).

5.5. Le gène *CPE* (Carboxypeptidase E)

Le gène *CPE*, localisé sur le chromosome 4 (4q32.3), code pour une enzyme impliquée dans la maturation post-traductionnelle de nombreux peptides, dont l'insuline et les peptides dérivés de la POMC (NCBI Gene, 2024). Bien que rarement décrit, ce gène peut être responsable d'obésité sévère associée à des troubles endocriniens multiples (AbouHashem et al. (2022).

5.6. Le gène *PCSK1* (Proprotéine convertase subtilisine/kexine type 1)

Localisé sur le chromosome 5 (5q15), le gène *PCSK1* code pour la proconvertase 1, une enzyme essentielle au clivage de la POMC en α -MSH. (NCBI Gene, 2024) Les mutations de *PCSK1*, bien que très rares, provoquent une obésité sévère précoce associée à des troubles digestifs majeurs (diarrhée néonatale), une polydipsie et des perturbations endocriniennes multiples (hypogonadisme, insuffisance somatotrope) (Farooqi et al., 2007).

5.7. Le gène *KSR2* (Kinase Suppressor of Ras 2)

Localisé sur le chromosome 12 (12q24.22-q24.23), le gène *KSR2* code pour une protéine *scaffold* impliquée dans la voie MAPK qui module le métabolisme énergétique et la sensibilité à l'insuline (NCBI Gene, 2024). Ses mutations provoquent une obésité sévère précoce associée à une hyperphagie modérée, une résistance à l'insuline et un ralentissement du métabolisme basal (Pearce et al., 2013).

Enfin, d'autres gènes plus rarement impliqués, tels que *BDNF*, *NTRK2*, *SIM1*, *SH2B1* et *MRAP2*, contribuent également à la physiopathologie de l'obésité monogénique. L'identification de ces variants pathogènes souligne l'importance du diagnostic génétique précoce pour une prise en charge adaptée et un conseil génétique approprié.

6. Stratégies thérapeutiques et perspectives de l'obésité monogénique

6.1. Diagnostic génétique : importance et méthodes

Le diagnostic génétique est essentiel dans la prise en charge de l'obésité monogénique car il permet d'identifier la cause précise et d'orienter le traitement. Il est particulièrement indiqué chez les patients présentant une obésité précoce (avant 6 ans) accompagnée d'hyperphagie, ainsi que dans les familles touchées par une obésité héréditaire, notamment dans les familles consanguines (Huvenne et al., 2016 ; Farooqi & O'Rahilly., 2014).

Les principales méthodes utilisées sont le séquençage ciblé par panel de gènes en première intention, qui analyse les gènes connus comme *LEP*, *LEPR*, *MC4R*, *POMC* et *PCSK1*. Cette approche est rapide et relativement économique. En cas de résultats négatifs, le séquençage d'exome entier (*Whole Exome Sequencing*, *WES*) permet d'analyser l'ensemble des régions codantes du génome et de découvrir de nouveaux gènes candidats impliqués dans l'obésité monogénique. Enfin, le séquençage du génome entier (*Whole Genome Sequencing*, *WGS*) est principalement utilisé dans la recherche afin de détecter les variations du nombre de copies (*Copy Number Variations*, *CNV*) et les réarrangements chromosomiques qui peuvent échapper aux autres techniques de séquençage (Dubern et al., 2023 ; Huvenne et al., 2016).

Ce diagnostic génétique présente de nombreux avantages : il permet non seulement de confirmer l'origine génétique de l'obésité, mais aussi d'éviter des examens inutiles, de proposer un conseil génétique à la famille, d'anticiper les complications cliniques potentielles et surtout d'adapter le traitement en fonction du profil génétique du patient, ce qui constitue la base de la médecine de précision (Farooqi & O'Rahilly, 2014 ; Dubern et al., 2023).

6.2. Médecine de précision : adapter le traitement au profil génétique

La médecine de précision représente aujourd'hui une avancée majeure dans la prise en charge de l'obésité monogénique. Cette approche repose sur l'adaptation du traitement en fonction de l'anomalie génétique identifiée chez le patient. Elle permet ainsi de cibler directement les mécanismes physiopathologiques responsables de l'obésité (Dubern et al., 2023).

Chez les patients présentant des mutations du gène *LEP*, responsables d'un déficit congénital en leptine, un traitement substitutif par leptine recombinante humaine (métréleptine) peut être administré. Ce traitement consiste en des injections sous-cutanées quotidiennes permettant de remplacer l'hormone manquante. Les résultats observés sont particulièrement remarquables : une diminution rapide de l'appétit est généralement observée dès les premières semaines de traitement, accompagnée d'une réduction significative du poids corporel et d'une amélioration du comportement alimentaire. Certaines études ont rapporté une perte de poids pouvant atteindre environ 50 % du poids initial après plusieurs années de traitement (Farooqi et al., 1999 ; Farooqi & O'Rahilly, 2014).

Pour les patients présentant des mutations dans les gènes *POMC* ou *LEPR*, le setmélanotide constitue une avancée thérapeutique importante. Ce médicament est un agoniste du récepteur

MC4R qui agit en aval de la voie leptine-mélanocortine, contournant ainsi les anomalies situées en amont de cette voie de signalisation. Administré par injection sous-cutanée quotidienne, il permet de restaurer la sensation de satiété après les repas et de réduire l'hyperphagie. Les essais cliniques de phase III ont montré une perte de poids significative chez environ 80 % des patients présentant un déficit en *POMC* et chez environ 45 % des patients présentant un déficit en *LEPR*, avec une diminution importante de la sensation de faim (Clément et al., 2020). Ce traitement a été approuvé par la FDA et l'EMA entre 2020 et 2021 pour les patients atteints de ces formes rares d'obésité génétique.

En ce qui concerne les mutations du gène *MC4R*, qui représentent la forme la plus fréquente d'obésité monogénique, aucun traitement spécifique ciblant directement ce défaut génétique n'est actuellement approuvé. Bien que le setmélanotide agisse comme agoniste du récepteur MC4R, son efficacité reste limitée chez les patients présentant certaines mutations du gène *MC4R*, notamment lorsque le récepteur est non fonctionnel. Dans ces situations, l'activation pharmacologique du récepteur ne permet pas de restaurer correctement la signalisation de la satiété (Clément et al., 2020 ; Dubern et al., 2023). Cette résistance au traitement s'explique par le fait que le setmélanotide agit en aval du récepteur déficient : si le récepteur lui-même est muté et non fonctionnel, aucun agoniste, même puissant, ne pourra rétablir la signalisation.

6.3. Autres traitements disponibles (approches conventionnelles)

En complément des thérapies ciblées, les approches conventionnelles restent une composante importante de la prise en charge globale de l'obésité monogénique. Ces stratégies incluent principalement les modifications du mode de vie, telles que l'adoption d'une alimentation équilibrée, la réduction de l'apport calorique et l'augmentation de l'activité physique. Cependant, l'efficacité de ces interventions est souvent limitée chez les patients atteints d'obésité monogénique en raison du dysfonctionnement biologique des mécanismes centraux de régulation de l'appétit (Huvenne et al., 2016)

Dans certains cas, des traitements pharmacologiques utilisés dans l'obésité commune peuvent également être prescrits afin d'aider à contrôler l'appétit ou à améliorer le métabolisme énergétique. Ces traitements incluent notamment certains agonistes du GLP-1, qui ont montré une efficacité dans la réduction de l'appétit et la perte de poids chez certains patients. Des études préliminaires chez des patients porteurs de variants *MC4R* suggèrent une efficacité similaire à celle observée chez les non-porteurs, avec une perte de poids d'environ 6 % après 16 semaines de traitement, probablement en raison d'une action à plusieurs niveaux indépendante de la voie

leptine-mélanocortine (Coll, 2018). Cependant, des investigations supplémentaires sont nécessaires avant de considérer cette approche comme un traitement validé pour l'obésité monogénique

Enfin, chez les patients présentant une obésité sévère associée à des complications métaboliques importantes, la chirurgie bariatrique peut être envisagée. Toutefois, son efficacité peut varier en fonction de la cause génétique sous-jacente. Des études ont montré que les patients déficitaires en *MC4R* ne maintiennent pas leur réduction de poids après une chirurgie bariatrique et reprennent leur poids après une courte période. Cette intervention nécessite donc une évaluation médicale approfondie ainsi qu'un suivi multidisciplinaire à long terme (Huvenne et al., 2016).

6.4. Perspectives thérapeutiques

Les recherches actuelles explorent plusieurs voies prometteuses pour améliorer la prise en charge de l'obésité monogénique.

La thérapie génique, encore au stade préclinique, vise à corriger directement la mutation causale en introduisant une copie fonctionnelle du gène déficient. Bien que cette approche soit techniquement complexe, des progrès récents dans les vecteurs viraux et les techniques d'édition génomique (comme CRISPR-Cas9) laissent entrevoir des applications futures potentielles (Dubern et al., 2023).

Le développement de nouvelles molécules ciblées est également en cours. Des agonistes plus spécifiques du récepteur MC4R, capables d'activer même certaines formes mutées du récepteur, sont à l'étude.

Par ailleurs, d'autres voies de signalisation impliquées dans la régulation de l'appétit, comme la voie BDNF/NTRK2 ou le système endocannabinoïde, pourraient constituer de nouvelles cibles thérapeutiques (Baldini & Phelan, 2019).

Les combinaisons thérapeutiques associant plusieurs agents pourraient améliorer l'efficacité des traitements existants. Par exemple, l'association d'un agoniste du GLP-1 avec le setmélanotide pourrait potentialiser les effets sur la perte de poids chez certains patients (Dubern et al., 2023)

Le développement de tests fonctionnels in vitro standardisés permettrait d'évaluer rapidement la pathogénicité des nouveaux variants identifiés et d'orienter les choix thérapeutiques. Des méthodes comme celles proposées par Shah et al. (2023) pour caractériser

fonctionnellement les variants de *LEPR*, *POMC* et *PCSK1* pourraient devenir des outils précieux en routine clinique (Shah et al.,2023).

Enfin, l'identification de nouveaux gènes impliqués dans l'obésité monogénique, comme *DYRK1B* qui n'appartient pas à la voie leptine-mélanocortine, ouvre la voie à de nouvelles cibles thérapeutiques. Une étude récente a montré que les variants pathogènes de *DYRK1B* avec perte de fonction totale sont associés à une obésité monogénique et à un risque accru de diabète de type 2, soulignant l'importance d'explorer d'autres voies moléculaires (Folon et al., 2024). La compréhension des mécanismes biologiques sous-jacents à ces nouvelles formes d'obésité pourrait mener au développement de thérapies personnalisées ciblant spécifiquement les voies perturbées.

MATERIEL ET METHODES

I. Matériel

1. Bases de données

1.1. Genome Aggregation Database (gnomAD)

GnomAD est une base de données internationale qui regroupe et harmonise des données de séquençage d'exomes et de génomes provenant de grandes cohortes de population. Elle constitue une ressource essentielle pour l'étude de la variation génétique humaine, en permettant l'estimation des fréquences alléliques des variants et l'identification de variants rares potentiellement pathogènes (Karczewski et al., 2020).

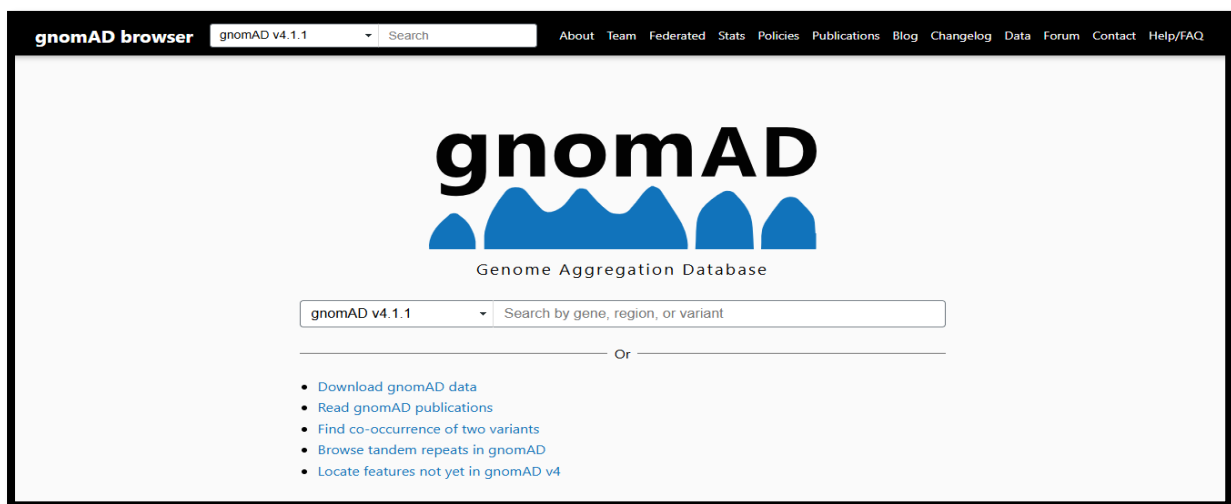


Figure 9: Interface de la Base de données gnomAD.

1.2. ClinVar

ClinVar (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/>) est une base de données publique développée par le *National Center for Biotechnology Information* (NCBI), qui centralise les relations entre les variations génétiques humaines et leurs significations cliniques, accompagnées des preuves associées. Elle regroupe des interprétations de variants issues de laboratoires cliniques et de projets de recherche, facilitant ainsi le partage et l'accès aux informations relatives à leur pathogénicité (Landrum et al., 2018).

Les variants répertoriés dans ClinVar sont classés en cinq catégories principales selon leur signification clinique : pathogène (pathogenic), probablement pathogène (likely pathogenic), de signification incertaine (VUS), probablement bénin (likely benign) et bénin (benign).

- **Pathogenic (pathogène) :** Variant dont l'implication dans la maladie est clairement établie, avec des preuves solides (fonctionnelles, génétiques ou cliniques).

- **Likely pathogenic (probablement pathogène) :** Variant très probablement associé à la maladie, mais pour lequel les preuves disponibles restent encore incomplètes ou limitées.
- **VUS (Variant of Uncertain Significance) :** Variant dont l'impact clinique est incertain en raison d'un manque ou d'une contradiction des données disponibles.
- **Likely benign (probablement bénin) :** Variant probablement sans effet pathologique, avec des indices suggérant son innocuité, mais sans certitude absolue.
- **Benign (bénin) :** Variant considéré comme non pathogène, sans effet sur la fonction du gène ou la santé.

Figure 10: Interface de la Base de données ClinVar.

1.3. Universal Protein Resource (UniProt)

UniProt (<https://www.uniprot.org/>) est une base de données universelle, librement accessible et de haute qualité, fournissant des séquences protéiques accompagnées d'annotations fonctionnelles détaillées. Elle intègre des informations issues de la littérature scientifique ainsi que des données expérimentales et des prédictions bio-informatiques, ce qui en fait une ressource essentielle pour l'étude de la structure et de la fonction des protéines (UniProt Consortium., 2023).

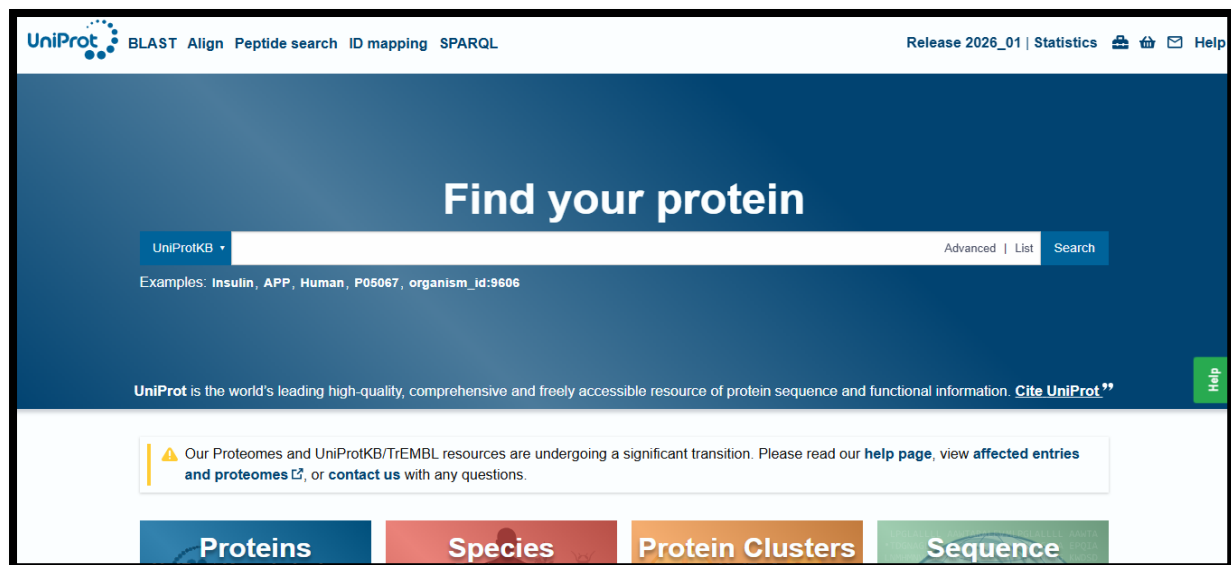


Figure 11: Interface de la Base de données UniProt.

1.4. Ensembl Variant Effect Predictor

Ensembl est une plateforme bio-informatique publique fournissant des génomes annotés ainsi que des outils d'analyse génomique. Elle inclut notamment le Variant Effect Predictor (VEP), qui permet de prédire et d'annoter l'impact fonctionnel des variants génétiques sur les gènes, les transcrits et les protéines (McLaren et al., 2016).

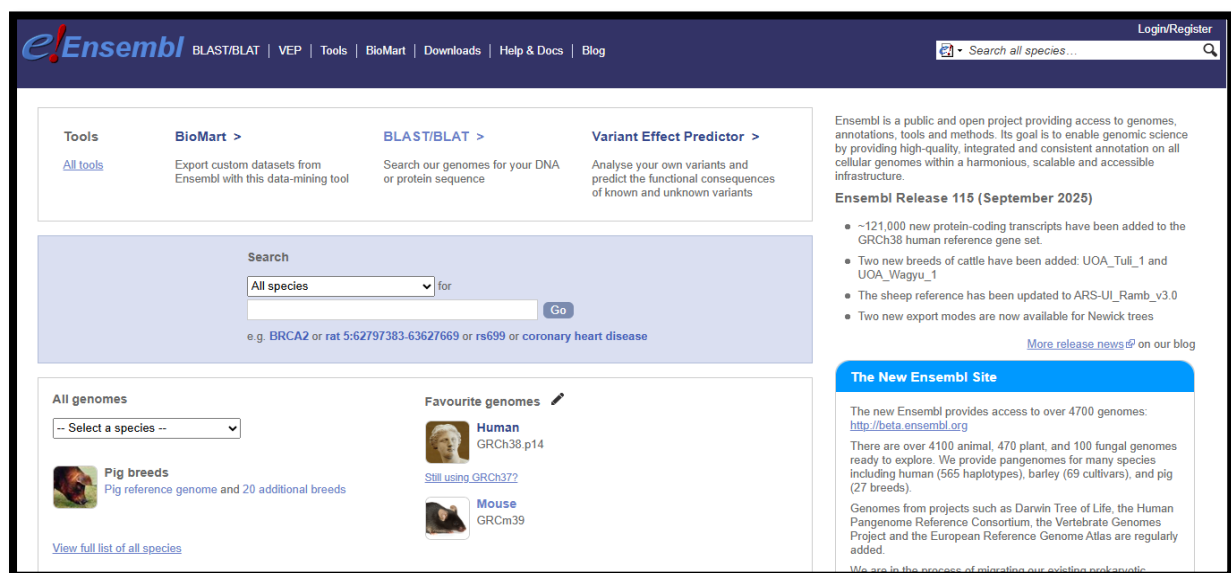


Figure 12: Interface de la Base de données Ensembl.

1.5. AlphaFold

AlphaFold est un système d'intelligence artificielle basé sur le deep learning, développé par Google DeepMind, permettant de prédire la structure tridimensionnelle des protéines à partir de leur séquence en acides aminés. La base de données AlphaFold fournit un accès libre à des millions de structures protéiques prédites avec une haute précision, facilitant ainsi l'étude de l'impact des variants faux-sens au niveau structural (Jumper et al., 2021).

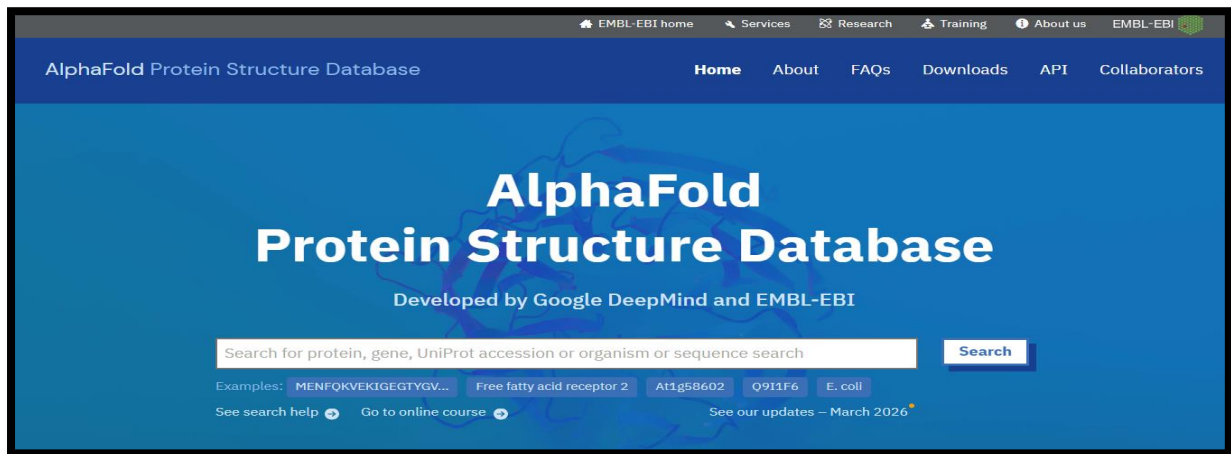


Figure 13: Interface de la Base de données AlphaFold.

2. Outils et logiciels d'analyse *in silico*

2.1. Combined Annotation Dependent Depletion (CADD)

CADD est un outil bio-informatique permettant d'évaluer le caractère délétère des variants génétiques, incluant les substitutions nucléotidiques ainsi que les insertions et délétions. Il repose sur l'intégration de multiples annotations génomiques afin de fournir un score unique (C-score) reflétant l'impact potentiel des variants sur la fonction biologique. Ce score permet de prioriser les variants susceptibles d'être pathogènes dans le génome humain (Kircher et al., 2014).

2.2. Rare exome variant ensemble learner (REVEL)

REVEL est un outil de prédiction de la pathogénicité des variants faux-sens, basé sur une approche d'ensemble intégrant les scores de plusieurs méthodes bio-informatiques, notamment SIFT et PolyPhen-2. Il attribue un score compris entre 0 et 1, les valeurs élevées indiquant une probabilité accrue de pathogénicité. Cet outil a été spécifiquement développé pour l'évaluation des variants faux-sens rares et a montré de bonnes performances dans la distinction entre variants pathogènes et neutres (Ioannidis et al., 2016).

2.3. Sorts intolerant from tolerant (SIFT)

SIFT est un outil bio-informatique permettant de prédire l'impact des variants faux-sens sur la fonction des protéines. Il repose sur l'analyse de la conservation des acides aminés à travers des séquences homologues, en considérant que les positions fortement conservées sont essentielles à la fonction protéique et que leurs substitutions sont susceptibles d'être délétères. Les variants sont classés comme tolérés ou délétères en fonction d'un score variant de 0 à 1. Un score $\leq 0,05$ indique un effet délétère sur la fonction de la protéine (Ng et Henikoff., 2003).

2.4. Polymorphisme phenotyping-2 (PolyPhen-2)

PolyPhen-2 est un outil de prédiction évaluant l'impact des variants faux-sens sur la structure et la fonction des protéines, en se basant sur des caractéristiques structurales et évolutives. Il classe les variants en bénins, possiblement dommageables ou probablement dommageables (Adzhubei et al., 2013).

2.5. Phylogenetic P-values (PhyloP)

PhyloP est un outil du package PHAST permettant de mesurer la conservation ou l'accélération évolutive au niveau de sites nucléotidiques individuels à partir d'alignements de séquences multi-espèces. Il attribue des scores positifs pour les positions conservées et négatifs pour les positions accélérées, reflétant ainsi l'importance fonctionnelle des sites analysés (Pollard et al., 2010).

2.6. SpliceAI

SpliceAI est un outil de prédiction basé sur le Deep Learning permettant d'évaluer l'impact des variants génétiques, y compris les variants faux-sens, sur l'épissage de l'ARN. Il prédit les modifications des sites donneurs et accepteurs d'épissage et attribue un score compris entre 0 et 1, reflétant la probabilité qu'un variant altère le processus d'épissage (Jaganathan et al., 2019).

2.7. Pangolin

Pangolin est un outil basé sur le Deep Learning permettant de prédire l'impact des variants génétiques, y compris les variants faux-sens, sur l'épissage de l'ARN. Il évalue les changements dans la force des sites d'épissage et prédit l'effet des mutations sur l'utilisation des jonctions exon-intron à partir de la séquence d'ADN (Zeng et al., 2022).

2.8. DynaMut2

DynaMut2 est un outil bio-informatique permettant de prédire l'impact des mutations, notamment les variants faux-sens, sur la stabilité et la dynamique des protéines. Il combine des approches d'analyse des mouvements moléculaires (*Normal Mode Analysis*) et des signatures structurales pour estimer les variations d'énergie libre ($\Delta\Delta G$) ainsi que les changements de flexibilité induits par les mutations (Rodrigues et al., 2021).



Figure 14: Interface de DynaMut2.

2.9. Have (y)Ou viewed my Protein? (HOPE)

HOPE est un outil bio-informatique permettant d'analyser l'impact des mutations, notamment les variants faux-sens, sur la structure et la fonction des protéines. Il se base sur des informations structurales, des propriétés physico-chimiques et la conservation des résidus pour générer une interprétation des effets potentiels des mutations (Venselaar et al., 2010).

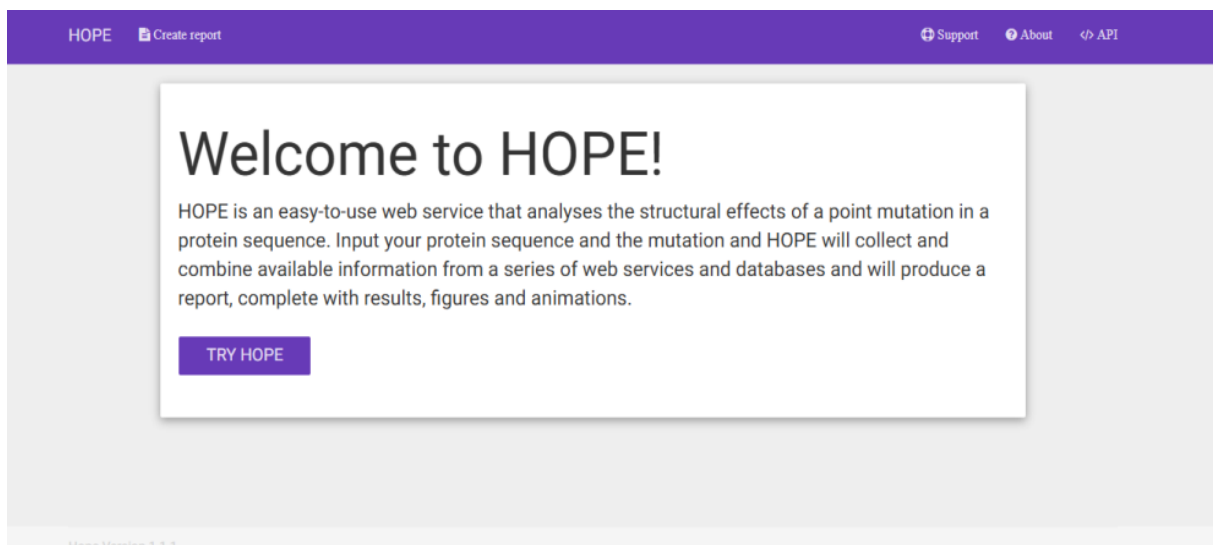


Figure 15: Interface de HOPE.

II. Méthodes

1. Construction de la base de données des variants

Les variants de type faux sens (*missense*) classés comme VUS (*Variants of Uncertain Significance*) pour le gène *KSR2* ont été extraits à partir du navigateur Genome Aggregation Database (v4.1.0) (<https://gnomad.broadinstitute.org/>). Le transcrit de référence MANE Select ENST00000339824.7 a été utilisé pour cette analyse.

Un premier filtrage a été appliqué afin de ne conserver que les variants présentant un statut de qualité PASS et une fréquence allélique mineure (MAF) inférieure à 0,001. Pour chaque variant retenu, les scores de prédiction ont été extraits à partir de gnomAD et de l'outil Ensembl Variant Effect Predictor (<https://www.ensembl.org/index.html>). Les outils utilisés incluent REVEL, CADD, SIFT, PolyPhen-2 et phyloP, ainsi que SpliceAI et Pangolin.

En conséquence, un second filtrage a été réalisé en retenant les variants présentant des scores élevés de pathogénicité, notamment $REVEL > 0,5$, $CADD > 20$, $SIFT \leq 0,05$, $PolyPhen-2 > 0,15$ et $phyloP > 2$ (Tableau 1).

Tableau 1: Critères des filtres appliqués sur les variants du gène *KSR2*

Critère	Seuil appliqué
Type de variant	faux-sens
Statut Clinique	VUS
Qualité	PASS
MAF	< 0,001
REVEL	> 0,5
CADD	> 20
SIFT	$\leq 0,05$
PolyPhen-2	> 0,15
PhyloP	> 2

Par ailleurs, le Z-score faux-sens, spécifique à chaque gène, a également été pris en compte. Ce score reflète le degré de tolérance d'un gène aux mutations de type faux-sens, en comparant le nombre observé de variants au nombre attendu. Une valeur élevée (généralement $Z\text{-score} > 3$) indique que le gène est intolérant aux mutations faux-sens, suggérant que ces variants sont susceptibles d'avoir un impact fonctionnel important, tandis qu'une valeur faible traduit une meilleure tolérance aux variations.

2. Prédiction structurale et dynamique des mutations

Les structures tridimensionnelles de la protéine KSR2 (UniProt Q6VAB6) ont été obtenues à partir de la base de données AlphaFold (<https://alphafold.ebi.ac.uk/>) au format .pdb.

Les effets des mutations sur la stabilité et la flexibilité des protéines ont été initialement évalués à l'aide du serveur web DynaMut2 (<https://biosig.lab.uq.edu.au/dynamut2/>). Pour chaque variant, la mutation a été introduite selon le format standard (par exemple R82C), permettant de calculer la variation d'énergie libre de stabilité ($\Delta\Delta G$).

Dans un premier temps, un filtrage a été appliqué sur la base des valeurs de $\Delta\Delta G$, en ne retenant que les mutations présentant un effet déstabilisant ($\Delta\Delta G < 0$), tandis que les mutations à effet stabilisant ($\Delta\Delta G$ positif) ont été exclues de l'analyse ultérieure.

Les mutations sélectionnées ont ensuite été soumises à une analyse complémentaire à l'aide de l'outil DynaMut (<https://biosig.lab.uq.edu.au/dynamut/>), afin d'évaluer les variations de l'entropie vibrationnelle ($\Delta\Delta S$) et d'analyser les modifications de la flexibilité protéique.

Une visualisation tridimensionnelle des mutations a également été réalisée afin d'analyser leur localisation dans la structure protéique.

3. Analyse qualitative et fonctionnelle des variants

L'impact fonctionnel des mutations a été étudié à l'aide du serveur web HOPE (<https://www3.cmbi.umcn.nl/hope/input/>). Pour chaque mutation, cet outil a permis d'analyser les modifications des propriétés physico-chimiques, notamment la charge, la taille et l'hydrophobicité des acides aminés, ainsi que le degré de conservation évolutive des résidus affectés. Il a également fourni des informations sur la localisation des mutations au sein des domaines fonctionnels.

4. Compilation et priorisation des variants

L'ensemble des données collectées, incluant les fréquences alléliques, les scores *in silico*, ainsi que les valeurs de $\Delta\Delta G$ et $\Delta\Delta S$ et les résultats de l'analyse HOPE, a été compilé dans un tableur Microsoft Excel. Une harmonisation du format des données a été réalisée afin d'assurer une analyse cohérente des données. Une stratégie de reclassification des variants selon les scores prédictifs a ensuite été appliquée afin de distinguer les variants selon leur impact fonctionnel. Cette reclassification a été réalisée en complément des critères de filtrage

MATERIEL ET METHODES

précédemment appliqués, en se basant principalement sur les paramètres structuraux et fonctionnels.

Ainsi, les variants ont été classés en fonction de leur effet déstabilisant ($\Delta\Delta G$), des modifications de la flexibilité ($\Delta\Delta S$) ainsi que des résultats de l'analyse HOPE.

Les mutations présentant un effet fortement déstabilisant ($\Delta\Delta G < -1$ kcal/mol), associé à des altérations structurales majeures et à des prédictions concordantes issues de l'analyse HOPE, ont été classées comme ayant un effet délétère fort. Celles présentant un effet déstabilisant modéré ($-1 \leq \Delta\Delta G < -0,4$ kcal/mol), généralement associé à des perturbations structurales limitées, ont été classées comme ayant un effet délétère modéré.

Enfin, les variants ne montrant pas de modifications significatives des paramètres structuraux et énergétiques ont été classés comme effet incertain (**Tableau 2**). Cependant, les cas intermédiaires ou présentant des résultats discordants ont été classés comme effet délétère léger.

Tableau 2 : Reclassification des variants selon les paramètres structuraux et énergétiques ($\Delta\Delta G$, $\Delta\Delta S$ et HOPE)

	Effet délétère fort	Effet délétère modéré	Effet incertain
$\Delta\Delta G$ (DynaMut)	< -1 kcal/mol	< -0.4 kcal/mol	> -0.4 kcal/mol
$\Delta\Delta S$ ENCoM	$\neq 0$	$\neq 0$	≈ 0
Perte de pont salin	Oui	Oui/ partiel	Non
Changement de charge	Oui (+, - $\rightarrow$ 0)	Oui (+, - $\rightarrow$ 0)	Non (neutre $\rightarrow$ neutre)
Changement taille	Radical (petit $\leftrightarrow$ grand)	Radical	Modéré
Domaine fonctionnel	Oui (kinase, N-terminal)	Oui	Non ou moins critique

RESULTATS ET DISCUSSION

I. Résultats

1. Résultats de la collecte et du filtrage des variants du gène KSR2

Comme illustré dans la **Figure 16**, le gène *KSR2* contient 873 variants faux sens, 477 variants synonymes et 23 variants pLoF selon le transcrit MANE Select (ENST00000339824.7).

Les Z-scores associés à ces variants, calculés par gnomAD, reflètent la tolérance évolutive du gène *KSR2*. Pour les variants synonymes, le Z-score est de 0,97, ce qui suggère une bonne tolérance à ce type de variation. En revanche, les variants missense présentent un Z-score élevé de 4,18, traduisant une contrainte évolutive importante et une faible tolérance du gène aux substitutions d'acides aminés. Enfin, les variants pLoF (perte de fonction) montrent la plus forte intolérance avec un score pLI = 1, confirmant que ces mutations rares sont très sévèrement contre-sélectionnées (**Figure 16**).

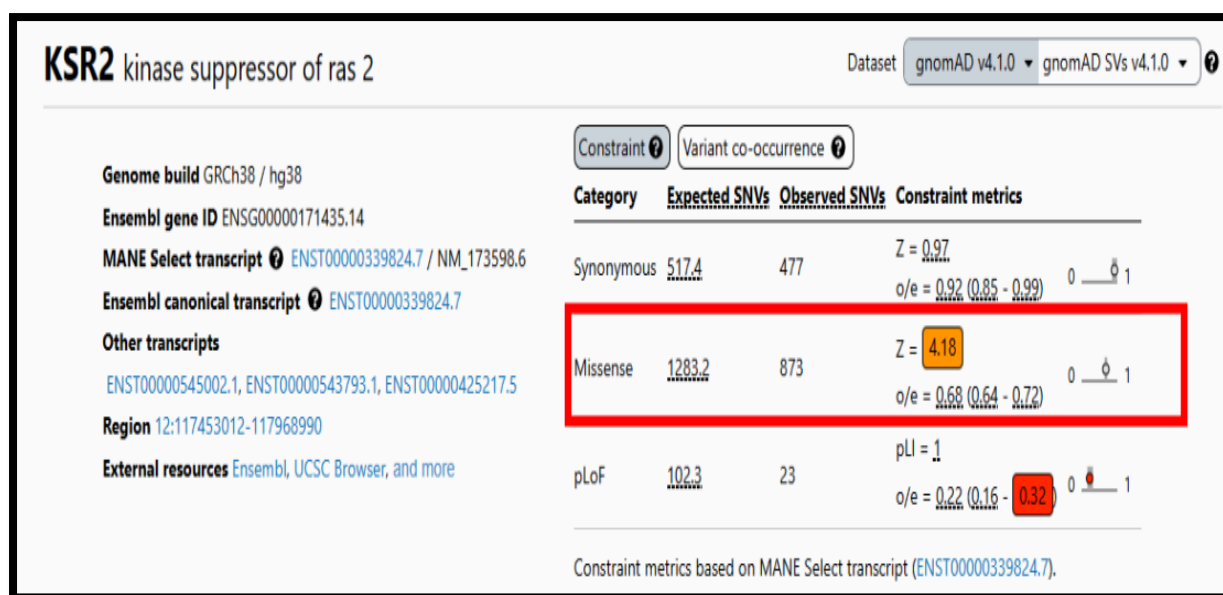


Figure 16: Résultats des mutations de *KSR2* et leurs Z scores correspondants dans gnomAD (gnomAD v4.1.0, 2025).

RESULTATS ET DISCUSSION

À partir de la base de données gnomAD v4.1.0, nous avons collecté un total de **157 variants faux sens classés VUS** pour le gène *KSR2*. Après application d'un premier filtre basé sur la sélection des variants de type faux-sens classés comme VUS, ainsi que sur le statut de qualité PASS et une fréquence allélique mineure faible ($MAF < 0,001$), le nombre de variants a été réduit à **96 variants**.

Un second filtre, fondé sur les scores de prédiction *in silico* obtenus à partir des bases de données gnomAD et de l'Ensembl Variant Effect Predictor (REVEL, CADD, SIFT, PolyPhen-2, phyloP, SpliceAI et Pangolin), a permis de retenir **28 variants** présentant un fort potentiel pathogène (**Figure 17**).

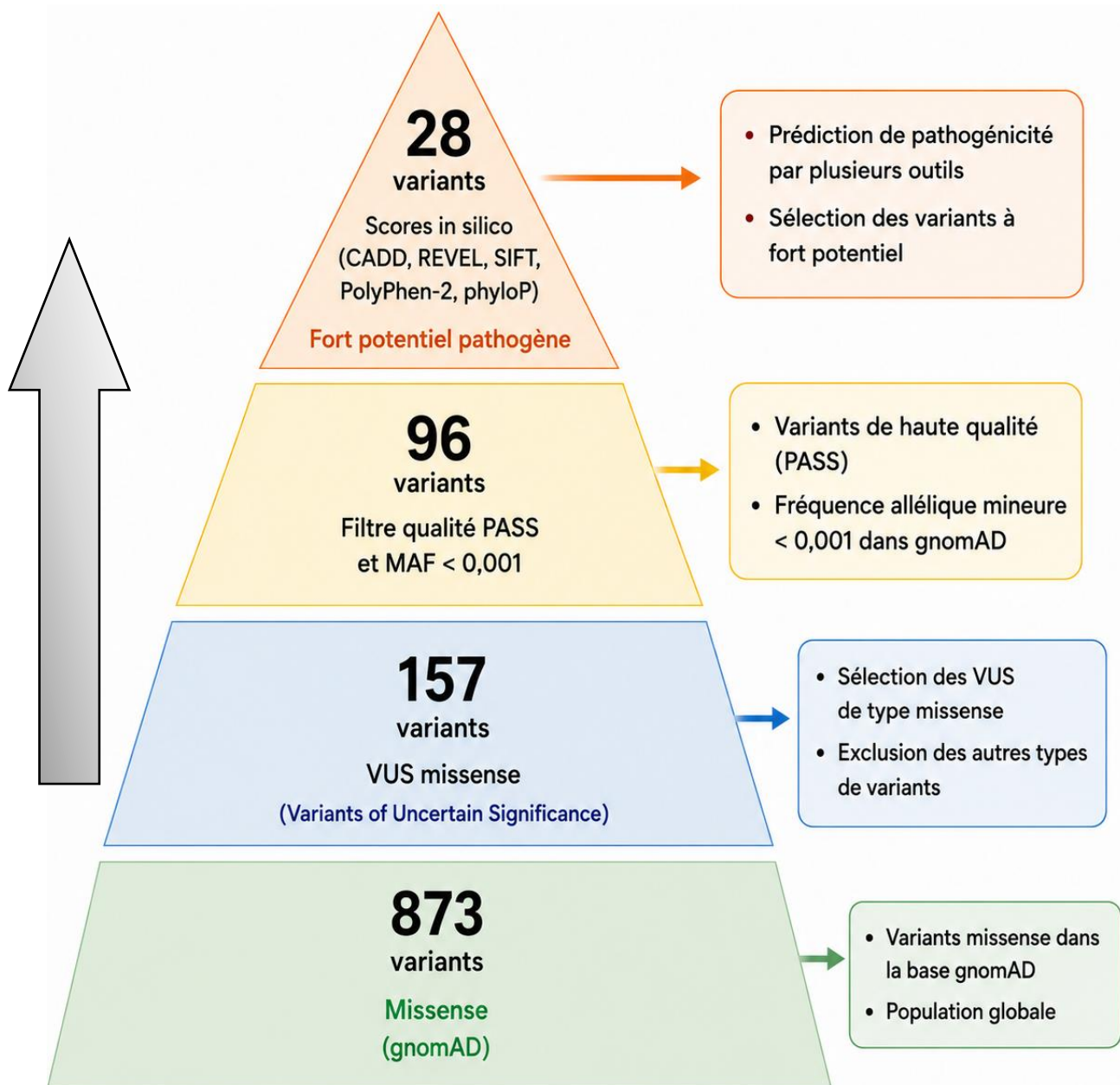


Figure 17:Pyramide de sélection et de reclassification des variants du gène *KSR2*

RESULTATS ET DISCUSSION

Comme illustré sur la **Figure 18**, l'analyse de ces **28 variants** du gène *KSR2* montre que **100 %** présentent un score CADD supérieur à 20, dont 5 variants (17,9 %) dépassent 30, indiquant un fort impact fonctionnel.

Concernant le score REVEL, **20 variants** (71,4 %) présentent des valeurs supérieures à 0,5, dont **8 variants** (28,6 %) dépassent 0,75, suggérant une forte probabilité de pathogénicité, tandis que **8 variants** (28,6 %) présentent des valeurs inférieures à 0,5.

Les prédictions de SIFT montrent que **27 variants** (96,4 %) présentent un score $\leq 0,05$ et sont donc classés comme délétères, tandis qu'un **seul variant** (3,6 %) présente un score supérieur à 0,05 et est considéré comme toléré.

Les prédictions de PolyPhen-2 révèlent que **23 variants** (82,1 %) présentent un score supérieur à 0,85, indiquant qu'ils sont probablement délétères, tandis que **5 variants** (17,9 %) sont classés comme possiblement délétères.

Par ailleurs, les scores phyloP indiquent que 100 % des variants sont localisés dans des régions conservées (>2), dont **21 variants** (75 %) dans des régions hautement conservées (>5), reflétant leur importance structurale et fonctionnelle (**Figure 18**).

Dans l'ensemble, la concordance de ces différents scores confirme le fort potentiel pathogène des variants sélectionnés sur le gène *KSR2*.

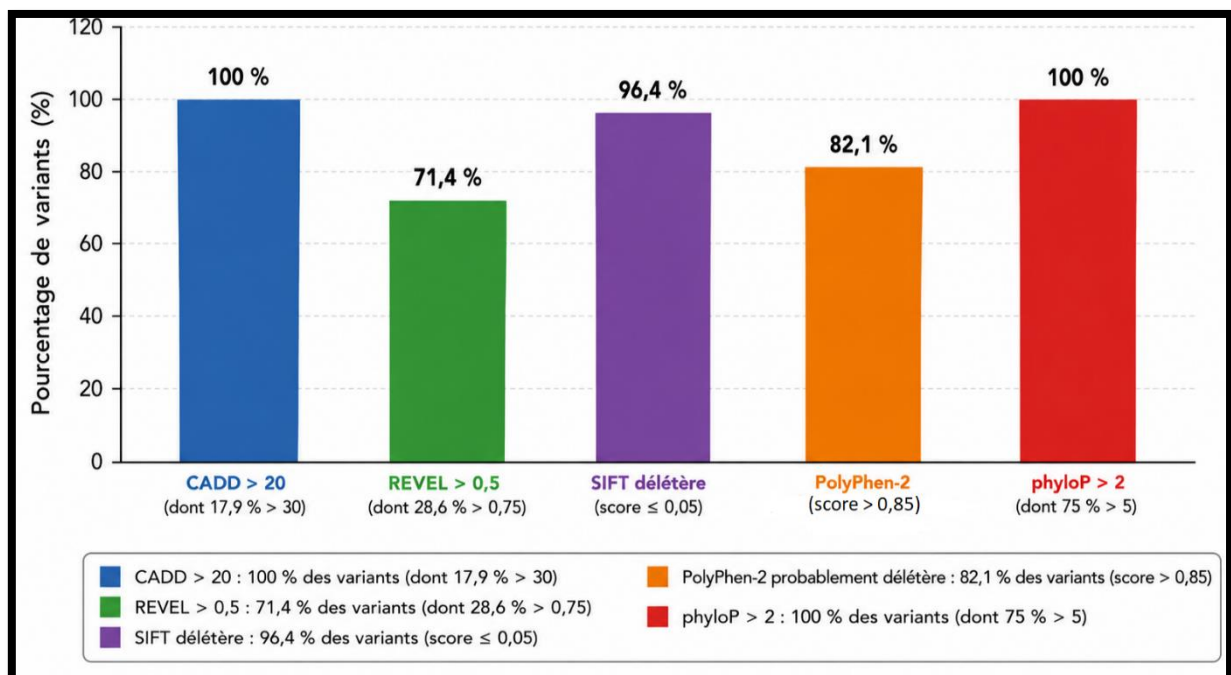


Figure 18: Histogramme qui représente les résultats des scores de prédiction in silico pour les 28 variantes sélectionnées du gène *KSR2*

2. Résultats de Prédiction structurale et dynamique des mutations

Les 28 variants faux-sens sélectionnés ont été analysés à l'aide de DynaMut2 afin d'évaluer leur effet sur la stabilité protéique. Après un filtre basé sur le $\Delta\Delta G$, 21 variants déstabilisants ($\Delta\Delta G < 0$) ont été retenus pour une analyse complémentaire avec DynaMut, permettant l'évaluation des variations de l'entropie vibrationnelle ($\Delta\Delta S$).

L'analyse structurale de ces 21 variants du gène *KSR2* montre que 100 % des mutations présentent un effet déstabilisant ($\Delta\Delta G < 0$). Parmi elles, **un seul variant** (4,8 %) présente un effet fortement déstabilisant ($\Delta\Delta G < -1$), tandis que les **20 variants** restants (95,2 %) montrent un effet modéré ($-1 < \Delta\Delta G < 0$) (**Figure 19**).

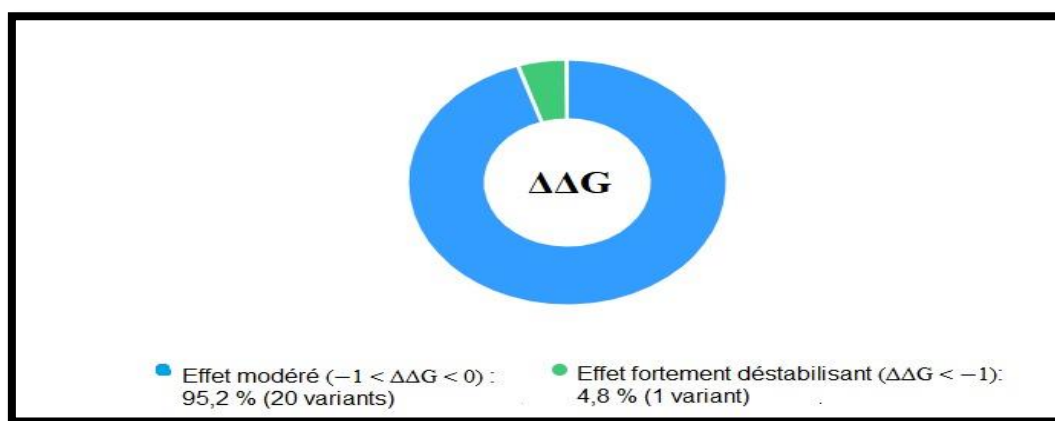


Figure 19: Diagramme circulaire qui représente la répartition des effets des variants sur la stabilité protéique selon la valeur de $\Delta\Delta G$.

Concernant la dynamique protéique, **11 variants** (52,4 %) induisent une rigidification de la structure, alors que **10 variants** (47,6 %) entraînent une augmentation de la flexibilité (**Figure 20**).

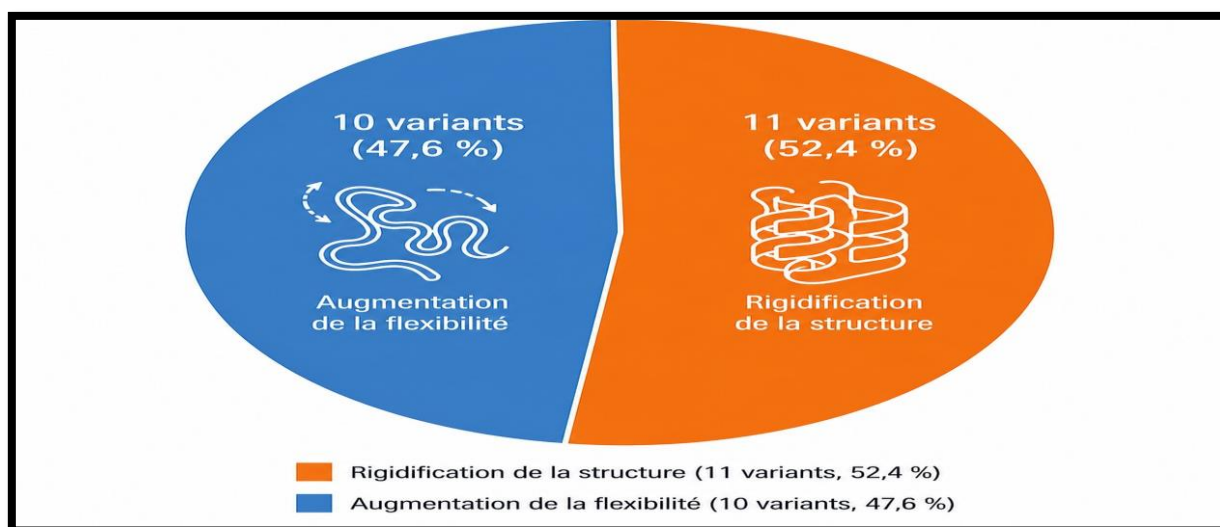


Figure 20: Diagramme circulaire qui représente la répartition des effets des variants sur la dynamique protéique.

RESULTATS ET DISCUSSION

L'analyse des interactions moléculaires montre que la perte de ponts salins constitue l'altération la plus fréquente, observée chez **8 variants** (38,1 %). Cinq variants supplémentaires (23,8 %) présentent simultanément une perte de ponts salins et un gain de liaisons hydrogène. En outre, **4 variants** (19,0 %) montrent uniquement un gain de liaisons hydrogène, tandis qu'**un seul variant** (4,8 %) présente à la fois un gain de pont salin et un gain de liaisons hydrogène. Dans l'ensemble, ces résultats indiquent que les mutations étudiées modifient les interactions intra-protéiques impliquées dans le maintien de la structure tridimensionnelle de KSR2 (**Figure 21**).

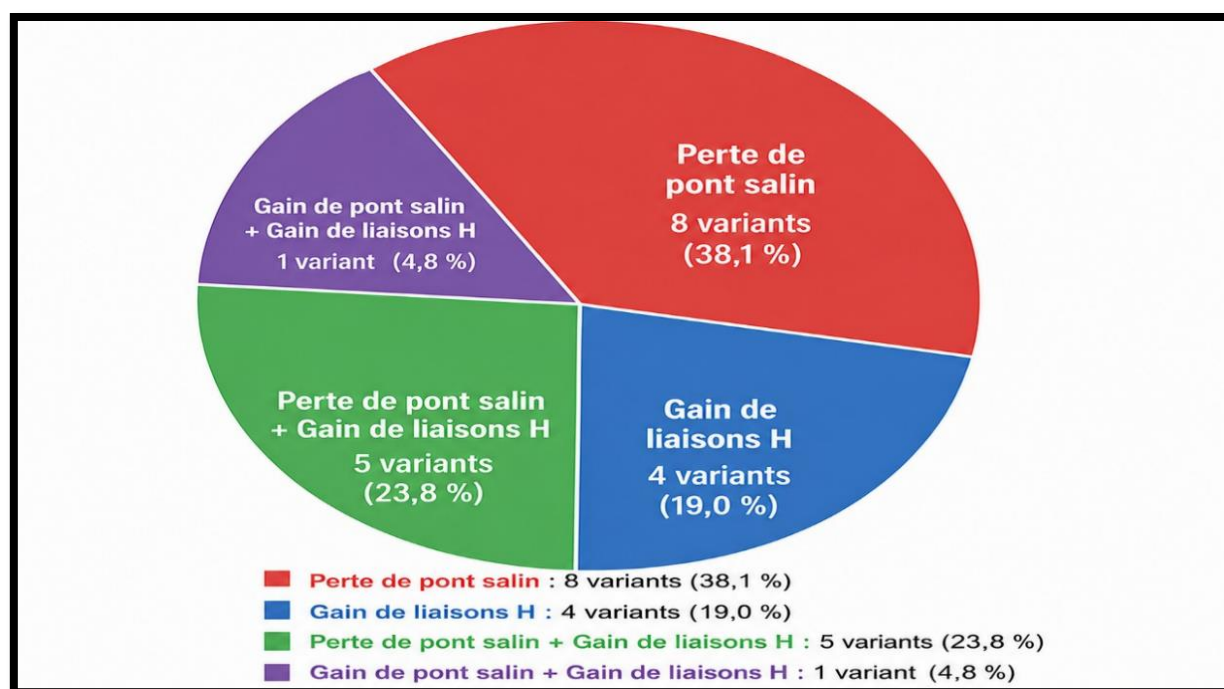


Figure 21: Diagramme circulaire qui représente l'effet des variants sur les interactions intra-protéiques (ponts salins et liaisons H).

3. Résultats de l'analyse qualitative et fonctionnelle des variants

L'analyse qualitative des **21 variants** du gène *KSR2* à l'aide de l'outil HOPE révèle des modifications importantes des propriétés physico-chimiques des acides aminés. Concernant la charge, **12 variants** (57,1 %) présentent un changement de charge positive à neutre, **un variant** (4,8 %) passe d'une charge négative à neutre, et **un variant** (4,8 %) passe d'une charge neutre à positive. Les **7 variants** restants (33,3 %) ne montrent aucun changement de charge et restent neutres (**Figure 22**).

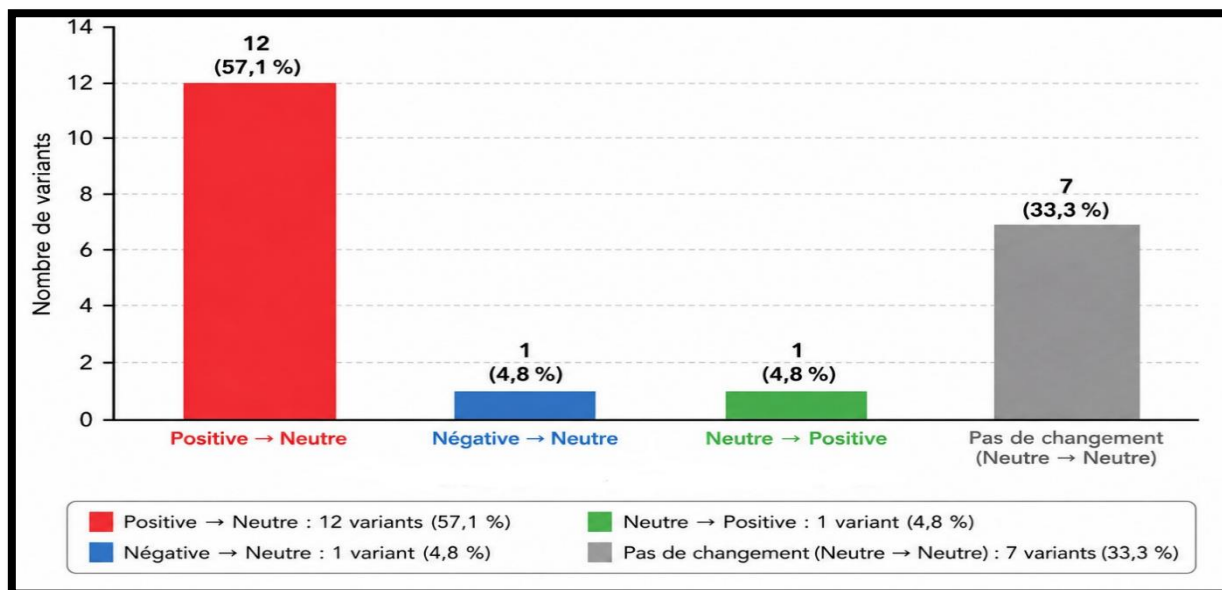


Figure 22: Histogramme qui représente l'effet des variants du gène *KSR2* sur la charge des acides aminés

En ce qui concerne la taille, **11 variants** (52,4 %) montrent une diminution de la taille de l'acide aminé, tandis que **10 variants** (47,6 %) présentent une augmentation de taille (**Figure 23**).

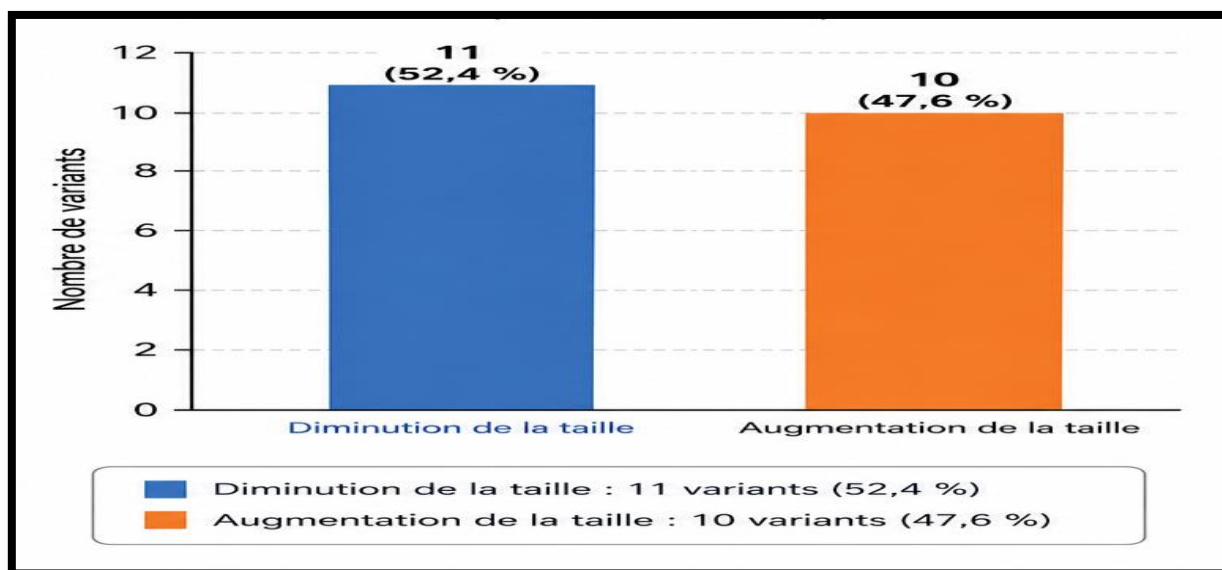


Figure 23: Histogramme qui représente l'effet des variants du gène *KSR2* sur la taille des acides aminés.

RESULTATS ET DISCUSSION

Pour l'hydrophobicité, **20 variants** (95,2 %) présentent un changement, contre un seul variant (4,8 %) qui ne montre aucun changement. Parmi ces **20 variants**, **9 variants** (42,9 %) passent d'hydrophile à neutre, **5 variants** (23,8 %) passent d'hydrophile à hydrophobe, **3 variants** (14,3 %) passent de neutre à polaire, **2 variants** (9,5 %) passent d'hydrophobe à polaire, et **1 variant** (4,8 %) passe de neutre à hydrophile (**Figure 24**).

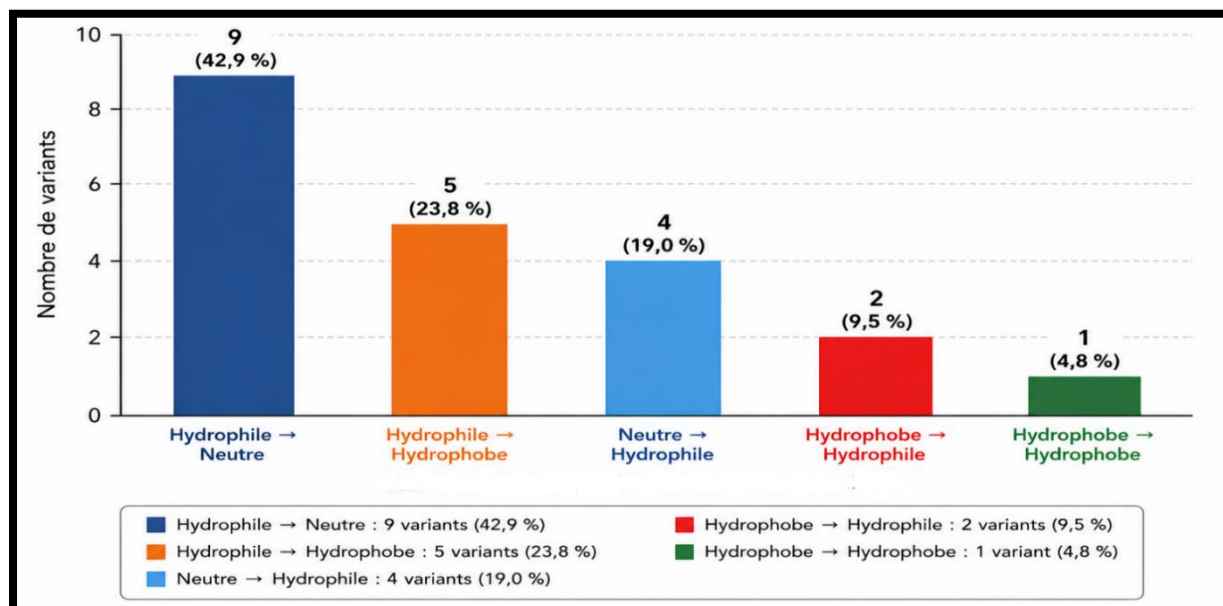


Figure 24: Histogramme qui représente l'effet des variants du gène *KSR2* sur l'hydrophobicité des acides aminés.

Par ailleurs, **10 variants** (47,6 %) sont localisés dans le domaine kinase, **3 variants** (14,3 %) dans le domaine Protein Kinase-Like, **3 variants** (14,3 %) dans le domaine N-terminal helical hairpin, **2 variants** (9,5 %) dans le domaine C1-Like, et les **variants restants** sont répartis dans SAM-like, la région C-terminale et une région désordonnée (**Figure 25**).

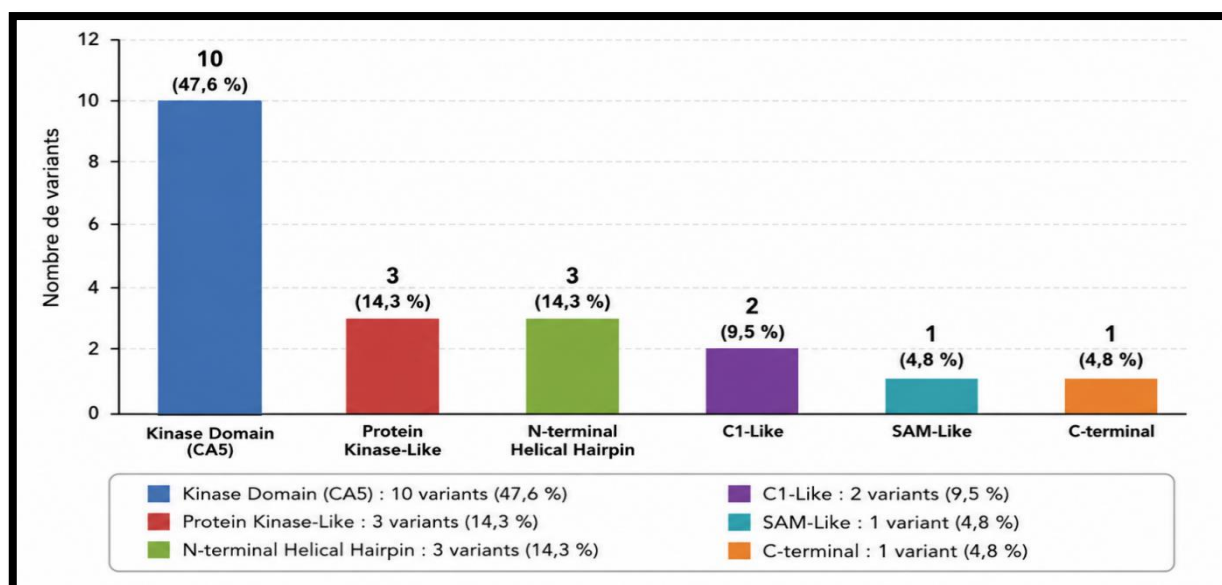


Figure 25: Histogramme qui représente la distribution des 21 variants VUS dans les différents domaines fonctionnels de la protéine *KSR2*.

4. Résultats de la compilation et priorisation des variants

L'ensemble des données obtenues a été compilé et harmonisé, permettant une analyse comparative des variants sur la base de leurs paramètres structuraux et fonctionnels. Une reclassification a ensuite été réalisée en fonction des valeurs de $\Delta\Delta G$, $\Delta\Delta S$ ainsi que des résultats de l'analyse HOPE. Ainsi, les 21 variants du gène *KSR2* ont été reclassés en différentes catégories (pathogènes, peu pathogène et VUS), selon leur effet sur la stabilité protéique et les altérations structurales observées. Les variants ont été reclassés par ordre décroissant de pathogénicité. Un seul variant (4,8 %) a été classé comme ayant un effet délétère fort. En revanche, 8 variants (38,1 %) présentent un effet délétère modéré.

Par ailleurs, 4 variants (19,0 %) ont été classés comme ayant un effet délétère léger, tandis que 8 variants (38,1 %) demeurent d'effet incertain (**Figure 26**).

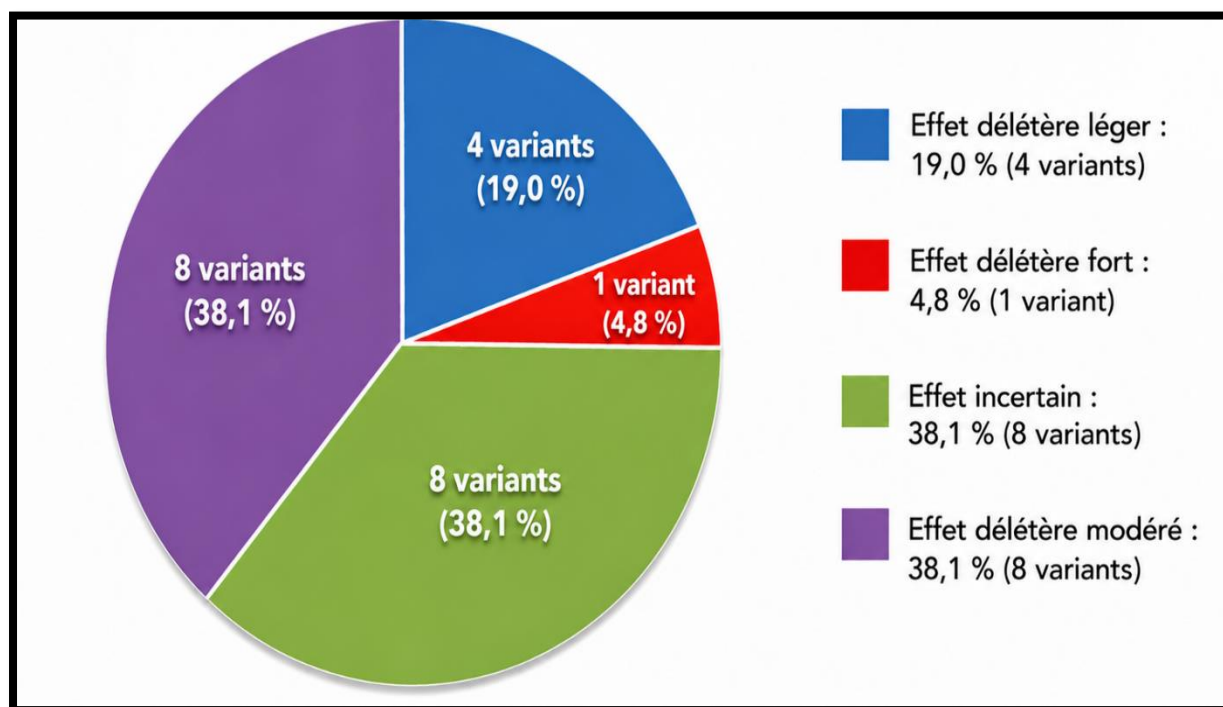


Figure 26: Diagramme circulaire qui représente la reclassification des 21 variants du gène *KSR2*.

Cette distribution met en évidence un sous-ensemble de variants à fort potentiel délétère, caractérisés par des effets structuraux et fonctionnels convergents. Dans l'ensemble, cette reclassification permet d'identifier les variants les plus pertinents pour des analyses fonctionnelles ultérieures.

II. Discussion

L'objectif principal de notre étude était de réévaluer le statut fonctionnel des variants VUS du gène *KSR2* en combinant plusieurs approches complémentaires de prédiction *in silico*. Bien que *KSR2* soit reconnu comme un acteur clé du métabolisme énergétique grâce à son rôle de protéine d'échafaudage dans les voies de signalisation MAPK cascade et AMPK (Pearce et al., 2013 ; Costanzo-Garvey et al., 2009), aucune étude n'avait encore été consacrée à l'analyse structurale et dynamique de ses variants rares de signification incertaine. Les travaux précédents se sont principalement focalisés sur des variants rares fortement délétères associés à des phénotypes d'obésité monogénique (Revelli et al., 2011 ; Gomez et al., 2022).

Le rôle de *KSR2* dans l'obésité monogénique s'explique par son implication directe dans la régulation de l'équilibre énergétique. Exprimé notamment au niveau de l'hypothalamus, *KSR2* intervient dans la signalisation de la leptine et dans l'activation de la voie AMPK, essentielle au contrôle de la dépense énergétique. Des mutations de ce gène ont été associées à une hyperphagie, une diminution du métabolisme basal et une résistance à l'insuline (Pearce et al., 2013). Ces altérations résultent d'une perturbation des voies de signalisation intracellulaire, notamment la MAPK cascade, conduisant à un déséquilibre énergétique favorisant l'accumulation de masse grasse.

Dans ce contexte, notre approche repose sur une stratégie intégrative combinant plusieurs outils complémentaires de prédiction. Les scores de pathogénicité (REVEL, CADD, SIFT, PolyPhen-2), les analyses de stabilité protéique (DynaMut2) ainsi que les évaluations structurales (HOPE) ont permis une caractérisation approfondie des variants étudiés. Cette méthodologie s'inscrit dans les recommandations récentes visant la réinterprétation des VUS dans les maladies génétiques rares (Landrum et al., 2018).

Dans cette étude, l'analyse des 21 variants VUS a montré que la majorité d'entre eux présentent des effets délétères sur la stabilité et la structure de *KSR2*. Les valeurs de $\Delta\Delta G$ indiquent une tendance globale à la déstabilisation protéique, suggérant une altération du repliement et des interactions moléculaires. Ce qui peut compromettre la fonction de *KSR2*.

Par ailleurs, la localisation des variants au sein des domaines fonctionnels apparaît comme un élément déterminant. Près de la moitié des variants (47,6 %) sont localisés dans le domaine kinase, tandis que d'autres se répartissent dans des domaines structuraux tels que Protein Kinase-Like, C1-like et N-terminal. Cette distribution indique que la majorité des altérations affecte des régions critiques pour la fonction de la protéine. Bien que le domaine kinase de

RESULTATS ET DISCUSSION

KSR2 soit catalytiquement inactif, il joue un rôle essentiel dans la fonction d'échafaudage en servant de plateforme d'interaction pour les protéines RAF, MEK et ERK (Brennan et al., 2011 ; Pearce et al., 2013). Ainsi, les mutations affectant cette région peuvent altérer la conformation tridimensionnelle de la protéine et perturber l'assemblage du complexe KSR2–RAF–MEK–ERK, entraînant une dérégulation de la signalisation MAPK.

En raison de la conservation structurale du domaine kinase de KSR2 avec d'autres protéines de la même famille, notamment RAF et MEK, une comparaison avec ces kinases constitue une approche pertinente pour interpréter l'impact des mutations identifiées. Des études ont montré que des mutations localisées dans le domaine kinase de protéines telles que BRAF ou MAP2K1 entraînent des altérations fonctionnelles majeures, en perturbant l'activité enzymatique ou les interactions protéiques (Davies et al., 2002 ; Emery et al., 2009). Dans ce contexte, la concentration des variants dans le domaine kinase de KSR2 observée dans notre étude suggère que ces mutations pourraient induire des effets similaires, notamment une perturbation des interactions protéiques au sein de la voie MAPK. Ainsi, malgré son statut de pseudo kinase, KSR2 pourrait être fortement affecté par des altérations dans cette région conservée.

En complément, certains variants sont localisés dans le domaine C1-like, impliqué dans l'ancrage membranaire et la localisation subcellulaire de la protéine. Les altérations dans cette région pourraient perturber la distribution intracellulaire de KSR2 et affecter son activité biologique (Martin-Vega & Cobb, 2023).

L'analyse structurale a également mis en évidence que plusieurs variants entraînent une perte de ponts salins, interactions électrostatiques essentielles au maintien de la conformation tridimensionnelle des protéines (Kumar & Nussinov, 2002). De plus, les modifications des propriétés physicochimiques (charge, taille, hydrophobicité) peuvent perturber les interactions intra-protéiques et le repliement de la protéine (Betts & Russell, 2003). Les résultats obtenus avec HOPE confirment ces observations en mettant en évidence des conflits stériques et la perte d'interactions essentielles (Venselaar et al., 2010).

Dans cette perspective, nos résultats peuvent être interprétés à la lumière des recommandations de *l'American College of Medical Genetics and Genomics* (ACMG), qui propose des lignes directrices standardisées pour la classification des variants génétiques en cinq différentes catégories ou classes (pathogène, probablement pathogène, VUS, probablement bénin et bénin) (Richards et al., 2015). La concordance des prédictions issues de plusieurs outils bio-informatiques, associée à la localisation des variants dans des domaines fonctionnels

RESULTATS ET DISCUSSION

critiques, constitue un argument en faveur de leur reclassification selon ces critères, notamment le critère de preuve computationnelle (PP3) de la grille des critères d'ACMG. Ainsi, plusieurs variants ont pu être reclassifiés comme probablement pathogènes, contribuant à réduire l'incertitude diagnostique associée aux VUS.

Limites de l'étude

Cette étude repose exclusivement sur des approches *in silico*. L'absence d'études expérimentales s'explique notamment par la complexité fonctionnelle de KSR2, qui agit comme une enzyme pseudo kinase et protéine d'échafaudage, rendant les analyses *in vitro* plus difficiles à mettre en œuvre. Néanmoins, des études *in vitro* seraient essentielles pour valider l'impact fonctionnel des variants identifiés. De plus, l'absence de données cliniques limite les corrélations génotype–phénotype.

CONCLUSION

En conclusion, cette étude a permis de mettre en évidence l'importance des approches *in silico* dans l'analyse des variants génétiques, en particulier ceux classés comme variants de signification incertaine (VUS). L'identification et la caractérisation des variants du gène *KSR2* ont montré que plusieurs d'entre eux pourraient avoir un impact potentiel sur la structure et la fonction de la protéine, notamment à travers des effets délétères prédits par différents outils bio-informatiques tels que SIFT, PolyPhen-2 et CADD.

Les résultats obtenus suggèrent que ces variants pourraient perturber les mécanismes de régulation du métabolisme énergétique, contribuant ainsi au développement de l'obésité monogénique et des troubles métaboliques associés. Bien que ces analyses reposent sur des prédictions informatiques, elles offrent une première évaluation précieuse permettant de prioriser les variants les plus susceptibles d'être pathogènes.

Cependant, cette étude présente certaines limites, notamment l'absence de validation expérimentale *in vitro* ou *in vivo* sur modèles animaux, ce qui rend nécessaire la réalisation de travaux complémentaires afin de confirmer l'impact fonctionnel réel de ces variants.

Ainsi, cette étude souligne l'intérêt des outils bio-informatiques dans l'interprétation des données génétiques et ouvre des perspectives pour des recherches futures visant à mieux comprendre le rôle des variants du gène *KSR2* dans l'obésité monogénique, et à améliorer leur prise en charge dans un contexte clinique.

Perspectives

Des études fonctionnelles *in vitro* et *in vivo* supplémentaires sont nécessaires afin de confirmer l'impact biologique des variants identifiés. L'intégration de données cliniques et phénotypiques permettrait d'affiner leur classification. À long terme, ces travaux pourraient contribuer au développement de stratégies de médecine de précision ciblant *KSR2* dans l'obésité monogénique.

REFERENCES

REFERENCES

1. AbouHashem, N., Al-Shafai, K., & Al-Shafai, M. (2022a). The genetic elucidation of monogenic obesity in the Arab world: a systematic review. *Journal of pediatric endocrinology & metabolism : JPEM*, 35(6), 699–707. <https://doi.org/10.1515/jpem-2021-0710>
2. AbouHashem, N., Zaied, R. E., Al-Shafai, K., Nofal, M., Syed, N., & Al-Shafai, M. (2022b). The Spectrum of Genetic Variants Associated with the Development of Monogenic Obesity in Qatar. *Obesity facts*, 15(3), 357–365. <https://doi.org/10.1159/000521851>
3. Abu-Rub, L. I., Al-Barazengi, T., Abiib, S., Hammad, A. S., Abbas, A., Hussain, K., & Al-Shafai, M. (2024). Identification of KSR2 Variants in Pediatric Patients with Severe Early-Onset Obesity from Qatar. *Genes*, 15(8), 966. <https://doi.org/10.3390/genes15080966>
4. Adzhubei, I., Jordan, D. M., & Sunyaev, S. R. (2013). Predicting functional effect of human missense mutations using PolyPhen-2. *Current protocols in human genetics*, Chapter 7, Unit7.20. <https://doi.org/10.1002/0471142905.hg0720s76>
5. Alfalogy, E., & Hariri, N. H. (2025). Prevalence, awareness, attitudes, practices, and associated factors of obesity among adults in Makkah, Saudi Arabia. *The Journal of the Egyptian Public Health Association*, 100(1), 9. <https://doi.org/10.1186/s42506-025-00189-9>
6. Althumiri, N. A., Bindhim, N. F., Al-Rayes, S. A., & Alumran, A. (2024). Mapping Obesity Trends in Saudi Arabia: A Four-Year Description Study. *Healthcare (Basel, Switzerland)*, 12(20), 2092. <https://doi.org/10.3390/healthcare12202092>
7. Apovian C. M. (2016). Obesity: definition, comorbidities, causes, and burden. *The American journal of managed care*, 22(7 Suppl), s176–s185.
8. Arora, S., & Anubhuti (2006). Role of neuropeptides in appetite regulation and obesity--a review. *Neuropeptides*, 40(6), 375–401. <https://doi.org/10.1016/j.npep.2006.07.001>
9. Baldini, G., & Phelan, K. D. (2019). The melanocortin pathway and control of appetite-progress and therapeutic implications. *The Journal of endocrinology*, 241(1), R1–R33. <https://doi.org/10.1530/JOE-18-0596>
10. Baron, M., Froguel, P., & Bonnefond, A. (2020). Du nouveau dans la génétique des formes monogéniques d'obésité et son impact pour mieux en comprendre la physiopathologie. **Medecine sciences : M/S*, 36*(10), 859–865. <https://doi.org/10.1051/medsci/2020156>
11. Betts, M. J., & Russell, R. B. (2003). Amino acid properties and consequences of substitutions. In M. R. Barnes & I. C. Gray (Eds.), *Bioinformatics for geneticists* (pp. 289–316). Wiley. <https://doi.org/10.1002/0470867302.ch14>
12. Brennan, D. F., Dar, A. C., Hertz, N. T., Chao, W. C., Burlingame, A. L., Shokat, K. M., & Barford, D. (2011). A Raf-induced allosteric transition of KSR stimulates phosphorylation of MEK. *Nature*, 472(7343), 366–369. <https://doi.org/10.1038/nature09860>
13. Casar, B., & Crespo, P. (2016). ERK Signals: Scaffolding Scaffolds?. *Frontiers in cell and developmental biology*, 4, 49. <https://doi.org/10.3389/fcell.2016.00049>
14. Clément, K., Mosbah, H., & Poitou, C. (2020). Rare genetic forms of obesity: From gene to therapy. *Physiology & behavior*, 227, 113134. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2020.113134>
15. Clément, K., Vaisse, C., Lahlou, N., Cabrol, S., Pelloux, V., Cassuto, D., Gormelen, M., Dina, C., Chambaz, J., Lacorte, J. M., Basdevant, A., Bougnères, P., Lehouc, Y., Froguel, P., & Guy-Grand, B. (1998). A mutation in the human leptin receptor gene causes obesity and pituitary dysfunction. *Nature*, 392(6674), 398–401. <https://doi.org/10.1038/32911>

REFERENCES

16. Coll A. P. (2018). Monogenic Obesity; Using Drugs to Bypass the Problem. *Cell metabolism*, 28(1), 1–2. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2018.06.015>
17. Cone R. D. (2005). Anatomy and regulation of the central melanocortin system. *Nature neuroscience*, 8(5), 571–578. <https://doi.org/10.1038/nn1455>
18. Costanzo-Garvey, D. L., Pfluger, P. T., Dougherty, M. K., Stock, J. L., Boehm, M., Chaika, O., Fernandez, M. R., Fisher, K., Kortum, R. L., Hong, E. G., Jun, J. Y., Ko, H. J., Schreiner, A., Volle, D. J., Treece, T., Swift, A. L., Winer, M., Chen, D., Wu, M., Leon, L. R., ... Lewis, R. E. (2009). KSR2 is an essential regulator of AMP kinase, energy expenditure, and insulin sensitivity. *Cell metabolism*, 10(5), 366–378. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2009.09.010>
19. Cowley, M. A., Smart, J. L., Rubinstein, M., Cerdán, M. G., Diano, S., Horvath, T. L., Cone, R. D., & Low, M. J. (2001). Leptin activates anorexigenic POMC neurons through a neural network in the arcuate nucleus. *Nature*, 411(6836), 480–484. <https://doi.org/10.1038/35078085>
20. Davies, H., Bignell, G. R., Cox, C., Stephens, P., Edkins, S., Clegg, S., Teague, J., Woffendin, H., Garnett, M. J., Bottomley, W., Davis, N., Dicks, E., Ewing, R., Floyd, Y., Gray, K., Hall, S., Hawes, R., Hughes, J., Kosmidou, V., Menzies, A., ... Futreal, P. A. (2002). Mutations of the BRAF gene in human cancer. *Nature*, 417(6892), 949–954. <https://doi.org/10.1038/nature00766>
21. Dubern, B., Faccioli, N., Poitou, C., & Clément, K. (2023). Novel therapeutics in rare genetic obesities: A narrative review. *Pharmacological research*, 191, 106763. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2023.106763>
22. Emery, C. M., Vijayendran, K. G., Zipser, M. C., Sawyer, A. M., Niu, L., Kim, J. J., Hatton, C., Chopra, R., Oberholzer, P. A., Karpova, M. B., MacConaill, L. E., Zhang, J., Gray, N. S., Sellers, W. R., Dummer, R., & Garraway, L. A. (2009). MEK1 mutations confer resistance to MEK and B-RAF inhibition. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 106(48), 20411–20416. <https://doi.org/10.1073/pnas.0905833106>
23. Farooqi, I. S. (2024). Genetic obesity syndromes. In K. R. Feingold, R. A. Adler, S. F. Ahmed, et al. (Eds.), *Endotext* [Internet]. MDText.com, Inc. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/books/NBK279064/>
24. Farooqi, I. S., Jebb, S. A., Langmack, G., Lawrence, E., Cheetham, C. H., Prentice, A. M., Hughes, I. A., McCamish, M. A., & O'Rahilly, S. (1999). Effects of recombinant leptin therapy in a child with congenital leptin deficiency. *The New England journal of medicine*, 341(12), 879–884. <https://doi.org/10.1056/NEJM199909163411204>
25. Farooqi, I. S., & O'Rahilly, S. (2005). Monogenic obesity in humans. *Annual review of medicine*, 56, 443–458. <https://doi.org/10.1146/annurev.med.56.062904.144924>
26. Farooqi, I. S., & O'Rahilly, S. (2014). 20 years of leptin: human disorders of leptin action. *The Journal of endocrinology*, 223(1), T63–T70. <https://doi.org/10.1530/JOE-14-0480>
27. Folon, L., Baron, M., Scherrer, V., Toussaint, B., Vaillant, E., Loiselle, H., Dechaume, A., De Pooter, F., Boutry, R., Boissel, M., Diallo, A., Ning, L., Balkau, B., Charpentier, G., Franc, S., Marre, M., Derhourhi, M., Froguel, P., & Bonnefond, A. (2024). Pathogenic, Total Loss-of-Function DYRK1B Variants Cause Monogenic Obesity Associated With Type 2 Diabetes. *Diabetes care*, 47(3), 444–451. <https://doi.org/10.2337/dc23-1851>
28. Friedman J. M. (2019). Leptin and the endocrine control of energy balance. *Nature metabolism*, 1(8), 754–764. <https://doi.org/10.1038/s42255-019-0095-y>

REFERENCES

29. Genome Aggregation Database (gnomAD). (2025). KSR2 gene (ENSG00000171435), gnomAD v4.1.0. Broad Institute. https://gnomad.broadinstitute.org/gene/ENSG00000171435?dataset=gnomad_r4
30. Gomez, G. A., Rundle, C. H., Xing, W., Kesavan, C., Pourteymoor, S., Lewis, R. E., Powell, D. R., & Mohan, S. (2022). Contrasting effects of Ksr2, an obesity gene, on trabecular bone volume and bone marrow adiposity. *eLife*, 11, e82810. <https://doi.org/10.7554/eLife.82810>
31. Goodarzi M. O. (2018). Genetics of obesity: what genetic association studies have taught us about the biology of obesity and its complications. *The lancet. Diabetes & endocrinology*, 6(3), 223–236. [https://doi.org/10.1016/S2213-8587\(17\)30200-0](https://doi.org/10.1016/S2213-8587(17)30200-0)
32. Hinney, A., Volckmar, A. L., & Knoll, N. (2013). Melanocortin-4 receptor in energy homeostasis and obesity pathogenesis. *Progress in molecular biology and translational science*, 114, 147–191. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-386933-3.00005-4>
33. Huvenne, H., Dubern, B., Clément, K., & Poitou, C. (2016). Rare Genetic Forms of Obesity: Clinical Approach and Current Treatments in 2016. *Obesity facts*, 9(3), 158–173. <https://doi.org/10.1159/000445061>
34. Ioannidis, N. M., Rothstein, J. H., Pejaver, V., Middha, S., McDonnell, S. K., Baheti, S., et al. (2016). REVEL: An ensemble method for predicting the pathogenicity of rare missense variants. *American Journal of Human Genetics*, 99(4), 877–885. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2016.08.016>
35. Jackson, S. E., Llewellyn, C. H., & Smith, L. (2020). The obesity epidemic - Nature via nurture: A narrative review of high-income countries. *SAGE open medicine*, 8, 2050312120918265. <https://doi.org/10.1177/2050312120918265>
36. Jaganathan, K., Kyriazopoulou Panagiotopoulou, S., McRae, J. F., Darbandi, S. F., Knowles, D., Li, Y. I., et al. (2019). Predicting splicing from primary sequence with deep learning. *Cell*, 176(3), 535–548.e24. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.12.015>
37. Jumper, J., Evans, R., Pritzel, A., Green, T., Figurnov, M., Ronneberger, O., et al. (2021). Highly accurate protein structure prediction with AlphaFold. *Nature*, 596(7873), 583–589. <https://doi.org/10.1038/s41586-021-03819-2>
38. Karczewski, K. J., Francioli, L. C., Tiao, G., Cummings, B. B., Alföldi, J., Wang, Q., et al. (2020). The mutational constraint spectrum quantified from variation in 141,456 humans. *Nature*, 581(7809), 434–443. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2308-7>
39. Kircher, M., Witten, D. M., Jain, P., O’Roak, B. J., Cooper, G. M., & Shendure, J. (2014). A general framework for estimating the relative pathogenicity of human genetic variants. *Nature Genetics*, 46(3), 310–315. <https://doi.org/10.1038/ng.2892>
40. Kühnen, P., Clément, K., Wiegand, S., Blankenstein, O., Gottesdiener, K., Martini, L. L., Mai, K., Blume-Peytavi, U., Grüters, A., & Krude, H. (2016). Proopiomelanocortin Deficiency Treated with a Melanocortin-4 Receptor Agonist. *The New England journal of medicine*, 375(3), 240–246. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1512693>
41. Kumar, S., & Nussinov, R. (2002). Relationship between ion pair geometries and electrostatic strengths in proteins. *Biophysical journal*, 83(3), 1595–1612. [https://doi.org/10.1016/S0006-3495\(02\)73929-5](https://doi.org/10.1016/S0006-3495(02)73929-5)
42. Landrum, M. J., Lee, J. M., Benson, M., Brown, G. R., Chao, C., Chitipiralla, S., et al. (2018). ClinVar: Improving access to variant interpretations and supporting evidence. *Nucleic Acids Research*, 46(D1), D1062–D1067. <https://doi.org/10.1093/nar/gkx1153>

REFERENCES

43. Loos, R. J. F., & Yeo, G. S. H. (2022). The genetics of obesity: from discovery to biology. *Nature reviews. Genetics*, 23(2), 120–133. <https://doi.org/10.1038/s41576-021-00414-z>
44. Mahmoud, R., Kimonis, V., & Butler, M. G. (2022). Genetics of Obesity in Humans: A Clinical Review. *International journal of molecular sciences*, 23(19), 11005. <https://doi.org/10.3390/ijms231911005>
45. Martin-Vega, A., & Cobb, M. H. (2023). Navigating the ERK1/2 MAPK Cascade. *Biomolecules*, 13(10), 1555. <https://doi.org/10.3390/biom13101555>
46. McLaren, W., Gil, L., Hunt, S. E., Riat, H. S., Ritchie, G. R. S., Thormann, A., Flicek, P., & Cunningham, F. (2016). The Ensembl Variant Effect Predictor. *Genome Biology*, 17, 122. <https://doi.org/10.1186/s13059-016-0974-4>
47. Nasrallah, C. M., & Horvath, T. L. (2014). Mitochondrial dynamics in the central regulation of metabolism. *Nature reviews. Endocrinology*, 10(11), 650–658. <https://doi.org/10.1038/nrendo.2014.160>
48. National Center for Biotechnology Information (NCBI). (2025). KSR2 kinase suppressor of ras 2 [Homo sapiens (human)] (Gene ID: 283455). National Library of Medicine. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/283455>
49. NCBI Gene. (2024). Gene database. National Center for Biotechnology Information. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene>
50. Ng, P. C., & Henikoff, S. (2003). SIFT: Predicting amino acid changes that affect protein function. *Nucleic acids research*, 31(13), 3812–3814. <https://doi.org/10.1093/nar/gkg509>
51. Nordang, G. B. N., Busk, Ø. L., Tveten, K., Hanevik, H. I., Fell, A. K. M., Hjelmæsæth, J., Holla, Ø. L., & Hertel, J. K. (2017). Next-generation sequencing of the monogenic obesity genes LEP, LEPR, MC4R, PCSK1 and POMC in a Norwegian cohort of patients with morbid obesity and normal weight controls. *Molecular genetics and metabolism*, 121(1), 51–56. <https://doi.org/10.1016/j.ymgme.2017.03.007>
52. Park, H. K., & Ahima, R. S. (2015). Physiology of leptin: energy homeostasis, neuroendocrine function and metabolism. *Metabolism: clinical and experimental*, 64(1), 24–34. <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2014.08.004>
53. Pearce, L. R., Atanassova, N., Banton, M. C., Bottomley, B., van der Klaauw, A. A., Revelli, J. P., Hendricks, A., Keogh, J. M., Henning, E., Doree, D., Jeter-Jones, S., Garg, S., Bochukova, E. G., Bounds, R., Ashford, S., Gayton, E., Hindmarsh, P. C., Shield, J. P., Crowne, E., Barford, D., ... Farooqi, I. S. (2013). KSR2 mutations are associated with obesity, insulin resistance, and impaired cellular fuel oxidation. *Cell*, 155(4), 765–777. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.09.058>
54. Perry, B., & Wang, Y. (2012). Appetite regulation and weight control: the role of gut hormones. *Nutrition & diabetes*, 2(1), e26. <https://doi.org/10.1038/nutd.2011.21>
55. Poitou, C., Mosbah, H., & Clément, K. (2020). MECHANISMS IN ENDOCRINOLOGY: Update on treatments for patients with genetic obesity. *European journal of endocrinology*, 183(5), R149–R166. <https://doi.org/10.1530/EJE-20-0363>
56. Pollard, K. S., Hubisz, M. J., Rosenbloom, K. R., & Siepel, A. (2010). Detection of nonneutral substitution rates on mammalian phylogenies. *Genome Research*, 20(1), 110–121. <https://doi.org/10.1101/gr.097857.109>
57. Revelli, J. P., Smith, D., Allen, J., Jeter-Jones, S., Shadoan, M. K., Desai, U., Schneider, M., van Sligtenhorst, I., Kirkpatrick, L., Platt, K. A., Suwanichkul, A., Savelieva, K., Gerhardt, B., Mitchell, J., Syrewicz, J., Zambrowicz, B., Hamman, B. D., Vogel, P., & Powell, D. R. (2011). Profound obesity secondary to hyperphagia in mice lacking kinase

REFERENCES

- suppressor of ras 2. *Obesity (Silver Spring, Md.)*, 19(5), 1010–1018. <https://doi.org/10.1038/oby.2010.282>
58. Richards, S., Aziz, N., Bale, S., Bick, D., Das, S., Gastier-Foster, J., Grody, W. W., Hegde, M., Lyon, E., Spector, E., Voelkerding, K., Rehm, H. L., & ACMG Laboratory Quality Assurance Committee (2015). Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genetics in medicine : official journal of the American College of Medical Genetics*, 17(5), 405–424. <https://doi.org/10.1038/gim.2015.30>
59. Rodrigues, C. H. M., Pires, D. E. V., & Ascher, D. B. (2021). DynaMut2: Assessing changes in stability and flexibility upon single and multiple point missense mutations. *Protein Science*, 30(1), 60–69. <https://doi.org/10.1002/pro.3942>
60. Shah, B. P., Sleiman, P. M., Mc Donald, J., Moeller, I. H., & Kleyn, P. (2023). Functional characterization of all missense variants in LEPR, PCSK1, and POMC genes arising from single-nucleotide variants. *Expert Review of Endocrinology & Metabolism*, 18(2), 209–219. <https://doi.org/10.1080/17446651.2023.2179985>
61. Singh, R. K., Kumar, P., & Mahalingam, K. (2017). Molecular genetics of human obesity: A comprehensive review. *Comptes rendus biologies*, 340(2), 87–108. <https://doi.org/10.1016/j.crv.2016.11.007>
62. Sino Biological. (2024). KSR2 general information. <https://www.sinobiological.com/resource/ksr2>
63. Stanikova, D., Surova, M., Ticha, L., Petrasova, M., Virgova, D., Huckova, M., Skopkova, M., Lobotkova, D., Valentinova, L., Mekan, M., Stanik, J., Klimes, I., & Gasperikova, D. (2015). Melanocortin-4 receptor gene mutations in obese Slovak children. *Physiological research*, 64(6), 883–890. <https://doi.org/10.33549/physiolres.932968>
64. Tao Y. X. (2010). The melanocortin-4 receptor: physiology, pharmacology, and pathophysiology. *Endocrine reviews*, 31(4), 506–543. <https://doi.org/10.1210/er.2009-0037>
65. UniProt Consortium. (2023). UniProt: The universal protein knowledgebase in 2023. *Nucleic Acids Research*, 51(D1), D523–D531. <https://doi.org/10.1093/nar/gkac1052>
66. Venselaar, H., Te Beek, T. A. H., Kuipers, R. K. P., Hekkelman, M. L., & Vriend, G. (2010). Protein structure analysis of mutations causing inheritable diseases: An e-science approach with life scientist friendly interfaces. *BMC Bioinformatics*, 11, 548. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-11-548>
67. World Health Organization. (2024). Obesity and overweight. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>
68. Zeng, T., Li, Y. I., et al. (2022). Predicting RNA splicing from DNA sequence using Pangolin. *Genome Biology*, 23, 103. <https://doi.org/10.1186/s13059-022-02643-7>
69. Zorn, S., de Groot, C. J., Brandt-Heunemann, S., von Schnurbein, J., Abawi, O., Bounds, R., Ruck, L., Guijo, B., Martos-Moreno, G. Á., Nicaise, C., Courbage, S., Klehr-Martinelli, M., Siebert, R., Dubern, B., Poitou, C., Clément, K., Argente, J., Kühnen, P., Farooqi, I. S., Wabitsch, M., ... van den Akker, E. (2025). Early childhood height, weight, and BMI development in children with monogenic obesity: a European multicentre, retrospective, observational study. *The Lancet. Child & adolescent health*, 9(5), 297–305. [https://doi.org/10.1016/S2352-4642\(25\)00065-3](https://doi.org/10.1016/S2352-4642(25)00065-3)