



JANVIER 2008

Hors série n° 1

p 1 > 222

volume 24

> www.medecinesciences.org

4^{èmes} ASSISES DE GÉNÉTIQUE HUMAINE ET MÉDICALE •



17-18-19 JANVIER 2008
LILLE - GRAND PALAIS

Président Comité Scientifique : Pr. Serge Amselem - Paris
Présidente Comité d'Organisation : Pr. Sylvie Manouvrier-Hanu - Lille

www.assises-genetique.org

RECUEIL DES ABSTRACTS

Éditorial

Message des deux présidents

Sylvie Manouvrier, Serge Amselem

Chers Amis et Collègues,

Vous serez donc bientôt à Lille pour participer nombreux aux 4^{èmes} Assises de Génétique Humaine et Médicale, et nous sommes particulièrement heureux de vous y accueillir et honorés de la confiance qu'a mis en nous la FAGHEM pour cette organisation.

Conscients de l'importance que les Assises ont prise dans la vie de la Génétique francophone, nous avons mis tout en œuvre pour que cette quatrième édition soit à la hauteur des précédentes manifestations de Marseille, Angers et Montpellier.

Nous souhaitons que ces Assises de Lille soient une occasion unique d'échanges fructueux entre toutes les composantes de notre discipline, entre les hommes et les femmes des services cliniques, des laboratoires et des unités de recherche, entre les plus jeunes et les plus expérimentés. Ainsi, avons-nous fait en sorte de faciliter au maximum l'inscription des plus jeunes et celle de nos amis de pays plus lointains.

Comme chaque fois, les associations de patients, ô combien importantes dans notre discipline, font partie intégrante de cette édition, et nous aurons la chance de bénéficier du grand amphithéâtre du Grand Palais pour le maintenant traditionnel concert du jeudi soir, qui sera consacré à Ravel, et que nous avons souhaité dédier à L'« Alliance Maladies Rares ».

Le conseil scientifique est heureux d'avoir pu inviter des orateurs prestigieux, représentant le monde francophone

de la Génétique, afin de vous offrir un programme scientifique particulièrement attrayant au cours duquel vous découvrirez les données les plus récentes, parfois encore inédites, en matière de recherche et d'applications en génétique humaine. Le nombre des « abstracts » soumis étant encore supérieur à celui des précédentes années et leur qualité exceptionnelle, 74 ont été retenus en communications orales (dont 18 en séances plénières et 56 en sessions simultanées). Six prix viendront récompenser les efforts de nos plus jeunes collègues.

Pour vous remercier de l'honorer de votre présence, Lille, capitale des Flandres, est, en ce mois de janvier, plus que jamais belle, chaleureuse et accueillante. Et, afin de fêter la joie d'être tous ensemble, nous avons essayé de faire en sorte que la « Soirée de la Génétique » qui se tiendra dans la magnifique salle du grand hall de la Chambre de Commerce, reste pour vous un excellent souvenir.

Nous espérons que, grâce à vous, ces quatrième assises continueront d'être cet événement scientifique majeur et ce moment de convivialité qui, tous les deux ans, nous rassemble. 🍷

Pr Sylvie Manouvrier

Lille

Présidente du Comité d'Organisation

Pr Serge Amselem

Paris

Président du Comité Scientifique

COMITÉ LOCAL D'ORGANISATION

Présidente : Sylvie MANOUVRIER-HANU

Philippe AMOUYEL, Bruno DELOBEL, Muriel HOLDER-ESPINASSE, Alexandre MOERMAN, Nicole PORCHET, Jean Bernard SAVARY

COMITÉ SCIENTIFIQUE

Président : Serge AMSELEM

Christian BASTART, Roland BERGER, Alain BERNHEIM, Dominique BONNEAU, Catherine BONAÏTI-PELLIÉ, Valérie CORMIER-DAIRE, Hélène DOLLFUS, Jean-Michel DUPONT, Patrick EDERY, Féréchté RADZAVI, Marie GONZALES, Philippe JONVEAUX, Michel KOENIG, Eric LE GUERN, Nicolas LEVY, Florence NGUYEN, Catherine NOGUES, Sylvie ODENT, Florence PEDEUTOUR, Henri PLAUCHU, Dominique STOPPA-LYONNET

ASSOCIATIONS CONSTITUTIVES DE LA FÉDÉRATION DES ASSOCIATIONS DE GÉNÉTIQUE HUMAINE ET MÉDICALE (FAGHEM)

Association des Cytogénéticiens de Langue Française (ACLF) : Anne MONCLA
Association Française des Conseillers en Génétique (AFCG) : Marie-Antoinette VOELCKEL
Association Nationale de Praticiens de Génétique Moléculaire (ANPGM) : Michel GOOSSENS
Club de Conseil Génétique de Langue Française : Christine VERELLEN-DUMOULIN
Collège National des Enseignants et Praticiens de Génétique Médicale : Sylvie MANOUVRIER
Groupe de Génétique Médicale du 3^{ème} Jeudi : Henri PLAUCHU
Groupe des Oncogénéticiens : Catherine NOGUES
Groupe Francophone de Cytogénétique Hématologique (GFCH) : Roland BERGER
Groupe Francophone de Cytogénétique Oncologique (GFCO) : Allain BERNHEIM
Société Française de Foetopathologie (SFOET) : Féréchté RAZAVI
Société Française de Génétique Humaine (SFGH) : Ségolène AYMÉ
Société des Internes en Génétique Français (SIGF) : Caroline SCHLUTH

Remerciements

Le Comité d'Organisation des Assises de Génétique souhaite remercier les Associations de Malades pour s'être déplacées afin de faire connaître leurs actions :

ABBOTT MOLECULAR, ADGENIX ARRAYGENOMICS, AGILENT TECHNOLOGIES, AMPLITECH, APPLIED BIOSYSTEMS, APPLIED IMAGING, BECKMAN COULTER, CALIPER LIFE SCIENCES, GÉNOSCREEN, GENZYME, HC FORUM, INTÉGRAGEN, INTERACTIVE BIOSOFTWARE, KREATECH BIOTECHNOLOGY, METASYSTEMS, OLYMPUS, PERKIN ELMER, PHENOSYSTEMS, TECAN, TRANSGENOMIC

Nous remercions également les partenaires industriels pour leur participation active aux Assises de Génétique 2008 :

ALLIANCE MALADIES RARES, APTPEF, ASSOCIATION SYNDROME KABUKI, AAL- SYNDROME D'AIKARDIE, ASSOCIATION TOUS CHERCHEURS, AFDI, AIRG, GENESPOIR, ASM17, HNPCC, FAIT 21, ASTB, FMO- PRADER WILLI





4^{èmes} Assises de Génétique Humaine et Médicale 17-19 janvier 2008 Lille - Grand Palais - France

*médecine/sciences est le fruit
d'une coopération entre
le gouvernement de la République
française et le gouvernement
du Québec, à la suite d'une
recommandation de
la Commission permanente
de coopération franco-québécoise.*

DIRECTRICE DE LA PUBLICATION

Martine Krief-Fajnzylberg

DIRECTEUR D'ÉDITION

François Flori

RÉDACTION

FRANCE

Éditions EDK

2, rue Trayon

92316 Sèvres Cedex, France

Tél. : 01 55 64 13 93

Fax : 01 55 64 13 94

contact@medecinesciences.org

QUÉBEC

SRMS

500, rue Sherbrooke Ouest,

bureau 800, Montréal,

Québec H3A 3C6, Canada

Tél. : (1) (514) 288 22 47

Fax : (1) (514) 288 05 20

medecine.sciences@bellnet.ca

RÉDACTEURS EN CHEF

Hervé Chneiweiss (Paris)

Michel Bouvier (Montréal)

RÉDACTRICES EN CHEF

ADJOINTES

Laure Coulombel (Paris)

Lucie Parent (Montréal)

RESPONSABLE

DE LA PARTIE MAGAZINE

Simone Gilgenkrantz (Paris)

ADJOINTE À LA RÉDACTION

Christiane Malo (Montréal)

SECRÉTARIAT DE RÉDACTION

Frédérique Vincent (Paris)

Martine Deshaies (Montréal)

Indexée

dans Pub Med/Medline

dans les Current Contents, série

Life Sciences

dans EMBASE/Excerpta Medica

dans la base PASCAL

dans CABS

dans BIOSIS

SOMMAIRE

ÉDITORIAL

- I Message des deux Présidents
Sylvie Manouvrier, Serge Amselem

1 - CONFÉRENCES

- 1 A - Pathologie Moléculaire - Nouveaux mécanismes
(C1 - C5)
- 2 B - Pathologie Rénale (C6 - C9)
- 3 C - Maladies Complexes (C10 - C13)

2 - COMMUNICATIONS ORALES SESSIONS PLÉNIÈRES

- 4 Session plénière 1 (C01 - C06)
- 6 Session plénière 2 (C07 - C012)
- 9 Session plénière 3 (C013 - C018)

3 - COMMUNICATIONS ORALES SESSIONS SIMULTANÉES

- 11 Session Simultanée « Génétique Chromosomique »
(C019 - C026)
- 13 Session Simultanée « Génétique Clinique » (C027 - C034)
- 17 Session Simultanée « Oncogénétique » (C035 - C042)
- 20 Session Simultanée « Génétique Moléculaire »
(C043 - C050)
- 22 Session Simultanée « Développement et Diagnostic
Prénatal » (C051 - C058)
- 26 Session Simultanée « Physiopathologie / Modèles
cellulaires et animaux » (C059 - C066)
- 29 Session Simultanée « Génétique des Maladies Complexes »
(C067 - C070)
- 30 Session Simultanée « Conseil Génétique, Génétique
et Société » (C071 - C075)

INDEX DES ANNONCEURS : PhenoSystems, 2^e couv. - Bulletin d'abonnement,
p. VI. - IntegraGen, 3^e couv. - Applied Biosystems, 4^e couv.



4^{èmes} Assises de Génétique Humaine et Médicale 17-19 janvier 2008 Lille - Grand Palais - France

COMITÉ ÉDITORIAL

Jean-Claude Ameisen (Paris)
Raymond Ardaillou (Paris)
Armand Bensussan (Paris)
Sylvain Chemtob (Montréal)
Dominique Costagliola (Paris)
Jacques Epelbaum (Paris)
Pascal Ferré (Paris)
Thierry Galli (Paris)
Lucie Germain (Québec)
Hélène Gilgenkrantz (Paris)
Gaétan Guillemette (Sherbrooke)
Jacques Haiech (Strasbourg)
Stéphane Hatem (Paris)
Jean-Pierre Julien (Québec)
Bertrand Jordan (Marseille)
Jean-Claude Kaplan (Paris)
Nathalie Lamarche (Montréal)
Olivier Lortholary (Paris)
Anne-Marie Moulin (Paris)
Patrice E. Poubelle (Sainte-Foy)
Jean-Michel Rigo (Liège)
François Rousseau (Québec)
Daniel Sinnet (Montréal)

COMITÉ DE DIRECTION

Daniel G. Bichet (Montréal)
Jacques Drouin (Montréal)
Francis H. Glorieux (Montréal)
Jean-Pierre Grünfeld (Paris)
Axel Kahn (Paris)
Jean-François Lacronique (Paris)
Bernard Lévy (Montréal)
Marc Peschanski (Évry)
Gérard E. Plante (Sherbrooke)
Philippe Sansonetti (Paris)
Hubert Vaudry
(Mont-St-Aignan)

ÉDITEUR

Éditions EDK
2, rue Trayon
92316 Sèvres Cedex, France
Tél. : 01 55 64 13 93
Fax : 01 55 64 13 94
editorial@edk.fr

IMPRIMEUR

Corlet, Imprimeur, S.A.
ZI route de Vire,
14110 Condé-sur-Noireau, France
N° 109097

INFOGRAPHIE, MISE EN PAGE

Corlet, Imprimeur, S.A.
ZI route de Vire,
14110 Condé-sur-Noireau, France

4 - POSTERS

- 32 1 - Conseil génétique, Génétique et société (P1 - P15)
- 36 2 - Corrélations génotype-phénotype (P16 - P55)
- 51 3 - Cytogénétique (P56 - P139)
- 76 4 - Développement et diagnostic prénatal (P140 - P175)
- 89 5 - Génétique clinique (P176 - P279)
- 123 6 - Génétique des maladies complexes (P280 - P304)
- 131 7 - Génétique moléculaire (P305 - P470)
- 186 8 - Modèles cellulaires et animaux (P471 - P477)
- 189 9 - Oncogénétique (P478 - P545)
- 212 10 - Physiopathologie (P546 - P550)

INDEX

- 215 Index des auteurs soumissionnaires

PUBLICITÉ FRANCE

EDK
Inès Baklouti
Tél. : 01 55 64 13 93
Fax : 01 55 64 13 94
ibaklouti@edk.fr

PUBLICITÉ QUÉBEC

PharMedia Inc.
Yvon La Croix
Tél. : (1) 514 626 00 24
Télécopieur : (1) 514 626 33 08
pillman@sympatico.ca

Copyright© "Médecine / Sciences
Inserm - SRMS". Publication
périodique mensuelle. Tous droits
de reprographie à des fins de vente,
de location, de publicité ou de
promotion réservés à l'éditeur.
Commission paritaire n° 1107 T
81597

EDK, Paris, Dépôt légal :
à parution
ISSN n° 07670974
ISSN électronique n° 1958-5381



4th Human and Medical Genetics Congress January 17-19, 2008 Lille - Grand Palais - France

COMITÉ DE PARRAINAGE

Jean Bernard †
Jean Dausset, prix Nobel
Christian De Duve, prix Nobel
Roger Guillemin, prix Nobel
Jean Hamburger †
Henri-Géry Hers
François Jacob, prix Nobel
Charles-Philippe Leblond
Marcel Roche
Claude C. Roy

COMITÉ SCIENTIFIQUE

Michel Aubier (Paris)
Jean-François Beaulieu (Sherbrooke)
Richard Béliveau (Montréal)
Joël Bockaert (Montpellier)
Jacques de Champlain (Montréal)
Marcel Dorée (Montpellier)
Denis Duboule (Genève)
Michel Goldman (Bruxelles)
Fernand Labrie (Québec)
Thierry Lacaze-Masmonteil (Clamart)
André Lacroix (Montréal)
Marion Leboyer (Créteil)
Arnold Munnich (Paris)
Jean-Paul Ortonne (Nice)
Jacques Piette (Liège)
Jacques Pouyssegur (Nice)
Rémy Quirion (Montréal)
Marek Rola-Pleszczynski (Sherbrooke)
Bernard Rossier (Lausanne)
Guy Rousseau (Bruxelles)
Jacques R. Simard (Sainte-Foy)
Pierre Sirois (Sherbrooke)
Alain Tedgui (Paris)
Germain Trugnan (Paris)
Gilbert Vassart (Bruxelles)
Éric Vivier (Marseille)

SERVICE ABONNEMENTS

Éditions EDK
2, rue Troyon
92316 Sèvres Cedex,
France
Tél. : 01 55 64 13 93
Fax : 01 55 64 13 94
edk@edk.fr

> Pour le Québec, Canada,
États-Unis, Mexique :
Médecine/Sciences
500, rue Sherbrooke Ouest,
bureau 800, Montréal,
Québec H3A 3C6, Canada
Tél. : (1) (514) 288 22 47
Fax : (1) (514) 288 05 20
medecine.sciences@bellnet.ca

CONTENTS

EDITORIAL

- I Message of the two Presidents
Sylvie Manouvrier, Serge Amselem

1 - CONFERENCES

- 1 A - Molecular Pathology - New mechanisms (C1 - C5)
- 2 B - Kidney Pathology (C6 - C9)
- 3 C - Complicated Diseases (C10 - C13)

2 - ORAL COMMUNICATIONS PLENARY SESSIONS

- 4 Plenary Session 1 (C01 - C06)
- 6 Plenary Session 2 (C07 - C012)
- 9 Plenary Session 3 (C013 - C018)

3 - ORAL COMMUNICATIONS SIMULTANEOUS SESSIONS

- 11 Simultaneous Session "Chromosomal Genetics" (C019 - C026)
- 13 Simultaneous Session "Clinical Genetics" (C027 - C034)
- 17 Simultaneous Session "Oncogenetics" (C035-C042)
- 20 Simultaneous Session "Molecular Genetics" (C043 - C050)
- 22 Simultaneous Session "Development and Prenatal Diagnosis" (C051 - C058)
- 26 Simultaneous Session "Pathophysiology/Cellular and Animal Models" (C059 - C066)
- 29 Simultaneous Session "Genetics of Complicated Diseases" (C067 - C070)
- 30 Simultaneous Session "Genetics Council, Genetics and Society" (C071 - C075)

4 - POSTERS

- 32 1 - Genetics Council, Genetics and Society (P1 - P15)
- 36 2 - Genotype-phenotype Correlations (P16 - P55)
- 51 3 - Cytogenetics (P56 - P139)
- 76 4 - Development and Prenatal Diagnosis (P140 - P175)
- 89 5 - Clinical Genetics (P176 - P279)
- 123 6 - Genetics of Complicated Diseases (P280 - P304)
- 131 7 - Molecular Genetics (P305 - P470)
- 186 8 - Cellular and Animal Models (P471 - P477)
- 189 9 - Oncogenetics (P478 - P545)
- 212 10 - Pathophysiology (P546 - P550)

INDEX

- 215 Author Index



> Grâce à m/s, vivez en direct les progrès des sciences biologiques et médicales

Chaque mois,
avec les articles de référence de M/S

Chaque jour,
sur www.medecinesciences.org



Médecine/Sciences

est indexé dans
PubMed/Medline

Current Contents, série Life Sciences
EMBASE/Excerpta Medica
PASCAL
CABS
BIOSIS

- > Des articles rédigés par des médecins et des chercheurs reconnus sur la scène internationale qui posent avec rigueur les bases des débats scientifiques.
- > Des synthèses, éditoriaux, dossiers techniques et analyses toujours replacés dans leur contexte pour que l'information soit la plus exacte, intelligible et objective.
- > La dimension humaine privilégiée, avec l'analyse des retombées diagnostiques, thérapeutiques, la prévention et l'éthique liées aux nouvelles avancées.

- > Un panorama clair et concis de l'actualité scientifique : des nouvelles, des brèves, des données chiffrées, des repères et perspectives pour qu'aucun fait significatif ne vous échappe.



Tarifs d'abonnement M/S - 2008
Mensuel - 10 numéros/an

**Abonnez-vous
à Médecine/Sciences**

Mon règlement :

☐ Par mail edk@edk.fr

Uniquement pour les paiements par carte bancaire

☐ Par fax en envoyant ce bulletin au 01 55 64 13 94

Uniquement pour les paiements par carte bancaire

N°

Date d'expiration Signature : _____

N° de contrôle au dos de la carte

☐ Par chèque à l'ordre de Médecine/Sciences, en envoyant ce bulletin à :

Éditions EDK

2, rue Troyon

92316 Sèvres Cedex, France

Pour recevoir une facture, cochez cette case ☐

souhaite m'abonner à M/S :

Nom : Prénom :

Adresse :

Code postal : Ville :

Pays :

E-mail-obligatoire :

Je choisis l'abonnement :

Particuliers

Papier
+
Électronique

Électronique
seul

Papier

Papier
+
Électronique

Institutions

Électronique
seul

Papier

Étudiants*

Papier
+
Électronique

Électronique
seul

Papier

France	☐ 170 €	☐ 118 €	☐ 160 €	☐ 385 €	☐ 235 €	☐ 375 €	☐ 90 €	☐ 62 €	☐ 80 €
UE + autres	☐ 214 €	☐ 118 €	☐ 204 €	☐ 455 €	☐ 235 €	☐ 433 €	☐ 112 €	☐ 62 €	☐ 102 €

* Joindre un justificatif

A. Pathologie Moléculaire – Nouveaux mécanismes

■C1. INHERITANCE OF AN EPIGENETIC CHANGE IN THE MOUSE: A NEW ROLE FOR RNA

M. Rassoulzadegan (1), V. Grandjean (1), P. Gounon (2), F. Cuzin (1)
(1) Unité 636 de l'INSERM, Université de Nice-Sophia Antipolis, Nice, France ; (2) Centre Commun de Microscopie Appliquée, Université de Nice-Sophia Antipolis, Nice, France

Paramutation, first observed in maize [1] and subsequently in a variety of plants [2], is a heritable epigenetic change of the phenotype of a "paramutable" allele, initiated by interaction in heterozygotes with a "paramutagenic" form of the locus. Often referred to as an exception to the law of Mendel, which states that genetic factors segregate unchanged from heterozygotes, paramutation is meiotically stable and inherited in the absence of the inducing allele. To date, the closest observations in an animal species were changes in the DNA methylation profiles directed by the allelic locus in the mouse that we and others described as "transvection" or "paramutation-like" effects [3, 4]. We now report a modification in the phenotypic expression of the wild type allele of the Kit receptor gene in the progeny of heterozygotes with a null insertion mutant. In spite of a wild type genomic structure, the modified homozygotes maintain the "White Spotted" phenotype characteristic of Kit mutants, in this case a white tip of the tail and white feet. This epigenetic modification is efficiently inherited in the absence of the mutant allele. It was related to a decreased level of Kit mRNA, concomitant with the accumulation of RNA molecules of abnormal sizes. On the other hand, transcription of the locus was upregulated in heterozygotes. Sustained expression at the postmeiotic stages, at which the gene is normally silent, led to the accumulation of RNA in late spermatids and in the spermatozoon. Microinjection into one-cell embryos of RNA from Kit^{tm1Alf/+} heterozygotes, or of Kit specific microRNAs efficiently induced a heritable White-Spotted phenotype. Consistent with converging evidence of a role of RNA in the establishment of epigenetic states and with the detection of RNA in human spermatozoa [5], our results reveal an unexpected mode of epigenetic inheritance by the zygotic transfer of RNA molecules.

Références

1. Brink RA. A genetic change associated with the R locus in maize which is directed and potentially reversible. *Genetics* 1956 ; 41 : 872-879.
2. Chandler VL, Stam M. Chromatin conversations: mechanisms and implications of paramutation. *Nat Rev Genet* 2004 ; 5 : 532-44.
3. Rassoulzadegan M, et al. RNA-mediated non-Mendelian inheritance of an epigenetic change in the mouse. *Nature* 2006 ; 431 : 469-474.
4. Herman H, et al. Trans allele methylation and paramutation-like effects in mice. *Nat Genet* 2003 ; 34 : 199-202.
5. Miller D, Ostermeier GC, Krawetz SA. The controversy, potential and roles of spermatozoal RNA. *Trends Mol Med* 2005 ; 11 : 156-63.

■C2. A NOVEL KIND OF HUMAN GENETIC DISEASES: THE RNA GAIN-OF-FUNCTION DISEASES

N. Charlet-Berguerand

Équipe INSERM AVENIR, IGBMC, Illkirch, France

It has been more than a decade since the expansion of unstable tri-nucleotide repeats was discovered as a novel mechanism of human diseases. Since then, more than 16 neurological or neuromuscular disorders have been found to be caused by tri-, tetra- and penta-nucleotide repeat expansions. Mechanistically, these microsatellite expansion diseases appear to fall into three broad categories : the loss-of-function diseases, the polyQ gain-of-function diseases and, topic of this presentation : the RNA gain-of-function diseases. These disorders involve non-coding microsatellite expansions that cause dominantly inherited diseases, including Myotonic Dystrophies type 1, type 2 (DM1 and DM2), Fragile X-Associated Tremor/Ataxia Syndrome (FXTAS), and possibly SCA10, SCA12 and Huntington's disease-like type 2. I will principally focus on Myotonic Dystrophies and FXTAS diseases.

1 – Fragile X-Associated Tremor/Ataxia Syndrome

Fragile X-Associated Tremor/Ataxia Syndrome is a male specific late-onset neurodegenerative disease characterized by gait instability, intention tremor, cognitive decline, cerebellar degeneration and ubiquitin-positive nuclear aggregates. FXTAS is due to short (50 to 200) CGG repeat expansions in the 5'-UTR of the FMR1 gene. Importantly, CGG repeats are

transcribed but never translated as CGG-containing RNAs are retained in nuclear foci. These RNA aggregates sequester specific RNA-binding proteins, hence depleting them from their normal functions. Identification and function of these proteins will be discussed.

2 – Myotonic Dystrophies

With a worldwide incidence of 1 individual out of 8000, Myotonic Dystrophies are the most common forms of adult-onset muscle dystrophy. DM patients are characterized by multiple symptoms including muscle hyperexcitability (myotonia), progressive muscular atrophy, cardiac conduction defects, cataracts, mental disorder and insulin resistance.

Myotonic Dystrophies are autosomal dominant disorders due to the unstable amplification of CTG or CCTG repeats in the DMPK or ZNF9 gene, respectively. CTG and CCTG repeats are transcribed but never translated, as expanded CUG and CCUG RNA repeats accumulate in nuclear aggregates that sequester the MBNL1 RNA-binding protein.

MBNL1 is a splicing factor that regulates alternative splicing of the chloride channel, insulin receptor and Amphiphysin 2 pre-mRNAs. Importantly, alternative splicing of insulin receptor pre-mRNAs is altered in DM patients, and contributes to the insulin resistance observed in these patients. Similarly, alternative splicing of the muscle chloride channel (ClC1) is altered in DM patients and leads to myotonia. Finally, using high-density microarray, we found that alternative splicing of Amphiphysin 2 is altered and leads to production of a non-functional Amphiphysin 2 protein in DM patients. Amphiphysin 2 is essential for membrane curvature and muscular T-tubules formation, consequently, mutation of Amphiphysin 2 leads to muscle atrophy.

In conclusion, this work has revealed a novel class of genetic diseases: the RNA gain-of-function diseases, where RNA expanded repeats sequester RNA binding proteins, leading to specific molecular changes that result in pathological features.

■C3. INSTABILITÉ CHROMOSOMIQUE ET PERTURBATIONS MITOTIQUES

M. Debatisse

Institut Curie, Paris, France

L'instabilité chromosomique, une des propriétés les plus anciennement reconnues aux cellules cancéreuses, conduit à des anomalies du nombre des chromosomes et à des altérations de leur structure (réarrangements chromosomiques). Il est généralement admis que les erreurs survenant lors de la mitose conduisent spécifiquement à des anomalies du nombre des chromosomes. En effet, les perturbations mitotiques conduisent à activer un système d'alerte (point de contrôle du fuseau mitotique) qui bloque l'entrée en anaphase tant que tous les chromosomes ne sont pas correctement ancrés au fuseau mitotique, évitant ainsi l'apparition de cellules aneuploïdes résultant d'une répartition inégale des chromosomes entre les cellules filles. Cependant, la majorité des cellules de mammifères échappent progressivement au blocage imposé par le point de contrôle du fuseau mitotique, et entrent en interphase avec un nombre doublé de chromosomes. Ce phénomène est connu sous le nom de glissement mitotique et conduit à l'apparition de cellules tétraploïdes. Les cellules normales meurent à ce stade alors que les cellules déficientes pour p53, par exemple, continuent à se multiplier. Nous avons récemment montré que des cassures chromosomiques surviennent après glissement et que la réparation infidèle de ces cassures conduit à former des réarrangements chromosomiques variés. Nous proposons que ce phénomène joue un rôle majeur dans les tumeurs évoluant par instabilité chromosomique, puisque ces cellules acquièrent, en une seule étape, des anomalies de nombre et de structure des chromosomes. En outre, certains poisons du fuseau, comme le taxotère ou la navelbine, sont couramment utilisés en chimiothérapie. Préciser leur mode d'action représente donc un enjeu important en cancérologie.

Nous avons montré que, juste avant glissement, les cellules effectuent une tentative de division cellulaire (cytoténèse) même lorsque la séparation des chromosomes a échoué. Cette cytoténèse abortive provoque des contractions violentes des cellules qui, in fine, engendrent les cassures, probablement en réponse au stress mécaniques ainsi exercé sur les chromosomes. Nous avons également montré que cette tentative de cytoténèse et la formation des cassures sont dépendantes de BubR1, une kinase qui participe au point de contrôle du fuseau mitotique et dont l'expression a été trouvée affectée dans de nombreux types de cancers solides.



■C4. VARIATIONS DE NOMBRE DE COPIES DANS LE GÉNOME HUMAIN

R. Redon

Wellcome Trust Sanger Institute, Cambridge, Royaume-Uni

La technique de CGH sur puces à ADN permet de détecter des micro-déséquilibres chromosomiques (délétions ou duplications) non visibles par cytogénétique conventionnelle. Elle a connu ces dernières années un essor considérable en génétique médicale, principalement pour le criblage de délétions/duplications chez des enfants atteints de retards mentaux syndromiques. Cependant, ces déséquilibres sont fréquemment hérités d'un parent sans phénotype anormal, ce qui suggère la présence dans la population humaine de variations de nombres de copies d'ADN (appelés CNV pour « Copy Number Variation »), qui ne seraient pas forcément associées à un phénotype anormal. Afin de déterminer de manière systématique la nature, la fréquence et la localisation des CNV dans la population générale, nous avons analysé les 270 échantillons de la collection HapMap (phase I) par deux technologies complémentaires : la CGH sur une puce composée de 26574 clones de type BAC/PAC couvrant la totalité du génome ; l'analyse comparative d'intensités d'hybridation sur puces Affymetrix GeneChip® 500 K (Early Access). Parmi les 270 individus analysés – issus de populations d'Afrique, d'Asie et à ancêtres européens – nous avons identifié 1 447 régions variables – dont la majorité étaient jusqu'ici inconnues – contenant ou bordant près de 3 000 gènes. Ces données permettent pour la première fois une estimation globale de la distribution des CNV (génomique et géographique), de leur fréquence, de leur classification et de leurs effets potentiels. Elles sont aujourd'hui accessibles à l'ensemble de la communauté scientifique et médicale (<http://www.sanger.ac.uk/humgen/cnv>). Elles ouvrent la voie à de nouvelles études d'association par array-CGH et constituent ainsi une ressource primordiale pour mieux comprendre comment la structure du génome influence sa fonction biologique. Nous travaillons actuellement à la construction de cartes CNV de seconde génération : (i) en utilisant de nouvelles techniques à ultra-haute résolution (moins de 1 kb) ; (ii) en analysant un plus grand nombre d'individus d'origines ethniques différentes ; (iii) en étendant l'étude des CNV à d'autres primates tels que le chimpanzé. Ces nouvelles données faciliteront l'élucidation du rôle prépondérant joué par les CNV au cours de l'évolution du génome et lors de l'apparition de maladies héréditaires ou infectieuses.

■C5. MICROARN ET ÉPIGÉNÉTIQUE : PHYSIOLOGIE – IMPACT EN PATHOLOGIE

A. Harel-Bellan, F. Cabon

Laboratoire « Épigénétique et Cancer », FRE 2944, Institut André Lwoff, Villejuif, France

Les petits ARNs non codant ont littéralement révolutionné la biologie cellulaire et moléculaire. Découverts d'abord chez les invertébrés, les petits ARN non codants représentent un mode quasi universel de régulation de l'expression génique. Diverses catégories de petits ARNs non codant ont été mis en évidence à travers les espèces. Chez les mammifères, les microARNs (miRNAs) sont les petits ARNs les mieux caractérisés à ce jour. D'autres petits ARNs, les piRNAs semblent également importants, mais leur fonction est moins bien connue. Les miRNAs sont essentiels au cours du développement, mais jouent aussi un rôle important chez l'adulte. Au niveau cellulaire, les miRNAs contrôlent la prolifération, la différenciation et la mort programmée. Etant donné ce rôle, ils est prévisible que des dérèglements de la voie des miRNAs soient impliqués dans certaines pathologies. L'exploration de cette possibilité est un domaine en pleine expansion, déjà bien avancé en ce qui concerne le cancer.

Enfin, l'interférence ARN utilise les composantes de la voie naturelle des miRNAs et permet de réprimer l'expression d'un gène à volonté. Les siRNAs, les effecteurs de l'interférence ARN, sont largement utilisés comme outil de génétique fonctionnelle. Ils vont permettre dans un avenir très proche, d'explorer les mécanismes sous-tendant les grandes fonctions du vivant. De plus, ils représentent des outils thérapeutiques très prometteurs.

B. Pathologie Rénale

■C6. GÉNÉTIQUE DES SYNDROMES NÉPHROTIQUES

C. Antignac

INSERM U574 et Département de Génétique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Université Paris Descartes, Paris, France

Le syndrome néphrotique « idiopathique » est caractérisé par la survenue d'une protéinurie massive et un effacement constant des pieds des

podocytes en microscopie électronique. Schématiquement, les syndromes néphrotiques peuvent être classés en deux groupes : (i) l'un comprenant principalement les formes cortico-sensibles et certains formes corticorésistantes, lié à un dysfonctionnement lymphocytaire T, (ii) un second groupe, comprenant uniquement des syndromes néphrotiques cortico-résistants (SNCR) où, à l'inverse, le SNCR est dû à un défaut primitif d'un constituant du filtre glomérulaire.

Des formes familiales ont été rapportées très rarement dans des formes cortico-sensibles. En revanche, les études génétiques récentes ont permis d'identifier différents gènes impliqués dans des formes héréditaires de SNCR, la grande majorité codant pour des protéines localisées au niveau du pied des podocytes, et principalement au niveau du diaphragme de fente situé à la jonction des pieds des podocytes le long de la membrane basale glomérulaire. Ainsi, des formes autosomiques récessives de SNCR ont été caractérisées principalement chez l'enfant, dues à des mutations dans les gènes codant pour la néphrine, la podocine et plus récemment la phospholipase C epsilon. A l'inverse, des formes de transmission autosomique dominante ont été caractérisées chez l'adulte, et deux gènes ont été identifiés jusqu'à maintenant codant pour l' α -actinine 4 et le canal calcique TRPC6. Ces études génétiques, outre leur importance pour le conseil génétique et la conduite thérapeutique, ont permis de montrer le rôle fondamental du podocyte dans la formation et le maintien de la barrière de filtration glomérulaire.

■C7. CILIOPATHIES ET REIN

H. Dollfus

Laboratoire EA3949, Faculté de Médecine de Strasbourg et Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France

Les ciliopathies constituent un groupe hétérogène de maladies, très récemment identifiées, liées à un dysfonctionnement du complexe ciliaire de la cellule. Le cil est une organelle cellulaire de structure microtubulaire, présente dans la majorité des cellules de notre organisme et dont les fonctions biologiques sont principalement de communiquer des informations sur le milieu extra cellulaire à la cellule par l'intermédiaire d'un nombre grandissant de voies biologiques. Le cil primaire remplit des fonctions très importantes au cours du développement, de la fonction spécifique de la cellule et de la maintenance cellulaire.

Dans les toutes dernières années un spectre clinique de pathologies ciliaires a été identifié incluant des pathologies ne concernant qu'un seul organe ou des pathologies pour lesquelles plusieurs organes sont concernés (ciliopathies syndromiques).

La cellule de l'épithélium rénal possède un cil dont le rôle dans la perception cellulaire du flux urinaire est capital. Les travaux récents sur les ciliopathies éclairent d'un jour nouveau un nombre important de maladies héréditaires rénales. Ainsi, les polykystoses rénales autosomiques dominantes et récessives et les néphronophthèses (isolées ou syndromiques) sont deux groupes de maladies dont l'identification des gènes impliqués a conduit à les classer dans le groupe des ciliopathies. Il en est de même pour des syndromes plus pleiotropes ayant aussi une atteinte rénale fréquente comme les syndrome de Bardet-Biedl, de Meckel, de Joubert ou de Jeune. L'impact, clinique et génétique, de ces découvertes physiopathologiques récentes sera souligné ainsi que les conséquences à plus ou moins long terme pour le diagnostic et la prise en charge des patients.

■C8. BASES GÉNÉTIQUES DES CANCERS DU REIN

S. Richard (1, 2)

(1) *Génétique Oncologique EPHE, CNRS FRE 2939, Faculté de Médecine Paris-Sud, Le Kremlin-Bicêtre et Institut de cancérologie Gustave Roussy, Villejuif, France ; (2) Centre Pilote Tumeurs Rares AP-HP et Réseau National INCa « Maladie de VHL et prédispositions héréditaires au cancer rénal », Service d'Urologie, CHU de Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre et Service de Néphrologie, Hôpital Necker, Paris, France*

Le cancer du rein de l'adulte (« carcinome à cellules rénales ») représente 3 % des cancers et 8 300 nouveaux patients sont découverts chaque année en France. Près de 30 % des patients ont des métastases lors du diagnostic et le cancer du rein est responsable de 3 500 décès par an. La majorité des tumeurs sont sporadiques et plusieurs facteurs de risque sont incriminés : tabac, obésité, expositions professionnelles... La génétique du cancer du rein est complexe à l'image des anomalies cytogénétiques et moléculaires spécifiques des principaux types histologiques : carcinome conventionnel (« à cellules claires ») (75 % des cas), carcinomes papillaires de type 1 (5 %) et 2 (10 %) et carcinome chromophile (5 %). L'étude des formes héréditaires de cancer rénal (maladie de von Hippel-Lindau, syndrome de Birt-Hogg-Dubé, léiomyomatose cutané-utérine et cancer papillaire héréditaire, principalement), responsables de 2 à 3 % des cas, a conduit à l'identification de quatre gènes de prédisposition majeurs (VHL, MET, BHD,



HH). Au plan médical, un test génétique puis un suivi clinique des porteurs d'un gène muté peuvent ainsi être proposés chez les personnes à risque, permettant un diagnostic et un traitement précoces des tumeurs. Au plan fondamental, certains de ces gènes sont aussi impliqués dans les tumeurs sporadiques et permettent de mieux comprendre les mécanismes de la cancérogenèse et d'envisager de nouvelles voies thérapeutiques. Le meilleur exemple en est le gène *VHL* qui joue un rôle majeur dans la réponse tissulaire à l'hypoxie en ciblant pour dégradation dans le protéasome le facteur de transcription HIF. *VHL* est inactivé dans 70 % des cancers à cellules claires sporadiques et la surexpression de HIF et de ses gènes cibles (VEGF, PDGF β , TGF α) est responsable de leur abondante vascularisation. Les médicaments anti-angiogéniques dirigés contre les récepteurs tyrosine-kinase de ces gènes sont devenus le traitement de référence des cancers du rein évolués avec des résultats prometteurs. Dans le futur, les études de génomique et de protéomique devraient permettre de mieux caractériser la signature de chaque type de cancer rénal et d'identifier de nouveaux marqueurs diagnostiques, pronostiques et de réponse aux traitements.

■C9. DIABÈTES INSIPIDES NÉPHROGÉNIQUES HÉRÉDITAIRES : UN MODÈLE DE PROTÉINES MAL REPLIÉES

D. G. Bichet

Chaire de recherche du Canada, Génétique des maladies rénales, Professeur titulaire, Départements de médecine et de physiologie, Université de Montréal, Centre de recherche, Service de néphrologie, Hôpital du Sacré-Cœur de Montréal, Québec, Canada

Les diabètes insipides néphrogéniques sont définis physiopathologiquement par l'impossibilité de concentrer maximalelement les urines, et cliniquement par une polyurie. Ils peuvent être héréditaires ou secondaires à l'hypercalcémie, l'hypokaliémie ou l'administration de lithium. Les diabètes insipides néphrogéniques héréditaires peuvent être purs, c'est-à-dire exclusivement aquarétiques, ou complexes quand la diurèse pathologique observée s'accompagne d'une natriurèse et d'autres perturbations de l'excrétion électrolytique (potassium, calcium). Les diabètes insipides néphrogéniques héréditaires purs (aquarétiques) sont secondaires soit à la perte de fonction du récepteur V2 antidiurétique de la vasopressine (AVPR2) soit à la perte de fonction du canal à l'eau dépendant de la vasopressine, l'aquaporine 2 (AQP2).

À ce jour, plus de 183 mutations AVPR2 ont été identifiées dans 239 familles d'origines ancestrales différentes (consultez aussi la NDI Mutation Database à : <http://www.medicine.mcgill.ca/nephros/>). La moitié de ces mutations sont des mutations faux-sens, c'est-à-dire qu'un seul aa sauvage est remplacé par un autre aa mutant.

Des mutations ont été identifiées affectant chaque domaine du récepteur V2 de la vasopressine. Nous avons identifié des mutations uniques (dites « privées »), des mutations récurrentes et des mécanismes probables de mutagenèse. Dix mutations récurrentes (D85N, V88M, R113W, Y128S, R137H, S167L, R181C, R202C, A294I, et S315R) ont été identifiées chez 35 familles d'origines ancestrales indépendantes. L'expression *in vitro* de ces mutations AVPR2 indique que la majorité des récepteurs mutés sont retenus dans le réticulum endoplasmique : incapables de s'insérer dans la membrane plasmique, ils ont perdu leur fonction de signalisation. Ce défaut de transport intracellulaire est un mécanisme général partagé par de nombreuses maladies héréditaires dues à des mutations dans des gènes codant pour des protéines membranaires. Nous avons récemment démontré que des antagonistes non-peptidiques du récepteur de la vasopressine pouvaient « replicaturer » les récepteurs AVPR2 mutants et augmenter l'osmolalité urinaire chez des patients avec DIN lié à l'X porteurs des mutations del62-64, R137H et W164S.

En conclusion

Les diabètes insipides néphrogéniques héréditaires sont tous caractérisés par le repliement anormal de la protéine mutante et sa séquestration intracellulaire. Des chaperons pharmacologiques pourraient corriger ce repliement anormal. Tous ces développements fournissent des outils diagnostiques et thérapeutiques.

C. Maladies Complexes

■C10. APPORT DE LA GÉNÉTIQUE DES POPULATIONS À L'ÉTUDE DES MALADIES COMPLEXES

E. Génin

INSERM U794, Fondation Jean Dausset/CEPH, Institut de Génétique Moléculaire, Paris, France

La génétique des populations est une discipline qui vise à mesurer la diversité génétique des populations. Cette diversité peut exister à la fois à

l'intérieur d'une même population entre les individus qui la constituent mais également entre différentes populations. Des modèles et des outils statistiques ont été développés pour caractériser et comparer des populations. Ces modèles et outils sont également très utiles dans l'étude des maladies complexes. En effet, ces maladies, contrairement aux maladies monogéniques, ne sont pas dues à la mutation d'un seul gène mais plutôt à tout un ensemble de variants génétiques qui peuvent interagir entre eux et avec des facteurs environnementaux. Ces variants sont généralement fréquents en population mais ont des effets individuels faibles. Pour les mettre en évidence la stratégie la plus utilisée actuellement consiste à comparer une population de malades et une population de témoins pour des marqueurs génétiques et à réaliser des études d'association. Bien caractériser les populations sur le plan génétique est un préalable indispensable pour éviter de fausses conclusions et optimiser l'étude. Dans cet exposé, nous montrerons ce que la génétique des populations peut apporter dans ce contexte. Nous verrons comment les différentes forces évolutives qui modifient la structure génétique des populations, à savoir la sélection naturelle, la dérive, les mutations et les migrations peuvent aider à la mise en évidence des facteurs génétiques de susceptibilité aux maladies.

■C11. IMMUNITÉ INNÉE ET DÉTERMINISMES GÉNÉTIQUES DES MALADIES INFLAMMATOIRES CHRONIQUES DE L'INTESTIN

M. Chamaillard

INSERM, Lille, France

D'étiologies inconnues, les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin sont des pathologies multifactorielles, où interviennent des facteurs génétiques et environnementaux et pour lesquelles aucun traitement curatif n'est disponible. Avec une prévalence estimée à plus de un sujet pour 500 dans la population occidentale, les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin, comme la Maladie de Crohn (MC) et la rectocolite hémorragique (RCH), représentent un problème majeur de santé publique. Récemment, plusieurs équipes, dont la nôtre, ont ciblé sur une altération de la fonction antimicrobienne et immunitaire innée de la muqueuse des patients atteints de MC. Ont notamment été mises en évidence des altérations des systèmes de surveillance de l'hôte contre des bactéries intracellulaires (i.e. mutations de protéines impliquées dans les processus d'autophagie, ainsi que de Nod2, un récepteur cytosolique au muramyl dipeptide bactérien) et des effecteurs de l'immunité innée et acquise de l'intestin (comme l'IL-23R et les alpha- et beta-défensines). Cependant, la pénétrance de ces mutations n'est qu'incomplète et les bases génétiques de la RCH ne reste que peu connu, suggérant l'implication d'autres cofacteurs de risques responsables de l'inflammation intestinale pathologique. Une meilleure compréhension du microbiote intestinal et de la réponse de l'intestin pourrait avoir un impact tant au niveau fondamental qu'en matière de prévention (dépistage des individus à risque) et de traitement (prise en charge précoce, thérapeutique basée sur la restauration et/ou l'optimisation de la fonction de barrière digestive).

■C12. APPORT DE LA GÉNÉTIQUE DANS L'HYPERTENSION ARTÉRIELLE

X. Jeunemaître

Département de Génétique Médicale, Hôpital Européen Georges Pompidou, Paris et INSERM U772, Collège de France, Paris, France

L'hypertension artérielle essentielle est une pathologie multifactorielle dont le déterminisme associe des facteurs environnementaux et génétiques. On estime qu'environ 30 % de la variance de la pression artérielle est génétiquement déterminée. Schématiquement, trois grandes approches sont utilisées pour tenter d'identifier les gènes en cause. La première consiste à effectuer, sans a priori, un criblage complet du génome utilisant les moyens techniques actuellement disponibles, par des études de fratries et des études cas-témoins. Nous montrerons les difficultés et limites de ces études qui n'ont pas permis d'identifier des gènes à effet fort dans l'ensemble de la population. La seconde approche consiste à analyser les gènes dits « candidats », gènes qui codent pour des protéines dont la fonction est connue et susceptible d'influencer le niveau de pression artérielle. Les résultats les plus intéressants concernent les gènes impliqués dans les systèmes de contrôle de l'homéostasie hydro-sodée. La troisième approche a été pour le moment la plus fructueuse et consiste en l'étude de formes rares de transmission mendélienne. Nous montrerons en particulier comment ces études ont permis l'identification de gènes inattendus codant pour une nouvelle famille de sérine thréonine kinases qui permettent une régulation fine du volume cellulaire et du transport ionique et qui sont une cible potentielle pour de nouvelles approches thérapeutiques.

■C13. PLACE GRANDISSANTE DES GÈNES DANS LA MALADIE DE PARKINSON

A. Brice

INSERM U679, Paris, France ; Université Pierre et Marie Paris 6, UMR S679, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France ; Institut Fédératif de Recherche des Neurosciences (IFR70), Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France ; AP-HP, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Département de Génétique et Cytogénétique, Paris, France ; AP-HP, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Fédération des Maladies du Système Nerveux, Paris, France ; Université Pierre-et-Marie-Curie-Paris 6, Faculté de Médecine Pitié-Salpêtrière, Paris, France

Alors que la maladie de Parkinson a été longtemps considérée comme environnementale, la dernière décennie a souligné la place grandissante que représentent les formes monogéniques de cette affection. Deux gènes sont en cause dans les formes autosomiques dominantes (alpha-synucléine

et LRRK2), alors que quatre (Parkine, DJ-1, Pink1 et ATP1A3) ont été identifiés dans les formes autosomiques récessives. Pour schématiser, les formes autosomiques récessives dont Parkine est la plus fréquente, sont associées à un début précoce et caractérisées par l'absence de corps de Lewy, le marqueur histopathologique de la maladie. Les formes autosomiques dominantes sont plus tardives et souvent plus sévères dans leur évolution. Une mutation particulière du gène LRRK2, G2019S, qui est associée à une pénétrance réduite, explique jusqu'à 30 à 40 % des cas de maladie de Parkinson dans certaines populations. Ces informations permettent maintenant de préciser les indications de diagnostic génétique.

La fonction des protéines impliquées dans ces pathologies ne permet pas encore d'avoir une hypothèse physiopathologique unifiée. Cependant, plusieurs arguments plaident en faveur d'un dysfonctionnement mitochondrial et d'une interaction fonctionnelle entre parkine et d'autres gènes impliqués dans la maladie de Parkinson.

2

COMMUNICATIONS ORALES SESSIONS PLÉNIÈRES

Session 1

■CO1 / 638. MUTATIONS DE SÉQUENCES NON CODANTES HAUTEMENT CONSERVÉES À GRANDE DISTANCE (> 1,2 MB) DE PART ET D'AUTRE DU LOCUS SOX9 DANS LA SÉQUENCE DE PIERRE ROBIN

S. Benko (1), J. A. Fantes (2), J. Amiel (1), S. Heaney (2), S. Thomas (1), J. Ramsay (2), N. Jamshidi (3), D.-J. Kleinjan (2), C. T. Gordon (3), D. McBride (2), C. Golzio (1), N. McGill (2), P. Perry (2), V. Abadie (4), C. Ayuso (5), M. Holder-Espinasse (6), N. Kilpatrick (7), M. M. Lees (8), I. K. Temple (9), P. Thomas (10), M.-P. Vazquez (11), M. Vekemans (1), H. Roest-Crolius (12), A. Munnich (1), A. Pelet (1), P. Farlie (4), H. Etchevers (1), D. R. FitzPatrick (2, 13), S. Lyonnet (1, 13)

(1) INSERM U-781, Université Paris 5, Département de Génétique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France ; (2) MRC Human Genetics Unit, Edinburgh EH4 2XU, UK ; (3) Oral Health Research Group, Musculoskeletal Disorders Theme, Murdoch Children's Research Institute, Royal Children's Hospital, Parkville, Australia ; (4) Service de Pédiatrie, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France ; (5) Fundación Jiménez Díaz, Genética, Madrid, Spain ; (6) CHRU de Lille, Hôpital Jeanne de Flandre, Lille, France ; (7) Oral Health Research Group, Musculoskeletal Disorders Theme, Murdoch Children's Research Institute, Royal Children's Hospital, Parkville, Australia ; (8) North Thames Regional Genetics Service, Great Ormond Street Hospital, London, UK ; (9) Wessex Clinical Genetics Academic Group, Division of Human Genetics, University of Southampton, Southampton, UK ; (10) Pituitary Research Unit, Murdoch Children's Research Institute, Royal Children's Hospital, Parkville, Australia ; (11) Service de Chirurgie Maxillo-Faciale, Hôpital d'Enfants Armand-Trousseau, Paris, France ; (12) École Normale Supérieure, CNRS UMR-8541, Department of Biology, Paris, France ; (13) Ces auteurs ont contribué également

La majorité des séquences conservées au cours de l'évolution dans le génome humain n'ont pas de fonction codante et sont potentiellement régulatrices. Cependant, leur mécanisme d'action et la taille des domaines contrôlés par ces éléments régulateurs restent inconnus. Nous montrons ici que des éléments cis-régulateurs hautement conservés, non codants, de part et d'autre du locus du gène SRY-related HMG-box 9 (SOX9) sont responsables de la séquence de Pierre Robin (SPR) dans ses formes isolées. La SPR est une neurocristopathie crâniofaciale du premier arc pharyngé, définie par une fente palatine postérieure, une glossophtose et une micrognathie, cette triade étant souvent associée à des dysfonctionnements de nerfs crâniens. Nous avons établi la liaison génétique d'une forme autosomique dominante de SPR avec le chromosome 17q24 dans la région où, par ailleurs, sont concentrés les points de cassure de trois translocations familiales indépendantes ségrégeant avec la SPR. Les cartes physiques et génétiques situent le locus SPR dans un désert génique de plus de 1 Mb centromérique au locus SOX9. Aucune mutation de la séquence codante de SOX9 n'a pu être identifiée bien que ce gène demeure un fort candidat de par son rôle dans le développement de la mandibule chez tous les gnathostomes et les résultats de notre étude de son patron d'expression embryonnaire, tant chez l'homme que chez la souris, qui coïncide avec les symptômes composant la SPR. Grâce à une hybridation génomique comparative (CGH-array) de très haute résolution au travers une région conservée

de 3,6 Mb environnant le gène SOX9, nous avons effectivement identifié de potentielles mutations régulatrices. Il s'agit de micro délétions impliquant un ou plusieurs éléments non codants hautement conservés (highly conserved non-coding elements, HCNE) chez 3/11 patients SPR. Ces délétions sont localisées à plus de 1,2 Mb en amont ou en aval du gène SOX9. De plus, dans une famille dominante de SPR, un variant nucléotidique localisé dans un HCNE coségrège avec le phénotype, altère *in vitro* la liaison du facteur de transcription MSX1 (lui aussi impliqué dans le développement des arcs pharyngés) et modifie la fonction d'activation transcriptionnelle de cet HCNE testé dans un système cellulaire HEK293. De plus, des expériences de FISH interphasique sur la région chromosomique orthologue de la souris ont montré que la condensation génomique usuelle au stade 13,5 dpc était relaxée dans les cellules mandibulaires en développement, en corrélation étroite avec le patron d'expression de SOX9. Le développement normal de la mandibule à partir des arcs pharyngés et des crêtes neurales requiert donc l'action d'éléments cis-régulateurs à très longue distance du gène, opérant de chaque côté du promoteur de SOX9, et agissant tant au niveau transcriptionnel que de la régulation chromatinienne. Le vaste domaine d'action de ces régulateurs spécifiques de tissus a des implications importantes en termes de stratégie de recherche de mutations en pathologie moléculaire humaine, ce d'autant qu'il s'agit de déserts géniques souvent centrés par un gène majeur du développement. À notre connaissance, il s'agit ici de l'un des premiers exemples de mutation de séquences régulatrices hautement conservées non codantes dans le génome humain.

Mots-clés : séquences non codantes, SOX9, Pierre Robin.

■CO2 / 384. LE GÈNE PLEKHG5 EST MUTE DANS UNE FORME GÉNÉRALISÉE D'AMYOTROPHIE SPINALE AUTOSOMIQUE RÉCESSIVE DE L'ENFANT

I. Maystadt (1, 2, 3), R. Rezsöhazi (4), M. Barkats (5), S. Duque (5), M. Najimi (6), A. Munnich (2), L. Viollet (2), Ch. Verellen-Dumoulin (1, 3)

(1) Centre de Génétique Humaine et Unité de Génétique Médicale – Université Catholique de Louvain (UCL), Bruxelles, Belgique ; (2) Unité de Recherches Génétique et Epigénétique des Maladies Métaboliques, Neurosensorielles et du Développement, INSERM U781, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France ; (3) Centre de Génétique Humaine, Institut de Pathologie et de Génétique (IPG), Gosselies, Belgique ; (4) Unité des Sciences Vétérinaires, Institut des Sciences de la Vie, Université Catholique de Louvain (UCL), Louvain-la-Neuve, Belgique ; (5) Centre de Recherche et d'Applications sur les Thérapies Géniques, Centre National de la Recherche Scientifique, GENETHON, Evry, France ; (6) Unité de Recherche Pédiatrique PEDI, Département HPED, Université Catholique de Louvain (UCL), Bruxelles, Belgique

Les amyotrophies spinales se caractérisent par une dégénérescence des motoneurones des cornes antérieures de la moelle épinière ou du tronc cérébral. Les principaux symptômes sont une faiblesse musculaire et une amyotrophie progressives, associées à une diminution des réflexes ostéotendineux et à des fasciculations. Les investigations électro-physiologiques et histologiques montrent classiquement des signes de dénervation musculaire, avec des vitesses de conduction nerveuse préservées et une absence d'atteinte sensitive. Il existe de nombreux variants d'amyotrophies



spinales, très hétérogènes tant sur le plan clinique que sur le plan génétique. Nous décrivons ici une nouvelle forme d'amyotrophie spinale, présente chez cinq enfants issus d'un couple consanguin d'origine malienne. La maladie se manifeste par un déficit musculaire symétrique qui se généralise rapidement à l'ensemble de la musculature. Chez 4 des 5 patients atteints, les premiers symptômes sont apparus vers l'âge de 3 ans. La maladie a rapidement évolué, menant à une tétraplégie généralisée avec insuffisance respiratoire dès l'adolescence. Le cinquième enfant atteint a, quant à lui, développé une forme plus modérée de la maladie. Par des études de liaison basées sur le principe de l'« homozygosity mapping », nous avons localisé le gène pathogène dans un intervalle de 3,9 cm (ou 1,5 mégabases) sur le chromosome 1p36, entre les loci D1S508 et D1S2633 ($Z_{\max} = 3,79$ avec un $\theta = 0,00$ au locus D1S253). Au sein de cet intervalle, nous avons identifié chez tous les enfants atteints une mutation faux-sens [c.1940.T>C] = [p.647, Phe>Ser] à l'état homozygote dans le gène *PLEKHG5* (NM_020631.2). Grâce à des expériences de transfection transitoire de cellules rénales et mammaires humaines (cellules HEK293 et MCF10A), nous avons montré que la protéine PLEKHG5 sauvage a une distribution cytoplasmique homogène dans les cellules transfectées et qu'elle active la voie de signalisation NF-kappaB. La protéine PLEKHG5 mutée est quant à elle instable, ce qui entraîne une perte de sa fonction activatrice sur NF-kappaB. De plus, grâce à des études de transfection transitoire de motoneurones murins (cellules NSC34), nous avons montré que la protéine PLEKHG5 mutée entraîne la formation de gros agrégats cytoplasmiques. Tant la perte de fonction activatrice sur la voie de signalisation NF-kappaB que la formation d'agrégats peuvent être à l'origine de la neurotoxicité de la protéine PLEKHG5 mutée et de la dégénérescence des motoneurones dans cette nouvelle forme d'amyotrophie spinale.

Mots-clés : amyotrophie spinale, motoneurone, gène *PLEKHG5*.

■CO3 / 503. MMP1 EST UN GÈNE MODIFICATEUR DES ÉPIDERMOLYSES BULLEUSES DYSTROPHIQUES RÉCESSIVES

M. Titeux (1, 2), V. Pendaries (1, 2), L. Tonasso (1, 2), A. Décha (1, 2), C. Bodemer (3), A. Hovnanian (1, 2, 4)
(1) INSERM, U563, Toulouse, France ; (2) Université Toulouse III Paul Sabatier, Toulouse, France ; (3) Département de Dermatologie, Hôpital Necker, AP-HP, Paris, France ; (4) CHU Toulouse, Département de Génétique Médicale, Toulouse, France

Les épidermolyses bulleuses dystrophiques récessives (EBDR, OMIM #226600) sont des génodermatoses rares dues à des mutations du gène *COL7A1* (OMIM *120120) codant le collagène VII, principal composant des fibres d'ancrage qui assurent l'adhésion de l'épiderme au derme sous-jacent. Les patients souffrent de décollements bulleux cutanéomuqueux de sévérité variable, et l'on distingue plusieurs formes cliniques allant de l'EBDR localisée jusqu'à la forme particulièrement sévère et mutilante de l'EBDR généralisée d'Hallopeau-Siemens (EBDR-HS). La première cause de mortalité des patients EBDR-HS est le développement d'épithéliomas spinocellulaires agressifs. La variabilité de la sévérité entre les différentes formes cliniques d'EBDR dépend principalement de la nature et de la position des mutations du gène *COL7A1*, mais l'observation de variations phénotypiques intrafamiliales, suggère l'implication d'autres facteurs génétiques et/ou environnementaux. Parmi les gènes candidats, le gène *MMP1* codant la métalloprotéinase matricielle de type I (MMP1), a été le premier gène impliqué dans les EBDR avant que son rôle direct dans la maladie n'ait été exclu par analyse de liaison. La MMP1 dégrade le collagène VII et d'autres molécules de la matrice extracellulaire. Elle est impliquée dans le remodelage tissulaire, la cicatrisation et le caractère invasif des cancers, et une augmentation de son activité pourrait donc aggraver le phénotype EBDR en dégradant le collagène VII muté. Nous avons étudié une famille multiplexe ayant trois enfants homozygotes pour la même mutation faux sens (p.Arg2063Trp) de l'exon 74 du gène *COL7A1*. Ces trois frères présentent une grande variabilité clinique : le plus âgé est atteint de la forme d'Hallopeau-Siemens, le cadet présente une forme généralisée non mutilante de sévérité intermédiaire et le benjamin est atteint de la forme localisée. La différence de sévérité n'est pas corrélée avec la synthèse du collagène VII (Western-blot et PCR quantitative), mais avec sa quantité détectable le long de la jonction dermo-épidermique (immunohistochimie), suggérant une différence dans la dégradation de la protéine par les métalloprotéinases. Ceci est confirmé par l'augmentation de la forme active et des transcrits de MMP1 chez les 2 frères les plus sévèrement atteints. Ces deux enfants présentent un polymorphisme connu (1 G/2 G) dans le promoteur du gène MMP1 créant un site de fixation fonctionnel pour les facteurs de transcription de la famille Ets. Ce SNP conduit à l'activation transcriptionnelle du gène MMP1 dans une lignée de kératinocytes en culture. Nous avons ensuite étudié une cohorte française de 31 patients EBDR non apparentés soigneusement

caractérisés sur le plan clinique et moléculaire. Ces patients portent au moins une mutation de *COL7A1* préservant la phase de lecture et présentent un spectre de sévérité clinique très variable, allant de la forme localisée à la forme d'Hallopeau-Siemens. Nous montrons l'existence d'une forte association génétique entre le variant 2G (responsable de l'activation transcriptionnelle de MMP1) et la forme Hallopeau-Siemens (odds ratio de 73,6, intervalle de confiance à 95 % [8,8 ; 617,5], identifiant MMP1 comme un gène modificateur majeur de la sévérité des EBDR dans cette cohorte de patients. Ceci est le premier exemple de gène modificateur dans les EBDR et a des implications pour le pronostic et le développement de nouvelles approches thérapeutiques.

Mots-clés : collagène VII, collagénase, SNP.

■CO4 / 148. EFFICACITÉ, DOUTES ET SURPRISES DE LA CGH ARRAY DANS L'ÉTUDE DES RÉARRANGEMENTS CHROMOSOMIQUES APPAREMMENT ÉQUILIBRÉS À PHÉNOTYPE ANORMAL

C. Schluth-Bolard (1, 2), B. Delobel (3), D. Sanlaville (1, 2), O. Boute (4), J.-M. Cuisset (5), S. Sukno (6), B. Duban-Bedu (3), G. Plessis (7), A. Labalme (1), M.-P. Cordier (8), G. Nadeau (9), M. Till (1), P. Edery (1, 2), J. Andrieux (10)
(1) Hospices Civils de Lyon, Service de Cytogénétique Constitutionnelle ; (2) Faculté de Médecine Lyon Nord, Université Claude Bernard, Lyon 1 ; (3) Centre de Génétique Chromosomique, Hôpital St-Vincent de Paul, GHICL, Lille ; (4) Service de Génétique Clinique, Hôpital Jeanne de Flandre, CHRU Lille ; (5) Service de Neuropédiatrie, CHRU Lille ; (6) Service de Neuropédiatrie, Hôpital St-Vincent de Paul, GHICL, Lille ; (7) Service de Génétique, CHU Clémenceau, Caen ; (8) Hospices Civils de Lyon, Service de Génétique, Hôpital Edouard Herriot ; (9) Service de Cytogénétique, CH Valence ; (10) Laboratoire de Génétique Médicale, Hôpital Jeanne de Flandre, CHRU de Lille, France

Grâce aux progrès de la cytogénétique moléculaire (FISH, CGH, CGH array), l'étude de plus en plus fine des remaniements chromosomiques apparemment équilibrés à phénotype anormal a révélé un degré insoupçonné de complexité. Trente-quatre réarrangements chromosomiques apparemment équilibrés associés à un phénotype anormal ont été étudiés en CGH array à la recherche d'un déséquilibre génomique. Ces remaniements se répartissent en 21 translocations réciproques, 9 inversions et 4 réarrangements chromosomiques complexes (RCC). Neuf de ces remaniements (26,5 %) sont hérités d'un parent apparemment en bonne santé. Vingt-cinq cas ont été étudiés avec une puce 44K Agilent® et 9 autres avec une puce 244K Agilent®. Les anomalies dépistées ont été vérifiées par FISH et PCR quantitative. Quatorze déséquilibres, 13 délétions et une duplication, ont été mis en évidence chez 13 patients soit 38,2 % des cas, concernant 6 des 21 translocations réciproques (28,6 %), 5 des 9 inversions (55,6 %) et 2 des 4 RCC (50 %). Leur taille s'étend de 180 kb à 11,7 Mb. Huit d'entre eux sont survenus au point de cassure tandis que six autres sont localisés sur un chromosome différent. Deux de ces déséquilibres sont hérités d'un parent porteur d'un remaniement équilibré. Le taux de détection entre les deux types de puce est proche, 36 % pour les lames 44K (9/25) et 44 % pour les lames 244K (4/9). Les deux principales études de remaniements chromosomiques apparemment équilibrés à phénotype anormal en CGH array (Gribble *et al.*, 2005 ; De Gregori *et al.*, 2007) ont porté sur des cas *de novo*. La dernière étude a estimé que 40 % de ces réarrangements sont associés à une délétion. La série que nous présentons inclut à la fois des remaniements *de novo* et hérités et retrouve un taux de déséquilibres très semblable (38,2 %). Le caractère causal de certaines anomalies est parfois difficile à affirmer, notamment lorsqu'il s'agit d'une anomalie de très petite taille, héritée d'un parent ou d'une duplication. Trois points retiennent l'attention : les déséquilibres concernent autant les réarrangements *de novo* (40 %) que hérités (33 %), les pertes de matériel associées aux inversions semblent survenir préférentiellement à distance des points de cassure (4/5), les délétions (13/14) sont très largement majoritaires. Enfin nous comparerons les performances des puces 44K et 244K et discuterons de l'intérêt d'explorer en CGH array ces réarrangements de façon systématique.

Mots-clés : CGH array, translocations apparemment équilibrées, phénotype anormal.

■CO5 / 273. ISOLEMENT D'UN GÈNE IMPLIQUÉ DANS LE DÉTERMINISME DE LA DYSTONIE PAR CLONAGE POSITIONNEL D'UNE TRANSLOCATION CHROMOSOMIQUE T(3;18) DE NOVO

M. Béri-Dexheimer (1), C. Nemos (1), C. Philippe (1), E. Raffo (2), F. Feillet (2), J. Perrin (3), C. Vigneron (3), M. Claustres (4), M. Tardieu (5), N. Bahi-Buisson (6), L. Burglen (7), L. Van Maldergem (8), P. Jonveaux (1)

(1) EA 4002 Laboratoire de génétique, CHU de Nancy ; (2) Service de Médecine infantile 1 Hôpital d'enfants-CHU de Nancy ; (3) Service d'hématologie biologique-CHU de Nancy ; (4) Laboratoire de génétique moléculaire et chromosomique-CHU de Montpellier ; (5) Service de néonpédiatrie-AP-HP CHU de Bicêtre ; (6) Service de neuropédiatrie, AP-HP Hôpital Necker ; (7) Unité de génétique clinique et moléculaire-AP-HP Hôpital d'enfants A. Trousseau ; (8) Centre de génétique humaine-maladies métaboliques-CHU de Liège, Belgique

Contexte clinique et scientifique : La dystonie est un syndrome caractérisé par des contractions musculaires involontaires et prolongées à l'origine de mouvements répétés de torsion et de postures anormales. Elle peut être localisée ou généralisée touchant plusieurs territoires musculaires. Parmi les dystonies dites primaires, il existe une hétérogénéité génétique, cependant peu de gènes ont été identifiés comme responsables de dystonie primaire non syndromique. But de l'étude : L'observation cytogénétique de remaniements chromosomiques (translocations, délétions) associés à une maladie génétique est un moyen de localisation de gènes candidats. La mise en évidence d'une translocation chromosomique réciproque de *nov* t(3;18) chez un enfant à dystonie précoce et invalidante non reliée à une mutation exonique du gène *DYT1* pose l'hypothèse d'une pathologie de point de cassure ou d'un effet de position. La caractérisation moléculaire des points de cassure de cette translocation a pour but de caractériser un gène dont la structure ou l'expression aurait été modifiée, responsable de la dystonie de cet enfant. Matériels et méthodes/résultats : Caractérisation du point de cassure : l'hybridation *in situ* en fluorescence à l'aide de BAC (Sanger Institute, Cambridge, UK) a conduit à l'identification de BAC chevauchant les points de cassure sur les deux chromosomes impliqués dans la translocation. Un gène candidat positionnel et fonctionnel (impliqué dans la mise en place des connexions neuronales), *ROBO1* (Roundabout axon guidance receptor homolog 1) a ainsi été identifié en 3p12.3. Une étude par Southern blot a localisé précisément le point de cassure entre les exons 12 et 15 de ce gène. Sur le dérivé 18, seuls quatre EST sont présents dans la région de 77 kilobases chevauchant le point de cassure. À partir de ces données, une amplification par long range PCR a permis d'isoler un fragment de jonction d'une taille approximative de 7 kilobases sur le dérivé du chromosome 3, dont le séquençage va conduire à la caractérisation du point de cassure et donc à une étude plus approfondie du partenaire de la translocation sur le chromosome 18. Étude fonctionnelle : *ROBO1* étant impliqué dans la chimiorépression des leucocytes par le biais de son ligand SLIT2, une étude du chimiotactisme des polynucléaires révèle une diminution de l'action inhibitrice de SLIT2 en présence d'un chimioattractant (Zymosan), résultat corrélé avec une diminution de la quantité de protéine produite mise en évidence par Western blotting. Par ailleurs, le séquençage des séquences codantes de l'allèle maternel non transloqué est en faveur d'un mécanisme d'inactivation dominante. Conclusion et perspectives : La cartographie du point de cassure d'une translocation t(3;18) chez une patiente atteinte de dystonie a identifié un gène candidat dont la production protéique et la fonction sont altérées. L'implication formelle de celui-ci dans la symptomatologie observée est en cours par séquençage des exons chez vingt patients présentant un phénotype similaire. Cette étude aboutira à une meilleure connaissance des mécanismes physiopathologiques à l'origine de la dystonie.

Mots-clés : dystonie, translocation t(3;18), *ROBO1*.

■CO6 / 704. THÉRAPIE GÉNÉTIQUE DE L'ADRÉNOLEUCODYSTROPHIE : PREMIERS RÉSULTATS DU TRANSFERT DU GÈNE *ALD* DANS LES CELLULES SOUCHES HÉMATOPOIÉTIQUES AVEC UN VECTEUR LENTIVIRAL DÉRIVÉ DU VIH-1

N. Cartier (1, 2), S. Hachein-Bey-Abina (3, 4), G. Veres (5), M. Vidaud (1), L. Dal-Cortivo (3, 4), L. Caccavelli (3, 4), N. Malhaoui (6), V. Kiermer (7, 8), D. Mittelstaedt (7), A. Simmons (7), C. Bellesme (2), F. Audat (3), S. Blanche (6), P. Charnaud (8), M. Audit (9), B. L'homme (1), J.G. Zhao-Emonet (1), Fichelson (10), F. Pflumio (10), A. Dubart-Kupperschmitt (10), R. Salzman (11), A. Salzman (11), P. Bougnères (2), A. Fischer (4, 6), M. Cavazzana-Calvo (3, 4), P. Aubourg (1, 2)
(1) U745 et Université Paris Descartes, Paris ; (2) Service d'Endocrinologie et Neurologie Pédiatrique, AP-HP, Hôpital Saint Vincent de Paul, Paris ; (3) Département de Biothérapies, AP-HP, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris ; (4) U768 et Université René-Descartes, Paris ; (5) Applied Genetic Technology Corporation, Alachua, USA ; (6) Unité d'Immunologie et Hématologie Pédiatrique, AP-HP Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris ; (7) Cell Genesys, Inc., South San Francisco, USA ; (8) CNRS-URA3015, Institut Pasteur, Paris ; (9) Généthon, Evry ; (10) Département d'Hématologie, Institut Cochin, Paris ; (11) The StemCell Foundation, Houston, USA

La greffe de moelle osseuse (transplantation de cellules souches hématopoïétiques, CSH) allogénique permet dans l'ALD de stabiliser ou faire régresser les lésions démyélinisantes cérébrales quand la greffe est faite au tout début de la maladie. L'absence de donneur HLA compatible, les risques de la greffe (rejet, GVH, etc.) sont des limites importantes. L'auto-greffe de CSH génétiquement corrigées pourrait être une alternative. En l'absence d'avantage sélectif comme dans certains déficits immunitaires, cette stratégie nécessite d'utiliser un vecteur lentiviral dérivé du VIH-1 pour le transfert de gène. Pour la première fois, on a utilisé ce vecteur pour faire exprimer un gène thérapeutique dans les CSH de patients. Deux patients atteints de forme cérébrale d'ALD, candidats à la greffe allogénique, mais sans donneur ont été traités. Les résultats à 12 mois pour le premier patient et 6 mois pour le second sont encourageants : 1/ Pas d'effets indésirables dus à l'utilisation du vecteur ; 2/ une expression stable, identique et à un fort pourcentage dans toutes les lymphocytes (T, B, NK), polynucléaires et monocytes indiquant que des CSH ont été corrigées avec efficacité ; 3/ une évolution neurologique post-greffe des patients traités similaire à ce qui est observé après greffe allogénique. Des études à plus long terme permettront de déterminer : 1/ l'absence de survenue d'effets secondaires ; 2/ si la correction des CSH se maintient au même niveau ; 3/ l'efficacité de cette approche de thérapie génique sur l'atteinte cérébrale démyélinisante dans l'ALD. Ces premiers résultats ont des implications importantes pour de nombreuses autres maladies génétiques et acquises.

Session 2

■CO7 / 589. MALFORMATION CAPILLAIRE – MALFORMATION ARTÉRIO-VEINEUSE : ASPECTS CLINIQUES ET MOLÉCULAIRES

N. Revencu (1, 2), L.M. Boon (1, 3), J.B. Mulliken (4), O. Enjolras (5), M.R. Cordisco (6), P.E. Burrows (7), P. Clapuyt (8), F. Hammer (9), J. Dubois (10), E. Baselga (11), D. Chitayat (12), M. Viskula (1) et le groupe d'étude MC-MAV
(1) Laboratoire de génétique moléculaire humaine, Institut de pathologie cellulaire Christian de Duve, Université catholique de Louvain Bruxelles ; (2) Centre de génétique humaine, Cliniques universitaires St Luc, Bruxelles ; (3) Centre de malformations vasculaires, service de chirurgie plastique, Cliniques universitaires St Luc, Bruxelles ; (4) Centre d'anomalies vasculaires, service de chirurgie plastique, Children's Hospital, Harvard Medical School, Boston ; (5) Centre Multidisciplinaire des Angiomes de l'enfant, AP-HP, Hôpital d'enfants Armand-Trousseau, Service de Chirurgie Maxillo-Faciale et Chirurgie Plastique, Paris ; (6) Département de dermatologie pédiatrique, Hôpital de pédiatrie Dr. J.P. Garrahan, Buenos Aires, Argentina ; (7) Centre d'anomalies vasculaires, Département de radiologie, Children's Hospital, Harvard Medical School, Boston ; (8) Service de radiologie pédiatrique, Cliniques universitaires St Luc, Bruxelles ; (9) Service de radiologie interventionnelle, Cliniques universitaires St Luc, Bruxelles ; (10) Département d'imagerie médicale, Hôpital universitaire mère-enfant Sainte-Justine, Montreal ; (11) Hôpital Santa Creu I Sant Pau, Barcelone ; (12) Le programme de génétique médicale et de diagnostic prénatal, Mount Sinai Hospital, Toronto, Ontario, Canada

Introduction : Les malformations capillaires sont les malformations vasculaires les plus fréquentes. Leur incidence est de 0,3 %. Elles sont en général sporadiques, mais quelques cas familiaux ont été décrits. En 2003, nous avons identifié un phénotype particulier, transmis de manière autosomique dominante, associant des malformations capillaires atypiques et des malformations vasculaires à flux rapide. Nous avons baptisé cette entité Malformation Capillaire – Malformation Artério-Veineuse (MC-MAV), (MIM 608354). Par étude de liaison, suivie de séquençage de gènes candidats nous avons montré, dans 6 familles, qu'elle est causée par des mutations dans le gène *RASA1* (5q14.3). La fonction la plus connue de la protéine encodée (p120RasGAP) est l'inhibition de la protéine RAS. Des études chez la souris ont montré que p120RasGAP joue un rôle important dans le développement vasculaire. Le but de ce travail est de caractériser la variabilité phénotypique et génotypique de cette nouvelle entité clinique. Matériel et méthode : Des échantillons de sang ont été collectés chez 56 cas index et des membres de leurs familles dans 22 centres d'Europe, d'Amérique du Nord, d'Amérique du Sud et d'Australie. Les 56 individus avaient des malformations capillaires et, parmi eux, 35 avaient en plus une malformation vasculaire à flux rapide : 19 avaient une malformation artério-veineuse et les autres 16 un syndrome de Parkes Weber. Les 25 exons du gène *RASA1* ont été criblés par DHPLC (High Denaturing Performance Chromatography), suivi de séquençage des amplicons avec un profil d'élution anormal. Résultats : Nous avons identifié 42 mutations



distinctes chez 44/56 cas index : 14 cas sporadiques et 30 cas familiaux. La nature de la plupart des mutations suggère une perte de fonction de la protéine. Parmi les 42 mutations, il y a 19 insertions ou délétions exoniques non multiples de 3, ou d'un site d'épissage, et 23 substitutions : 14 non sens, 7 sur un site d'épissage et 2 faux sens. Ces mutations sont localisées dans 15 des 25 exons. Le génotypage des membres des 30 familles, nous a permis d'identifier 57 autres individus avec une mutation de *RASA1*. Cent-un individus sont donc disponibles pour l'analyse du phénotype. La pénétrance est très élevée (98 %) et l'expressivité variable même au sein d'une même famille. Les 99 individus atteints ont tous des malformations capillaires atypiques : en général multifocales, de petite taille (< 1 cm), d'une teinte rose, rougeâtre ou brunâtre, de forme ronde ou ovoïde. Beaucoup sont entourées d'un halo blanc. Chez 33/99 individus nous avons également identifié une malformation artério-veineuse (17/33, dont 8 intracérébrales) ou un syndrome de Parkes Weber (16/33). Le syndrome de Parkes Weber est un phénotype rare, caractérisé par la présence d'une tache vasculaire cutanée sur un membre, le plus souvent inférieur, de multiples micro-fistules artério-veineuses sous-jacentes et d'une hypertrophie des tissus mous et osseux. Ce syndrome a toujours été considéré comme non héréditaire. Sept de nos patients présentent différents types de tumeurs bénignes ou malignes, ce qui n'est pas inattendu vu la fonction de p120RasGAP. Trois d'entre elles (un neurofibrome, un schwannome vestibulaire et un gliome optique) sont observées dans la neurofibromatose de type 1 ou 2, ce qui est très intéressant si on prend en considération le fait que *RASA1* est un homologue de *NF1*. Conclusion : Cette étude souligne la large variabilité phénotypique associée aux mutations du gène *RASA1*. Le signe pathognomonique est la présence de malformations capillaires multifocales. Approximativement 30 % des patients sont porteurs d'une malformation vasculaire à flux rapide. Le syndrome de Parkes Weber associé à des malformations capillaires multifocales est une anomalie génétique causée par des mutations dans le gène *RASA1*.

Mots-clés : MC-MAV, syndrome Parkes Weber, *RASA1*.

■C08 / 392. LE GÈNE CODANT LA MYOPALLADIN, UNE PROTÉINE DE LA BANDE Z DU SARCOMÈRE, EST RESPONSABLE DE CARDIOMYOPATHIE DILATÉE

L. Duboscq-Bidot (1), P. Xu (2), P. Charron (1, 3, 7), N. Neyroud (1), G. Dilanian (1), A. Millaire (4), M. Komajda (1, 5, 7), E. Villard (1, 6)
(1) INSERM, UMR S621, Paris F-75013 France ; Université Pierre-et-Marie-Curie-Paris6, UMR S621, Paris F-France ; IFR14 (2) Centre National de Génotypage, Evry, France ; (3) Département de Génétique, Hôpital Pitié-Salpêtrière, AP-HP, Paris, France ; (4) Service de Cardiologie, hôpital cardiologique, Lille, France ; (5) Département de Cardiologie, Hôpital Pitié-Salpêtrière, AP-HP, Paris, France ; (6) Centre d'Investigation Biomédicale Pitié-Salpêtrière, AP-HP, Paris, France ; (7) Centre de Référence maladies cardiaques héréditaires, Paris, France

Introduction. La cardiomyopathie dilatée (CMD) est une maladie cardiaque caractérisée par une dilatation ventriculaire et une altération de la fonction contractile. C'est une cause majeure d'insuffisance cardiaque et de transplantation. La CMD est d'origine génétique dans environ 30 % des cas et très hétérogène génétiquement avec plus de 10 gènes impliqués dans la maladie identifiés à ce jour et aucun gène majeur. Malgré ce nombre, beaucoup de gènes restent encore à identifier dans cette pathologie. Du fait de la grande morbidité associée à la CMD et de la petite taille des familles atteintes l'analyse de liaison génétique est peu adaptée. L'identification des gènes est donc le plus souvent basée sur une approche gène candidat et un criblage mutationnel. Parmi les gènes connus à ce jour, la majorité code pour des protéines de structure du cardiomyocyte. Matériel et Méthodes. L'analyse des composants structuraux du sarcomère cardiomyocytaire nous a permis d'identifier le gène codant la myopalladin (OMIM 608517), une protéine associée à la bande Z sarcomérique, comme candidat potentiel. Nous avons criblé, par séquençage direct, l'ensemble des exons et jonctions introns-exons du gène chez 114 sujets indépendants d'origine européenne (65 cas familiaux et 49 cas sporadiques) présentant une CMD. Les mutations ont été analysées sur les plans génétique (conservation inter-espèce, fréquence allélique, coségrégation, liaison génétique) et fonctionnel (immunohistochimie, expression cellulaire hétérologue). Résultats. Nous avons identifié 4 mutations à l'état hétérozygote dans deux familles (R1088H et I83fsX105) et 2 cas sporadiques (V1195 et P1112L). Pour les 3 mutations faux-sens, l'acide aminé substitué est conservé entre les espèces. Aucune des mutations n'est retrouvée dans une population de 400 contrôles sains. Les sujets atteints sont tous porteurs d'une des mutations et la pénétrance chez les porteurs est incomplète, une caractéristique fréquente dans cette pathologie. Enfin, dans la plus grande famille (mutation 1088H) un lod-score significatif ($Z = 2,3$; $\theta = 0$) est obtenu pour le calcul de liaison génétique entre la mutation considérée comme marqueur

unique et la maladie. L'immunomarquage spécifique de la myopalladin dans le cœur transplanté d'un patient porteur de la mutation R1088H indique une perte de localisation de la protéine à la bande Z sarcomérique, suggérant un défaut d'interaction ou d'adressage de la protéine mutante. L'expression hétérologue des mutations P1112L et V1195M dans le modèle des cardiomyocytes de rats nouveaux-nés en culture primaire induit une désorganisation structurale rapide des sarcomères associée à une mort cellulaire importante et précoce comparé aux cellules exprimant la myopalladin humaine sauvage. Enfin, la quantification de la fuite transcriptionnelle lymphoblastique des ARNm issus des deux allèles codant la mutation I83fsX105 indiquent une absence presque totale du transcrit porteur de la mutation et suggère un mécanisme d'haploinsuffisance associé à cette mutation. Conclusion. Nos résultats expérimentaux, tant génétiques, histologiques, que fonctionnels, indiquent que les mutations du gène codant la myopalladin que nous avons identifiées sont responsables de cardiomyopathie dilatée et que ce nouveau gène est impliqué dans 3 à 4 % des cas dans une population d'origine européenne.

Mots-clés : cardiomyopathie, myopalladin, mutation.

■C09 / 16. DES MUTATIONS DANS DEUX SOUS-UNITÉS DU COMPLEXE OLIGOSACCHARYL TRANSFÉRASE SONT RESPONSABLES DE RETARD MENTAL NON-SYNDROMIQUE

F. Molinari (1), F. Foulquier (2, 4), P.S. Tarpey (3), W. Morelle (4), P. de Lonlay (1), J. Teague (3), S. Edkins (3), P.A. Futreal (3), M.R. Stratton (3), M. Partington (5), G. Matthijs (2), G. Turner (5), J. Gecz (6, 7), A. Munnich (1), L. Colleaux (1)
(1) INSERM U781, Université Paris V, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France ; (2) Laboratory for Molecular Diagnostics, Universiteit Leuven, Leuven, Belgium ; (3) Cancer Genome Project, Wellcome Trust Sanger Institute, Hinxton, UK ; (4) UMR CNRS/USTL 8576, IFR 147, Université des Sciences et Technologies de Lille 1, Lille, France ; (5) The Gold Service, Hunter Genetics and University of Newcastle, New South Wales, Australia ; (6) Department of Genetic Medicine, Women's and Children's Hospital, Adelaide, Australia ; (7) Department of Pediatrics and School of Molecular and Biomedical Science, University of Adelaide, Adelaide, Australia

Le retard mental (RM), caractérisé par un quotient intellectuel inférieur à 70, est un handicap très fréquent puisqu'il touche 1 à 3 % de la population générale. Les origines des RM sont très diverses (facteurs environnementaux, anomalies chromosomiques ou maladie métabolique), mais dans près de 40 % des cas la cause demeure inconnue, il s'agit de RM dits cryptogéniques (RMC). Parmi ces derniers, on estime que près du quart serait transmis selon un mode autosomique récessif avec des mutations dans des gènes encore non identifiés. Alors qu'un grand nombre de gènes responsables de RM non-syndromiques liés au chromosome X (RMX) ont été identifiés, seuls quatre gènes de RM non-syndromique récessif autosomique (RMNS-RA) ont été décrits jusqu'à aujourd'hui. Au cours de nos recherches, nous avons eu l'opportunité d'étudier une famille consanguine française dont deux enfants sur quatre présentent un RM isolé sévère. L'étude par autozygotie en utilisant une puce Affymetrix composée de plus de 11 000 SNPs nous a permis de localiser le gène responsable en 8p23.1-p22. Cette région de 8 Mb comprend 25 gènes connus et une douzaine de prédictions. Nous nous sommes particulièrement intéressés au gène *N33/TUSC3* qui code une protéine impliquée dans le complexe de l'oligosaccharyl transférase, enzyme clé de la N-glycosylation puisqu'elle permet le transfert « en bloc » de chaîne d'oligosaccharide sur les protéines néo-synthétisées. Le séquençage des 11 exons de ce gène a mis en évidence une insertion homozygote dans l'exon 6, c.787_788insC, qui conduit à un décalage de la phase de lecture et à l'apparition d'un codon STOP prématuré, p.N263fsX300. Cette mutation n'a pas été retrouvée chez plus de 200 contrôles. L'analyse par RT-PCR quantitative a mis en évidence une forte diminution de l'expression de *N33/TUSC3* dans les cellules des patients. *N33/TUSC3* possède un gène paralogue localisé sur le chromosome X, *IAP*. De façon intéressante, le séquençage de ce gène chez une famille australienne, composée de 4 enfants dont 2 garçons présentent un RM isolé sévère, a permis de mettre en évidence une mutation faux sens dans l'exon 9, c.932T>G. Cette mutation conduit au changement d'un acide aminé très conservé au long de l'évolution, p.V311G, et n'a pas été retrouvée chez plus de 250 contrôles. Plusieurs études ont déjà montré le rôle essentiel des modifications post-traductionnelles (en particulier l'association d'acide polysialique) sur la molécule d'adhérence cellulaire neuronale NCAM. De plus, de récents travaux ont montré le rôle critique de la glycosylation au niveau de la plasticité synaptique et de la consolidation de la mémoire. Cependant, nos résultats apportent la première démonstration qu'un défaut de la N-glycosylation peut résulter en un RM isolé. Ces travaux soulignent l'importance de la régulation de l'activité du complexe oligosaccharyl

transférase pour le développement normal des fonctions cognitives et ouvrent de nouvelles pistes quant à l'élucidation des bases physiopathologiques des retards mentaux.

Mots-clés : retard mental, oligosaccharyl transférase, *N33 / IAP*.

■CO10 / 177. DONNÉES CLINIQUES, ANATOMO-PATHOLOGIQUES ET GÉNÉTIQUES AUTOUR D'UNE SÉRIE DE 70 PATIENTS AYANT UN RHOMBENCEPHALOSYNAPSIS

L. Pasquier (1, 2), P. Loget (3), C. Bendavid (2), C. Dubourg (2), S. Jailard (2, 4), C. Henry (4), J. Lucas (4), J. Lespinasse (5), C. de la Roche-brochard (1), P. Marcorelles (6), F. Pelluard (7), D. Carles (7), M.J. Pérez (8), M. Ferry (9), C. Tréguier (9), C. Fallet-Bianco (10), V. David (2), A. Laquerrière (11), S. Odent (1)

(1) Pôle de Pédiatrie et Génétique médicale, CHU Rennes ; (2) Laboratoire de Génétique moléculaire et UMR 6061 CNRS, CHU Rennes ; (3) Laboratoire d'anatomie pathologique, CHU Rennes ; (4) Laboratoire de Cytogénétique, CHU Rennes ; (5) Laboratoire de Cytogénétique, CH Chambéry ; (6) Laboratoire d'anatomie pathologique, CHU Brest ; (7) Laboratoire d'anatomie pathologique, CHU Bordeaux ; (8) Unité de fœtopathologie, Pôle Femme Mère Enfant, CHU Poitiers ; (9) Pôle d'Imagerie, CHU Rennes ; (10) Laboratoire d'anatomie pathologique, CH Sainte-Anne, Paris ; (11) Laboratoire d'anatomie pathologique, CHU de Rouen, France

Le rhombencéphalosynapsis (RES) est une malformation rare du cervelet associant une agénésie vermiennne, une fusion dorsale des hémisphères et une apposition ou une fusion des noyaux dentelés. Diverses malformations associées ont été décrites au niveau cérébral et squelettique mais une seule association syndromique est actuellement reconnue : le syndrome de Gomez-Lopez-Hernandez. Les mécanismes embryologiques et génétiques sont encore mal connus. Le pronostic de développement des enfants présentant un RES peut varier d'un retard mental profond avec troubles psychiatriques jusqu'à un retard modéré essentiellement sur la motricité. Le pronostic est donc particulièrement difficile à préciser puisque le diagnostic est habituellement réalisé en période prénatale après la découverte d'une hydrocéphalie. Nous présentons les résultats d'une étude collaborative ayant réuni 70 cas dont 65 fœtus et 5 enfants vivants ayant un rhombencéphalosynapsis. 35 ont fait l'objet d'une relecture de lames histologiques et 10 d'un criblage pangénomique par une technique de CGH array. Nous proposons de différencier 4 entités phénotypiques : (i) isolé, (ii) associé avec une malformation du pôle cérébral (anomalie de fermeture du tube neural ou holoprosencéphalie), (iii) syndromique avec l'association VACTERL-H, (iv) autres entités syndromiques. La relecture des examens anatomopathologiques permet de confirmer le rhombencéphalosynapsis et de mettre en évidence d'autres lésions cérébrales responsables de l'hydrocéphalie. 4 micro réarrangements génomiques non récurrents ont été identifiés par CGH array sur 10 patients ce qui montre la pertinence de cette stratégie moléculaire et la probable hétérogénéité génétique. La poursuite d'une collection de données cliniques, radiologiques et génétiques est actuellement en cours ainsi que la recherche de gènes candidats dans les loci identifiés. La connaissance de l'histoire naturelle de cette malformation rare et le conseil génétique seront ainsi améliorés.

Mots-clés : rhombencéphalosynapsis, hydrocéphalie, classification.

■CO11 / 426. ADCK3, AN ANCESTRAL MITOCHONDRIAL KINASE INVOLVED IN COENZYME Q BIOSYNTHESIS, IS MUTATED IN A NEW FORM OF RECESSIVE ATAXIA

C. Lagier-Tourenne (1), M. Tazir (2), L. Carlos López (3), C. M. Quinzii (3), N. Drouot (1), M. Assoum (1), C. Busso (4), S. Makri (5), L. Ali-Pacha (2), T. Benhassine (6), M. Anheim (1, 7), D. Lynch (8), C. Thibault (1), F. Plewniak (1), L. Bianchetti (1), S. DiMauro (3), C. Tranchant (7), O. Poch (1), J.-L. Mandel (1), M. H. Barros (4), M. Hirano (3), M. Koenig (1)

(1) Institut de Génétique et de Biologie Moléculaire et Cellulaire, CNRS/INSERM/Université Louis Pasteur, Illkirch ; Hôpitaux Universitaires de Strasbourg ; et Collège de France, Paris, France ; (2) Service de Neurologie, Centre Hospitalo-Universitaire Mustapha, Alger, Algeria ; (3) Department of Neurology, Columbia University Medical Center, New York, USA ; (4) Departamento de Microbiologia, ICB-II, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil ; (5) Service de Neurologie, Hôpital Ait Idir, Alger, Algeria ; (6) Institut Pasteur d'Alger, Algeria ; (7) Service de Neurologie, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France ; (8) Department of Neurology, University of Pennsylvania School of Medicine, and Children's Hospital of Philadelphia, USA

Une étude pangénome par puces de génotypage Affymetrix dans une grande famille consanguine d'origine algérienne nous a permis d'identifier

un nouveau locus d'ataxie autosomique récessive en 1q41-42. Le séquençage des gènes candidats de la région a mis en évidence une mutation homozygote du site donneur d'épissage dans l'intron 11 (c.1398+2T>C) du gène *ADCK3* chez les individus atteints de cette famille. L'étude par RT-PCR sur l'ARN extrait de fibroblastes d'un patient a confirmé l'effet délétère de cette mutation sur l'épissage de l'exon 11. Quatre nouvelles mutations du gène *ADCK3* ont ensuite été identifiées chez 3 patients sporadiques. Tous les patients présentent une ataxie avec atrophie cérébelleuse ayant débuté dans l'enfance, pouvant être associée à des signes discrets tels qu'une intolérance à l'exercice avec élévation des lactates. *ADCK3* code pour une protéine mitochondriale dont les homologues bactériens et de levure (respectivement ubiB et abc1 ou coq8) sont impliqués dans la biosynthèse du coenzyme Q. Chez un des patients porteurs de mutations du gène *ADCK3*, un déficit en coenzyme Q10 au niveau musculaire avait été préalablement identifié. Les taux de Coenzyme Q10 ont également été analysés sur les fibroblastes et/ou lymphoblastes disponibles révélant un déficit modéré en coenzyme Q10 chez 3 des 4 patients testés. De plus, l'étude des complexes de la chaîne respiratoire dans les fibroblastes a mis en évidence un déficit de l'activité combinée des complexes I+III, réversible par addition de Coenzyme Q2 dans le milieu de culture. Les mutations du gène *ADCK3* sont donc responsables d'une ataxie associée à un déficit en coenzyme Q10. Deux des mutations identifiées sont des mutations tronquantes et les trois autres mutations identifiées sont responsables d'un phénotype pathologique lorsqu'elles sont introduites dans le gène homologue de la levure. Le rôle exact des homologues bactériens et de levure d'*ADCK3* dans les différentes étapes de la biosynthèse du coenzyme Q n'est pas connu à ce jour. Par analyse bioinformatique, nous avons identifié les homologues procaryotes et eucaryotes d'*ADCK3* qui constituent une famille de protéines caractérisées par la conservation de motifs correspondant au « noyau universel » des kinases (motifs I, II, Vb et VII) et nécessaires à la fixation de l'ATP et à la réaction de phospho-transfert. L'analyse phylogénétique de la famille et l'absence des motifs classiquement présents en C-terminal des protéines kinases (motifs VIII à XI), indique que les protéines ADCKs appartiennent à la super-famille des « kinases atypiques » décrite par Scheef et Bourne (2005) et incluant des phosphatidyl kinases et des choline kinases. Les protéines ADCKs semblent donc jouer un rôle très important et très ancien dans la régulation du métabolisme. L'identification de leurs substrats permettra de mieux comprendre ce rôle.

Mots-clés : ataxie, kinase mitochondriale, ubiquinone.

■CO12 / 81. DES MUTATIONS DE *TBXAS1* (THROMBOXANE SYNTHASE) SONT RESPONSABLES D'UNE MALADIE OSSEUSE CONDENSANTE (SYNDROME DE GHOSAL) PAR MODULATION DE *RANKL* ET *OPG*

D. Geneviève (1), V. Proulle (2), B. Isidor (1), V. Serre (1), F. Djouadi (3), C. Picard (4), C. Vignon-Savoye (5), B. Bader-Meunier (6), S. Blanche (4), M.-C. de Vernejoul (8), L. Legeai-Mallet (1), A.-M. Fischer (7), M. Le Merrer (1), M. Dreyfus (2), P. Gaussem (7), A. Munnich (1), V. Cormier-Daire (1)

(1) Département de Génétique, INSERM U781 et Université René-Descartes, Paris V ; (3) Centre National de la Recherche Scientifique UPR9078 ; (4) Département d'Immuno-Hématologie, Hôpital Necker-Enfants Malades ; (2) Laboratoire d'Hématologie, Hôpital Kremlin-Bicêtre ; (5) Service de Pédiatrie, Centre Hospitalier Inter-Communal, Le Raincy-Montfermeil ; (6) Service d'Hématologie Pédiatrique, Hôpital Robert-Debré ; (7) Laboratoire d'Hématologie, Hôpital Européen Georges Pompidou ; (8) Département de Rhumatologie, Hôpital Lariboisière, Paris, France

Le syndrome de Ghosal ou dysplasie hémato-diaphysaire (GHDD, OMIM 231095) est une maladie autosomique récessive rare caractérisée par une dysplasie diaphysaire associant une augmentation de la densité osseuse et une anomalie du remodelage osseux des os long, et de façon variable, une anémie arégénérative corticostéroïde et une inflammation chronique. Nous avons localisé le gène responsable du syndrome de Ghosal en 7q33-q34 en utilisant une méthode de cartographie par homozygotie. Après avoir exclu 25 gènes candidats par séquençage direct, nous avons considéré le gène de la Thromboxane synthase (*TBXAS1*) comme un possible gène candidat. Ce gène, composé de 17 exons, code pour une protéine de 533 acides aminés, la thromboxane synthase (TXAS), qui est une des enzymes terminales de la cascade de l'acide arachidonique (AA). La TXAS catalyse la conversion du Prostaglandine E2 en Thromboxane A2 (TXA2) qui est un puissant inducteur de l'agrégation des plaquettes et qui est impliqué dans la constriction des muscles lisses vasculaires et pulmonaires. TXA2 est également impliqué dans de très nombreux processus pathologiques (pathologies cardiovasculaires (athérosclérose, HTA, infarctus du myocarde), pulmonaires et cancers). Nous avons séquençé le gène *TBXAS1*



dans 4 familles consanguines non apparentées et identifié 4 mutations fausses distinctes. Ces mutations sont présentes à l'état homozygote, coségrégent parfaitement avec la maladie et n'ont pas été identifiées dans 210 chromosomes contrôles. Nous avons ensuite mis en évidence un déficit spécifique de l'agrégation des plaquettes après stimulation à l'AA ; L'absence de pathologie hémorragique chez nos patients suggère un mécanisme d'agrégation plaquettaire redondant chez l'homme. Nous avons ensuite démontré par PCR quantitative temps réel dans des cultures primaires d'ostéoblastes, que TXAS et TXA2 modulent *in vitro* l'expression de *RANKL* et *OPG*. En conclusion, nous avons démontré que des mutations de *TBXAS1* sont responsables du syndrome de GHDD, caractérisé par une augmentation de la densité osseuse, en rapport probable avec un défaut de recrutement local des pré-ostéoclastes par diminution de sécrétion de *RANKL*.

Mots-clés : Ghosal hémato-diaphyseal syndrome, thromboxane, *RANKL*-*OPG*.

Session 3

■CO13 / 702. LES APPROCHES GÉNOME ENTIER D'ASSOCIATION PAR PUCES À ADN APPORTENT DES PISTES NOUVELLES SUR LES CAUSES DU DIABÈTE DE TYPE 2 ET DE L'OBÉSITÉ

P. Froguel

Genomic Medicine, Imperial College London et CNRS-Institut de Biologie de Lille, Institut Pasteur, Lille, France

Les cartes récentes des variants fréquents de l'ADN du génome humain (Hapmap) ainsi que la mise au point de puces à ADN de très haute densité permettant l'analyse simultanée de plus de 500 000 SNPs nous ont permis de mener à bien des projets d'exploration fine du génome de sujets DT2 et obèses comparés à des sujets contrôles. Ces technologies nouvelles viennent de nous permettre d'identifier dans la population française (1400 DT2 et contrôles pour cette étude de phase 1) puis de confirmer dans la population européenne l'existence d'au moins 9 gènes du DT2. Les études complémentaires de corrélation génotype/phénotype menées notamment dans la cohorte française suivie prospectivement DESIR (5000 sujets) ont précisé l'effet de plusieurs de ces variants sur la sécrétion de l'insuline dont le transporteur du Zinc ZnT8 et le facteur de transcription du développement pancréatique HHEX. L'analyse de phase 2 de 6 600 sujets diabétiques/contrôles français des 20 000 SNPs potentiellement associés au DT2 dans la phase 1 semble montrer au moins 2 loci supplémentaires et une méta analyse de tous les génome scans d'association réalisés dans le monde à ce jour est en cours d'analyse et devrait aider à identifier des loci de faible effet sur le risque diabétique. Dans l'obésité, nous avons identifié un gène majeur d'obésité appelé FTO responsable de 20 % du risque attribuable et les études de « fine mapping » ont permis de localiser avec précision le ou les SNPs potentiellement causatifs de ce gène dont la fonction est encore discutée. Par ailleurs un génome scan d'association de l'obésité sévère de l'enfant et aussi de l'adulte (2800 individus) est en cours d'analyse à Lille et les résultats devraient être disponibles rapidement.

Mots-clés : type 2 diabetes, microarrays, single nucleotide polymorphisms.

■CO14 / 667. RÉGIONS DE SUSCEPTIBILITÉ À L'ASTHME ET L'ATOPIE IDENTIFIÉES PAR MÉTA-ANALYSES DE CRIBLAGES DU GÉNOME

E. Bouzigon (1, 2), P. Forabosco (2, 3), F. Demenais (1), C. Lewis (2) pour le groupe de méta-analyses de l'asthme
(1) INSERM U794, France ; (2) Med. and Mol. Genet., King's College London, UK ; (3) IGP-CNR, Italie

Introduction : À ce jour, 20 criblages du génome de l'asthme et des phénotypes associés à l'asthme conduits dans différentes populations ont rapporté de nombreuses régions potentiellement liées à cette maladie. Matériel et Méthodes : Dans le cadre du réseau d'Excellence Européen GA2LEN (Global Allergy and Asthma European Network), nous avons réalisé des méta-analyses de criblages du génome conduits dans des familles d'origine géographique et ethnique différentes (Europe, Etats-Unis [familles d'origine Européenne, Afro-américaine ou Hispanique], Australie, Japon, Chine) pour l'asthme et deux phénotypes de l'atopie (IgE totales et réponse positive à au moins un test cutané [SPT]) à l'aide de la méthode GSMA (Genome Search Meta-analysis). La méthode GSMA est un outil exploratoire des données représentées par les statistiques de tests de liaison génétique à différentes positions chromosomiques pour les différents criblages étudiés. Cette méthode permet d'évaluer à travers le génome l'évidence de liaison la plus forte pour des bins de largeur fixe traditionnellement de

30 cm. Afin d'évaluer la sensibilité des résultats à la longueur des bins, différentes définitions de bins (20 cm et 40 cm) ont été utilisées. Les analyses ont tout d'abord été effectuées dans les familles d'origine européenne puis dans l'ensemble des populations. Résultats : Quatre régions d'intérêt ont été identifiées dans l'ensemble des populations de différentes origines géographiques : 2p22-q13 ($p = 0,006$) pour l'asthme, 6p21 ($p = 0,003$) pour IgE, 3p11-q21 ($p = 0,0001$) et 17p12-q24 ($p = 0,002$) pour SPT. De manière intéressante, l'évidence de liaison dans la région 17q était plus importante dans les familles d'origine européenne ($p = 0,00009$). Ces régions ainsi que trois nouvelles ont été détectées en utilisant des bins de longueur différente. Conclusion : Notre étude a permis de confirmer des régions chromosomiques d'intérêt (6p et 17q) et d'identifier de nouvelles régions (2p et 3q) pouvant contenir des gènes de susceptibilité à l'asthme et aux phénotypes de l'atopie. Ces régions constituent des cibles pour les futures études de déséquilibre de liaison et peuvent également aider à donner la priorité à des résultats d'études d'associations génome entier. Financé par « EU Framework programme for research, contract n° FOOD-CT-2004-506378, the GA2LEN project ».

Mots-clés : meta-analysis, linkage, asthma.

■CO15 / 428. GÈNES MODIFICATEURS DES RISQUES TUMORAUX CHEZ LES SUJETS PORTANT UNE MUTATION *BRCA1* OU *BRCA2* (GEMO)

O. Sinilnikova (1, 2), L. Barjhoux (1, 2), A. Antoniou (3), S. Mazoyer (2), D. Stoppa-Lyonnet (4) pour GEMO – groupe « Génétique et Cancer » FNCLCC

(1) Unité Mixte de Génétique Constitutionnelle des Cancers Fréquents, Hospices Civils de Lyon / Centre Léon Bérard, Lyon ; (2) Laboratoire de Génétique Moléculaire, Signalisation et Cancer UMR5201 CNRS, Université Claude Bernard, Lyon ; (3) Genetic Epidemiology Unit, Department of Public Health and Primary Care, University of Cambridge, UK ; (4) INSERM U509, Service de Génétique Oncologique, Institut Curie, Paris, France

Objectifs de l'étude : Les porteuses de mutation sur les gènes *BRCA1* et *BRCA2* ont un risque accru de développer un cancer du sein ou un cancer de l'ovaire. Cependant, il existe une grande variabilité inter- et intra-familiale de l'âge de diagnostic et de type de cancer développé. Afin de pouvoir personnaliser la prise en charge des femmes à risque, il est essentiel de comprendre les causes de cette variabilité. Plusieurs arguments plaident en faveur de l'intervention de facteurs génétiques et de facteurs liés à l'environnement et au mode de vie influençant l'effet majeur des mutations *BRCA*. Notre étude a pour objectif d'identifier les gènes/variants alléliques modifiant le risque de cancer chez les femmes porteuses de mutation *BRCA*, en prenant en compte d'autres facteurs susceptibles d'influencer ce risque, essentiellement les facteurs gynécologiques et obstétricaux. Nous étudions des variants alléliques de gènes candidats, déterminés en fonction de leur implication dans la régulation de *BRCA1* ou *BRCA2* ou de leur rôle dans le développement des cancers du sein et de l'ovaire. Sujets et méthodes de l'étude : Notre appel à collaboration nationale et internationale a permis de rassembler des échantillons d'ADN de 1983 femmes porteuses d'une mutation *BRCA1* ou *BRCA2*. Toutes les femmes, âgées de 18 ans ou plus, chez qui une mutation d'un des gènes *BRCA* a été identifiée, quels que soient les critères qui ont amené à la prescription d'un test génétique, sont éligibles. Les femmes porteuses de mutations *BRCA* sont recensées par l'intermédiaire des centres d'oncogénétique, fédérés au sein du groupe « Génétique et Cancer » de la FNCLCC. Sur le plan international, notre collaboration de longue date avec H.Lynch (Creighton University, USA) et J.Simard (CHU Laval, Canada) a permis d'obtenir un grand nombre d'échantillons également. Les données cliniques (l'année de naissance, l'atteinte tumorale, l'âge au diagnostic, les caractéristiques histologiques, les antécédents gynéco-obstétricaux) et la description de la mutation *BRCA* sont regroupées dans une base de données ACCESS. Nous poursuivons l'inclusion de nouveaux sujets dans l'étude afin d'augmenter sa puissance statistique. Le génotypage des polymorphismes dans les gènes candidats est réalisé par la technique de la discrimination allélique TaqMan. Les données sont analysées en utilisant l'approche « weighted Cox regression » (Antoniou *et al.*, 2005) et « robust variance estimator ». Les analyses sont ajustées pour l'année de naissance et les variables gynécologiques et obstétriques. Résultats et retombées : Nous avons étudié des polymorphismes dans 25 gènes impliqués dans la détection et la réparation des cassures double brin de l'ADN. L'efficacité de ces mécanismes étant fortement endommagée chez les sujets porteurs de mutations *BRCA*, il est probable qu'une insuffisance supplémentaire de ces mécanismes, liée à certains allèles des gènes intervenant dans ces voies, pourrait accentuer les processus néoplasiques. Le variant 135G>C dans la région 5'UTR de *RAD51* – une recombinaison essentielle pour la réparation

des cassures double-brins d'ADN – a été trouvé associé à l'état homozygote à une augmentation significative du risque de cancer du sein chez les porteuses *BRCA2* (Hazards Ratio 3.18 [95 %CI = 1,39-7,27], $p = 0,0004$). Ce résultat a été obtenu grâce à l'analyse, au sein du consortium international « Consortium of Investigators of Modifiers of *BrcA1/2* (CIMBA) », des données des nombreux réseaux ou centres de génétique, parmi lesquels la contribution de GEMO a été la plus importante. Notre groupe, en collaboration avec celui de J.Simard, ayant montré que le polymorphisme 135G>C influence l'épissage alternatif de *RAD51*, a suggéré comment il pouvait exercer son effet. Ce résultat permet d'envisager la possibilité d'utiliser, dans le cadre du conseil génétique, les données sur la présence de l'allèle à risque de *RAD51* afin d'optimiser la prise en charge clinique des porteuses de mutations *BRCA*.

Mots-clés : cancer du sein et de l'ovaire, variabilité de risque tumoral, gènes *BRCA1* et *BRCA2*.

■CO16 / 33. DES MUTATIONS DU GÈNE *P53R2* CAUSENT DES DÉPLÉTIONS DE L'ADN MITOCHONDRIAL

A. Bourdon (1), L. Minai (1), V. Serre (1, 2), J.-P. Jais (3), E. Sarzi (1), S. Aubert (1), D. Chrétien (1), P. de Lonlay (1), V. Paquis-Flucklinger (4), H. Arakawa (5), Y. Nakamura (5), A. Munnich (1), A. Rötig (1)
(1) INSERM U781 et Service de Génétique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris ; (2) Université Paris 7 ; (3) Service de biostatistique et Informatique Médicale Université René-Descartes, Faculté de Médecine, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris ; (4) Département de génétique médicale, Hôpital l'Archet 2, Nice ; (5) Human Genome Center, Institute of Medical Science, University of Tokyo, Tokyo, Japon

Les déplétions de l'ADN mitochondrial (ADNmt) sont caractérisées par une diminution du nombre de molécules d'ADNmt et sont une cause importante des déficits de la chaîne respiratoire. De nombreux gènes nucléaires contrôlent le nombre de copies d'ADNmt et ces anomalies quantitatives sont les conséquences de mutations de certains de ces gènes. Des mutations dans cinq gènes nucléaires ont été rapportées dans des déplétions de l'ADNmt. Ces gènes sont impliqués dans la répllication de l'ADNmt (*POLG* qui code l'ADN polymérase mitochondriale) et dans la voie de récupération des dNTP mitochondriaux (*DGUOK*, *TK2* codant respectivement la deoxyguanosine kinase et la thymidine kinase mitochondriales). Le dernier gène identifié, *MPV17*, code pour une protéine localisée dans la mitochondrie mais dont la fonction est inconnue à ce jour. Cependant, pour une majorité des patients avec déplétion de l'ADNmt, le gène muté reste à identifier. La grande hétérogénéité clinique des patients avec déplétions de l'ADNmt suggère une grande hétérogénéité génétique et la découverte de nouveaux gènes de déplétions de l'ADNmt est rendue difficile par la petite taille des familles. Une analyse de liaison réalisée sur une famille consanguine présentant une déplétion très sévère de l'ADNmt dans le muscle (1 % de la quantité normale d'ADNmt) nous a permis d'identifier une région sur le chromosome 8 avec un lod score significatif de 3,3. Dans cette région, nous avons identifié une mutation non-sens homozygote du gène *p53R2* qui code pour une petite sous-unité de la ribonucléotide réductase placée sous le contrôle de p53. Des mutations de ce gène ont également été retrouvées chez d'autres enfants présentant une déplétion de l'ADNmt très sévère dans le muscle. La ribonucléotide réductase est une enzyme cytoplasmique qui catalyse la réduction des NDP en dNDP, étape limitante dans la synthèse de l'ADN. Cette étude montre que la régulation du pool des dNTP cytosoliques est indispensable au maintien de l'ADNmt et que *p53R2* a un rôle clé pour la synthèse des dNTP utilisés pour la répllication de l'ADNmt.

Mots-clés : mitochondrie, ADN mitochondrial, génotypage.

■CO17 / 39. *NLRP12*, UN NOUVEAU GÈNE DE FIÈVRES RÉCURRENTES HÉRÉDITAIRES

I. Jéru (1, 2), P. Duquesnoy (1), E. Cochet (1, 2), M. Lackmy-Port-Lis (3), E. Grimprel (4), J. Landman-Parker (5), V. Hentgen (6), S. Marlin (2), T. Sarkisian (7), G. Grateau (8), S. Amselem (1, 2)
(1) INSERM U.654, Université Paris 6, Paris ; (2) Service de Génétique et d'Embryologie médicales, Hôpital Armand-Trousseau, Université Paris 6 ; (3) Service de Pédiatrie B, CHU Pointe-à-Pitre, Guadeloupe ; (4) Service d'Urgences pédiatriques médicales et chirurgicales, Hôpital Armand-Trousseau, Université Paris 6 ; (5) Service d'Hématologie, Immunologie, Oncologie pédiatrique, Hôpital Armand-Trousseau, Université Paris 6 ; (6) Service de Pédiatrie, Centre Hospitalier de Versailles ; (7) Center of Medical Genetics, National Academy of Sciences, Yerevan, Arménie ; (8) Service de Médecine Interne, Hôpital Tenon, Université Paris 6, Paris, France

Les fièvres récurrentes héréditaires (FRHs) sont des maladies auto-inflammatoires de transmission Mendélienne, associées à des variations de séquences dans quelques gènes. Ces variations sont essentiellement des mutations faux-sens, souvent conservatives, dont le caractère délétère, très difficile à mettre en évidence, reste discutable dans la majorité des cas. De plus, ces variations de séquences ne sont retrouvées que chez un nombre limité de patients. Il est cependant crucial de reconnaître ces affections, compte tenu de l'efficacité démontrée de plusieurs traitements médicamenteux. Le nombre croissant de cas sporadiques identifiés et l'absence de critère objectif de diagnostic clinique constituent des obstacles majeurs aux études de clonage positionnel. Suivant une approche gènes candidats, nous venons d'identifier deux familles présentant des mutations non ambiguës du gène *NLRP12* : mutation non sens prématurée et mutation d'épissage dont l'étude a montré qu'elle conduisait également à un codon stop prématuré (analyse de transcrits générés à partir de minigènes *NLRP12*). Des tests fonctionnels nous ont ensuite permis de montrer que ces deux mutations altèrent les propriétés inhibitrices de *NLRP12* sur la voie NF- κ B. Les protéines NLRP appartiennent à la famille des CATERPILLER (aussi appelées NLRs) qui joueraient, comme les récepteurs Toll-like, un rôle dans la reconnaissance de pathogènes et le déclenchement de la réponse inflammatoire et immunitaire. Ces données récentes sur la fonction des NLRs soutiennent le concept d'un continuum clinique et biologique entre les maladies auto-immunes et les maladies auto-inflammatoires. Dans ce contexte, l'identification de ces premières mutations de *NLRP12* chez des patients présentant une FRH met en évidence le rôle crucial de ce facteur dans la réponse inflammatoire, tout en révélant son rôle particulier au sein d'une famille protéique dont la caractérisation fonctionnelle repose à ce jour essentiellement sur des études *in vitro*. Cette étude, qui identifie une nouvelle classe de FRHs associées à des mutations non ambiguës de *NLRP12*, devrait également permettre d'améliorer la prise en charge des patients.

Mots-clés : fièvre récurrente héréditaire, *NRPL12*, mutation.

■CO18 / 293. LE POLYMORPHISME EN -308 DU PROMOTEUR DU TNF-ALPHA POURRAIT INFLUENCER L'IMPLANTATION EMBRYONNAIRE

F. Vialard (1, 2), D. Molina Gomes (1), I. Hammoud (1, 3), M. El Sirkasi (2), M. Bergere (1, 3), M. Albert (1, 3), C. Mauduit (2), R. Lombroso (4), J. Selva (1, 2, 3), M. Benahmed (2)
(1) Département de Biologie de la Reproduction et de Génétique Centre Hospitalier Poissy, St Germain en Laye ; (2) INSERM U 407, Faculté de Médecine Lyon-Sud, Oullins, France ; (3) EA 2493, UVSQ, St Quentin en Yvelines ; (4) Service de Gynécologie Obstétrique Centre Hospitalier Poissy, St Germain en Laye, France

Introduction : Les techniques d'assistance médicale à la procréation nécessitent, pour la FIV et l'ICSI, le recours à une stimulation ovarienne. Actuellement, après fécondation, en moyenne 2 embryons par patiente sont transférés. Ceci engendre un peu plus de 20 % de grossesses multiples, ce qui conduit à proposer le transfert d'embryon unique (SET) aux couples ayant les meilleures chances de grossesse. L'identification de ces couples est donc un enjeu majeur en AMP mais actuellement peu de paramètres sont disponibles. L'identification de marqueurs génétiques prédictifs de l'implantation embryonnaire pourrait aider à adapter le schéma de prise en charge de chaque patiente. Les cytokines semblent avoir un rôle important dans la fertilité et la fonction reproductrice de la femme. L'objet de ce travail a été d'étudier l'influence éventuelle d'un polymorphisme simple base (SNP) du promoteur du TNF-alpha sur l'implantation embryonnaire, le polymorphisme en -308, correspondant à une substitution d'une guanine (G) (TNF308.1) par une adénosine (A) (TNF302.2), et qui est associé à une augmentation de la production de TNF-alpha. Matériels et Méthodes : Nous avons analysé le génotype en -308 du promoteur du TNF-alpha dans une population de 120 femmes ayant recours à une fécondation *in vitro* avec micro-injection (ICSI) en raison d'une altération majeure du sperme de leur conjoint. Les critères d'inclusion étaient (1) une origine caucasienne, (2) un âge inférieur à 38 ans, (3) un cycle menstruel normal (27-35 jours), (4) une FSH sérique inférieure à 10 UI/L à J3 du cycle, (5) aucune étiologie de mauvaise réponse ovarienne ou de trouble de l'implantation, (6) une première tentative d'ICSI, (7) un protocole long de désensibilisation avec des antagonistes de la LH-RH, (8) un caryotype normal. Le génotype a été déterminé par PCR allèle spécifique. Les résultats de l'ICSI ont été alors analysés en fonction du génotype. Résultats : Nous avons observé un taux d'implantation embryonnaire significativement plus élevé ($p = 0,0003$) chez les patientes ayant le génotype AG ou AA (TNF308.2) (38.1 %, $n = 28$) par rapport aux patientes ayant le génotype GG (TNF308.1) (15.7 %, $n = 92$). Ce résultat a été observé alors que les embryons étaient de qualité identique avec des scores embryonnaires

respectivement de $26,2 \pm 9,9$ et $24,9 \pm 9,6$ (Steer *et al.*, 1992) dans les 2 groupes. Ceci est associé à un taux de grossesse par transfert embryonnaire significativement plus élevé ($p = 0,0239$) chez les patientes TNF308.2 (50,0 %) par rapport à celle TNF308.1 (27,1 %), et à un taux de naissance également plus élevé (50,0 % vs 19,6 %, $p = 0,0014$). Tout ceci s'accompagne d'un taux de grossesse multiple significativement plus élevé ($p = 0,0037$) chez ces patientes TNF308.2 : 29,2 % vs 5,7 %. Conclusions :

Les résultats de cette série suggèrent une influence du polymorphisme en -308 du promoteur du TNF-alpha sur l'implantation embryonnaire avec comme conséquence la possibilité d'adapter nos protocoles de transfert embryonnaire en fonction du génotype en -308 du promoteur du TNF-alpha chez les patientes incluses en fécondation *in vitro*.

Mots-clés : TNF-308, polymorphisme, implantation embryonnaire.

3 COMMUNICATIONS ORALES SESSIONS SIMULTANÉES

Session Simultanée « Génétique Chromosomique »

■CO19 / 401. UN CLUSTER DE POINTS DE TRANSLOCATIONS EN 2Q37.1 EST ASSOCIÉ À UNE SUREXPRESSION DE *NPPC* INDUISANT UNE AVANCE STATURALE AVEC DYSPLASIE CARTILAGINEUSE : UN NOUVEAU MÉCANISME DE MUTATION

N. Philip (1, 2), A. Moncla (1, 2), P. Cacciagli (1), C. Missirian (1, 2), L. Legeai-Mallet (3), G. Plessis (4), M. Le Merrer (3), L. Villard (1)
(1) Département de génétique médicale, CHU la Timone, Marseille ; (2) INSERM U491 Faculté de médecine de la Timone, Marseille ; (3) INSERM U781, Hôpital Necker-Enfants malades, Paris ; (4) CHU Clémenceau, Caen, France

Nous avons récemment rapporté [1] un nouveau phénotype associant une avance staturale, une dysplasie cartilagineuse généralisée et un aspect particulier des extrémités avec croissance anormale du gros orteil chez deux patients présentant une translocation chromosomique apparemment équilibrée impliquant la bande chromosomique 2q37.1 et respectivement les chromosomes 8 et 13. Un troisième patient présentant un phénotype identique et porteur d'une translocation (2;7)(q37.1;q21.3) a été récemment décrit [2]. Le clonage des points de cassure a permis d'identifier 2 gènes candidats. Le gène *DIS3L2*, codant pour une exonucléase ubiquitaire de fonction inconnue et interrompu par le point de cassure du patient 2 a été mis hors de cause pour les raisons suivantes : expression normale dans les lymphocytes du patient 1 dont le point de cassure est situé 17 Kb en amont du premier exon de ce gène. De plus, le phénotype associé à l'haploinsuffisance de cette région chromosomique est différent, rendant peu probable l'implication de ce gène dans le phénotype. Le gène *NPPC*, centromérique par rapport aux 3 points de cassure est apparu comme un bon gène candidat. Ce gène code pour le peptide C-natriuretique, un important régulateur de l'ossification enchondrale. Les données des modèles animaux étaient en faveur d'un mécanisme de surexpression. Chez les deux patients, nous avons mis en évidence une surexpression de *NPPC* [3], dans les lymphocytes et les chondrocytes rapportée aussi dans la troisième observation [2]. L'implication de trois chromosomes différents et l'existence d'un cluster de points de cassure autour du gène *NPPC* sont en faveur d'un mécanisme de surexpression lié à sa séparation d'un élément de régulation négatif situé à distance de la séquence codante. La recherche de séquences conservées a mis en évidence deux courtes séquences de 142 et 169 pb, hautement conservées et distales aux trois points de cassure.

Références

- Philip *et al.*, 3^{es} assises de génétique humaine et médicale. Montpellier, Janvier 2006.
- Boccardi *et al. Hum Mutat* 2007 ; 28 : 72-31.
- Moncla *et al. Hum Mutat* 2007 ; 3 : [Epub ahead of print].

Mots-clés : translocation, effet de position, avance staturale.

■CO20 / 363. LE SYNDROME DE DÉLÉTION 22Q13, UN DIAGNOSTIC DIFFICILE : CAS D'UNE PATIENTE PRÉSENTANT UNE DÉLÉTION INTERSTITIELLE CRYPTIQUE DEL(22)(Q13.3Q13.3) INTERROMPANT LE GÈNE *SHANK3*

A. Delahaye (1, 2), A. Toutain (3), A. Aboura (1), E. Pipiras (2), C. Dupont (1, 2), A.C. Tabet (1), B. Benzacken (1, 2), J. Elion (1), A. Verloes (1), S. Drunat (1)

(1) Département de Génétique, Hôpital Universitaire Robert-Debré, AP-HP, Paris ; (2) Service d'Histologie-Embryologie-Cytogénétique-Biologie de la reproduction, Hôpital Universitaire Jean-Verdier, AP-HP, Bondy ; (3) Service de génétique médicale, Hôpital Bretonneau, CHU de Tours, Tours, France

Le syndrome de délétion 22q13 (MIM 606232) est caractérisé par un retard mental modéré à sévère avec une absence ou un retard de langage, des troubles autistiques, une hypotonie, une croissance normale ou accélérée et une légère dysmorphie. Trois gènes sont localisés dans la région critique minimale 22q13, du plus centromérique au plus télomérique : *SHANK3* (aussi appelé *PROSAP2*), *ACR* et *RABL2B*. On considère actuellement que c'est l'haploinsuffisance de *SHANK3* qui est responsable des signes neurocomportementaux du syndrome de délétion 22q13. Nous rapportons l'observation d'une patiente portant une délétion interstitielle cryptique del(22)(q13.3q13.3) de novo, détectée par MLPA et confirmée par FISH. Cliniquement, elle présente un retard de langage sévère, un retard mental léger et quelques signes dysmorphiques (notamment un épicanthus bilatéral). Ce tableau clinique peu spécifique est toutefois concordant avec le phénotype classique du syndrome de délétion 22q13.

La recherche d'anomalie des régions subtélomériques par MLPA a montré une discordance entre les résultats du kit P036B et ceux du kit P070 (MCR Holland) : une délétion 22q a été détectée avec la sonde MLPA 22q du kit P070 (qui cible le gène *ARSA*) alors que la sonde 22q du kit P036B (qui cible le gène *RABL2B*) a montré un résultat normal. Les analyses par FISH ont confirmé la délétion de *ARSA* avec les sondes LSI TUPLE1/LSI *ARSA* (Vysis), et ont montré un résultat normal avec les sondes N25/N85A3, ces dernières ciblant le locus *SHANK3* (Cytocell). Des analyses supplémentaires par FISH avec des BAC ont permis de situer le point de cassure centromérique de la délétion à moins de 2 Mb du télomère 22q entre les clones RP11-354I12 et RP11-232E17. Une étude en PCR quantitative en temps réel ciblant l'exon 5, l'intron 9 et les exons 23 et 24 de *SHANK3* montre que le point de cassure télomérique se situe entre l'intron 9 et l'exon 22. D'autre part, la région 22q13 a été analysée chez les deux parents par FISH et par MLPA. Au total, ces analyses nous ont permis de caractériser une délétion interstitielle cryptique del(22)(q13.3q13.3) de novo interrompant le gène *SHANK3* chez une patiente présentant un phénotype compatible avec le syndrome de délétion 22q13. Ces résultats soulignent la difficulté de réaliser un test performant pour rechercher une délétion 22q13. De plus, cette observation contribue à une meilleure caractérisation clinique et génétique du syndrome de délétion 22q13.

Mots-clés : délétion 22q13, gène *SHANK3*/*PROSAP2*, MLPA.

■CO21 / 410. NOUVEAU SYNDROME MICRODÉLÉTIONNEL « PSEUDO ANGELMAN » DÉTECTÉ CHEZ DEUX PATIENTS PAR CGH-ARRAY

S. Jaillard (1, 2), C. Dubourg (2, 3), S. Odent (4), A. Delahaye (5), C. Dupont (5, 6), A. Aboura (6), A.C. Tabet (6), L. Pasquier (4), C. Henry (1), J. Lucas (1), V. David (2, 3), B. Benzacken (5, 6), E. Pipiras (5), M. Gérard (7)

(1) Laboratoire de Cytogénétique, CHU Pontchaillou, Rennes, France ; (2) UMR 6061-IFR 140 GFAS, Faculté de Médecine, Rennes, France ; (3) Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHU Pontchaillou, Rennes, France ; (4) Service de Génétique Médicale, CHU Hôpital Sud, Rennes, France ; (5) Service d'Histologie Embryologie Cytogénétique BDR, Hôpital Jean-Verdier, Bondy, UFR USMBH, Paris XIII ; (6) Unité Fonctionnelle de Cytogénétique, Hôpital Robert-Debré, Paris, France ; (7) Unité Fonctionnelle de Génétique clinique, Hôpital Robert-Debré, Paris, France

La délétion 22q22.3q23.3 a été récemment décrite comme nouveau syndrome microdélétionnel. Nous rapportons 2 nouveaux cas de délétions mises en évidence dans cette région par CGH-array. Chez le premier patient, une microdélétion 2q23.1 a été découverte par CGH-array sur puces oligonucléotides Agilent 4x44K. L'étude du patient et de ses parents par PCR multiplexe semi quantitative avec analyse en chromatographie liquide et par FISH (BAC RP11-659J19) a confirmé cette délétion et son caractère *de novo*. Sa taille est estimée à 250 kb et elle emporte les gènes *MBD5* codant pour une protéine de la famille des méthyl-CpG-Binding

Domain et *EPC2* (Enhancer of Polycomb C-terminus homolog 2). Le tableau clinique, proche de celui du syndrome d'Angelman, comporte des caractéristiques communes avec les autres cas de microdélétions 2q22.3q23.3 rapportées : retard mental sévère, microcéphalie, épilepsie, troubles du comportement. Ces éléments cliniques sont retrouvés chez le deuxième patient chez qui une délétion del(2)(q22.3q23.1) a été découverte par BAC-CGH array (Integrage), 3 172 clones. Cette délétion *de novo* a été confirmée par FISH. Elle a une taille minimale de 2,37 Mb. Le point de cassure proximal se situe en 2q22.3, en aval du gène *SIP1* (présent), entre le clone RP11-379G6 (non délété) et le clone RP11-548K13 (délété). Le point de cassure distal est localisé en 2q23.1 entre les BACs RP11-659J19 (délété) et RP11-62P16 (non délété). Cette délétion, tout comme la première, emporte le gène *MBD5* et au moins un segment du gène *EPC2*, tous les deux couverts en partie par le clone RP11-659J19. Une région minimale critique pourrait être définie en 2q23.1, dans la zone de 250 kb commune à toutes les délétions. Ce segment minimal critique comprend deux gènes candidats (*MBD5* et *EPC2*) dont l'haploinsuffisance pourrait être responsable du phénotype de ce nouveau syndrome microdélétionnel « pseudo Angelman ».

Mots-clés : microdélétion, pseudo Angelman, CGH-array.

■CO22 / 361. HAPLO SUFFISANCE DE LA RÉGION 11Q(Q14.3Q22.1) : À PROPOS D'UNE DÉLÉTION TRANSMISE SUR 3 GÉNÉRATIONS DANS UNE FAMILLE

T. Roucaute, L. Gouas, C. Goumy, M. Giollant, L. Véronèse, A. Tchirkov, P. Vago

Univ Clermont 1, Fac Médecine, Histologie Embryologie Cytogénétique, Clermont-Ferrand ; CHU Clermont-Ferrand, Cytogénétique Médicale, Clermont-Ferrand, France

Peu de délétions visibles au caryotype standard et sans conséquence phénotypique, hormis celles ne concernant que de l'hétérochromatine non codante, sont décrites dans la littérature. Nous rapportons ici le cas d'un fœtus porteur d'une délétion interstitielle du bras long d'un chromosome 11 détectée au caryotype standard. La ponction de liquide amniotique, lors d'une seconde grossesse chez une femme de 25 ans sans antécédents particuliers, avait été réalisée pour signes d'appel biologique (marqueurs sériques du deuxième trimestre de grossesse à 1/70). Les techniques moléculaires de cytogénétique (hybridation génomique comparative (CGH) sur métaphases, fluorescence in situ par hybridation (FISH) avec des sondes locus spécifique (q14.2, q14.3, q21, q22.1 et q22.2) et la sonde de peinture des 11) ont permis de préciser les points de cassure de cette délétion et le caryotype fœtal a été établi à 46,XX,del(11)(q14.3q22.1). L'interrogatoire n'a pas révélé de notion de fausses couches à répétition ni de handicap dans la famille. L'enquête cytogénétique familiale a permis de retrouver la même délétion avec les mêmes points de cassure chez la mère et chez le grand père du fœtus. Le caractère hérité de l'anomalie, l'absence de répercussion phénotypique chez les ascendants ainsi que l'absence d'anomalie détectable aux échographies de contrôle ont permis d'être rassurant pour le conseil génétique et de proposer la poursuite de la grossesse. L'examen néonatal de l'enfant, né à terme, est sans particularité. Cette délétion familiale sans répercussion phénotypique est en faveur de l'existence d'une région haplo suffisante au niveau du bras long du chromosome 11 déjà, évoquée en 2002 par Li *et al.* (Cytogenet Genome Res 2002 ;97(3-4):158-62). D'autres hypothèses peuvent être avancées, comme la faible densité en gènes de cette région ou la présence de gènes analogues ailleurs dans le génome. Enfin ce cas attire l'attention quant à la prudence à avoir pour le conseil génétique lors de la découverte en prénatal d'une délétion même visible au caryotype standard, tout particulièrement quand aucune répercussion phénotypique n'est constatée à l'échographie.

Mots-clés : diagnostic prénatal, délétion 11q, phénotype normal.

■CO23 / 53. APPORT DE LA CGH-ARRAY DANS 20 CAS DE MYÉLOFIBROSE IDIOPATHIQUE AVEC OU SANS ANOMALIE CYTOGÉNÉTIQUE

J. Andrieux (1), N. Douet-Guilbert (2), S. Richebourg (1), C. Roche-Lestienne (1), B. Dupriez (3), J.L. Demory (4), F. Bauters (3), J.L. Lai (1) (1) Laboratoire de Génétique Médicale, Hôpital Jeanne de Flandre, CHRU de Lille ; (2) Laboratoire de Cytogénétique, CHU Morvan, Brest ; (3) Service des Maladies du Sang, CHRU de Lille ; (4) Département d'Hématologie, GHICL, Lille, France

La Myélofibrose avec Métaplasie Myéloïde (MMM) est un Syndrome Myéloprolifératif rare (incidence estimée à 0,4 à 0,7 cas / 100 000 / an) qui associe une prolifération clonale de progéniteurs hématopoïétiques et une fibrose réactionnelle associée une néo-angiogenèse médullaire

probablement induites par une production accrue et dérégulée de facteurs de croissance tels que le TGF- β , le bFGF et le PDGF. Cette pathologie, dans laquelle s'associent, avec une intensité variable, des modifications de l'hémogramme, de la rate et de la moelle osseuse, a reçu de multiples dénominations qui témoignent de la difficulté à la définir de façon simple. Les plus employées sont celles de splénomégalie myéloïde et de myélofibrose primitive en France, et d'agnogenic myeloid metaplasia ou d'idiopathic myelofibrosis with myeloid metaplasia chez les anglo-saxons. Actuellement, pour détecter des anomalies chromosomiques déséquilibrées, c'est le caryotype sur culture de progéniteurs hématopoïétiques obtenus par prélèvement sanguin qui est l'examen pangénomique de référence. Il montre au moins une anomalie cytogénétique dans 40-50 % des cas : de 30 % des cas au diagnostic à 90 % au moment de la transformation leucémique, et à un niveau de résolution de 10 Mb. Les anomalies observées ne sont pas spécifiques (délétion 20q, trisomies 8 et 9), néanmoins, la délétion 13q semble être associée plus particulièrement à la MMM qu'à la polyglobulie de Vaquez. Parmi les autres anomalies cytogénétiques rencontrées, des anomalies structurales ont été décrites, principalement en 12q, 1q, 9p, 6p. La délétion 17p (due ou non à un isochromosome 17q) ou des remaniements plus complexes sont rares et laissent augurer d'une transformation aiguë. Nous avons testé sur la puce oligonucléotique Agilent(tm) 44K©, les ADN de 20 patients atteints de myélofibrose idiopathique présentant ou non au caryotype des anomalies cytogénétiques. L'utilisation de puces oligonucléotidiques CGH haute densité permet d'obtenir un niveau de résolution de 200 kb en moyenne. Le gain d'efficacité par rapport au caryotype haute résolution est proche d'un facteur 50 pour les anomalies génomiques quantitatives. Nous avons retrouvé une anomalie supplémentaire de 2 à 10 Mb dans 1/3 des cas, nous avons précisé une formule caryotypique (caryotype complexe, der, add...) dans un 1/3 des cas et nous n'avons pas retrouvé de nouvelle anomalie dans les autres cas. Ces anomalies ont été confirmées par FISH BACs/PACs sur métaphase. Nous n'avons pas retrouvé d'anomalie « moléculaire » récurrente, c'est-à-dire impliquant un seul gène. La corrélation de ces résultats à la présence de la mutation du gène *JAK2* (V617F) sur ces 20 cas montre une association préférentielle avec les myélofibroses évoluées.

Remerciements : Cette étude a pu être réalisée grâce au soutien de la Ligue contre le Cancer du Pas-de-Calais.

Mots-clés : CGH-array, myélofibrose, FISH.

■CO24 / 697. DÉTERMINATION DE RÉGIONS MINIMALES CRITIQUES DANS DES LEUCÉMIES AIGUES SECONDAIRES PAR ARRAY CGH HAUTE RESOLUTION

N. Itzhar (1), S. Toujani (1), S. de Botton (2), C. Richon (3), B. Clausse (4), D. Fauvet (4), A.L. Bennaceur (4), N. Auger (4), J. Bosq (4), J.H. Bourhis (2), P. Dessen (3), A. Bernheim (1, 4)

(1) FRE 2939 CNRS et Université Paris XI ; (2) Service d'Hématologie ; (3) Unité de Génomique Fonctionnelle ; (4) Pathologie Moléculaire Institut de Cancérologie Gustave Roussy, Villejuif, France

Des anomalies cytogénétiques caractérisent les leucémies secondaires à des traitements de cancers ou d'hémopathies : pertes totales ou partielles du 5 ou 7 après alkylants, translocations équilibrées concernant la bande 11q23 après anti-topoisomérases II. D'autres anomalies moins spécifiques comme la trisomie 8 ou la complexité s'observent également. Les bases génétiques de ces anomalies restent encore mal connues. Ces altérations sont dans la plupart des cas déséquilibrées et se prêtent donc bien à une analyse fine par l'hybridation génomique comparative sur micro array (aCGH) de haute résolution. Nous avons étudié 25 cas de LAMs par aCGH pan-génomique de 244K oligonucléotides Agilent en dye swap conjointement au caryotype et à la FISH : 5 patients avaient un caryotype normal, 11 cas avaient une translocation imputable aux anti-topoisomérases II (6 avec t(11q23 ; v), 2 avec inv(16), 2 avec une t(15 ; 17) et une t(8 ; 21), 9 cas avaient d'autres anomalies dont sept avec perte totale ou partielle du 7 classiquement lié aux alkylants et quatre de ces 9 cas étaient des caryotypes complexes. La résolution réelle obtenue a été d'environ 50 kb en moyenne avec au moins 10 oligonucléotides consécutifs retenus pour rendre un signal significatif. De cinq à une dizaine de CNV (par exemple NF1P1 en 15q11 ou GSTT1 en 22q11) étaient observés dans tous les cas et étaient identifiés par leur récurrence et l'identité des oligonucléotides impliqués. Dans 11 cas aucune CNA (copy number aberration) n'a été détectée : ils correspondaient à des caryotypes normaux ou à des translocations récurrentes isolées. D'une façon générale, aucune délétion n'a été détectée associée à une translocation équilibrée (10 cas). Aucune amplification n'a été décelée. Onze cas ont un réarrangement d'IGH sans réarrangement conjoint d'IGK et d'IGL. Il ne semble pas avoir de corrélation directe avec le caryotype. La possibilité de détection de discrets réarrangements démontre la résolution de ces micro-arrays. Un gain de 285 kb a été détecté sur le groupe des gènes *HOX* (*HOXA6*, *HOXA7*, *HOXA9*, *HOXA10*) en 7p15 dans



trois cas. Cette région ne semble pas contenir de CNV et contient le microARN mir-196b. Rappelons que la fusion *NUP98-HOX9A* par t(7;11)(p15;p15) est récurrente dans les LAM. Des investigations sont en cours pour préciser ce mécanisme. Un gain de 5 Mb en 8q24.3 entre 140,92-145,88 Mb a été observé dans un cas. Ce gain est la plus petite région minimum critique pour la trisomie 8 qui est une anomalie fréquente dans les LAM. Il contient entre autres gènes *PTK2* et *GLI4*, deux oncogènes. Comme *MYC* n'est pas inclus dans cette région, il ne joue probablement pas un rôle moteur dans la trisomie 8. Une perte de 1,4 Mb a été observée en 17q11. Il contient entre autres le gène *NF1* qui est un suppresseur de tumeur. À partir de trois cas, une région minimum de 300 kb cible le gène *RUNX* en 21q21. Outre son rôle bien connu dans la t (8;21) et ses multiples autres partenaires, ce facteur de transcription peut être muté dans des LAM et SMD. L'exploration des LAMs, qui représente un outil cellulaire et biologique exceptionnel puisque l'on connaît des agents responsables des altérations de l'ADN des cellules hématopoïétiques, ne fait que commencer. L'augmentation de nombre de cas explorés par aCGH haute résolution permettra d'isoler certainement de nouveaux gènes par les zones critiques.

Mots-clés : LAM, CGH-array, HOX.

■CO25 / 404. LYMPHOMES LYMPHOCYTIQUES ET LEUCÉMIE LYMPHOÏDES CHRONIQUES : ANALYSE COMPARATIVE CYTOGÉNÉTIQUE ET MOLÉCULAIRE

A. Daudignon (1), S. Poulain (1), D. Penhler (2), F. Parmentier (2), A. Legrand (1), P. Morel (3), J. Fernandes (4), P. Duthilleul (1), C. Bastard (2) (1) Service d'Hématologie Immunologie Cytogénétique, CH de Valenciennes ; (2) Service de Cytogénétique, Centre Henri Becquerel, Rouen ; (3) Service d'Hématologie Clinique, CH de Lens ; (4) Service d'Hématologie Clinique, CH de Valenciennes, Valenciennes, France

Introduction : Les lymphomes malins non hodgkiniens de type lymphocytiques (SLL) sont des LNH de bas grade présentant des caractéristiques communes avec les leucémies lymphoïdes chroniques (LLC) : il s'agit dans les deux cas d'une prolifération clonale de petits lymphocytes B coexprimant le CD5 et le CD19. Dans les SLL, l'infiltration tumorale est principalement ganglionnaire, la lymphocytose sanguine est inférieure à 4 G/L alors que les LLC se définissent par la présence d'une lymphocytose supérieure à 4 G/L. Toutefois, la plupart des SLL évoluent en LLC. C'est pourquoi SLL et LLC sont considérés comme une même pathologie dans la classification OMS. Plusieurs marqueurs moléculaires définissent des sous groupes pronostiques dans les LLC : la délétion 13q14 isolée associée à un bon pronostic, la délétion 11q22 (locus du gène ATM) et la délétion 17p13 (au locus TP53) définissant un groupe de mauvais pronostic. La valeur pronostique de la trisomie 12 reste discutée. L'analyse de l'état mutationnel des gènes de parties variables des chaînes lourdes des Immunoglobulines (VH) identifie également deux groupes pronostiques : la non mutation des gènes VH est considérée comme facteur indépendant de mauvais pronostic. Par ailleurs, les réarrangements en VH3-21 dans les LLC identifient un sous groupe de patient dont l'évolution clinique est plus péjorative, indépendamment du statut mutationnel VH. L'objectif de notre étude est donc d'étudier la distribution de ces différents marqueurs dans un groupe sélectionné de SLL et de les comparer aux LLC. **Matériel et Méthodes :** 22 patients atteints de SLL, pour lesquels du matériel tumoral exclusivement ganglionnaire était disponible et 141 patients atteints de LLC ont été analysés. Une étude en cytogénétique conventionnelle (caryotype) et moléculaire a été menée. Les délétions 11q22-3, 13q14, 17p13 et de la trisomie 12 ont été recherchées par hybridation in situ avec sondes fluorescente (FISH) (Vysis Abbott Diagnostic) et/ou Quantitative Multiplex PCR of Short Fragments (QMPSF). Après extraction de l'ADN, le statut mutationnel du gène VH a été analysé par séquençage (ABI PRISM3100) : le profil non muté (VH-U) a été défini par un pourcentage d'homologie de séquence > à 98 % après interrogation des bases de données IMGT et/ou IgBlast. Les résultats ont été comparés à une série de 141 patients atteints de LLC (77,6 % stade A, 7,2 % stade B, 15,2 % stade C selon la classification de Binet). **Résultats :** Les résultats (caryotype, QMPSF et FISH combinés) montrent des différences dans la répartition des anomalies chromosomiques entre les deux groupes de patients. La fréquence de la trisomie 12 est significativement plus élevée dans les SLL que dans les LLC : respectivement 36 % et 13,5 % des cas ($p = 0,013$). La délétion 13q14 isolée est l'anomalie la plus fréquemment retrouvée dans les LLC (41 % des cas) alors qu'elle n'est retrouvée que dans 9 % des cas de SLL ($p = 0,004$). Aucune différence significative de fréquence de la délétion 17p et délétion 11q n'a été observée entre les LLC et les SLL. Dans le groupe des SLL ($n = 15$), 29 % des patients présentent un profil VH-U. Aucune différence significative de répartition des statuts VH-U et VH-M (mutés) n'a été observée entre les deux groupes. La famille VH la plus fréquemment réarrangée les LLC comme dans les SLL est la famille VH3, avec cependant une nette prédominance dans les SLL (78 %

des cas *versus* 47 % des cas de LLC ; $p = 0,026$). Enfin, une fréquence significativement plus élevée de réarrangement en VH3-21 a été observée dans le groupe SLL ($n = 15$) par rapport au groupe LLC ($n = 141$) (21,5 % *versus* 4,2 % ; $p = 0,036$). **Conclusion :** Les SLL se différencient donc des LLC par la fréquence de réarrangement en VH3 et en particulier en VH3-21, réarrangement associé à un pronostic plus péjoratif dans les LLC. De même, la distribution des trisomies 12 et délétions 13q14 distingue les LLC des SLL. La valeur pronostique clinique de ces anomalies reste à évaluer.

Mots-clés : lymphomes lymphocytiques, statut mutationnel, cytogénétique.

■CO26 / 252. CARACTÉRISATION MOLÉCULAIRE DE L'AMPLICON 12Q13-15 ET IDENTIFICATION DE NOUVEAUX ONCOGÈNES CIBLES DANS LES LIPOSARCOMES BIEN DIFFÉRENCIÉS

L. Bianchini (1), A. Italiano (1, 2), F. Keslair (1), F. Pedeutour (1) (1) Laboratoire de Génétique des Tumeurs Solides-CHU de Nice et CNRS-UMR6543, Nice ; (2) Service d'Oncologie Médicale-Centre Antoine-Lacassagne, Nice, France

Introduction : Les chromosomes surnuméraires géants ou en anneau caractéristiques des liposarcomes bien différenciés et dédifférenciés (LBD/LDD) contiennent des séquences amplifiées issues de la région 12q13-15. Les gènes *MDM2* et *CDK4* sont habituellement considérés comme les cibles de l'amplicon 12q. Cependant, la plupart des données ont été obtenues avant l'établissement de cartes génomiques précises et complètes et étaient basées sur de petites séries d'échantillons de LBD/LDD. Notre objectif était de définir de façon précise la structure de l'amplicon 12q13-15 et d'identifier de nouveaux gènes cibles de l'amplification. **Matériel et Méthodes :** Nous avons analysé une série de 38 LBD/LDD par hybridation *in situ* en fluorescence (FISH) à l'aide de 17 sondes BAC recouvrant la région CDK4-MDM2. De plus, nous avons étudié par RT-PCR quantitative (Q-RT-PCR) le profil d'expression de *MDM2*, *CDK4*, *CHOP/DDIT3*, *HMG2* et *GAS41/YEATS4* dans 11 des 38 cas. **Résultats et discussion :** Nous avons montré la présence de deux amplicons distincts centrés respectivement autour de *MDM2* et *CDK4*. *MDM2* et *CDK4* constituant donc le cœur de deux événements d'amplification distincts dans les LBD/LDD. Nous avons observé que, dans tous les cas, la limite centromérique de l'amplicon CDK4 est localisée de façon constante précisément en aval de l'extrémité 5' de *CHOP/DDIT3* en 12q13 ce qui suggère que *CHOP/DDIT3* pourrait être dérégulé par la proximité de l'amplicon. *CHOP/DDIT3* est un gène déjà connu pour être le siège d'un point de cassure dans les liposarcomes myxoides (LM). Nos résultats de Q-RT-PCR montrent que *CHOP/DDIT3* est surexprimé dans 9 des 11 cas ce qui démontre que *CHOP/DDIT3* est non seulement impliqué dans la pathogenèse des LM mais également dans un sous-groupe de LBD/LDD. Le gène *HMG2* est localisé entre *CDK4* et *MDM2*. *HMG2* est connu pour être le siège de remaniements structuraux dans les lipomes ainsi que dans d'autres tumeurs mésenchymateuses bénignes. Nous avons montré que *HMG2* était amplifié et remanié dans tous les cas (100 %). Nos résultats suggèrent que la région de *HMG2* pourrait être une « zone fragile » dont la perturbation constituerait un événement majeur dans la pathogenèse des tumeurs adipocytaires à la fois bénignes et malignes. Dans les LBD/LDD, la cassure de *HMG2* pourrait être le point de démarrage des mécanismes de « cassure-fusion-pont » qui sont impliqués dans l'amplification génomique. Nous avons également montré que le gène *GAS41* était co-amplifié avec *MDM2* dans 29 cas (83 %). La surexpression de *GAS41* a été détectée dans 10 des 11 cas (91 %) analysés par Q-RT-PCR. *GAS41* a été décrit à l'origine comme fréquemment amplifié dans les gliomes. Des études récentes ont mis en évidence le rôle potentiel de *GAS41* dans la tumorigenèse via son action sur la voie p53. Nos résultats suggèrent que *GAS41* pourrait jouer un rôle important dans la tumorigenèse des LBD/LDD. En conclusion, notre étude met en évidence l'implication de plusieurs oncogènes autres que *MDM2* et *CDK4* dans la pathogenèse des LBD/LDD. Des investigations ultérieures seront nécessaires pour identifier les implications de ces données sur le plan clinique.

Mots-clés : liposarcoma, amplification, RT-PCR quantitative.

Session Simultanée « Génétique Clinique »

■CO27 / 406. MICRODUPLICATION NF1, PREMIER RAPPORT CLINIQUE : ASSOCIATION AVEC RETARD MENTAL LÉGER, CALVITIE PRÉCOCE ET HYPOPLASIE DE L'EMAIL DENTAIRE ?

B. Grisart (1), K. Rack (1), S. Vidrequin (1), P. Hilbert (1), P. Deltenre (2), C. Verellen-Dumoulin (1), A. Destrée (1)

(1) Centre de Génétique Humaine, Institut de Pathologie et de Génétique, Gosselies, Belgique ; (2) Service d'Hépatogastroentérologie, Hôpital de Jolimont, Haine-Saint-Paul, Belgique

La microdélétion du locus NF1 est un réarrangement génétique fréquent responsable de 5 % des cas de neurofibromatose. La majorité des cas est liée à des mutations apparues dans le gène *NF1*. Les porteurs de la microdélétion NF1 présentent des symptômes plus sévères que ceux ayant une mutation ponctuelle : retard mental, anomalies cardiaques et traits dysmorphiques. Nous rapportons ici le cas de deux frères qui présentent une microduplication du locus NF1 identifiée par hybridation génomique comparative sur micropuces (CGH microarray) dont la taille correspond exactement à celle de la microdélétion responsable des cas de NF1. Les principales caractéristiques phénotypiques qui semblent liées à ce réarrangement sont : un retard mental léger, une apparition précoce d'une calvitie (dès l'âge de 14 ans), une hypoplasie de l'émail dentaire et quelques traits dysmorphiques. Les points de cassure de cette duplication coïncident avec des séquences répétées impliquées dans la microdélétion de 1,5 Mb du locus NF1. Les sites de recombinaison impliqués dans la microdélétion NF1 sont également localisés à proximité des points de cassure déterminés par hybridation génomique comparative sur micropuces. Il est donc très probable que cette microduplication soit apparue par recombinaison homologue non-allélique, en utilisant les mêmes sites de recombinaison que ceux utilisés lors de l'apparition de la microdélétion du locus NF1. L'examen clinique des autres membres de cette famille suivi d'une étude du locus NF1 par MLPA (Multiplex Hybridization Probe Assay) a permis d'établir qu'une sœur et deux demi-frères des patients portent également cette microduplication de même que leur père et un demi-frère de celui-ci. Un des deux demi-frères semble normal de même que la sœur des patients. Le père des patients présente un retard mental léger, a développé une calvitie dès l'âge de 18 ans et a souffert d'une hypoplasie de l'émail dentaire, rendant ses dents cassantes dès l'enfance. Le demi-frère de ce dernier présente un retard mental modéré, une petite taille, une calvitie précoce et une dysmorphie faciale. Ceci démontre que cette microduplication ségrège depuis au moins deux générations dans cette famille. La microdélétion et la microduplication tirent vraisemblablement leur origine d'un même accident de recombinaison donnant lieu d'une part à la microdélétion NF1, largement documentée dans la littérature, et à la microduplication NF1 qui à ce jour n'a jamais été décrite. En conclusion, notre étude décrit 7 cas de microduplication NF1 au sein d'une famille. Des caractéristiques phénotypiques très similaires ont été observées chez les individus porteurs bien que deux d'entre eux semblent normaux. Un hétérogénéité dans l'expression du phénotype lié à cette microduplication pourrait expliquer ce fait comme c'est le cas pour d'autres syndromes tels que la duplication du locus responsable du syndrome de Smith-Magenis et la duplication correspondant au syndrome de Williams.

Mots-clés : NF1 microduplication, hybridation génomique comparative, recombinaison homologue non-allélique.

■CO28 / 695. PHÉNOTYPE D'UNE COHORTE DE PATIENTS PORTEURS DE MUTATIONS FAUX SENS RARES DU GÈNE *CFTR*

F. Cabet/Bey-Omar (1), F. Ploye (1), G. Bellon (2), I. Durieu (3), F. Prieur (4), J.Y. Bayle (5), Y. Morel (1)

(1) Centre de Biologie et pathologie est, Bron, France ; (2) Service de pneumologie, Hôpital Debrousse, Lyon, France ; (3) Service de pneumologie, CHU Lyon Sud, Pierre Bénite, France ; (4) Service de génétique, Hôpital Nord, Saint Etienne, France ; (5) Service de pneumologie, Hôpital Louis Pradel, Bron, France

La découverte d'une mutation faux sens rare du gène *CFTR* chez des patients suspects de mucoviscidose ou lors du dépistage néonatal nécessite une évaluation de la gravité de cette mutation. Depuis le clonage du gène en 1989, plus de 1 500 mutations ont été répertoriées : F508del représente près de 70 % des allèles identifiés chez les patients et 4 autres mutations sont représentées à plus de 2 %. Mais la fréquence de certaines mutations peut varier énormément d'un groupe ethnique à l'autre. La fonction pulmonaire, l'âge de début de la maladie et le taux de chlore sudoral sont difficilement corrélés à un génotype particulier, seule la fonction exocrine pancréatique peut l'être. En revanche, il existe peu de données concernant les patients homozygotes ou hétérozygotes composites pour une mutation rare. Les études fonctionnelles *in vitro* de ces mutations sont difficiles et rarement faites. Parmi les 580 patients génotypés dans notre laboratoire depuis 1989, 53 patients (les patients du dépistage néonatal sont exclus) sont homozygotes ou hétérozygotes composites pour l'une des mutations rares suivantes : E60K, E92K, L137R, L199R, P205S, L206W, L227R, V232D, S549N, L558S, A561E, S589N, G622V, G628R(G>A), S902R, S945L, M952I, G970R, S977P, S977F, D993G, Y1014C, Y1032C. Nous

rapportons une description précise de leur phénotype incluant l'âge du diagnostic, les manifestations respiratoires et leur retentissement (EFR,VEMS), le test de la sueur, l'élastase fécale et l'évolution globale avec le plus souvent un recul important allant de 6 à 38 ans et le comparons aux rares cas rapportés dans la littérature. Prenons le cas de la mutation p.G628R (c.G2014A) décrite comme sévère parce que 2 formes sévères ont été rapportées dans la littérature et qu'elle est située dans la partie N-terminale du R Domaine connue pour avoir un rôle important dans la régulation de CFTR. Nous avons quatre patients, l'un homozygote pour cette mutation, les trois autres hétérozygotes composites avec F508del. Trois ont été diagnostiqués durant les 18 premiers mois de la vie devant un épisode aigu broncho-pulmonaire et des tests de la sueur positifs (96-116 mmol/l), l'autre en prénatal. Actuellement les 4 patients âgés respectivement de 6 ans, 9 ans, 22 et 25 ans ont une fonction respiratoire normale et une absence d'insuffisance pancréatique exocrine (élastase fécale normale). Néanmoins des épisodes aigus (pancréatite aigue à 15,5 ans, aspergillose broncho-pulmonaire à 18 ans chez une patiente) ont régressés sous traitement sans laisser de séquelles. Que faut-il conclure si on compare nos patients avec ceux de la littérature : phénotype modéré influencé par d'autres facteurs (environnement ? gènes modificateurs ?...). En conclusion, la compilation des phénotypes des patients ayant des mutations faux-sens rares du gène *CFTR* est nécessaire pour améliorer la prise en charge de nouveaux patients et proposer un conseil génétique adéquate.

Mots-clés : CFTR, mucoviscidose, mutations rares.

■CO29 / 563. LE DÉFICIT EN DLD : UNE NOUVELLE ÉTIOLOGIE DU SYNDROME DE REYE. ÉTUDE DE TRAITEMENTS ANAPLÉROTQUES *IN VITRO*

J.B. Arnoux (1), D. Chrétien (1), V. Valayannopoulos (2), A.S. Lebre (1), A.M. Bertrand (3), L. Hubert (1), A. Munnich (1), P. de Lonlay (1) (2), Y. de Keyser (1)

(1) Inserm U781, Département de Génétique, CHU Necker-Enfants Malades, Paris ; (2) Unité de Métabolisme Pédiatrique, CHU Necker-Enfants Malades, Paris ; (3) Service d'Endocrinologie, CHU de Besançon, France

Le syndrome de Reye se traduit par l'association d'une insuffisance hépatique aigue et d'une encéphalopathie. Une famille, suivie dans notre service, se compose de six enfants, dont trois présentent depuis leur naissance des syndromes de Reye à répétition. La cartographie par homozygotie a défini une région d'homozygotie sur le chromosome 7, contenant des gènes codants des enzymes de voies métaboliques déjà incriminées dans le syndrome de Reye, ainsi que le gène de la Dihydroliipoamide Déshydrogénase (DLD), déjà impliquée dans des retards mentaux. La mesure de l'activité de la DLD par spectrophotométrie à partir d'homogénat de fibroblastes de deux patients montre des activités inférieures à la normale, à 9 et 11 nmol/min/mg de protéines (normale 38 ± 4 nmol/min/mg), de même dans le foie à 8 nmol/min/mg (normale 116 ± 21). Le séquençage du gène chez les patients révèle une mutation homozygote faux-sens au niveau du premier nucléotide de l'exon 9 conduisant à la substitution de la glycine 229 en cystéine. Cette mutation n'a pas été retrouvée dans 200 ADN contrôles. Un déficit du complexe III de la chaîne respiratoire (CR) mitochondriale ainsi qu'une déplétion à 17 % de l'ADN mitochondrial ont été identifiés dans le foie de ces patients. La DLD correspond à la sous-unité E3 des complexes Pyruvate Déshydrogénase (PDH) et Alpha Cétoglutarate Déshydrogénase (KGDH), situés respectivement dans une voie anaplérotique du cycle de l'acide citrique (CAC) et dans le CAC lui-même. Notre hypothèse est que cette mutation en altérant l'activité globale du CAC contribue à l'apparition d'un déficit respiratoire secondaire et, par des mécanismes encore inconnus, à la diminution du nombre de copies de l'ADN mitochondrial (mt). Dans ce cadre, des substrats anaplérotiques restaurant en partie l'activité du CAC en aval des enzymes déficitaires pourraient normaliser les anomalies mitochondriales secondaires. Aussi, nous avons tenté d'améliorer l'activité du CAC dans les fibroblastes de ces patients 1) en compensant le déficit au niveau de la PDH et KGDH par l'acide lipoque ; 2) en stimulant les voies anaplérotiques en aval des déficits par l'apport d'aspartate, de nonanoate ou de citrate. Les mesures de l'activité de la chaîne respiratoire, de l'activité globale du CAC et de l'abondance de l'ADNmt permettront d'évaluer les effets de ces stratégies. Les premiers résultats montrent que 48 h de traitement par nonanoate 1 mM stimulent l'activité des complexes II et IV de la CR. En revanche, les fibroblastes ne paraissent pas adaptés à l'étude des variations du nombre de copies d'ADNmt. Ainsi, les anomalies du gène *E3* apparaissent comme une nouvelle cause de syndrome de Reye, avec déficit secondaire de la chaîne respiratoire mitochondriale. Notre travail évalue *in vitro* le potentiel thérapeutique des approches anaplérotiques dans les maladies métaboliques.

Mots-clés : syndrome de Reye, dihydroliipoamide déshydrogénase, anaplérose.



■CO30 / 277. RESTAURATION DE LA DYSTROPHINE CHEZ DES PATIENTS DMD PAR SAUT D'EXON THÉRAPEUTIQUE

S. Mercier (1), F. Daoud (1), P. Nusbaum (1), F. Leturcq (2), P. Dreyfus (3), N. Deburgrave (2), C. Beugnet (2), J.-C. Kaplan (2), J. Chelly (1), L. Garcia (3), A. Avril-Delplanque (3)

(1) Département de Génétique et Développement, UMR 8104, Université Paris Descartes/CNRS, Institut Cochin, Paris, France ; (2) Laboratoire de Biochimie et Génétique Moléculaire, Hôpital Cochin, Paris, France ; (3) UMR S 787, Inserm/UPMC-Paris 6, Institut de Myologie, Paris, France

Les dystrophinopathies sont des dystrophies musculaires progressives liées au sexe caractérisées par des mutations dans le gène *DMD* qui code une protéine sub-sarcolemmique, la dystrophine. Dans les formes sévères de type Duchenne (DMD), les mutations en cause sont en général des mutations « perte de fonction » qui entraînent un décalage du cadre de lecture ou la création d'un codon non-sens prématuré et donc une production de dystrophine très compromise. En revanche, dans les formes moins sévères de type Becker (DMB), les mutations sont compatibles avec la production d'une dystrophine qualitativement altérée et/ou quantitativement diminuée, mais relativement fonctionnelle. En effet, la structure fonctionnelle de la dystrophine tolère l'ablation de certaines régions internes à condition que la phase du transcrit soit préservée. La stratégie du saut d'exon thérapeutique (SET) a été développée à partir de ces observations. Le SET vise à rétablir la phase du transcrit du gène *DMD* par modulation de l'épissage et permettre l'expression d'une dystrophine tronquée mais quasi-fonctionnelle. Nous avons utilisé la stratégie de SET basée sur l'expression d'un « petit » ARN nucléaire modifié, U7snRNA, qui contient une séquence complémentaire d'une séquence-clé pour l'épissage de l'exon cible. Le U7snRNA modifié va ainsi masquer la reconnaissance de cette séquence-clé par le spliceosome et permettre le saut de l'exon cible. Cette stratégie a déjà été validée dans des essais pré-cliniques dans le modèle murin mdx avec des résultats très concluants et des essais sont en cours chez le gros animal (chien GRMD). Il s'agit d'une des stratégies thérapeutiques les plus prometteuses pour les prochains essais cliniques chez les patients DMD. Dans cet objectif, nous avons voulu valider cette stratégie, *ex vivo*, sur des cultures primaires de patients DMD candidats au SET. D'une part, nous avons testé le SET via U7snRNA modifié sur des cultures primaires de myoblastes de patients DMD issues de biopsies musculaires. Nous avons pu montrer que le saut de l'exon 51 sur le transcrit du gène *DMD* était très efficace pour 2 patients porteurs respectivement d'une délétion des exons 45 à 50 et des exons 49 à 50. Par Western-Blot, nous avons observé qu'après saut d'exon, la dystrophine était restaurée sous sa forme tronquée dans les cultures de ces myoblastes. D'autre part, pour certains patients, la biopsie musculaire n'est pas ou plus praticable et nous ne disposons que de fibroblastes provenant de biopsies cutanées. Nous avons donc induit la différenciation de fibroblastes en myoblastes par intégration du gène *MyoD* puis testé le SET sur ces fibroblastes myoinduits de patients DMD. Nous avons également montré une très bonne efficacité du SET sur le transcrit du gène *DMD* dans ces fibroblastes myoinduits et la restauration d'une dystrophine tronquée synthétisée par ces cellules. Nous avons injecté ces myoblastes et ces fibroblastes myoinduits traités par SET dans des souris SCID-mdx, modèle murin de DMD tolérant la greffe de cellules humaines en raison de leur déficit immunitaire sévère. Nous pourrions apprécier les capacités myogéniques de ces cellules, l'efficacité du SET ainsi que le maintien et la fonctionnalité de la dystrophine restaurée dans ces cellules *in vivo*. Ces expériences devraient confirmer l'intérêt majeur du saut d'exon dans les stratégies thérapeutiques pour la dystrophie musculaire de Duchenne.

Mots-clés : dystrophie musculaire de Duchenne, saut d'exon thérapeutique, myoblastes.

■CO31 / 112. BASES GÉNÉTIQUES DE LA CORRECTION DES DÉFICITS EN VLCAD PAR LE BEZAFIBRATE DANS LES FIBROBLASTES DE PATIENTS

S. Gobin-Limballe (1, 2), F. Djouadi (1), F. Aubey (1), S. Olpin (3), B.S. Andresen (4), S. Yamaguchi (5), H. Mandel (6), T. Fukao (7), J.P.N. Ruiter (8), R.J.A. Wanders (8), R. McAndrew (9), J.J. Kim (9) et J. Bastin (1)

(1) CNRS UPR 9078, CHU Necker-Enfants Malades, Paris ; (2) Service de Génétique Médicale, Hôpital Necker-Enfants malades, Paris ; (3) Department of Clinical Chemistry, Sheffield Children's Hospital, United Kingdom ; (4) Research Unit for Molecular Medicine, Aarhus University Hospital, Denmark ; (5) Shimane University School of Medicine, Japan ; (6) Paediatric Metabolic Unit, Rambam Medical Center, Haifa, Israel ; (7) Department of Pediatrics, Gifu University, Japan ; (8) Academic

Medical Center, University of Amsterdam, The Netherlands ; (9) Medical College of Wisconsin, Milwaukee, USA

Introduction : La β -oxydation mitochondriale des acides gras à chaîne longue (AGCL) est la principale source d'énergie de nombreux tissus périphériques (cœur, muscles squelettiques) au cours de l'exercice physique ou stress physiologiques. La première des 4 étapes de cette voie métabolique est catalysée par la VLCAD (Very-Long Chain Acyl-CoA Dehydrogenase) dont le déficit peut se manifester par 3 phénotypes : 1/ cardiomyopathie néonatale (souvent létale) 2/ insuffisance hépatique infantile, 3/ myopathie adulte (intolérance à l'effort, rhabdomyolyse). À ce jour, environ une centaine de mutations du gène codant pour l'enzyme (17p11) ont été décrites, mais aucune relation génotype-phénotype n'est clairement établie hormis que les mutations sévères (délétions, non-sens) sont principalement associées aux phénotypes les plus graves. Notre groupe s'intéresse à la mise en place d'un traitement pharmacologique des déficits enzymatiques de la β -oxydation mitochondriale par le bézafibrate, une molécule qui agit comme activateur transcriptionnel via les PPAR (Peroxisome Proliferator-Activated Receptor). Entre autres, une première étude menée à partir d'une petite cohorte de fibroblastes de patients déficitaires en VLCAD a montré qu'il était possible d'augmenter, et dans certains cas de restaurer, les capacités d'oxydation des AGCL en traitant ces cellules par le bézafibrate. But du travail : Mener une large étude permettant d'établir une corrélation entre le génotype, le phénotype et la capacité de correction du flux d'oxydation par le bézafibrate dans les déficits en VLCAD. Matériel et méthode : L'étude a été menée à partir des fibroblastes de 33 patients déficitaires en VLCAD, recrutés dans le cadre d'une collaboration à l'échelle mondiale (33 génotypes, 45 mutations différentes). Les cellules des patients *versus* contrôle ont été traitées par 400 μ M de bézafibrate pendant 72 h. Nous avons analysé l'évolution de différents paramètres biochimiques (flux de β -oxydation des AGCL, activité enzymatique, transcription). Certaines des mutations ont été analysées à partir d'un modèle prédictif 3-D de la VLCAD déduit du modèle cristalllographique de la MCAD (isoforme spécifique des acides gras à chaîne moyenne). Résultats : Nos résultats confirment que l'augmentation du flux de β -oxydation mesurée dans les fibroblastes des patients est consécutive à une augmentation du niveau des transcrits de la VLCAD et de l'activité enzymatique. Nous avons pu classer les 33 génotypes en 3 groupes distincts selon qu'il y a une restauration du flux de β -oxydation ($n = 14$), une augmentation significative ($n = 7$) ou aucune réponse ($n = 12$) après traitement des fibroblastes par le bézafibrate. De façon cohérente, les 21 des 33 génotypes qui répondent significativement au traitement correspondent à des patients de phénotype modéré alors que les génotypes qui ne répondent pas au traitement sont associés aux phénotypes sévères. De plus, nos données biochimiques, couplées à l'analyse croisée des génotypes (combinaison des mutations les unes avec les autres), a permis de définir le degré de sévérité de certaines mutations faux-sens. Les mutations faux-sens, pour lesquels les données biochimiques ne permettaient pas de conclure, ont été analysées dans le modèle prédictif 3-D de la VLCAD. Les résidus mutés associés à un génotype non répondeur au traitement seraient localisés au niveau de sites essentiels à l'intégrité de l'enzyme (fixation du substrat ou du cofacteur) alors que ceux associés à un génotype répondeur seraient impliqués dans la stabilité de la protéine. Conclusion : Cette approche d'analyse de la capacité à restaurer le flux de β -oxydation dans les fibroblastes de patients déficitaires en VLCAD, en réponse au traitement par le bézafibrate, est un outil simple permettant d'établir une relation entre le génotype et le phénotype. De plus, les données de cette étude ouvrent sur de nombreuses applications : essai clinique, prédiction du phénotype (dépistage néonatal...).

Mots-clés : métabolisme, thérapie pharmacologique, mutations.

■CO32 / 329. SYNDROME DE NANCE-HORAN : ÉTUDE CLINICO-MOLÉCULAIRE DE 25 FAMILLES

S. Mercier (1), B. Dessay (1), N. Ronce (1), T. de Ravel (2), J. Kaplan (3), D. Héron (4), A. Nemeth (5), Y. Hilforst-Hofstee (6), J. Goodship (7), R. Hennekam (8), A. Plomp (9), A. Rossi (10), C. Walgren Pettersson (11), R. Newbury-Ecob (12), N. Oyen (13), P. Bitoun (14), J. Hartsfield (15), A. Toutain (1)

(1) Service de Génétique, Hôpital Bretonneau, CHU, Tours ; (2) Centre for Human Genetics, Leuven, Belgique ; (3) Service de Génétique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris ; (4) Service de Génétique Médicale, GH Pitié-Salpêtrière, Paris ; (5) Department of Clinical Genetics, Oxford, UK ; (6) Department of Clinical Genetics, Leiden, Pays Bas ; (7) Department of Human Genetics, Newcastle upon Tyne, UK ; (8) Clinical Genetics, Great Ormond Street Hospital, London, UK ; (9) Department of Ophthalmogenetics, Amsterdam, Pays Bas ; (10) EFS, Bois Guillaume, France ; (11) Department of Medical Genetics, Helsinki, Finlande ; (12) Clinical Genetics Service, Bristol, UK ; (13) Center for Medical Genetics and Molecular Medicine, Bergen, Norvège ; (14) SIDVA 91, Savigny sur

Orge, France ; (15) Department of Oral Facial Development, Indianapolis, USA

Le syndrome de Nance-Horan (NHS), également appelé « cataract-dental syndrome » (Mc Kusick 302350), est une génopathie rare, semi-dominante liée à l'X, caractérisée par la triade cataracte congénitale, anomalies dentaires, dysmorphie faciale. À ce jour, 32 familles et 4 cas sporadiques (dont 2 cas chez des filles) ont été décrits dans la littérature. Les anomalies oculaires chez les hommes consistent en une cataracte congénitale bilatérale (100 % des cas), souvent une microcornée, rarement une microphthalmie, et des complications post-chirurgicales souvent sévères. La baisse de l'acuité visuelle est en général majeure et conduit à une cécité partielle voire totale. Les anomalies dentaires sont très variées, les plus caractéristiques sont le diastème entre les incisives médianes, le mésiodens, l'aspect de dent de Hutchinson, la forme en « tournevis » en particulier des incisives ainsi que l'aspect globuleux voire mûriforme des prémolaires et des molaires. La dysmorphie faciale typique consiste en un visage long et allongé, un nez long et saillant et des oreilles de grande taille et décollées, mais elle peut être très discrète. Les troubles neuro-psychiatriques sont inconstants et décrits chez environ 30 % des hommes atteints. Il s'agit d'une déficience mentale, le plus souvent modérée ou légère, de retard d'acquisitions motrices ou de signes autistiques. Chez les femmes hétérozygotes, les signes ophtalmologiques sont très souvent découverts à l'examen systématique et se limitent dans la grande majorité des cas à une cataracte suturale postérieure. Toutefois, de rares cas de cataracte congénitale avec un retentissement sur l'acuité visuelle comparable à celui des hommes atteints ont été rapportés. Les autres signes sont en général très atténués voire infracliniques. Aucune déficience mentale n'a été constatée chez les femmes hétérozygotes jusqu'à présent. Nous présentons les résultats d'une étude clinico-moléculaire portant sur une cohorte de 20 familles et 5 cas sporadiques soit 53 hommes atteints et 52 femmes hétérozygotes. L'étude moléculaire du gène *NHS*, localisé en Xp22.13, a permis d'identifier une mutation pathogène pour 23 des 25 familles ou cas sporadiques de notre cohorte représentant au total 22 mutations différentes réparties le long du gène. Il s'agit principalement de mutations non-sens ou frameshift, mais nous comptons également 3 délétions de grande taille et 1 mutation faux-sens et 1 mutation intronique dont la localisation suggère un retentissement sur l'épissage du transcrit. Une mutation semble récurrente (p.Arg373X) puisqu'elle a été mise en évidence dans 2 familles de la littérature et 2 familles de notre cohorte. La majorité de ces mutations sont héritées sauf dans 3 cas où les mutations sont survenues *de novo*. Ainsi, en tenant compte des 13 autres mutations décrites dans la littérature, nous portons à 35 le nombre total de mutations connues dans ce gène. L'analyse clinique et moléculaire de notre cohorte et de la littérature ne suggère pas l'existence d'une corrélation génotype-phénotype dans le syndrome de Nance-Horan.

Mots-clés : syndrome de Nance-Horan, cataracte, corrélation génotype-phénotype.

■CO33 / 687. PHÉNOTYPE CLINIQUE DE 35 PATIENTS PRÉSENTANT UNE DÉFICIENCE MENTALE LIÉE AU GÈNE ARX : NOUVELLES PERSPECTIVES POUR UN « SYNDROME ARX »

A. Curie (1, 2), G. Bussy (1, 2), S. Marignier (1), D. Lacombe (3), C. Chiron (4), M. Cossée (5), B. Leheup (6), C. Philippe (6), V. Laugel (7), A. De Saint Martin (7), G. Ponsot (8), K. Poirier (9), T. Bienvenu (9), I. Souville (9), B. Gilbert (10), E. Bieth (11), D. Kaufman (12), D. Briot (13), A. Messonier (14), F. Blanchard-Bouhajja (15), I. Mortemousse (16), J.C. Lambert (17), R. Touraine (18), J. Chelly (9), C. Moraine (16), V. des Portes (1, 2)

(1) Service de neuropédiatrie, Hôpital Debrousse, Lyon ; (2) Institut des Sciences cognitives, CNRS UMR5230, Bron ; (3) Service de génétique, CHU de Bordeaux ; (4) Service de neuropédiatrie, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris ; (5) Service de génétique moléculaire, Strasbourg ; (6) Service de génétique, Nancy ; (7) Service de pédiatrie, Strasbourg ; (8) Service de neuropédiatrie, Hôpital Trousseau, Paris ; (9) Service de génétique moléculaire, Hôpital Cochin, Paris ; (10) Service de génétique, Poitiers ; (11) Service de génétique, Toulouse ; (12) Fondation Sonnenhof, Bischwiller ; (13) MAS de Courcouronnes ; (14) CHS, Limoges (15) Service de psycho-réhabilitation des blessés de l'encéphale, MAS, Centre Hospitalier Esquirol, Limoges ; (16) Service de génétique, Tours, (17) Service de génétique, Nice ; (18) Service de génétique, Saint-Etienne, France

Le gène *ARX* est l'un des principaux gènes responsables de déficience mentale liée au chromosome X. Les mutations sévères de ce gène sont responsables du syndrome XLAG (X-linked Lissencephaly with Abnormal Genitalia). D'autres mutations moins drastiques, dont la fréquente duplication de 24 paires de bases de l'exon 2, provoquent une déficience mentale, associée de manière variable à une dystonie des mains (syndrome de

Partington) ou à une épilepsie (spasmes infantiles, crises généralisées, myoclonies). Certains patients ont une déficience mentale apparemment isolée, considérée jusqu'à présent comme « non spécifique ». Patients et méthode : La totalité des patients français atteints de déficience mentale sans malformation cérébrale et porteurs d'une mutation dans le gène *ARX* identifiée avant septembre 2006 a été recensée. 35 garçons, issus de 15 familles (sur les 17 connues) ont accepté de participer à l'étude. Les données anamnestiques précises et neuropsychologiques (QI obtenus aux échelles de Wechsler, échelle adaptative de Vineland) ont été obtenues. Les patients ont tous été réexaminés cliniquement selon un protocole standardisé avec examen filmé des praxies bucco-faciales et des praxies gestuelles. Afin de vérifier la spécificité de ces signes cliniques, nous avons inclus selon la même procédure un groupe contrôle de patients trisomiques 21 apparié en âge et QI. Résultats : Tous les patients présentaient une déficience mentale (QI moyen 48), des particularités morphologiques communes (implantation des cheveux haute sur le front, ensellure nasale étroite, rétrognathisme modéré, trouble de la statique) et une dyspraxie bucco-faciale et/ou une dyspraxie gestuelle à un degré variable. La sémiologie de l'atteinte gestuelle associe un défaut de programmation du geste (dyspraxie) et un trouble de régulation du tonus (dystonie). Le trouble porte sur la qualité de la pince pouce index, l'utilisation des 4^e et 5^e doigts et les manœuvres de pronosupination. Sur le plan buccal, un défaut d'occlusion des lèvres est au premier plan, se manifestant par une incontinence salivaire (inconstante), une difficulté à gonfler les joues, « faire un bisou » et articuler les consonnes. La comparaison avec le groupe de patients trisomiques est très significative pour chacun des deux scores ($p = 0,0003$ pour le score des praxies gestuelles, et $p = 0,000005$ pour le score des praxies buccofaciales). Conclusion : Ces précisions sémiologiques permettent de définir un syndrome clinique propre au gène *ARX* utile pour le diagnostic étiologique d'un retard mental inexplicable, y compris dans les cas sporadiques. Les vidéos de différentes formes cliniques de sévérité variable sont présentées.

Mots-clés : mutation du gène *ARX*, déficience mentale liée à l'X, praxies gestuelles et buccofaciales.

■CO34 / 30. MUTATIONS DU GÈNE DE LA PROGRANULINE (*PGRN*) DANS LES DÉMENCES FRONTOTEMPORALES : FRÉQUENCE, SPECTRE MUTATIONNEL ET PHÉNOTYPES ASSOCIÉS

I. Le Ber (1, 2, 3), A. Camuzat (1), D. Hannequin (4), F. Pasquier (5), A. Rovelet-Lecrux (4), J. van der Zee (6, 7), F. Clot (1), A. Laquerrière (8), S. Bakchine (9), M. Puel (10), M. Ghanim (1), L. Lacomblez (2, 11, 12), J. Mikol (13), V. de la Sayette (14), S. Belliard (15), M. Vercelletto (16), C. Duyckaerts (1, 11, 17), C. Van Broeckhoven (6, 7), J.-C. Lambert (18), P. Verpillat (1), D. Campion (4), B. Dubois (2, 3, 11, 19), A. Brice (1, 2, 11, 20) et le réseau de recherche français sur les DFT/DFT-SLA
(1) INSERM UMR679, Pitié-Salpêtrière Hospital, Paris, F-75013 France ; (2) AP-HP, Fédération des maladies du système nerveux, Pitié-Salpêtrière Hospital, Paris, F, 75013 France ; (3) Centre des Maladies Cognitives et Comportementales, AP-HP, Pitié-Salpêtrière Hospital, Paris, F-75013 France ; (4) INSERM U614 et Département de Neurologie, Rouen University Hospital, France ; (5) Department of Neurology and EA2691, University Hospital, Lille, France ; (6) Neurodegenerative Brain Diseases Group, Department of Molecular Genetics, VIB, Antwerpen, Belgium ; (7) University of Antwerp, Antwerpen, Belgium ; (8) Laboratoire de Neuropathologie, Rouen University Hospital, France ; (9) Service de Neurologie, CHU Maison Blanche, Reims, France ; (10) Service de Neurologie, CHU Purpan, Toulouse, France ; (11) Université Pierre-et-Marie-Curie 6, Paris 6 F, 75013, France ; (12) AP-HP, Hôpital de la Salpêtrière, Service de pharmacologie, Paris, F, 75013, France ; (13) Service d'Anatomie et Cytologie Pathologiques, Hôpital Lariboisière, Paris, France ; (14) Service de Neurologie, CHU Cote de nacre, Caen, France ; (15) Service de Neurologie, CHU, Rennes, France ; (16) Service de Neurologie, CHU Guillaume et René Laennec, Nantes, France ; (17) Laboratoire de Neuropathologie R Escourolle, Hôpital de la salpêtrière, Paris, France ; (18) INSERM U744, Institut Pasteur, Lille, France ; (19) INSERM U610, Pitié-Salpêtrière Hospital, Paris, F-75013 France ; (20) AP-HP, Hôpital de la Salpêtrière, Département de génétique, cytogénétique et embryologie, Paris, 75013, France

Les démences frontotemporales (DFT) sont des maladies neurodégénératives de l'adulte se manifestant par des troubles comportementaux (variant comportemental, vDFT) et du langage (aphasie primaire progressive, APP). Trente pour cent des patients présentent une histoire familiale de la maladie compatible avec une transmission autosomique dominante. Des mutations du gène *PGRN* ont été identifiées récemment dans des familles atteintes de DFT liée au chromosome 17 et caractérisée par la présence



d'inclusions neuronales ubiquitine-positives. Les mutations identifiées entraînent une perte de fonction par haploinsuffisance. Nous avons analysé ce gène chez 502 patients atteints de DFT (404 vcDFT, 68 APP) ou de syndrome apparenté (30 cas de dégénérescence cortico-basale) afin de déterminer la fréquence des mutations de ce gène et les phénotypes associés. Nous avons identifié 17 mutations nulles, dont 7 nouvelles mutations, dans 24 familles. La présentation clinique chez les patients porteurs de mutation est variable : 63 % des patients ont une forme comportementale classique de DFT alors que 37 % ont un phénotype évocateur d'aphasie progressive, de maladie d'Alzheimer, de démence à corps de Lewy ou de syndrome corticobasal. Quarante et un pour cent des patients présentent un syndrome parkinsonien, 52 % ont une apraxie gestuelle et 25 % ont des hallucinations visuelles. La fréquence des mutations du gène *PGRN* dans notre étude est de 5 % chez les patients atteints de vcDFT, et atteint 18 % dans les formes familiales de vcDFT. Des mutations de ce gène sont également responsables de 3 % environ des formes apparemment sporadiques suggérant la possibilité de mutations *de novo* ou d'une pénétrance incomplète. Cette étude souligne la grande variabilité des phénotypes associés aux mutations du gène *PGRN*. La découverte de mutations chez des patients sans histoire familiale et la possibilité d'une pénétrance incomplète pour les mutations de ce gène doit conduire à modifier le conseil génétique chez les patients atteints de DFT.

Mots-clés : *PGRN*, programulin, GRN.

Session Simultanée « Oncogénétique »

■CO35 / 660. ESTIMATION DU RISQUE DE CANCER DU SEIN ET DE L'OVAIRE DANS UNE COHORTE PROSPECTIVE DE FEMMES PORTEUSES D'UNE MUTATION SUR LES GÈNES *BRCA* : ÉTUDE NATIONALE GENEPSO

E. Mouret-Fourme (1), N. Andrieu (2), A. Chompret (3), M. Gauthier-Villars (4), C. Lasset (5), J.-P. Fricker (6), P. Berthet (7), L. Faivre (8), H. Sobol (9), E. Luporsi (10), L. Gladieff (11), M. Frénay (12), P. Gesta (13), le Groupe Génétique et Cancer de la FNCLCC (14), C. Noguès (1) (1) Centre René Huguenin, Saint-Cloud ; (2) Inserm U900 et Service de Biostatistiques, Institut Curie, Paris ; (3) Institut Gustave Roussy, Villejuif ; (4) Service d'Oncogénétique, Institut Curie, Paris ; (5) Centre Léon Bérard, Lyon ; (6) Centre Paul Strauss, Strasbourg ; (7) Centre François Baclesse, Caen ; (8) CHU, Dijon ; (9) Institut Paoli-Calmettes, Marseille ; (10) Centre Alexis Vautrin, Nancy ; (11) Institut Claudius Regaud, Toulouse ; (12) Centre Antoine Lacassagne, Nice, France ; (13) CH G. Renon, Niort ; (14) Groupe Génétique et Cancer incluant Stoppa-Lyonnet D, Bonadona V, Huiart L, Dugast C, Lortholary A, Longy M, N Guyen TJ, Delnatte C, Guimbaud R, Vennin P, Eisinger F, Chevrier A, Bignon YJ, Dreyfus H, Limacher JM, Demange L, Coupier I, Cohen-Haguenauer O, Caron O, Zattara-Cannoni H, Adenis C, Venat-Bouvet L, Rossi A, Colas C, Bonaiti C, Pujol P.

Introduction : La mise en place de la cohorte française GENEPSO permet un recueil standardisé de données et un suivi prospectif prévu sur 10 ans. Un des objectifs de GENEPSO est d'estimer le risque de cancer du sein et de l'ovaire à partir de données prospectives. En effet, les estimations du risque de cancer du sein ou de l'ovaire des personnes ayant une altération d'un des gènes *BRCA* sont très variables d'une étude à l'autre mais toutes avec des risques plus élevés que ceux estimés dans la population générale. Le risque de développer un cancer du sein avant 70 ans varie de 40 % à 85 % alors que ce risque est de l'ordre de 10 % dans la population générale. Celui de développer un cancer de l'ovaire avant 70 ans varie de 10 % à 63 % versus 1 % dans la population générale. La plupart de ces estimations ont été faites à partir de données rétrospectives avec des biais de recensement qui sont plus ou moins bien pris en compte dans les analyses. Seules, des études prospectives de porteurs indemnes de pathologie cancéreuse permettra une estimation sans biais du risque de cancer. L'objectif de cette présentation est donc de rapporter les premières estimations des risques de cancer du sein et de l'ovaire effectuées à partir de l'étude nationale GENEPSO. Données et Méthodes : GENEPSO a été initiée en 2000 et a inclus aujourd'hui 1 234 femmes et 191 hommes. Parmi ces 1 234 femmes, 643 étaient indemnes de pathologie cancéreuse à l'inclusion dans la cohorte. 62 % des femmes indemnes à l'inclusion présentent une mutation délétère de *BRCA1*. L'âge moyen au moment de l'inclusion dans la cohorte est de 39 ans (médiane : 37 ans, rang : de 18 à 98 ans). Le suivi médian des 643 femmes indemnes est de 2 ans (de 0 à 88 mois). Les risques relatifs de cancer sont estimés par les Standardized Incidence Ratios (SIRs) avec SIR = O/E. Le nombre de cancers attendus (E) est calculé à partir des incidences de la population générale (L Remontet *et al.*, 2002). La période de suivi est calculée à partir de la date d'inclusion dans la cohorte jusqu'à

la date de dernières nouvelles ou la date de diagnostic de cancer du sein ou de l'ovaire. Les SIRs sont estimés en fonction du gène muté (*BRCA1* ou *BRCA2*) et en fonction de la présence d'une chirurgie prophylactique. Conclusion : Ces résultats constituent les premiers résultats issus de données prospectives à l'échelle nationale sur le risque de cancer de personnes porteuses de mutations constitutionnelles *BRCA1/BRCA2*.

Mots-clés : *BRCA1/2*, cohorte, risque de cancer du sein/ovaire.

■CO36 / 168. ANALYSE DES GÈNES *BRCA1* ET *BRCA2* PAR L'APPROCHE « HIGH RESOLUTION MELTING CURVE »

F. Coulet (1), F. Pires (1), S. Martin (1), A. Beauvais (1), F. Bergeron (1), C. Colas (1), F. Soubrier (1)

(1) Laboratoire d'Oncogénétique et d'Angiogenèse Moléculaire, Groupe hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France

Les deux gènes majeurs de prédisposition au cancer du sein et de l'ovaire sont les gènes *BRCA1* et *BRCA2*. Ce sont deux grands gènes comprenant respectivement 22 et 26 exons codants avec pour chacun un exon 11 particulièrement grand comprenant respectivement 3 426 et 4 932 nucléotides. Afin de faciliter l'exploration de ces 2 gènes, nous avons évalué une technique de précriblage basée sur un nouveau type de détection d'hétéroduplexes : l'approche « High Resolution Melting Curve ou HRM ». Cette méthode est basée sur la dénaturation des amplicons double brin en présence de molécules fluorescentes de nouvelle génération s'incorporant uniformément dans la molécule d'ADN double brin. Des différences de la diminution de la fluorescence pendant la dénaturation par la chaleur sont mises en évidence chez un hétérodimère comparativement à un homodimère. Nous avons réalisé ces tests sur le LightCycler 480 (Roche) (96 puits), en utilisant le réactif LightCycler 480 HRM master mix (Roche). Nous avons transféré les amplicons que nous utilisons pour un précriblage en DHPLC à cette technique. Le gène *BRCA1* est analysé en 33 amplicons sachant que 7 d'entre eux sont analysés en séquençage direct du fait de la présence de polymorphismes fréquents. Parmi les 26 amplicons à mettre au point avec la technique HRM, les amplifications ont toutes fonctionné pour une même température d'hybridation de 55 °C. Nous avons comparé 10 patients sans variant ni polymorphisme sur les gènes *BRCA1* et 2, à au moins 1 variant par amplicon. Sur 34 variants testés, nous en avons détecté 33. La mutation non détectée est située sur l'exon 13 : c.4305G>A, p.Gln1396X, elle a pu être détectée après déplacement de la position des amorces. Le gène *BRCA2* est analysé en 46 amplicons sachant que 3 d'entre eux sont analysés en séquençage direct du fait de la présence de polymorphismes fréquents ou de l'absence de témoins mutés (exon 13). Pour le gène *BRCA2*, 43 amplicons sont à mettre au point avec la technique HRM et nous avons 110 variants à étudier. Actuellement 19 amplicons ont été testés ainsi que 47 variants, et nous avons détecté 47/47 variants. Enfin nous avons étudié la possibilité de dépister les grands réarrangements par quantification des mêmes amplicons utilisés pour l'application HRM. Nous avons détecté, en rapportant l'amplicon d'intérêt à un gène contrôle, tous les grands réarrangements recherchés sur le gène *BRCA1* : 3 délétions de l'exon 2, une délétion de l'exon 3 ainsi qu'une duplication de l'exon 3. Cette première phase de mise au point est très prometteuse, il reste à l'appliquer à des séries plus étendues de patients. Certains amplicons doivent être modifiés afin d'éviter au maximum tout polymorphisme intronique connu pouvant gêner l'interprétation. Cette technique est très facile à adapter à partir des protocoles destinés à d'autres techniques, rapide à réaliser et peu coûteuse. Elle présente l'avantage de nécessiter aucune manipulation de post-PCR et de pouvoir coupler recherche de mutation ponctuelle et de grand réarrangement. En revanche, la méthode d'analyse reste à standardiser (choix de région d'analyse, sensibilité), et les amplicons avec polymorphismes fréquents doivent être maintenus en séquençage direct pour éviter tout risque de masquer une mutation.

Mots-clés : *BRCA1*, *BRCA2*, HRM.

■CO37 / 548. PRÉDISPOSITIONS HÉRÉDITAIRES AU CANCER DU SEIN. ÉVALUATION DE LA COMPRÉHENSION ET DES CONSÉQUENCES DU RÉSULTAT NÉGATIF DES RECHERCHES GÉNÉTIQUES INITIALES

J. Woerle Boissy (1, 2), M. Charavel (1, 4), C. Lasset (2, 3), S. Dussart (2, 3), S. Giraud (4), H. Dreyfus (5), D. Leroux (5), F. Prieur (6), V. Bonadona (2, 3)

(1) Laboratoire Interuniversitaire de Psychologie, UPMF de Grenoble ; (2) Unité de Prévention et d'Epidémiologie Génétique, Centre Léon Bérard à Lyon ; (3) Laboratoire de Biologie et Biométrie Évolutive, CNRS UMR 5558 Université de Lyon UCB Lyon 1 ; (4) Service de Gynécologie, HCL de Lyon ; (5) Département de Génétique et Procréation, CHU de Grenoble ; (6) Service de Génétique, CHU de Saint Etienne, France

Introduction : Nous avons initié une étude multicentrique dans la région Rhône-Alpes qui vise à évaluer auprès des patientes, la compréhension et les conséquences du résultat négatif des recherches génétiques initiales dans les prédispositions héréditaires au cancer du sein et de l'ovaire. **Objectifs :** L'objectif principal est d'évaluer, chez les patientes atteintes de cancer du sein et/ou de l'ovaire, ayant accepté l'analyse des gènes *BRCA1* et *BRCA2*, l'impact et la compréhension de l'information délivrée au cours de la consultation de rendu de résultat négatif et de tester l'apport d'un support d'information remis à l'issue de la consultation. Nous souhaitons également évaluer l'impact psychosocial de ce résultat chez les patientes et ses apparentés. **Population :** Elle est constituée de patientes atteintes de cancer du sein et/ou de l'ovaire pour lesquelles une prédisposition héréditaire au cancer est évoquée mais dont l'analyse des gènes *BRCA1* et *BRCA2* est négative. Nous avons randomisé les patientes en deux groupes : Groupe A : Avec consultation et remise d'une note d'information ; Groupe B : Avec consultation, sans note d'information. Nous souhaitons inclure 300 patientes auprès des quatre centres d'oncologie génétique de Rhône-Alpes. **Méthodologie 1.** Elaboration d'un support d'information à partir de la méthode Focus Group (Lasset Genetic Testing 2007). Ce document écrit explique aux patientes ce qu'on entend par « résultat négatif ». 2. Elaboration d'une grille d'entretien semi-directif. 3. Réalisation d'un entretien téléphonique enregistré à l'aide d'un dictaphone. Les réponses aux questions « fermées » sont retranscrites sur une base de données. Un avis favorable a été donné par la CNIL pour l'informatisation des données. 4. Analyse qualitative en cours concernant 60 patientes incluses. 5. Analyse quantitative prévue sur toutes les femmes incluses, au cours du 1^{er} semestre 2008. À ce jour, nous avons réalisé plus de 150 entretiens. En janvier 2008, nous présenterons l'ensemble des données épidémiologiques ainsi que les résultats qualitatifs issus de l'analyse thématique des entretiens cliniques. **Caractéristiques** (concernant 125 patientes) Cancer du sein : 123 femmes Cancer de l'ovaire : 1 femme Cancer du sein et cancer de l'ovaire : 1 femme Âge moyen au moment du diagnostic : 45 ans Âge moyen le jour de l'entretien : 54 ans Délai moyen entre la consultation et l'entretien : 7 semaines Durée moyenne d'un entretien : 20 minutes. **Résultats préliminaires :** Nous observons des difficultés de compréhension de l'information concernant le risque résiduel de mutation génétique. Le résultat serait mal interprété en terme de risque majoré de cancer et cette « méconnaissance » aurait des conséquences au niveau de la surveillance personnelle et familiale. Les entretiens montrent des répercussions psychosociales chez les patientes. Le fait de ne pas avoir identifié une mutation génétique ne permettrait pas aux patientes de « régler » la question de l'étiologie du cancer. Nous constatons par ailleurs une banalisation de l'enquête génétique qui peut avoir des conséquences sur les mesures de préventions. Enfin, la note d'information apparaît comme un complément utile de la consultation et permet une meilleure compréhension des informations délivrées en consultation. **Conclusion :** Il apparaît que cette étude permettra d'améliorer l'information transmise aux patientes et à leur famille dans le cadre d'analyses génétiques initiales non informatives. Nous pourrions élaborer un cadre et des outils d'information complémentaires à la consultation si l'étude montre un impact positif du document écrit. Nous pourrions appréhender les conséquences, en matière de transmission et de compréhension des messages, de l'usage de certains termes aussi complexes et parfois ambigus que résultat « négatif » ou « non informatif ». Ce projet est soutenu par la Ligue Nationale Contre le Cancer et la Fondation de France.

Mots-clés : prédispositions héréditaires au cancer du sein, information, évaluation psychosociale.

■CO38 / 663. EFFET DU GÈNE *GSTT1* SUR LE RISQUE DU MÉLANOME EN PRÉSENCE DE MUTATIONS DU GÈNE *CDKN2A*, DE VARIANTS DU GÈNE *MC1R* ET DES FACTEURS DE L'HÔTE, DANS UN ÉCHANTILLON DE 25 FAMILLES FRANÇAISES À CAS MULTIPLES DE MÉLANOME

V. Chaudru (1), MT. Lo (1), F. Lesueur (2), K. Laud (2), H. Mohamdi (1), C. Marian (2), M. Barrois (2), A. Chompret (2), MF. Avril (3), F. Demeais (1), B. Bressac-de Paillerets (2)
(1) INSERM U794, Université d'Evry, Evry ; (2) Institut Gustave Roussy, Villejuif ; (3) AP-HP Hôpital Cochin, Université René-Descartes, Paris, France

Introduction : les gènes *GST* (Glutathion S-Transférase), impliqués dans la détoxification des métabolites générés par l'exposition au rayonnement ultra-violet, pourraient jouer un rôle dans l'étiologie du mélanome. Peu d'études cas-témoins se sont intéressées à l'effet de ces gènes sur le risque de mélanome et ont conduit à des résultats contradictoires. Par ailleurs, l'influence des gènes *GST* sur la pénétrance des mutations du gène *CDKN2A* (conférant un risque élevé de mélanome dans au plus 50 % des familles à cas multiples de mélanome) n'a pas été étudié. **Objectif :** Notre

objectif a été d'étudier les effets de trois gènes *GST* (*GSTT1*, *GSTM1* et *GSTP1*) sur le risque de mélanome dans un échantillon de 25 familles françaises à cas multiples de mélanome dans lesquelles une mutation du gène *CDKN2A* ségrégeait, et en tenant compte des autres facteurs de risque tels l'exposition au soleil, les caractéristiques pigmentaires, les nevus et les variants du gène *MC1R* (impliqué dans la pigmentation). **Matériel et Méthodes :** Les effets des gènes *GST* et des autres facteurs sur le risque de mélanome ont été estimés (1) dans l'échantillon total des 195 sujets génotypés, et (2) dans le sous-échantillon des 96 sujets porteurs d'une mutation de *CDKN2A*. L'ensemble des analyses ont été réalisées à l'aide de régressions logistiques. Les corrélations familiales entre sujets apparentés ont été prises en compte dans les régressions en utilisant une approche GEE (Generalized Estimating Equations). **Résultats :** Aucun effet significatif des gènes *GSTM1* et *GSTP1* sur le risque de mélanome n'a été mis en évidence dans nos données. En revanche, le gène *GSTT1* diminuait significativement le risque de mélanome chez les sujets porteurs d'au moins un allèle nul par rapport aux sujets porteurs de deux allèles actifs, en présence de mutations du gène *CDKN2A* et de variants du gène *MC1R* : l'odds-ratio (OR) associé à *GSTT1* était égal à 0,24 [0,10-0,58] dans l'échantillon total et OR = 0,30 [0,10-0,92] dans le sous-échantillon des sujets porteurs d'une mutation du gène *CDKN2A*. Les odds-ratios associés à *GSTT1* étaient similaires lorsque les nevus (dysplasie et nombre élevé), qui augmentent significativement le risque de mélanome en présence de mutations du gène *CDKN2A* et des variants du gène *MC1R*, étaient pris en compte dans les analyses. **Discussion/Conclusion :** L'effet protecteur du gène *GSTT1* pourrait être dû à une augmentation du nombre de cellules entrant en apoptose lorsqu'une accumulation d'évènements génétiques délétères survient dans les mélanocytes. Ces résultats auraient toutefois besoin d'être confirmés dans d'autres populations.

Mots-clés : mélanome, glutathion S-Transférase, pénétrance du gène *CDKN2A*.

■CO39 / 127. ESTIMATION DES RISQUES TUMORAUX DANS LE SYNDROME HNPCC : L'ÉTUDE ERISCAM

V. Bonadona (1), E. Yhuel (2), S. Olschwang (3), C. Lasset (1), S. Grandjouan (4), S. Manouvrier-Hanu (5), B. Buecher (6), R. Guimbaud (7), M. Longy (8), C. Noguès (9), T. Frébourg (10), Le Groupe Génétique et Cancer*, C. Bonaïti-Pellié (2)

(1) Université Lyon 1, UMR CNRS 5558, Centre Léon Bérard, Lyon ; (2) Inserm, U535 ; Univ Paris Sud, Villejuif ; (3) Inserm, UMR 599 ; Institut Paoli-Calmettes, Marseille ; (4) Hôpital Cochin, Paris ; (5) CHU, Lille ; (6) Centre René Gauducheau, Nantes ; (7) Institut Claudius Régaud & CHU, Toulouse ; (8) Institut Bergonié, Bordeaux ; (9) Centre René Huguenin, Saint-Cloud ; (10) Inserm, U614 ; CHU, Lille, France

Les prédispositions héréditaires aux cancers du côlon du rectum et de l'endomètre, encore appelées HNPCC, sont expliquées en grande partie par des mutations des gènes nécessaires à la réparation des erreurs d'appariement qui se produisent lors de la réplication de l'ADN (MMR pour Mismatch Repair). Les mutations des 3 principaux gènes, *MLH1*, *MSH2*, *MSH6* sont responsables d'une caractéristique tumorale appelée MSI (Microsatellite Instability). Ces prédispositions sont caractérisées par un risque accru pour une grande variété de tumeurs : le côlon, le rectum et l'endomètre en tout premier lieu, mais aussi l'intestin grêle, l'urètre et le bassinet et dans une moindre mesure, l'estomac, les voies biliaires et l'ovaire. L'étude ERISCAM (Estimation des Risques de CAncer chez les porteurs de mutations des gènes MMR) rassemble les données disponibles sur les familles françaises dans lesquelles une mutation de ces gènes a été identifiée, parce qu'elles présentaient les critères de recherche d'une mutation. Cette étude a pour objectif d'estimer de façon fiable et précise les risques des différentes localisations tumorales chez les personnes porteuses d'une mutation d'un gène MMR, avec une méthode statistique exempte des biais inhérents aux études portant sur des familles comportant plusieurs cas de cancers. La méthode qui est utilisée est basée en effet sur un principe de conditionnement sur l'ensemble des phénotypes de la famille, ce qui permet de s'affranchir de tout biais (Carayol et Bonaïti-Pellié, 2004). Elle utilise le principe des analyses de survie pour tenir compte des phénomènes de censure. Les individus non testés apportent une information en fonction de leur probabilité de porter la mutation trouvée chez leurs apparentés. L'information pertinente est l'âge au diagnostic de cancer pour les personnes atteintes et l'âge aux dernières nouvelles (ou au décès) pour les personnes indemnes. Quarante centres d'oncogénétique répartis sur toute la France et membres du Groupe génétique et cancer participent à cette étude. Ils ont permis de rassembler la quasi-totalité des familles françaises dans lesquelles une mutation de *MSH2*, *MLH1* ou *MSH6* a été identifiée. En pratique, les centres adressent les arbres généalogiques anonymisés au centre coordonnateur (unité INSERM 535) qui repère les familles



informatives et, dans ces familles, les individus pour lesquels des informations complémentaires sont nécessaires, puis adresse un cahier d'information à compléter au centre investigateur. Près de 700 de ces familles se révèlent informatives pour l'estimation des risques tumoraux. La collecte des informations sera terminée fin 2007 et les premiers résultats seront présentés aux Assises.

Référence

Carayol J, Bonaïti-Pellié C. Estimating penetrance from family data using a retrospective likelihood when ascertainment depends on genotype and age of onset. *Genet Epidemiol* 2004 ; 27 : 109-117.

*O. Caron, D. Stoppa-Lyonnet, J. Duffour, JP. Fricker, P. Berthet, Y-J. Bignon, J-C. Saurin, S. Lejeune, A. Chompret, P. Laurent-Puig, S. Baert-Desurmont, G. Plessis, D. Leroux, P. Gesta, C. Dugast, F. Soubrier, C. Colas, L. Faivre, TD. Nguyen, I. Coudier, P. Pujol, D. Bonneau, S. Giraud, E. Luporsi, L. Venat-Bouvet, B. Gilbert, M-A. Collonge-Rame, F. Priour, M. Fréany, H. Dreyfus, J-M. Limacher, H. Zattara-Cannoni, J. Chiesa, P. Collignon.

Mots-clés : HNPCC, risques, estimation.

■CO40 / 116. UNE FRACTION IMPORTANTE DES VARIANTS DE SIGNIFICATION BIOLOGIQUE INCONNUE DES GÈNES *MLH1* ET *MSH2* IMPLIQUÉS DANS LE SYNDROME DE LYNCH CORRESPOND À DES MUTATIONS D'ÉPISSAGE

I. Tournier (1), M. Vezain (1), S. Baert-Desurmont (1, 2), A. Killian (1), A. Martins (1), F. Charbonnier (1), S. Olschwang (3), Q. Wang (4), M.-P. Buisine (5), T. Frébourg (1, 2), M. Tosi (1)

(1) Inserm U614, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Institut Hospitalo-Universitaire de Recherche Biomédicale de Rouen ; (2) Service de Génétique, CHU de Rouen ; (3) Inserm UMR 599, Institut Paoli-Calmettes, Marseille ; (4) Centre d'Oncologie Génétique, Centre Léon Bérard, Lyon ; (5) Laboratoire de Biochimie et de Biologie Moléculaire, CHU de Lille, France

De nombreux variants de signification biologique inconnue (UV) sont détectés dans les gènes de réparation des mésappariements de l'ADN *MLH1* et *MSH2* impliqués dans le cancer colorectal héréditaire non polyposique (HNPCC) ou syndrome de Lynch. Ces variants ne peuvent pas être utilisés pour le conseil génétique des familles et représentent donc une limitation au diagnostic moléculaire de ce syndrome. Une fraction de ces variants pourrait avoir un effet délétère sur l'épissage en perturbant les sites donneurs et accepteurs d'épissage ou des éléments exoniques ou introniques régulateurs d'épissage (Intronic or Exonic Splicing Enhancers or Silencers, ESE, ESS, ISE, ISS). Dans le but d'identifier ces variants, nous avons développé un test ex vivo indicateur d'anomalies d'épissage basé sur l'ADN génomique du patient puisque l'ARN est plus difficile à obtenir en routine. L'exon à tester est amplifié par PCR sous sa forme sauvage ou mutée avec environ 150 pb de ses régions introniques flanquantes et cloné dans l'intron d'un vecteur d'expression contenant 2 exons. Les constructions sauvages ou mutées sont alors transfectées de façon transitoire dans des cellules HeLa et, après 24 heures et traitement à la puromycine afin de prévenir le NMD (Non Sense Mediated Decay), l'ARN est extrait et les transcrits sont analysés par RT-PCR et séquençage systématique. À l'aide de ce test, nous avons maintenant analysé 105 variants des gènes *MLH1* et *MSH2* détectés dans 100 familles HNPCC recrutées par le consortium HNPCC français. Ces variants correspondaient à 66 mutations faux sens, 25 mutations introniques, 11 mutations silencieuses et 3 délétions d'un codon. Nous avons montré que 25 % de ces variants ont en fait un effet sur l'épissage. Parmi ceux-ci, 5 sont situés à distance des sites d'épissage et affectent probablement des éléments de régulation de type ESE ou ISE. Les résultats obtenus par le test d'épissage ex vivo et par RT-PCR réalisés à partir de sang périphérique chez les patients présentant ces variants sont parfaitement concordants. Compte tenu de l'absence de programmes bioinformatiques de prédiction fiables, ce test d'épissage ex vivo contribue à l'optimisation du diagnostic moléculaire du syndrome de Lynch car il permet par l'analyse de l'ADN génomique de reclasser en mutations d'épissage certains UV. Nous l'avons ainsi progressivement intégré au diagnostic moléculaire du syndrome de Lynch en complément du séquençage et de la QMPFS. Lorsque le test est positif, nous proposons de confirmer les résultats par RT-PCR réalisé sur un prélèvement sanguin collecté sur tube Paxgene prévenant la dégradation des ARN. Cette stratégie est facilement transposable à l'exploration d'autres gènes et en particulier de ceux impliqués dans les autres formes mendéliennes de cancer.

Mots-clés : HNPCC épissage variants.

■CO41 / 109. IMPACTS DE LA MISE EN PLACE DU RÉSEAU NATIONAL INCA SUR LA PRÉDISPOSITION HÉRÉDITAIRE AUX HÉMOPTHIES MALIGNES : RÔLE DU GÈNE *RUNX1/AML1* DANS LA PRÉDISPOSITION GÉNÉTIQUE AUX LEUCÉMIES AIGÜES MYÉLOÏDES

C. Preudhomme, M.J. Mozziconacci, V. Bourdon, A. Renneville, N. Philippe, A.M. Stoppa, S. Blanche, T. Noguchi, L. Huiart, C. Roche-Lestienne, N. Boissel, N. Dhedin, V. Pondare, A. Baruchel, C. Chabannon, F. Eisinger, H. Sobol*, pour le Réseau National INCA « Prédiposition Héréditaire aux Hémopathies Malignes »

* Département d'oncologie génétique, Institut Paoli Calmettes, Marseille, Université Aix-Marseille II, France

Les hémopathies malignes (HM) représentent près de 10 % de l'ensemble des néoplasies et recouvrent un grand nombre de pathologies différentes (lymphomes, leucémies, myélomes) pouvant évoluer de manière aiguë ou chronique, et dans un contexte pédiatrique ou adulte. Cette diversité et la rareté des différentes entités cliniques constitutives ont été pendant longtemps et contrairement aux tumeurs solides un frein au développement des études familiales. La mise en place d'un réseau national sous l'égide de l'INCA dédié à ces pathologies a pour objectifs d'accroître nos connaissances dans ce domaine et d'améliorer la prise en charge des sujets à haut risque. À titre d'exemple, nous présentons les avancées réalisées pour la prédisposition génétique aux leucémies aiguës myéloïdes (LAM). Plusieurs gènes ont été retrouvés associés au développement des HM. Ils ont d'abord été identifiés dans un contexte de mutations somatiques et pour leur rôle clé dans la carcinogenèse ou l'hématopoïèse. Le gène *RUNX1/AML1* est de ceux-ci. Il appartient à la famille des gènes ayant un domaine « Runt », il code pour la sous-unité alpha du facteur de transcription hétérodimérique PEBP2/CBF. *AML1* est normalement exprimé dans toutes les lignées hématopoïétiques et agit en régulant l'expression de nombreux gènes de l'hématopoïèse. Il est localisé en 21q22, s'étend sur 260 kb, et est constitué de 12 exons. Ce gène est fréquemment dérégulé dans les leucémies, via généralement des translocations, mais peut également être le siège de mutations somatiques dans le domaine fonctionnel RUNT (exons 3 à 5). Au niveau constitutionnel, il a été rapporté dans la littérature, des mutations germinales d'*AML1* (domaine Runt) dans une dizaine de familles atteintes de FPD (Familial Platelet Disorder). Le FPD est une entité rare se transmettant sur le mode autosomique dominant caractérisée par une thrombopénie et des anomalies fonctionnelles de plaquettes associée à un risque élevé de développer une LAM. Le FPD pouvant être considéré comme un modèle de prédisposition génétique aux leucémies aiguës, nous avons mis en place une collaboration nationale dans le cadre du réseau INCA. Ainsi, 5 familles ont été identifiées dont la plus grande famille rapportée avec cinq sujets atteints de LAM et un enfant indemne présentant une thrombopénie asymptomatique. Une analyse germinale d'*AML1* a été réalisée chez le cas index présentant une LAM0 à l'âge de 41 ans. Une mutation constitutionnelle dans le domaine Runt (exon 4) a été mise en évidence. Les trois autres sujets atteints de LAM (LAM5 à 25 ans, LAM5 à 24 ans, LAM4 à 8 ans) pour lesquels du matériel a pu être collecté et le sujet atteint de thrombopénie (9 ans) ainsi que sa mère indemne (43 ans), étaient tous porteurs de la mutation familiale. L'analyse des 4 autres familles a permis de retrouver également une mutation germinale d'*AML1*. Au total, parmi les 5 familles françaises testées, 3 présentaient une mutation dans le domaine Runt, une famille présentait une mutation non sens dans l'exon 8 et dans le dernier cas il s'agissait d'une délétion très large d'une partie du bras long du chromosome 21 impliquant le locus *AML1*. Une étude des autres étapes de la cancérogenèse a été entreprise, à partir des cellules blastiques de 8 sujets appartenant à ces 5 familles. Ainsi, chez 7 patients, une seconde altération d'*AML1* a été retrouvée : dans 5 cas, il s'agissait d'une mutation du second allèle, dans 2 cas d'une duplication de l'allèle altéré. Dans le dernier cas, la LAM est survenue 5 ans après traitement d'une première leucémie aiguë lymphoblastique T, en faveur d'une origine induite. En conclusion : Nos résultats soulignent l'importance d'une organisation en réseau et suggèrent que la prévalence des formes familiales de LAM et le rôle d'*AML1* sont probablement sous-estimés (notre série constituée de manière relativement récente représentent la moitié de la série mondiale). D'autre part, et contrairement à ce qui a été avancé jusqu'à présent (phénomène d'haploinsuffisance), l'altération du second allèle d'*AML1* est probablement nécessaire au développement de la LAM, *AML1* se comporterait donc comme un gène suppresseur

Mots-clés : leucémie aiguë, *AML1/RUNX1*, réseau INCA.

■CO42 / 245. APPORTS DU MODÈLE CANIN À L'IDENTIFICATION DE GÈNES IMPLIQUÉS DANS DES MALADIES GÉNÉTIQUES COMPLEXES : EXEMPLE DE L'HISTIOCYTOSE MALIGNÉ

B. Hédan (1), J. Abadie (2), E. Cadieu (5), L. Herbin (1), T. Derrien (1), P. Devauchelle (3), C. Hite (1), J. Donadieu (4), F. Galibert (1), E. Ostrander (5), C. André (1)

(1) UMR 6061 CNRS, Génétique et Développement, Université de Rennes 1, Rennes, France ; (2) Unité d'Anatomie Pathologique, École Nationale

Vétérinaire de Nantes, France ; (3) Centre Anticancéreux Vétérinaire, École Nationale Vétérinaire d'Alfort, France ; (4) Service d'Hématologie Oncologie pédiatrique, Hôpital Trousseau, 75012 Paris, France ; (5) Cancer Genetics Branch, National Institute of Health, NIH/NHGRI, Bethesda, USA

L'espèce canine comporte plus de 350 races, toutes différentes sur le plan phénotypique, et comportemental, elles diffèrent aussi concernant la susceptibilité aux maladies. En revanche chaque race canine, homogène sur le plan phénotypique et génotypique se comporte comme un isolat génétique. Face à la difficulté chez l'Homme de recruter des familles informatives pour les maladies rares et/ou complexes, le chien offre une alternative intéressante. En effet, de nombreuses maladies génétiques humaines ont leur équivalent chez le chien et du fait de la forte consanguinité et d'effets fondateurs, ces maladies chez le chien, sont spécifiques de races et ségrègent avec des incidences très élevées. De plus, la physiologie et les réponses cliniques du chien sont plus proches de celles qui prévalent chez l'Homme. À cet égard, les essais de thérapie génique sont très prometteurs (ex : amaurose congénitale de Leber avec le modèle de l'atrophie de la rétine CSNB chez le Briard). Dans ce contexte, afin de disposer de modèles pertinents pour l'identification des composantes génétiques de maladies complexes et pour le futur développement d'essais thérapeutiques en modèle « gros animal », nous avons constitué des réseaux entre vétérinaires, Clubs de races et éleveurs, ainsi qu'une Banque d'ADN de chiens, visant à collecter des familles informatives ainsi que des cohortes de cas et de contrôles pour mener à bien des études génétiques. Nous présentons les résultats obtenus sur l'histiocytose maligne, une forme de cancer très agressif des histiocytes – cellules dendritiques de la lignée hématopoïétique –. Ce cancer ségrège de façon spécifique et avec une incidence de l'ordre de 20 % dans la race Bouvier Bernois. Il pourrait constituer un modèle d'étude pour certains cancers hématopoïétiques humains ou pour les histiocytoses humaines, groupe de maladies rares pour lesquelles les bases génétiques sont inconnues. À partir de plus de 600 prélèvements d'ADN de Bouviers Bernois d'effectif français, une famille de 200 chiens comportant 173 atteints a permis de proposer un mode de transmission oligogénique. L'étude épidémiologique de cette famille a également permis de mettre en évidence une fréquence anormalement élevée d'autres cancers (mastocytomes, lymphomes...). Nous avons effectué une analyse de liaison génétique sur cette famille et en parallèle, une étude cas/contrôles a été menée sur 200 chiens d'effectifs américains. Ces études ont convergé vers l'identification de plusieurs locus, dont deux sont communs aux deux approches. Ces deux locus font actuellement l'objet d'analyses génétiques complémentaires pour identifier les gènes impliqués. Notre hypothèse étant que certains gènes seront des gènes « de cancer », probablement de la lignée hématopoïétique et que d'autres correspondront à des gènes plus spécifiques de la physiologie des histiocytes. L'analyse génétique détaillée par sous-familles nous permettra d'évaluer la combinatoire et la contribution relative des gènes impliqués dans le développement de ces cancers dans la race Bouvier Bernois. Pour mettre en évidence de nouveaux gènes impliqués dans des cancers hématopoïétiques, généralement multifactoriels chez l'homme, l'intérêt de ce modèle est que chez le chien, ces cancers ségrègent de façon héréditaire dans quelques races, voire une race spécifique. Ainsi, des approches classiques de criblage génétique, même à faible résolution, permettent de mettre en évidence de nouveaux locus.

Mots-clés : oncologie, chien, liaison génétique.

Session Simultanée

« Génétique Moléculaire »

■CO43 / 486. DES DUPLICATIONS SUBMICROSCOPIQUES DES GÈNES HYDROXYSTEROÏDE DÉHYDROGÉNASE *HSD17B10* ET E3 UBIQUITIN LIGASE *HUWE1* SONT ASSOCIÉES À UN RETARD MENTAL

G. Froyen (1), H. Van Esch (2), M. Corbett (3), J. Vandewalle (1), I. Jarvela (4), O. Lawrence (5), M. Bauters (1), J. Chelly (6), D. Sanlaville (7), P. S. Tarpey (8), F. L. Raymond (9), J.-P. Fryns (2), R. Scott (5), M. Peippo (4), G. Turner (10), J. Gécz (3)

(1) Human Genome Laboratory Centre for Human Genetics, Leuven, Belgium ; (2) Clinical Genetics Department, Centre for Human Genetics, Leuven, Belgium ; (3) Department of Genetic Medicine, Women's and Children's Hospital, Adelaide, Australia ; (4) Laboratory of Molecular Genetics, Helsinki University Central Hospital, Helsinki, Finland ; (5)

Molecular Genetics Laboratory HAPS, John Hunter Hospital, Newcastle, Australia ; (6) Institut Cochin, Université Paris Descartes, CNRS (UMR 8104), Paris, France ; (7) Université de Lyon, Lyon, France ; (8) The Sanger Center, Wellcome Trust, Hinxton, UK ; (9) Cambridge Institute of Medical Research, Cambridge, UK ; (10) The GOLD service Hunter Genetics University of Newcastle, New South Wales, Australia

Des variations submicroscopiques du nombre de copies jouent un rôle important dans l'étiologie génétique des maladies humaines. Récemment nous avons décrit une duplication du gène *MECP2* impliqué dans le retard mental sévère et syndromique. Dans cette étude, nous rapportons une nouvelle micro-duplication de la région Xp11.22 qui ségrège parfaitement dans 6 familles, y compris les grandes familles MRX17 et MRX31, dont les hommes atteints présentent un retard mental non syndromique. L'intervalle minimal dupliqué dans ces 6 familles contient trois gènes : *RIBC1*, *HSD17B10* et *HUWE1*. Nous avons pu exclure l'implication de *RIBC1* dans la pathologie car ce gène n'est pas exprimé dans le cerveau et qu'il échappe l'inactivation de l'X chez les femmes transmettrices. Pour les deux autres gènes, l'utilisation de puces à expression et de PCR quantitative ont montré une augmentation significative de l'expression de *HSD17B10* et *HUWE1* ainsi que de plusieurs gènes de leurs voies moléculaires dans les lignées des patients en comparaison aux contrôles. Des mutations perte de fonction dans *HSD17B10* sont associées avec un retard mental et une maladie neurologique progressive, tandis que le gène *E3 ubiquitin ligase HUWE1* est connu pour jouer un rôle dans la régulation du cycle cellulaire neuronal. Nous avons également trouvés des mutations ponctuelles dans ce gène dans 3 familles de retard mental lié à l'X. En résumé, cette étude montre qu'une augmentation de l'expression des gènes *HSD17B10*, *HUWE1*, ainsi que des mutations dans *HUWE1* sont impliqués dans l'étiologie du retard mental lié au chromosome X.

Mots-clés : retard mental, chromosome X, array-CGH.

■CO44 / 474. LES MUTATIONS DU GÈNE *CABC1* SONT RESPONSABLES D'UNE ATAXIE AVEC DÉFICIT EN COENZYME Q10

J. Mollet (1), A. Delahodde (2), D. Chretien (1), D. Schlemmer (1), C. Marsac (4), P. De Lonlay (1), H. Ogier De Baulny (4) A. Lombes (5), A. Munnich (1), A. Rödig (1)

(1) INSERM U781 et Département de génétique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France ; (2) Institut de Génétique et Microbiologie, UMR 8621 CNRS, Université Paris-Sud, Orsay, France ; (3) EA n° 2502 du ministère de la Recherche, de l'Enseignement Supérieur et la Technologie CERTO, Université René-Descartes, Paris V, Site Necker, Paris, France ; (4) Hôpital Robert-Debré, Service de neurologie, maladies métaboliques, Paris, France ; (5) Institut de Myologie, UMRS 582, Physiopathologie cellulaire et moléculaire des maladies mitochondriales, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France

Le coenzyme Q10 (CoQ10) joue un rôle essentiel dans la chaîne respiratoire mitochondriale. Il permet le transfert des électrons des complexes I et II vers le complexe III. La voie de synthèse du CoQ10 fait intervenir plusieurs enzymes et des protéines de fonction pas toujours connue. Nous avons identifié la mutation causale dans un groupe de quatre patients issus de trois familles différentes. Ces enfants présentaient une ataxie, un syndrome cérébelleux et une épilepsie. L'étude enzymologique de la chaîne respiratoire a montré que les activités dépendantes du CoQ10 (complexe I+III, complexe II+III) présentaient des valeurs basses alors que tous les complexes de la chaîne respiratoire avaient des activités normales. Ce déficit a été observé dans le muscle alors que les fibroblastes ont montré des activités normales de chaîne respiratoire. La quantification du CoQ10 dans le muscle des patients a montré des valeurs soit franchement basses, soit à la limite inférieure des valeurs normales. Nous avons réalisé le séquençage direct des gènes impliqués dans la voie de biosynthèse du CoQ10. Ceci nous a permis d'identifier des mutations dans le gène *CABC1* aussi appelé *COQ8* ou *ADCK3*. Dans une première famille de l'île de La Réunion avec un enfant atteint nous avons mis en évidence la mutation c.[1294G>A] (p.[G551K]) à l'état homozygote chez l'enfant. Dans une deuxième famille non consanguine nous avons identifié les mutations c.[636C>T]+[815G>T] (p.[R213W]+[G272V]). – Dans une troisième famille non consanguine nous avons identifié les mutations c.[815G>A]+[1812_1813insG] (p.[G272D]+[E605GfsX125]). L'étude fonctionnelle dans une souche de levure (*Saccharomyces cerevisiae*) déletée pour le gène correspondant (?coq8) a déjà permis de valider deux de ces mutations. Bien que l'ensemble des déficits en CoQ10 constitue un groupe cliniquement hétérogène de maladies, il semble que les mutations de *CABC1* conduisent à un phénotype neurologique évolutif relativement homogène associant une ataxie, des convulsions et une hyperlactacidémie permanente.

Mots-clés : mitochondrie, CoQ10, *CABC1/COQ8/ADCK3*.



■CO45 / 218. MUTATION DU GÈNE *PEO1* CODANT L'HÉLICASE MITOCHONDRIALE TWINKLE DANS UN CAS DE DÉPLÉTION DE L'ADN MITOCHONDRIAL

E. Sarzi (1), S. Goffart (2), D. Chrétien (1), V. Serre (1), A. Slama (3), A. Munnich (1), J. N. Spelbrink (2), A. Rötig (1)

(1) INSERM U781 et Service de Génétique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris ; (2) Laboratoire de Biochimie du Kremlin-Bicêtre ; (2) Institute of Medical Technology and Tampere University Hospital, Tampere, Finland

L'hélicase mitochondriale Twinkle est une des protéines impliquées dans le maintien de l'ADN mitochondrial (ADNmt). Des mutations dominantes de ce gène ont été rapportées dans les cas d'ophtalmoplégie externe progressive avec délétions multiples de l'ADNmt (adPEO) tandis que des mutations récessives de Twinkle sont associées à l'ataxie spinocérébelleuse néonatale (IOSCA). Il a été précédemment montré que Twinkle contrôle le nombre de copies d'ADNmt et, de ce fait, le gène *PEO1* codant pour la protéine Twinkle est considéré comme gène candidat dans les déplétions de l'ADN mitochondrial. Nous avons étudié au moyen de microsatellites le gène *PEO1* dans une série de 10 patients nés de parents consanguins et présentant une déplétion sévère de l'ADNmt. Une homozygotie de tous les marqueurs microsatellites a été trouvée chez deux patients d'une même famille. Ces patients présentaient une acidose lactique néonatale, une hypotonie axiale, des crises convulsives, une cytolysse et une cholestase. Un déficit multiple des complexes I, III et IV de la chaîne respiratoire mitochondriale a été mis en évidence dans le foie de ces deux patients ainsi qu'une déplétion sévère de l'ADNmt (8 % d'ADNmt résiduel). Ceci nous a conduit à séquencer le gène *PEO1* et à identifier une mutation homozygote à une position conservée de la protéine (T457I). La similitude de la protéine Twinkle et de l'hélicase GPD4 du phage T7 nous a permis de modéliser la structure de l'hélicase humaine en utilisant les coordonnées atomiques de la structure cristallographique de la protéine hexamérique GP4D. De façon intéressante, la mutation est localisée au niveau de l'interface entre deux monomères de l'enzyme hexamérique, et peut probablement induire un changement conformationnel localisé. La validation *in vitro* nous a permis de démontrer que cette mutation entraînait une diminution de l'activité hélicase de 50 % par rapport aux valeurs normales. Nous avons également pu montrer que le mutant T457I modifiait drastiquement l'affinité de la protéine Twinkle pour son substrat l'UTP.

Référence

Publié dans *Annals of Neurology* 2007 : 24.

Mots-clés : déplétions ADNmt, *PEO1*, twinkle.

■CO46 / 540. ÉTUDE DU RÔLE DU GÈNE *RNF135* DANS L'EXCÈS DE CROISSANCE OBSERVÉ CHEZ DES PATIENTS ATTEINTS DE NEUROFIBROMATOSE DE TYPE 1

E. Pasmant (1, 2), A. Sabbagh (1, 2), J. Masliah (2), M. Suarez (2), B. Parfait (1, 2), C. Bellanné-Chantelot (3), S. Ferkal (4), P. Wolkenstein (4), D. Vidaud (1, 2), M. Vidaud (1, 2) ; Réseau NF France

(1) UMR745 INSERM, Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques Paris-Descartes, 4 av. de l'Observatoire, 75006, Paris, France ; (2) Service de Biochimie et de Génétique Moléculaire, Hôpital Beaujon AP-HP, 100 Bd du Gal Leclerc, 92110, Clichy, France ; (3) Unité de Biologie et Génétique Moléculaire, Hôpital Saint Antoine, 184 rue du Fbg Saint Antoine, 75012 Paris, France ; (4) Service de Dermatologie, Hôpital Henri Mondor-APHP, 51 av. du Mal de Lattre de Tassigny, 94000 Créteil, France

Introduction : Le phénotype de neurofibromatose de type 1 (NF1) causé par des microdélétions en 17q11.2 de régions de ~ 1,2-1,4 Mb incluant le gène *NF1* diffère de celui associé aux mutations *NF1* intragéniques. Il est en effet souvent observé chez les patients présentant une microdélétion *NF1* une dysmorphie faciale, des difficultés d'apprentissage, des anomalies cardiaques congénitales et un développement précoce et important de neurofibromes cutanés (Venturin *et al.*, 2004). Un excès de croissance pendant l'enfance a également été décrit chez ces patients, suggérant que la délétion d'un gène situé dans l'intervalle de microdélétion pourrait favoriser la croissance. Cette hypothèse a été confirmée par une étude récente montrant que l'haploinsuffisance du gène *RNF135*, situé dans l'intervalle de microdélétion, pourrait expliquer l'excès de croissance observé chez les patients *NF1* microdélétés (Douglas *et al.*, 2007). Objectifs : La présente étude a pour objectif (1) de confirmer l'existence d'un excès de croissance chez les patients *NF1* microdélétés, cette observation n'étant étayée à ce jour que par une seule étude portant seulement sur 21 patients, (2) d'évaluer le rôle du gène *RNF135* dans l'excès de croissance observé chez 31 patients présentant une mutation *NF1* intragénique. Résultats : Nos résultats ne confirment pas l'existence d'un excès de croissance chez les patients *NF1*

microdélétés, la prévalence de ce trait (20 %) étant similaire à celle observée chez les patients *NF1* avec une mutation intragénique (8 %, $p=0,13$). Par ailleurs, aucune mutation délétère n'a été identifiée dans *RNF135* après séquençage de la région codante de ce gène chez 31 patients avec une mutation *NF1* intragénique présentant un excès de croissance dans l'enfance. Conclusion : Nos résultats montrent que l'excès de croissance dans l'enfance n'est pas un signe clinique caractéristique des patients *NF1* microdélétés et que la délétion du gène *RNF135* n'est donc probablement pas impliquée dans la promotion de la croissance humaine. L'observation d'une absence d'implication de *RNF135* dans l'excès de croissance observé chez des patients présentant une mutation *NF1* intragénique va également dans ce sens.

Mots-clés : neurofibromatose de type 1, *RNF135*, excès de croissance.

■CO47 / 337. PARAPLÉGIES SPASTIQUES FAMILIALES AVEC DÉTÉRIORATION MENTALE ET ATROPHIE DU CORPS CALLEUX : ÉTUDE CLINIQUE ET GÉNÉTIQUE DE 8 FAMILLES TUNISIENNES

A. Boukhris (1, 2, 3), I. Feki (3), M.I. Miladi (3), J. Truchetto (1), P. Denora (1), N. Elleuch (3), S. Belal (4), S. Forlani (1), C. Mhiri (3), A. Brice (1, 2), G. Stevanin (1, 2)

(1) INSERM/UPMC UMR 679, Paris ; (2) Département de Génétique et Cytogénétique, CHU Pitié-Salpêtrière, Paris ; (3) Service de Neurologie, Hôpital Habib Bourguiba de Sfax, Tunisie ; (4) Institut Nationale de Neurologie, Tunis, Tunisie

Introduction : Les paraplégies spastiques familiales (PSF) constituent un groupe hétérogène d'affections neurodégénératives rares génétiquement déterminées, caractérisées par la présence d'un syndrome pyramidal des membres inférieurs en rapport avec une dégénérescence prédominante des faisceaux cortico-spinaux de la moelle thoracique. Les PSF sont cliniquement et génétiquement hétérogènes. Les patients présentent un syndrome pyramidal spastique et/ou déficitaire des membres inférieurs, qui est isolé dans les formes pures mais auquel s'ajoutent variablement d'autres signes neurologiques ou extra neurologiques dans les formes compliquées. Le mode de transmission est variable. Il peut être autosomique dominant, autosomique récessif ou récessif lié à l'X. Trente trois loci et 15 gènes ont été identifiés à ce jour. La paraplégie spastique familiale avec détérioration ou retard mental(e) et atrophie du corps calleux (PSF-ACC) est une forme fréquente de PSF compliquée ayant une transmission le plus souvent autosomique récessive (AR). La détérioration mentale débute pendant les deux premières décennies et s'associe à des signes neurologiques et extra neurologiques variés. Ce phénotype a été décrit dans des familles liées à 6 différents loci : SPG7, SPG11, SPG15, SPG21, SPG32 et le locus « PSF-ACC-épilepsie ». Objectifs : Établir la fréquence et déterminer les bases génétiques des AR-PSF-ACC en Tunisie. Patients et méthodes. Nous avons sélectionné 73 patients issus de 33 familles tunisiennes avec AR-PSF. Les familles avec AR-PSF-ACC ont été testées par analyse de liaison aux différents loci en utilisant des marqueurs microsatellites appropriés. L'étude génétique a été complétée par séquençage direct du gène *KIAA1840* pour les familles liées au locus SPG11. Résultats : Nous avons pu identifier 8 familles tunisiennes (8/33=24 %), incluant 19 patients, répondant aux critères cliniques et radiologiques de AR-PSF-ACC. Une liaison génétique à SPG11 (62,5 %) ou SPG15 (25 %) a été mise en évidence chez sept familles, par reconstruction des haplotypes et obtention de LOD scores positifs pour les marqueurs microsatellites flanquants. L'identification de deux mutations récurrentes (R2034X et M245VfsX) dans le gène SPG11/*KIAA1840* dans les cinq familles liées à SPG11 a confirmé les résultats de l'analyse de liaison. Les corrélations phénotype-génotype suggèrent que les données neurologiques et radiologiques des patients SPG11 et SPG15 sont relativement similaires. La famille restante, caractérisée par un début très précoce mais d'aggravation moins sévère de la maladie chez les patients ainsi que par la présence de cataracte, a été exclue des six loci connus suggérant qu'il s'agit d'une nouvelle entité clinique et génétique. Conclusion : La paraplégie spastique avec atrophie du corps calleux et détérioration mentale est une forme fréquente de PSF compliquée, caractérisée par une grande hétérogénéité clinique et génétique. SPG11 et SPG15 représentent les deux loci majeurs de cette forme. Au moins une autre entité génétique avec un phénotype différent existe ; son locus et le gène en cause restent à identifier.

Mots-clés : paraplégie spastique, corps calleux, retard mental.

■CO48 / 524. MUTATION PAR NOMBRE DE COPIES DU TRYP-SINOGEN CHEZ LES PATIENTS ATTEINTS DE PANCRÉATITE CHRONIQUE IDIOPATHIQUE

C. Le Maréchal (1, 2), M. Masson (1), J. Lamoril (3), S. Bezieau (4), J.M. Chen (1), C. Ferec (1, 2)

(1) INSERM U613-Brest ; (2) Laboratoire de génétique moléculaire, CHU Brest ; (3) Centre français des porphyries, Univ Paris VII, hôpital L. Mourier-Colombes ; (4) LEPA-EA3823, Faculté de Médecine, Nantes, France

Nous avons récemment montré que la triplification d'une séquence de ~ 605 kb contenant les gènes *PRSS1* (trypsinogen cationic) et *PRSS2* (trypsinogen anionic) était impliquée dans la pancréatite héréditaire. Dans ce travail, nous avons poursuivi l'évaluation de l'implication de cette « mutation par nombre de copies » dans les formes idiopathiques (ICP) ou familiales (FCP) de pancréatite chronique. Méthodes : L'évaluation du nombre de copies, chez les patients et les témoins, a été réalisée par PCR multiplexe fluorescente semi-quantitative et/ou par génotypage du micro-satellite rs3222967. Résultats : La triplification de ~ 605 kb et une nouvelle duplication (confirmée par FISH) du locus trypsinogen ont été détectées chez 10 et 2 patients respectivement (6 %) parmi 202 patients avec une forme juvénile d'ICP (âgés de moins de 20 ans au moment de la première crise). La duplication a également été retrouvée chez seulement 2 patients ICP adultes parmi les 1044 testés. Les deux variants du nombre de copies du locus *PRSS* n'ont, par contre, jamais été retrouvés chez 103 patients FCP ni chez 282 sujets témoins français. Conclusions : Ces nouvelles données identifient les bases moléculaires de 6 % des formes juvéniles d'ICP et confirment donc que la pancréatite chronique est une anomalie génomique. En complément de l'étude des malades, nous apportons des preuves que les cinq réarrangements précédemment rapportés dans la littérature, qui impliquent les deux gènes *PRSS1* et *PRSS2*, et répertoriés dans la base de données des variants du nombre de copies (<http://projects.tcag.ca/variation/>), sont en fait des artéfacts.

Mots-clés : pancréatite chronique, CNV, PCR semi-quantitative.

■CO49 / 137. IDENTIFICATION DE MUTATIONS DANS LE GÈNE *ADAMTSL2* DANS LA DYSPLASIE GÉLÉOPHYSIQUE

C. Le Goff (1), F. Morice (1), N. Dagoneau (1), C. Perrot (1), Y. Crow (2), E. Flori (3), D. Bonnet (4), C. Prost-Squarcioni (5), D. Krakow (6), M. Le Merrer (1), S.S. Apte (7), A. Munnich (1), V. Cormier-Daire (1) (1) Département de Génétique et INSERM U781, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris ; (2) Department of Clinical Genetics, St James's University Hospital-Leeds ; (3) Département de Génétique, Hôpital de Haute-pierre, Strasbourg ; (4) Service de cardiologie pédiatrique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris ; (5) CNRS UPRES 3410, Faculté de Médecine, Hôpital Avicennes-Bobigny ; (6) Medical Genetics Institute-Los Angeles, USA ; (7) Department of biomedical engineering, Lerner Research Institute, Cleveland Clinic Foundation, Cleveland, USA

La dysplasie géleophysique (DG, OMIM 231050) est une maladie autosomique récessive appartenant au groupe des dysplasies acroméliques et caractérisée par une petite taille, une brachydactylie, une peau épaisse, une hépatomégalie et des anomalies cardiaques souvent responsables d'un décès précoce. Une stratégie de cartographie par homozygotie au sein de quatre familles DG consanguines nous a permis de localiser le gène responsable de la maladie sur le chromosome 9q34.2 ($Z_{max} = 4.52$ à $\theta = 0$ au locus CA-AL590710). L'identification récente de mutations dans le gène *ADAMTSL10* dans le syndrome de Weill Marchesani proche de la DG, nous a conduit en priorité à considérer *ADAMTSL2* (A Disintegrin And Metalloproteinase with Thrombospondin repeats-like 2), comme un gène candidat dans notre région d'intérêt. Ce gène code pour une glycoprotéine sécrétée à fonction inconnue qui appartient à la famille des ADAMTS mais qui en est distincte par l'absence d'activité catalytique. Le séquençage direct de ce gène dans six familles a permis d'identifier cinq mutations distinctes (p.Arg113His, p.Pro147Leu, p.Gly811Arg, p.Glu114Lys et p.Trp862X). Ces mutations ségrègent avec la maladie et n'ont pas été identifiées chez 200 contrôles. Elles sont localisées dans le domaine riche en cystéine et dans le sixième domaine thrombospondin 1. L'hybridation *in situ* sur tissus fœtaux humains a montré qu'*ADAMTSL2* est exprimé particulièrement au niveau des tissus impliqués dans la DG (peau, cœur et plaque de croissance). La DG étant considérée comme une maladie de surcharge, nous avons analysé par microscopie électronique une biopsie de peau d'un patient DG et mis en évidence un grand nombre de vacuoles ressemblant à des lysosomes dans les kératinocytes, les sébocytes, les fibroblastes et les cellules musculaires lisses. L'étude des conséquences fonctionnelles des mutations faux sens a montré une expression normale dans les cellules HEK293 mais une diminution de sécrétion de la protéine *ADAMTSL2* qui peut être due à un défaut de structure quaternaire. L'association des manifestations cliniques de la DG avec le profil d'expression d'*ADAMTSL2* suggère qu'*ADAMTSL2* joue un rôle important dans l'ossification endochondrale et dans le développement du cœur.

Mots-clés : dysplasie géleophysique, *ADAMTSL2*, ossification endochondrale.

■CO50 / 223. COMPARISON DE L'EFFICACITÉ DU MÉCANISME DE DÉGRADATION DES ARNM PORTEURS D'UN CODON STOP PRÉMATURÉ (NMD) DANS DIFFÉRENTS TISSUS MURINS

A.B. Zetoune (1), S. Fontanière (1), D. Magnin (2), O. Anczuków (1), M. Buisson (1), C.Z. Zhang (1) S. Mazoyer (1)

(1) Laboratoire de Génétique Moléculaire, Signalisation et Cancer UMR5201 CNRS, Université Lyon 1, Lyon, France ; (2) Université Lyon 1, Lyon, France

Introduction : Le NMD, pour Nonsense Mediated mRNA Decay, est un mécanisme de surveillance qui s'attache à dégrader spécifiquement les ARNm porteurs d'un codon stop prématuré (ou PTC pour Premature Termination Codon). Le NMD a pour but d'empêcher ou de limiter l'expression de protéines tronquées qui pourraient avoir un effet dominant négatif potentiellement dangereux pour la cellule. Ce mécanisme, extrêmement conservé chez tous les organismes, est longtemps resté méconnu car on connaissait mal son mode de fonctionnement. On sait maintenant que la reconnaissance des PTCs est basée sur la présence en aval du codon stop d'une jonction exon-exon marquée par un complexe protéique, l'EJC. En effet, les codons stop naturels étant toujours localisés dans le dernier exon, et le ribosome dissociant les EJC lors de son cheminement sur l'ARNm pour le traduire, il n'y a pas d'EJC en aval normalement. Le déclenchement du NMD nécessite également l'intervention du complexe de surveillance. Les protéines de l'EJC et du complexe de surveillance sont exprimées de façon ubiquitaire, mais leur taux est variable selon les tissus. Par ailleurs, plusieurs études ont suggéré que les transcrits PTC+ étaient plus ou moins dégradés par le NMD selon les tissus. Nous avons recherché si un gène porteur d'une mutation PTC+ pouvait conduire à un taux variable de protéines tronquées selon les tissus où il s'exprime, en raison d'une différence d'efficacité du NMD. Matériel et méthodes : L'efficacité du NMD a été déterminée en mesurant le taux de transcrits mutés par rapport au taux de transcrits sauvages dans différents tissus prélevés sur des souris invalidées au niveau d'un allèle du gène *Men1* (introduction d'un PTC dans la séquence codante par délétion de l'exon 3), en utilisant la technique de RT-PCR en temps réel avec un appareil Light Cycler. Résultats : Nous avons tout d'abord quantifié le taux de transcrit *Men1* dans des cellules MEF *Men1*+/- et trouvé que le taux de transcrits mutés représente 18 % du taux de transcrits sauvages. Ce taux augmente environ de 3 fois en présence de puromycine (un inhibiteur général de la traduction et du NMD). Ces résultats confirment que le PTC localisé dans l'exon 4 provoque bien une dégradation du transcrit muté par le NMD. Nous avons ensuite analysé les transcrits provenant de 13 organes, prélevés chacun sur quatre souris *Men1*+/- et montré que l'efficacité du NMD est deux fois plus élevée dans le testicule, l'ovaire, le cerveau et le cœur que celle dans l'intestin, le poulmon et le thymus. Cette efficacité n'est pas corrélée au taux d'expression du gène *Men1*, qui varie d'un facteur 1 à 5 d'un tissu à l'autre. Enfin, nous avons mesuré le taux d'expression des gènes codant pour les protéines impliquées dans le NMD (*Upf1*, *Upf2*, *Upf3a*, *Upf3b*, *SMG1*, *Y14*, *Magoh* et *eIF4aIII*) dans ces différents tissus à partir des mêmes échantillons en les rapportant à l'expression de deux gènes de ménage (*Hprt* et β -actine). Dans la plupart des cas, nous avons observé des variations dans le taux d'expression de ces différents gènes, mais sans que l'on puisse corréler un seul de ces taux à l'efficacité du NMD. Conclusion : Plusieurs études ont suggéré que l'efficacité du NMD pouvait varier d'un tissu à l'autre, mais c'est la première fois que cette hypothèse est testée en analysant un grand nombre de tissus prélevés sur des souris hétérozygotes pour une mutation tronquante, et en mesurant par RT-PCR quantitative le taux de transcrits mutés rapporté au taux de transcrits sauvages. Nos résultats montrent une variation d'un facteur 2 de l'efficacité du NMD suivant les tissus. Ces variations pourraient avoir des répercussions sur les phénotypes associés à certaines mutations conduisant à la production de protéines tronquées ayant une activité dominante négative.

Mots-clés : NMD, *Upf*, *Men1*.

Session Simultanée « Développement et Diagnostic Prénatal »

■CO51 / 359. ANALYSE FONCTIONNELLE DE LA PROTÉINE REC114 IMPLIQUÉE DANS LA FORMATION DES CASSURES DOUBLE-BRIN DE L'ADN LORS DE LA RECOMBINAISON MÉIOTIQUE CHEZ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*

N. Sermondade, N. Balege, A. Nicolas, V. Borde
Institut Curie-Centre de Recherche, UMR7147, Paris, France

Introduction : La méiose est une phase-clé de la gamétogenèse dont le succès est notamment lié à la recombinaison homologue lors de la prophase de la première division. En effet, ce processus permet le brassage de l'information génétique portée par les chromosomes parentaux mais joue également un rôle essentiel en formant les crossing-overs, nécessaires à l'orientation correcte des chromosomes sur le fuseau de division et à leur ségrégation réductionnelle. Ainsi, les dysfonctionnements de la recombinaison méiotique conduisent soit à un arrêt de la méiose, donc à une stérilité par absence de gamètes, soit à la formation de gamètes aneuploïdes. Les mécanismes moléculaires de la recombinaison méiotique étant hautement conservés au cours de l'évolution, la levure *Saccharomyces cerevisiae* constitue un modèle privilégié d'étude et d'identification des gènes impliqués. Chez *S. cerevisiae*, la recombinaison méiotique est déclenchée par la formation de cassures double-brin de l'ADN (CDBs) catalysées par la protéine Spo11. Outre Spo11, neuf autres protéines sont nécessaires à la formation des CDBs. Parmi elles, Rec102 et Rec104 sont requises pour l'association de Spo11 aux chromosomes alors que Rec114 est requise pour l'interaction spécifique de Spo11 sur les sites de CDBs. Ainsi, il a été montré dans le laboratoire que la fusion de Gal4BD avec Rec114 est suffisante pour induire des CDBs aux sites de fixation de Gal4BD. De plus, Rec114 semble aussi requise pour l'activité de coupure de Spo11, puisque le recrutement artificiel de Spo11 par sa fusion avec Gal4BD nécessite toujours Rec114 pour la formation des CDBs. Ceci suggère que la protéine Rec114 pourrait avoir un double rôle en recrutant et activant Spo11 aux sites de CDBs. **Matériel et méthodes :** Nous avons entrepris l'analyse mutationnelle du gène *REC114*. Les acides aminés conservés chez plusieurs espèces proches de levures ainsi que chez *S. pombe* ont été substitués par une alanine. Parmi les huit mutations testées, trois entraînent une absence de spores viables et de CDBs lors de la méiose : deux mutations de la partie N-terminale de la protéine (Y12A et W37A), une dans la partie C-terminale (F411A). **Résultats et discussion :** Nous avons tout d'abord établi que les niveaux de production des protéines Rec114 mutées ne sont pas fortement altérés et que les défauts observés ne sont donc pas dus à une absence de la protéine mutante. Ensuite, les trois mutations étudiées ne semblent pas concerner un domaine uniquement impliqué dans le recrutement de Spo11 aux sites de CDBs puisque, même lorsque le besoin de recruter Spo11 est contourné par fusion de Spo11 avec Gal4BD, les protéines Rec114 mutées ne permettent pas la formation de CDBs. Les effets des mutations sur l'interaction de Rec114 avec ses partenaires connus, Rec102, Rec104, Mei4, Mer2 et Ski8 ont été évalués par double-hybride, dans des cellules en croissance végétative et des cellules méiotiques. Nous montrons que les trois mutations étudiées conduisent à la perte d'interaction de la protéine Rec114 mutée avec d'autres protéines partenaires, soulignant le(s) rôle(s) probablement crucial(aux) de ces sites pour la(les) fonction(s) de la protéine Rec114. Nous mettons également en évidence des différences de comportement des mutants N-terminaux ou C-terminal, suggérant des domaines fonctionnels d'interaction avec les autres protéines de CDBs. Enfin, le profil des interactions spécifiques de la méiose suggère l'intervention de nouveaux partenaires. Nous travaillons actuellement sur l'effet des 3 mutations sur l'association de Rec114 avec la chromatine et sa capacité à recruter Spo11 aux sites de CDBs. **Conclusion :** Les mécanismes de la recombinaison méiotique étant conservés au cours de l'évolution, nous espérons que ce travail participera à une meilleure connaissance des bases génétiques à l'origine des dysfonctionnements de l'ovogenèse et de la spermatogenèse.

Mots-clés : recombinaison méiotique, cassures double-brin de l'ADN, Rec114.

■CO52 / 579. DIAGNOSTIC ANTÉNATAL DES MALADIES PAR MUTATION DE L'ADNMT : DPN OU DPI ?

J. Steffann (1), N. Gigarel (1), N. Frydman (2), P. Burlet (1), V. Kerbrat (3), G. Tachdjian (2), R. Frydman (3), J.-P. Bonnefont (1), A. Munnich (1)

(1) Service de Génétique, Unité INSERM U781, hôpital Necker-Enfants Malades, Paris ; (2) Service de Biologie de la Reproduction, hôpital Antoine-Béclère, Clamart ; (3) Service de Gynécologie-Obstétrique, hôpital Antoine-Béclère, Clamart, France

Les maladies liées à une mutation de l'ADN mitochondrial (ADNmt) sont des affections sévères à hérédité maternelle. En raison du risque de récurrence élevé, et de l'absence de traitement efficace, les couples à risque de transmettre une mutation de l'ADNmt demandent fréquemment à bénéficier de diagnostics prénatals (DPN) ou préimplantatoires (DPI). Cependant, la fiabilité de ces approches demeure incertaine du fait de la méconnaissance des facteurs modulant le taux d'ADNmt mutant (hétéroplasmie) chez l'enfant d'une mère « transmettrice ». En particulier, la crainte d'une possible variation des taux d'hétéroplasmie dans les différents tissus fœtaux

et à différents termes de la grossesse a largement fait obstacle à la mise en œuvre de procédure de DPN. Nous avons montré dans une série de 8 fœtus porteurs de la mutation m.8993T>G, responsable de syndrome NARP (neuropathie, ataxie et rétinopathie pigmentaire) et 5 fœtus porteurs de la mutation m.3243A>G à l'origine de syndrome MELAS (myopathie mitochondriale, encéphalopathie, et épisodes de perte de connaissance) que les taux d'hétéroplasmie restent stables au cours du développement fœtal humain, ainsi que dans les différents tissus de 4 fœtus portant la mutation NARP. Cependant, l'absence de données corrélant des taux mesurés en période prénatale avec un phénotype postnatal, met en cause la valeur prédictive de ces procédures. Le DPI paraît une alternative intéressante au DPN dans la mesure où il peut bénéficier de l'effet d'un « goulot d'étranglement » (bottleneck), à l'origine d'une ségrégation mitochondriale alterne, susceptible de rendre compte d'ovocytes homoplasmiques. Nous avons ainsi réalisé le premier, et seul DPI rapporté à ce jour, pour une maladie liée à une mutation de l'ADNmt (mutation NARP). Trois embryons homoplasmiques ont été obtenus, en accord avec une ségrégation alterne des populations d'ADNmt. Le transfert des 2 embryons indemnes de mutation a permis la naissance d'un enfant sain. Nous avons récemment pris en charge par DPI deux nouvelles patientes hétéroplasmiques, à risque de transmettre soit un syndrome MELAS soit un syndrome de Leigh (mutation m.10197G>A du gène ND3). La quantification des taux d'hétéroplasmie dans 2 ovocytes et 6 embryons à risque de porter une de ces 2 mutations a montré que 1) aucun n'était indemne de mutation, 2) la majorité de ces ovocytes et embryons étaient hétéroplasmiques (pour des taux de 10 à 90 % de mutation), 3) un seul embryon était homoplasmique pour la mutation ND3. L'analyse comparative des taux d'hétéroplasmie dans les différents blastomères provenant des 5 embryons non transférables a montré une stabilité des taux de mutation entre les différentes cellules d'un même embryon. Seul un embryon qui portait moins de 10 % de mutation ND3 a été transféré, mais aucune grossesse n'est survenue. Ces résultats confortent la faisabilité du DPI pour les mutations de l'ADNmt, qui apparaît aujourd'hui pour les couples à risque comme une option réaliste. Cependant, en raison du nombre apparemment important d'embryons porteurs d'un taux élevé de mutation, le DPI offre des chances de succès qui restent limitées. Les approches de DPN plus « conventionnelles », qui ont une faisabilité établie, demeurent moins lourdes pour les couples, mais elles ont besoin d'asseoir leur fiabilité. Seule une surveillance clinique à long terme des enfants nés de ces procédures (l'enfant le plus âgé de notre série est cliniquement normal à 7 ans) permettra de lever les incertitudes qui les concernent.

Mots-clés : cytopathie mitochondriale, ADN mitochondrial, diagnostic prénatal et préimplantatoire.

■CO53 / 356. DIVERSITÉ PHÉNOTYPIQUE ET HÉTÉROGÉNÉITÉ GÉNÉTIQUE DE LA LISSENCÉPHALIE DE TYPE II : ÉTUDE MULTICENTRIQUE DE LA SO.F.FOET SUR UNE SÉRIE DE 47 OBSERVATIONS FŒTALES

L. Devisme (1), C. Bouchet (2), A. Laquerrière (3), M. Gonzalès (4), E. Alanio (5), H. Ansart (1), A. Bazin (6), B. Bessièrès (7), N. Bigi (8), P. Blanchet (8), D. Bonneau (9), M. Bonnière (10), O. Boute (11), D. Carles (12), S. Delahaye (13), C. Fallet (14), D. Figarella (15), D. Gaillard (5), B. Gasser (16), F. Guimiot (17), M. Joubert (18), N. Laurent (19), A. Liprandi (15), P. Loget (20), P. Marcorelles (21), J. Martinovic (6, 10), F. Menez (17), S. Patrier (3), F. Pelluau (12), M.J. Perez (22), S. Petit (1), C. Rouleau (23), S. Triau (24), S. Vuillaumier-Barrot (2), N. Seta (2), F. Encha-Razavi (10)

(1) Anatomie Pathologique, CHU Lille ; (2) Biochimie Métabolique Hôpital Bichat, Claude Bernard APHP ; (3) Anatomie Pathologique, CHU Rouen ; (4) Génétique et embryologie médicale, Hôpital Trousseau APHP ; (5) Génétique, CHU Reims ; (6) Laboratoire Pasteur Cerba, Pontoise ; (7) Institut de Puériculture, Paris ; (8) Génétique médicale, CHU Montpellier ; (9) Génétique, CHU Angers ; (10) Embryologie, hôpital Necker APHP ; (11) Génétique clinique, CHU Lille ; (12) Anatomie Pathologique, CHU Bordeaux ; (13) Diagnostic Prénatal, hôpital Necker APHP ; (14) Neuropathologie, hôpital Sainte Anne, Paris ; (15) Anatomie Pathologique, CHU Marseille ; (16) Pathologie, CH Mulhouse ; (17) Biologie du développement, hôpital Robert-Debré APHP ; (18) Anatomie Pathologique, CHU Nantes ; (19) Anatomie Pathologique, CHU Dijon ; (20) Anatomie Pathologique, CH Le Mans ; (21) Anatomie Pathologique, CHU Brest ; (22) Fœtopathologie, CHU Poitiers ; (23) Anatomie Pathologique, CHU Montpellier ; (24) Fœtopathologie CHU Angers, France

Parmi les lissencéphalies (LIS), le type II se distingue par des critères clinico-pathologiques et biochimiques. Son diagnostic est histologique et repose sur l'identification d'une surmigration neurogiale au-delà des limites du cerveau, « ectopie neurogiale » (ENG), dans l'espace

arachnoïdien. L'ENG entraîne une désorganisation du cortex cérébral et conduit à un comblement de l'espace arachnoïdien. Il en résulte une entrave à l'écoulement du LCR et une hydrocéphalie, en général précoce et évolutive. L'ENG se produit à travers des brèches de la « glie limitans », une membrane basale continue, qui, à la surface du cerveau, constitue une barrière entre le tissu cérébral et le LCR. L'anomalie touche d'autres tissus et organes, comme le muscle, les gonades et surtout les yeux, où elle se traduit essentiellement par une dysplasie rétinienne. Une anomalie de la O'Glycosylation et au moins 5 gènes, *POMT1*, *POMT2*, *POMGnT1*, *FKRP* et *LARGE* sont identifiés à l'origine de ces affections récessives autosomiques, regroupées dans le cadre des syndromes de Walker Warburg (WWS), Muscle-Eye-Brain (MEB) et Fukuyama Cerebral and Muscular Dystrophy (FCMD). Nous avons entrepris l'étude moléculaire des principaux gènes de la O'Glycosylation, sur une série multicentrique de la Société Française de Fœtopathologie de 47 fœtus issus de 41 familles, présentant les critères neuropathologiques de LIS type II. Parallèlement, une étude immuno-histochimique a été entreprise sur du muscle congelé, chez 21 familles (23 fœtus). Une déficience en alpha-dystroglycan a été mise en évidence dans tous les cas exploitables (n = 21). Des mutations causales ont été identifiées chez 24 familles (58,5 %). La sévérité du tableau clinico-pathologique a permis de dégager deux groupes. Le groupe I s'associe de façon significative avec des mutations de *POMT1* (14 familles/16 fœtus), de *POMT2* (3 familles/3 fœtus) et de *FKRP* (1 famille/1 fœtus). Il se caractérise par une ENG majeure et diffuse et une dysplasie cérébelleuse et rétinienne sévères. Le groupe II s'associe de façon préférentielle avec des mutations de *POMGnT1* (6 familles/7 fœtus) et se définit par une ENG mineure/diffuse ou majeure/focale avec une dysplasie cérébelleuse focale et une atteinte oculaire modérée et inconstante. La diversité des gènes impliqués dans la O'Glycosylation et des mutations constatées chez les fœtus atteints d'une LIS type II rendent le bilan moléculaire de cette affection long et coûteux. L'examen fœtopathologique permet une meilleure orientation de l'étude moléculaire.

Mots-clés : lissencéphalie type II, alpha-dystroglycanopathies, syndrome de Walker Warburg.

■CO54 / 408. GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE DU SYNDROME DE MECKEL

T. Attie-Bitach (1, 2), S. Audollent (2), L. Baala (1), C. Ozilou (2), S. Mougou-Zrelli (1), M. Delous (3), J. Martinovic (2), S. Schneider-Maunoury (4), A. Munnich (1, 2), M.-C. Gubler (3), C. Jonhson (5), R. Salomon (3), S. Saunier (3), F. Encha-Razavi (1, 2), M. Vekemans (1, 2) et la SOFFOET

(1) INSERM U-781, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France ; (2) Département de Génétique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France ; (3) INSERM U-574, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France ; (4) CNRS UMR7622, Laboratoire de Biologie du Développement, Paris, France ; (5) West Midlands Regional Genetics, Birmingham Women's Hospital Birmingham, UK

Le syndrome de Meckel (MKS) est un syndrome létal, autosomique récessif, caractérisé par une atteinte rénale multikystique, une malformation cérébrale, une polydactylie, et une prolifération des canaux biliaires. Récemment, 2 gènes ont été identifiés : *MKS1/FLJ20345* en 17q23 et *MKS3/TMEM67* en 8q24. Les deux codent pour des protéines ciliaires. L'analyse moléculaire des gènes *MKS1* et *MKS3* dans une grande série de 120 MKS et 45 MKS-like indique que chacun de ces gènes est responsable d'environ 10 % des cas. Une corrélation phénotype-génotype est observée concernant le type de malformation du CNS, la fréquence de la polydactylie et l'existence d'anomalies osseuses. De plus, des mutations du gène *MKS3* ont été mises en évidence chez des fœtus présentant une agénésie du vermis et chez des patients atteints de syndrome de Joubert (JS) avec ou sans anomalies hépato-rénales, définissant *MKS3* comme le 6^e locus du JS (JBTS6). Un tour de génome réalisé à l'aide de familles consanguines excluant *MKS1-MKS3* a pointé vers une région d'homozygotie en 12q21 dans 4 familles. Des mutations tronquantes homozygotes de *CEP290* ont été identifiées dans 3 de ces familles, et des mutations hétérozygotes composites ont été trouvées chez des fœtus présentant un syndrome « cérébro-réno-digital » avec un phénotype intermédiaire entre les syndromes de Meckel et de Joubert, démontrant un continuum du spectre lésionnel s'étendant du JS au MKS. Enfin, par une étude de puces SNP chez des patients atteints de MKS ou de JS, nous avons localisé un nouveau locus en 16q12 et identifié des mutations dans un nouveau gène, *RPGRIP1L* chez des fœtus MKS présentant une atteinte craniofaciale sévère (mutations tronquantes), et des patients atteints de JS. L'inactivation de son orthologue murin récapitule les anomalies cérébrales, rénales, hépatiques, craniofaciales et des membres du MKS. L'identification de

mutations dans ce nouveau gène codant une protéine ciliaire définit un nouveau locus de JS (JBTS7) et de MKS (MKS5).

Mots-clés : syndrome de Meckel, syndrome de Joubert, génétique moléculaire.

■CO55 / 99. UNE MUTATION TRONQUANTE DU GÈNE AURORA KINASE C (*AURKC*) EST RESPONSABLE DU PHÉNOTYPE D'INFERTILITÉ « SPERMATOZOÏDES MACROCÉPHALES »

K. Dieterich (1, 2), R. Soto Rifo (3, 4), S. Hennebicq (1, 2, 7), B. Ben Amar (5), M. Zahi (6), B. Sèle (1, 2, 7), P.-S. Jouk (1, 2), T. Ohlmann (3, 4), S. Rousseaux (1, 2, 7), J. Lunardi (1, 2), P. F. Ray (1, 2)

(1) Département de Génétique et Procréation, CHU de Grenoble ; (2) Faculté de Médecine-Pharmacie, Domaine de la Merci, Université Joseph Fourier ; (3) Inserm, U758, Lyon, France ; (4) École Normale Supérieure de Lyon, Unité de Virologie Humaine, IFR 128, Lyon ; (5) Laboratoire d'analyse médicales, Rabat, Maroc ; (6) Centre privé de Fécondation In vitro, Rabat, Maroc ; (7) Inserm U309, Institut Albert Bonniot, Grenoble, France

Introduction. L'infertilité, définie comme l'incapacité de concevoir après 2 ans de rapports sexuels non protégés, touche environ 15 % des couples. On estime que l'origine biologique de l'infertilité est partagée pour moitié par l'homme et la femme. Les causes de l'infertilité masculine sont variées et peuvent inclure des facteurs anatomiques, infectieux, chromosomiques ou génétiques, comme l'agénésie des déférents avec le gène *CFTR*, et les microdélétions du chromosome Y. À l'exception d'un petit nombre de gènes localisés sur le chromosome Y qui contribuent au phénotype de ces microdélétions, aucun gène impliqué dans la méiose ou la spermatogénèse n'a pu être formellement associé de manière récurrente à un phénotype d'infertilité chez l'homme. Le syndrome des spermatozoïdes « macrocéphales » est une anomalie morphologique rare caractérisée par une oligoasthénotéatozoospermie avec 100 % de spermatozoïdes anormaux présentant une augmentation importante du volume céphalique et un nombre variable de flagelles. Par ailleurs, plusieurs études ont montré que la quasi totalité des spermatozoïdes de ces patients présentaient une hyperploïdie témoignant probablement d'un défaut de la scission cellulaire lors des deux divisions méiotiques [1]. La spécificité du phénotype suggérait une origine génétique unique ou restreinte à plusieurs acteurs d'un même mécanisme moléculaire. Matériel et méthodes : Nous avons inclus dans notre étude 14 patients présentant un tableau typique de « spermatozoïdes macrocéphales ». Quatre ont été recrutés localement, ils étaient tous nés de parents cousins germains et originaires d'Afrique du Nord. Dix autres patients nous ont été adressés de la région de Rabat. La présence de quatre familles ayant un fort degré d'apparentement constituait un argument fort en faveur d'une transmission autosomique récessive et la prévalence élevée de patients dans la région de Rabat pouvait témoigner d'un effet fondateur. Nous avons réalisé pour ces patients un haplotypage microsatellitaire des 22 autosomes avec une couverture de 10 cm (Linkage Mapping v2.5 Applied Biosystems). Cette étude a obtenu l'avis favorable du Comité de Protection des Personnes de Grenoble. Résultats : Cette analyse nous a permis d'identifier une région d'homozygotie en 19qter, commune à 6 de nos patients contenant le gène Aurora Kinase C (*AURKC*) connu pour être exprimé dans les testicules et impliqué dans la ségrégation des chromosomes et la méiose. Nous avons donc séquencé la partie codante de ce gène et trouvé que nos 14 patients partageaient un haplotype commun et étaient tous homozygotes pour la mutation c144delC entraînant un décalage du cadre de lecture et l'apparition d'un codon stop dès le début de la séquence codante pour la partie catalytique d'Aurora C. Une étude *in vivo* et *ex vivo* de la protéine produite par le gène muté nous a permis de confirmer que la protéine était dépourvue de sa partie kinase et donc inactive [2]. Depuis, cette mutation a été retrouvée chez un total de 25 sujets maghrébins présentant le même phénotype. Une nouvelle mutation *AURKC* a été également identifiée chez trois individus atteints dans deux familles d'origine Française. Conclusion : Nous avons démontré que l'absence de protéine *AURKC* entraînait la formation de spermatozoïdes macrocéphales polyplodes et ainsi identifié de manière formelle un gène entraînant un défaut de spermatogénèse chez l'homme. Nous souhaitons maintenant estimer l'incidence de c144delC sur la sur la fertilité masculine maghrébine et déterminer si l'absence d'Aurora C a des conséquences sur la fécondité féminine.

Références

- Devillard et al. *Hum Reprod* 2002 ; 17 (5) : 1292-8.
- Dieterich K, Soto Rifo R, Faure AK, Hennebicq S, Ben Amar B, Zahi M, Sèle B, Jouk PS, Ohlmann T, Rousseaux S, Lunardi J and Ray PF. Homozygous mutation of *AURKC* yields large-headed polyploid spermatozoa and causes male infertility. *Nat Genet* 2007 ; 39 (5) : 661-665.

Mots-clés : *AURKC*, effet fondateur, infertilité masculine.

■CO56 / 332. HOMOZYGOUS MUTATION IN SPATA16 IS ASSOCIATED WITH MALE INFERTILITY IN HUMAN GLOBOZOOSPERMIA

I. Kosciński (2, 3)*, A. H.D.M. Dam (1)*, J. A.M. Kremer (1), C. Moutou (2), A.-S. Jaeger (3), A. R. Oudakker (4), H. Tournaye (5), N. Charlet (3), C. Lagier-Tourenne (3), H. van Bokhoven (4), S. Viville (2, 3)
(1) Centre for Reproduction, Department of Obstetrics and Gynecology ; (4) Department of Human Genetics ; Radboud University Nijmegen Medical Centre, Nijmegen, the Netherlands ; (2) Service de Biologie de la Reproduction, SIHCUS-CMCO, CHU de Strasbourg, Schiltigheim, France ; (3) IGBMC (Institut de Génétique et de Biologie Moléculaire et Cellulaire), Department of developmental biology, Illkirch, France ; Inserm, U596 ; CNRS, UMR7104 ; Université Louis Pasteur, Faculté de Médecine, Centre Hospitalier Universitaire ; Strasbourg, France ; (5) Centre for Reproductive Medicine, Dutch-Speaking Brussels Free University, Brussels, Belgium

* These two authors contributed equally to this work

Globozoospermia is a rare but severe teratozoospermia, characterized by ejaculates completely consisting of round-headed spermatozoa that lack an acrosome (OMIM 102530) or, in partial globozoospermia, containing a variable proportion (20 %-90 %) of acrosomeless spermatozoa. The men of the first group are infertile. Globozoospermia originates from a disturbed spermiogenesis and a genetic contribution appears to be supported by several familial case reports. However, no causative gene mutations have been identified. We present a family with three affected brothers, in whom we have identified a homozygous mutation in the spermatogenesis-specific gene *SPATA16*. We investigated an Ashkenazi Jewish family with six brothers (three affected, three healthy) and four sisters. The three unaffected brothers fathered 7, 6 and 5 children, respectively, but the three affected brothers were childless and presented a fertility disorder due to oligoasthenoteratozoospermia, showing the characteristics of total globozoospermia. No known consanguinity was reported, although the family belonged to an isolated Jewish population. In two brothers, Intra Cytoplasmic Sperm Injection (ICSI) was performed, but fertilization was poor and no pregnancy occurred. We performed a genome-wide scan analysis of all six brothers, using a 10K SNP-array. Large regions of homozygosity were observed in all six individuals, indicating consanguinity in the second or third degree in the family. Therefore, we considered this family as consanguineous and expected the pathology to be autosomal recessive. We identified a unique region of homozygosity shared by all affected brothers, in which the healthy brothers were heterozygous. This region contains some 50 known genes. We selected the *SPATA16* gene as the most plausible candidate gene, because it is specifically expressed in human testis and that the mouse ortholog is primarily expressed in the spermatocyte and spermatids. *SPATA16* is composed of 11 exons encoding a highly conserved protein of 65 kDa (569aa), which contains a tetratricopeptide repeat (TPR) domain. Sequence analysis revealed a homozygous sequence variation in exon 4 (c.848G>A), which disrupts a NciI recognition site. Restriction enzyme analysis revealed that the three affected brothers are homozygous and that the two parents and two healthy brothers are heterozygous for the mutation. The c.848G>A nucleotide variation is not known in any SNP database and was not identified in 231 controls. The mutation predicts an amino acid change of a highly conserved residue (p.R283Q) located at the C-terminal end of the highly conserved tetratricopeptide repeat (TPR) domain. In addition, the c.848G>A mutation affects the last nucleotide of exon 4 and therefore may disrupt the 5' splice site of intron 4. Three different splice-site prediction models predicted that the mutation disrupts this splice site. Minigene constructs were made in order to test for a splicing defect. In contrast to the control, the mutated exon gives rise to two aberrant splicing forms. In order to confirm that the mutated *SPATA16* exon 4 is not recognized by the splicing machinery, we checked its binding to the U1 SnRNP. Whereas binding of U1 SnRNP to wildtype DNA was readily detected, this was not observed when DNA carrying the c.848G>A mutation was used as template. Thus, the bio-informatic prediction, the minigene and the U1 binding results strongly suggest that the c.848G>A mutation leads to inappropriate splicing of exon 4 and therefore to the disruption of the TPR domain. *SPATA16* was also analyzed in 29 globozoospermic patients including 6 familial cases. None of them did present any variation in the sequence. The data strongly suggest that the identified homozygous mutation in *SPATA16* causes globozoospermia in three out of six brothers in the presented family, which allows us to state that globozoospermia can be a genetic trait with an autosomal recessive mode of transmission.

Mots-clés : génétique de l'infertilité, globozoospermia, *SPATA16*.

■CO57 / 427. SPECTRE CLINIQUE DES MUTATIONS DU GÈNE STRA6 : DU SYNDROME DE MATTHEW-WOOD À UNE MICROPTALMIE SYNDROMIQUE NON LÉTALE

C. Golzio (1, 5), N. Chassaing (6), J. Martinovic-Bouriel (2), S. Thomas (1), S. Zrelli (2), B. Grattagliano-Bessières (3), S. Odent (7), M. Bonnière (2), S. Delahaye (4, 5), A. Munnich (1, 2, 5), F. Encha-Razavi (1, 2, 5), S. Lyonnet (1, 2, 5), M. Vekemans (1, 2, 5), T. Attié-Bitach (1, 2, 5), P. Calvas (6), H. Etchevers (1, 6)
(1) INSERM U781, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris ; (2) Département de génétique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris ; (3) Département de pathologie fœtale, Institut de Puériculture, Paris ; (4) Département d'obstétrique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris ; (5) Université René-Descartes-Paris 5, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris ; (6) INSERM U563, Hôpital Purpan, Toulouse ; (7) Département de génétique, Hôpital Sud, Rennes, France

Introduction : L'acide rétinolique (AR), métabolite de la vitamine A, est un puissant tératogène. Chez les vertébrés, l'AR est une molécule clef dans la spécification de multiples territoires présumptifs de l'embryon. Le gène *STRA6* code un récepteur transmembranaire facilitant l'incorporation cellulaire de la vitamine A soluble liée à la protéine RBP (Retinol-Binding Protein). L'AR induit l'activation de la transcription de gènes cibles dont la famille des *FGFs* (Fibroblast Growth Factors) par l'intermédiaire des récepteurs nucléaires RAR et RXR qui agissent sous forme d'homo ou d'hétérodimères. Un défaut d'incorporation de la vitamine A pourrait, au cours du développement, conduire à de graves malformations chez le fœtus. Résultats : Le gène *STRA6* a été analysé dans deux familles consanguines non apparentées chez lesquelles le diagnostic de syndrome de Matthew-Wood [MIM 601186] a été porté chez deux fœtus, devant l'association d'une microptalmie sévère à une agénésie pulmonaire, une absence d'artères pulmonaires, une éviscération bilatérale du diaphragme, une sténose duodénale, des malformations pancréatiques et un retard de croissance. Ces deux fœtus présentent des mutations tronquantes homozygotes, prédisant l'apparition précoce d'un codon stop dans le transcrit *STRA6*. Des mutations faux-sens hétérozygotes composées du gène *STRA6* ont également été identifiées chez deux frères présentant un tableau clinique plus modéré : l'un associant une microptalmie bilatérale sévère à une tétralogie de Fallot et un retard mental modéré ; l'autre associant une microptalmie bilatérale sévère à un retard mental plus sévère avec des signes autistiques et un spina bifida occulta, mais sans malformation cardiaque. En considérant l'ensemble de ces résultats moléculaires avec ceux rapportés dans la littérature (Pasutto *et al.*, 2007), aucune corrélation génotype-phénotype n'est retenue. Discussion : On observe ainsi un large spectre d'expression clinique lié aux mutations du gène *STRA6*, allant du syndrome de Matthew-Wood, léthal en période fœtale, à une forme compatible avec la vie. Ces entités ont pu être groupées sous l'acronyme MCOPS9, microptalmie syndromique de type 9 [MIM 601186]. Des études fonctionnelles de mutations ponctuelles aléatoires distribuées sur tout le transcrit *STRA6* humain (Kawaguchi *et al.*, 2007), permettent de proposer un modèle de dose-réponse aux phénotypes observés chez les sujets porteurs de mutations de ce gène. La variabilité phénotypique serait la conséquence d'une incorporation résiduelle différente de la vitamine A dans les cellules selon la position et/ou la nature de la mutation. Il en résulterait un défaut complet ou partiel d'activation transcriptionnelle des gènes cibles essentiels notamment au développement de l'œil, du cœur et du poulmon.

Mots-clés : *STRA6*, microptalmie, acide rétinolique.

■CO58 / 489. LES CELLULES DE CRÊTE NEURALE HUMAINES ONT UNE SIGNATURE TRANSCRIPTIONNELLE PROCHE DE CELLE DE CELLULES SOUCHES EMBRYONNAIRES

S. Thomas (1), M. Thomas (1), P. Wincker (2), P. Xu (3), M. C. Speer (3, †), A. Munnich (1, 4), S. Lyonnet (1, 4), M. Vekemans (1, 4), H. C. Etchevers (1, 5)
(1) INSERM U781-Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France ; (2) GENOSCOPE (CEA) and UMR8030-CNRS-GENOSCOPE-Université d'Evry-France ; (3) Center for Human Genetics-Department of Medicine-Duke University Medical Center-Durham-North Carolina ; (4) Université René-Descartes-Paris-France ; (5) INSERMU563-Centre de Physiopathologie de Toulouse-Purpan, France. † Décédée le 4 août 2007

Introduction : Les tissus et organes ayant pour origine les cellules de la crête neurale (CCN) sont très diverses tels les neurones et la glie du système nerveux périphérique, les mélanocytes, le mésenchyme céphalique et de la région conotruncale cardiaque ainsi que certaines cellules endocriniennes (Le Douarin et Kalcheim, 1999). Au cours de la vie prénatale,

des anomalies du développement des CCN induisent des malformations congénitales et/ou cancers, regroupés sous le terme « neurocristopathies ». Chez l'animal, il a été établi que les CCN s'individualisent au cours de la fermeture du tube neural, mais l'intervalle temporel de leur formation n'a jamais été déterminé chez l'homme. Après une phase de transition mésenchymateuse, ces cellules migrent suivant des voies spécifiques pour atteindre leurs divers organes cibles. Afin d'identifier des gènes candidats pour des neurocristopathies, nous avons entrepris l'isolement et la caractérisation transcriptionnelle des CCN issues d'embryons humains (hCCN). Résultats Nous avons tout d'abord défini les stades embryonnaires au cours desquels les hCCN émigrent du tube neural ainsi que les conditions de culture permettant le maintien de ces cellules dans un état indifférencié. L'analyse globale du transcriptome des hCCN d'un individu par Serial Analysis of Gene Expression (SAGE) montre que ces cellules présentent une signature moléculaire très similaire à celle de deux lignées de cellules souches embryonnaires humaines (hES). En effet, par une analyse de type « cluster », les hCCN sont regroupées avec des lignées de cellules hES, plutôt qu'avec d'autres tissus ou types cellulaires dont certains dérivés des hCCN. L'annotation fonctionnelle selon les critères GO (Gene Ontology) démontre que les mêmes classes de gènes sont enrichies dans les hCCN et les cellules hES. Les deux groupes fonctionnels les plus représentés sont la régulation de la transcription et la prolifération cellulaire. De plus, de nombreux gènes associés à la régulation des propriétés de cellules souches sont exprimés dans les hCCN tels *NANOG*, *OCT3/4* (*POU5F1*) et *SOX2*. Enfin, dans le but de définir les gènes les plus spécifiques de ces deux types cellulaires, nous avons réalisé une analyse TPE (Tissue Preferential Expression). Nous avons ainsi croisé les données des banques SAGE de hCCN et de hES avec celles de 14 autres tissus ou types cellulaires. Ceci nous a permis de mettre en évidence un certain nombre de gènes très spécifiques communs aux hCCN et aux cellules hES ainsi que des gènes spécifiques à chacun de ces deux types cellulaires. Discussion Les données de cette étude représentent une source considérable de gènes candidats pour les neurocristopathies. En effet, le croisement de ces données d'expression avec celles d'études de liaison génétique nous permet de relier la localisation chromosomique des gènes exprimés dans les hCCN aux loci chromosomiques associés aux maladies génétiques. De plus, la culture de hCCN permet l'étude de certains mécanismes physiopathologiques conduisant aux neurocristopathies. Enfin, nos travaux viennent lever le doute sur l'idée que les CCN sont de vraies cellules souches et ouvrent la voie pour des études concernant leur potentiel thérapeutique pour des neurocristopathies comme la maladie de Hirschsprung ou des neuropathies périphériques démyélinisantes.

Mots-clés : cellules de crête neurale humaines, transcriptome, neurocristopathies.

Session Simultanée « Physiopathologie / Modèles cellulaires et animaux »

■CO59 / 703. CO-EXISTENCE DE MUTATIONS DE L'ADN MITOCHONDRIAL ET D'ALTÉRATIONS DU GÈNE POLG, QUELLE PART DANS LE PHÉNOTYPE ?

C. Jardel (1, 4), T. Maisonneuve (2, 4), M. Tchikviladzé (3), S. Filaut (1), P. Laforêt (3, 4) A. Lombès (4)

(1) Service de Biochimie, UF de cardio et myogénétique ; (2) Service de neuropathologie ; (3) Centre de référence des maladies neuromusculaires ; (4) INSERM U582, Groupe hospitalier Pitié-Salpêtrière, APHP, Paris, France

Les altérations de l'ADN mitochondrial (ADNmt) peuvent apparaître spontanément ou être induites par une anomalie de la polymérase gamma (POLG), seule enzyme responsable de la réplication de l'ADNmt. La présence d'anomalie génétique de POLG, notamment dans son domaine exonucléase, a été démontrée comme responsable de l'apparition de délétions multiples et de nombreuses mutations ponctuelles de l'ADNmt dans des modèles cellulaires et animaux. De nombreuses maladies de présentation clinique très variées ont été associées aux altérations de POLG : ophtalmoplégie externe progressive (PEO) de transmission autosomique récessive ou dominante, syndrome d'Alpers-Huttenlocher, neuropathie sensitive, ataxie. Les conséquences fonctionnelles de ces mutations peuvent être liées à des anomalies quantitatives (déplétion) ou qualitatives (apparition de mutations ponctuelles ou délétions) de l'ADNmt. Chacune de ces altérations de l'ADNmt n'existe que dans une très faible proportion de l'ADNmt total. On considère en général que l'effet délétère est dû à la présence simultanée de très nombreuses altérations différentes. Cependant une ou plusieurs altérations peuvent être amplifiées de manière similaire

à ce qui est observé au cours du vieillissement normal. La question de la responsabilité respective de l'amplification d'une altération de l'ADNmt et du dysfonctionnement de la POLG peut donc se poser dans l'analyse des relations génotype/phénotype des altérations génétiques de POLG.

Nous rapportons le cas de 2 familles présentant, de façon plus ou moins complète, une myopathie mitochondriale authentifiée par les anomalies morphologiques de la biopsie musculaire, une neuropathie sensitive ataxiante, une surdité, une PEO, une intolérance à l'exercice et une faiblesse musculaire. Nous avons montré l'existence simultanée de mutations pathogènes de l'ADNmt et du gène POLG dans ces 2 familles. La famille A présentait la mutation m.5692T>C du gène de l'ARN^{mt} dans 44 % de l'ADNmt du muscle. Cette mutation était absente de l'ADNmt du sang et des fibroblastes cutanés. Elle s'associait à deux mutations hétérozygotes du gène POLG (p.A467T et W748S) reconnues comme pathogènes. La famille B présentait la mutation m.6510G>A du gène MT-CO1 dans 100 % de l'ADNmt du muscle, du sang et des fibroblastes. Cette mutation était originale, modifiait un acide aminé très conservé au cours de l'évolution des espèces (p.A203T). Elle s'associait à deux mutations hétérozygotes en cis du gène POLG (p.W1177L et E1143G) dont la première est originale et modifie un acide aminé très conservé. La dernière est un polymorphisme qui est reconnu comme modificateur puisqu'il induit une instabilité de l'enzyme. L'étude familiale a permis de montrer que la mutation de l'ADNmt n'était pas secondaire aux mutations de POLG et qu'elle était à elle seule, responsable d'une partie du phénotype.

La mise en évidence d'une anomalie moléculaire du gène POLG ne doit donc pas exclure la recherche de mutations de l'ADNmt qui peuvent coexister ou être induites et qui peuvent modifier le phénotype. Des études sur une large population sont nécessaires pour apprécier la fréquence de ces anomalies conjointes de gènes nucléaires et mitochondriaux.

Mots-clés : ADN mitochondrial, PolG, phénotype.

■CO60 / 345. L'ATTEINTE SYNERGIQUE DES GÉNOMES NUCLÉAIRE ET MITOCHONDRIAL EST-ELLE UNE CAUSE COMMUNE DE PATHOLOGIES DE LA CHAÎNE RESPIRATOIRE MITOCHONDRIALE ?

V. Procaccio (1), P. Potluri (1), E. Ruiz-Pesini (1), D. Mishmar (1), A. Davila (1), S. O'Hearn (1), M. Simon (1), I. Scheffler (2), D.C. Wallace (1)

(1) University of California, Irvine, Center for Molecular & Mitochondrial Medicine and Genetics, USA ; (2) Division of Biological Sciences University of California, San Diego, USA

Introduction : Les maladies mitochondriales sont des maladies métaboliques liées à un déficit de la chaîne respiratoire mitochondriale. Elles sont une cause importante de maladies neuromusculaires mais également responsables de présentations cliniques très hétérogènes pouvant toucher tous les organes. La mitochondrie étant sous l'influence de 2 génomes, ces maladies sont également caractérisées par une large hétérogénéité génétique. Un dysfonctionnement mitochondrial va être ainsi responsable de maladies mitochondriales dues à des mutations soit affectant le génome mitochondrial avec un mode de transmission maternelle ou ciblant le génome nucléaire selon un mode de transmission mendélienne (atteintes autosomales ou liées à l'X). Résultats : Cependant du fait de la double origine génétique des protéines de la chaîne respiratoire, la combinaison d'anomalies moléculaires à la fois présentes sur les 2 génomes pourrait représenter une cause commune de pathologies mitochondriales. Par exemple, nous avons pu montrer la présence d'un déficit isolé du complexe I responsable d'un tableau neurologique progressif associant une épilepsie généralisée et rétinopathie pigmentaire touchant plusieurs membres d'une même famille. L'analyse du cas index a montré la présence d'un déficit enzymatique sévère du complexe I dans le muscle avec également une diminution significative de l'assemblage de ce complexe pour plusieurs tissus. Le complexe I mitochondrial est un énorme édifice constitué de 45 sous-unités dont 7 seulement sont codées par le génome mitochondrial, le génome nucléaire codant les autres sous-unités et requiert ainsi de multiples interactions entre les sous-unités codées par les 2 génomes. Une analyse extensive de l'ensemble des gènes nucléaires codant le complexe I pour le cas index a mis en évidence la présence d'un changement hémizygote du gène *NDUFA1* localisé sur le chromosome X. Cependant la modélisation de cette mutation nucléaire par mutagenèse dirigée introduite dans un modèle cellulaire hamster et l'analyse biochimique de ce mutant a montré la présence d'un déficit partiel mais sans reproduire l'extrême sévérité du déficit du complexe I observé chez le patient. Il a été montré précédemment que la sous unité MWFE codée par le gène *NDUFA1* est une protéine critique pour l'assemblage de la partie membranaire du complexe I interagissant en particulier avec les sous-unités (ND1 à ND6) codées par le génome mitochondrial. L'étude moléculaire de la totalité de l'ADN mitochondrial

du cas index (ADNmt) a permis de montrer la présence de variants mitochondriaux pour les sous unités ND1, ND5 et ND6 du complexe I. La pathogénicité du génome mitochondrial a pu être démontrée avec l'analyse biochimique de cybrides (obtenus par fusion entre une lignée cellulaire sans ADNmt (143B rho⁰) et les cellules énuclées du patient) mettant en évidence un déficit partiel au niveau enzymatique et assemblage du complexe I avec le transfert du génome mitochondrial de ce patient. Discussion-Conclusion : Les anomalies moléculaires analysées de manière isolée pour chaque génome ne sont pas donc suffisamment délétères pour être responsables d'un déficit majeur mais l'action synergique et combinée des 2 génomes serait donc responsable de la sévérité du déficit du complexe I et de la pathologie mitochondriale. Ces observations témoignent de l'importance des interactions entre les 2 génomes dans la pathogénicité des dysfonctionnements mitochondriaux et pourraient représenter un élément important dans la genèse des maladies neurodégénératives en particulier dans la maladie de Parkinson, très souvent associée avec un déficit du complexe I. La prise en compte de ces atteintes bigénomiques est aussi un élément critique pour le conseil génétique et éventuellement pour le diagnostic prénatal de ces pathologies.

Mots-clés : mitochondrie, complexe I, génome mitochondrial.

■CO61 / 320. UN NOUVEAU MODÈLE MURIN POUR ÉTUDIER LA PHYSIOPATHOLOGIE DES CHONDRODYSPLASIES LIÉES À FGFR3

S. Pannier (1), C. Benoist-Lassel (1), E. Dambroise (1), A. Munnich (1), L. Legeai-Mallet (1)
INSERM, U781, Département de Génétique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France

L'achondroplasie, le nanisme le plus fréquent chez l'homme fait partie d'un groupe de chondrodysplasies de sévérité variable incluant l'hypochondroplasie, forme modérée et le nanisme thanatophore, forme létale. Le mode de transmission de ces dysplasies squelettiques est autosomique dominant associant des membres courts, des anomalies vertébrales et une macrocéphalie plus ou moins marquée. Des mutations ponctuelles, identifiées dans les différents domaines du fibroblast growth factor receptor 3 (FGFR3), récepteur à activité tyrosine kinase, sont responsables de ces anomalies de la croissance osseuse. L'ensemble de ces mutations produit une activation constitutive de FGFR3, qui ne nécessite plus la présence du ligand (FGF) pour déclencher la dimérisation et la transduction du signal qui en résulte. L'invalidation fonctionnelle du gène *fgfr3* chez la souris a permis de montrer que ce récepteur est un régulateur négatif de la croissance osseuse. Pour analyser le rôle de FGFR3 dans l'ossification endochondrale, un modèle murin a été généré en utilisant un système Cre-Loxp. Les souris obtenues expriment la mutation Y367C à l'état hétérozygote correspondant à la mutation Y373C responsable du nanisme thanatophore de type I chez l'homme. Afin de comprendre les conséquences de la mutation sur le développement du squelette et les mécanismes cellulaires contrôlant la croissance osseuse, nous avons étudié le phénotype osseux et cartilagineux des souris *fgfr3*Y367C/+. Ces souris présentent un nanisme sévère, le phénotype est visible dès la naissance et s'accroît avec le temps. Une étude plus fine du squelette par radiographies a mis en évidence une macrocéphalie, un thorax étroit, des os longs courts et trapus associés à un retard d'apparition des noyaux d'ossification secondaire. L'étude histologique des fémurs a montré une importante désorganisation de la plaque de croissance avec une absence de colonnes dans la zone proliférative et une zone hypertrophique réduite avec des chondrocytes de petite taille. Nous avons mis en évidence une surexpression d'ostéopontine et d'ostéocalcine chez la souris mutante et de façon surprenante, une expression ectopique d'ostéocalcine dans les zones prolifératives et pré hypertrophiques du cartilage pathologique. Enfin, l'étude de l'activité ostéoclastique (TRAP) a révélé une modification du remodelage osseux induite par l'activation constitutive de *fgfr3*. Ces résultats suggèrent le rôle essentiel de FGFR3 dans la chondrogenèse et l'ostéogenèse au cours de l'ossification endochondrale. Ce nouveau modèle murin est un excellent modèle pour étudier la physiopathologie des chondrodysplasies liées à FGFR3.

Mots-clés : FGFR3, modèle murin, chondrodysplasie.

■CO62 / 230. ANOMALIES DE LA JONCTION NEUROMUSCULAIRE ET DÉFICIT EN ACÉTYLCHOLINESTÉRASE DANS UN MODÈLE MURIN DU SYNDROME DE SCHWARTZ-JAMPÉL

M. Stum (1, 2), E. Girard (3), V. Bernard (4, 5), M. Bangratz (1, 2), C.S. Davoine (1, 2), N. Tabti (1, 2), J.C. Willer (6, 7), B. Fontaine (1, 2, 8), J. Molgò (3), E. Krejci (4, 5), S. Nicole (1, 2, 8)
(1) Inserm, U546, Paris, France ; (2) Université Pierre-et-Marie-Curie-Paris 6, Paris, France ; (3) CNRS, Institut de Neurobiologie Alfred Fessard-FRC2118, Laboratoire de Neurobiologie Cellulaire et

Moléculaire-UPR9040, Gif-sur-Yvette, France ; (4) Inserm, U686, Paris, France ; (5) Université Paris-Descartes, Paris, France ; (6) Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Fédération de neurophysiologie clinique, Groupe hospitalier de la Pitié-Salpêtrière, Paris, France ; (7) Inserm, U731, Paris, France ; (8) Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Fédération des maladies du système nerveux et centre de référence « canaloopathies musculaires », Groupe hospitalier de la Pitié-Salpêtrière, Paris, France

Introduction : Le syndrome de Schwartz-Jampel (SJS) est une maladie autosomique récessive caractérisée par une raideur musculaire permanente et une chondrodystrophie de sévérité variable. Le SJS est dû à des mutations hypomorphes dans le gène codant pour le perlecan, un héparane sulfate protéoglycane majeur des membranes basales (MB). Une pathologie allélique au SJS, la dysplasie dissegmentaire de type Silvermann-Handmaker (DDSH) est caractérisée par une chondrodystrophie très sévère et une létalité dès les premiers jours de vie. Un effet dose du perlecan a été suggéré pour expliquer la différence de sévérité entre le SJS et la DDSH. Outre cet effet dose, il a été proposé que la raideur musculaire présente dans le SJS résultait d'un déficit en acétylcholinestérase (AChE) à la jonction neuromusculaire (JNM), lié au déficit en perlecan. Afin d'étudier ces deux hypothèses, nous avons développé et caractérisé un modèle murin de cette pathologie. Matériel et Méthodes : Nous avons généré un modèle « knock-in » en introduisant la mutation SJS faux-sens p.C1532Y par recombinaison homologe dans le gène murin. Deux lignées de souris ont été générées : la première contenant la mutation seule (Néo-) et la seconde où la cassette de sélection PGK-Néo a été conservée pour son éventuel effet hypomorphe (Néo+). Nous avons étudié ces deux lignées phénotypiquement (radiographie, électromyographie), moléculairement (RT-PCR, RT-PCR quantitative, Western-blot), morphologiquement (colorations hématoxyline-éosine et ATPase du muscle, immunomarquages sur fibroblastes en culture, coupes de muscles squelettiques et fibres musculaires dilacérées in toto) et physiologiquement (électrophysiologie sur préparation nerf phrénique-hémidiaphragme ex vivo). Résultats : Les homozygotes mutants des deux lignées étaient viables et fertiles et présentaient des contractions des pattes arrières et des difficultés à ouvrir les paupières. Une réduction du taux de perlecan sécrété dans les MB musculaires et une rétention intracellulaire de la protéine mutée ont été observées. Les muscles squelettiques présentaient des remaniements cellulaires, signes d'un muscle en souffrance, dont le regroupement suggérait une origine pré-synaptique. La JNM était remaniée montrant une perte de la forme en bretzel, un aspect strié des récepteurs à l'acétylcholine (RACHs) et un déficit en AChE. Tous ces défauts étaient plus marqués chez les mutants Néo+ et corrélés à une expression plus faible du perlecan résultant de la présence de la cassette Néo. Ces mutants Néo+ présentant un phénotype plus proche du SJS, nous avons poursuivi nos analyses chez ces derniers. L'électromyogramme a montré une hyperactivité similaire à celle observée chez les patients SJS. Des anomalies pré-synaptiques ont été observées avec des isolats de RACHs non innervés et des prolongements des cellules de Schwann terminales, suggérant une dénervation partielle. L'étude de la transmission synaptique par électrophysiologie a montré une transmission normale, excepté une prolongation du temps de décroissance des potentiels de plaque et une potentiation après une double stimulation, signes typiques d'un déficit en AChE. Discussion et Conclusion : Nos résultats confirment l'existence d'un effet dose, la sévérité du phénotype étant inversement corrélée au taux résiduel de perlecan présent dans nos modèles. Nos analyses des mutants Néo+ suggèrent que l'hyperactivité puisse résulter d'un déficit en AChE à la JNM, et que le SJS soit reclassé en tant que pathologie de la JNM. Cependant, les anomalies pré-synaptiques observées chez ces mutants sont également à prendre en compte car elles pourraient jouer un rôle non négligeable dans l'hyperactivité musculaire caractérisant le SJS.

Mots-clés : syndrome de Schwartz-Jampel, modèle murin, jonction neuromusculaire.

■CO63 / 212. DES MODÈLES MURINS POUR L'ANALYSE GÉNÉTIQUE DU SYNDROME DE DOWN

V. Brault (1, 2), A. Duchon (1, 2), P. Lopez Pereira (1, 2), C. Colombier (1, 2), M.-C. Chevallier (1, 2), C. Chabert (1, 2), E. Dalloneau (1, 2), V. Nalesso (1, 2) et Y. Héroult (1, 2)

(1) Laboratoire d'Immunologie et Embryologie Moléculaire-Université d'Orléans ; (2) CNRS, UMR6218-IEM-Institut de Transgénose d'Orléans, France

Introduction : La trisomie 21 ou syndrome de Down (SD) demeure la première cause génétique de retard mental et de malformations chez l'homme, affectant 1 nouveau-né sur 700 naissances. La présence en trois copies des quelques 330 gènes du chromosome 21 (HSA21) entraîne un déséquilibre de la balance génétique, perturbant la croissance et le développement et

général un panel de pathologies morphologiques et physiologiques dont des altérations du squelette et du cerveau, des malformations cardiaques et gastrointestinales ainsi qu'une susceptibilité accrue à certaines maladies telles que la maladie d'Alzheimer, la leucémie et l'épilepsie. De ce fait, elle représente le prototype idéal pour l'étude des aneuploïdies chromosomiques et des maladies complexes. Cependant, l'étude des interactions génétiques en cause dans le SD est limitée au petit nombre de patients atteints de trisomie partielle. La souris, de part ses similitudes génétiques, anatomiques et physiologiques avec l'homme, est actuellement le premier modèle animal pour l'analyse génétique des pathologies humaines. Matériel et méthodes : Les gènes orthologues au HSA21 se trouvent localisés sur des régions synténiques sur les chromosomes murins (MMU) 16, 17 et 10. Afin de compléter les modèles trisomiques existants et correspondant à la région centromérique du HSA21, nous avons utilisé la technologie de recombinaison homologue en cellules embryonnaires souches combinée au système de recombinaison Cre/loxP afin de créer des duplications et des délétions ciblées dans le génome de la souris. Nous avons ainsi inséré des sites loxP au niveau des loci *Stch*, *App*, *Sod1* et *Runx* sur le MMU16, *Abcg1* et *U2af1* sur le MMU17 et *Prmt2*, *Col6a1* et *Cstb* sur le MMU10. Les duplications et délétions des régions encadrées par deux sites loxP sont obtenues par expression transitoire de la recombinaison Cre. Les cellules portant ces remaniements chromosomiques sont ensuite injectées dans des blastocystes receveurs afin de générer les lignées trisomiques et monosomiques. Résultats : Nous avons obtenu deux modèles trisomiques et six modèles monosomiques pour différentes régions homologues à la partie télomérique du HSA21. De manière intéressante, certains modèles monosomiques présentent un taux de viabilité faible. Une analyse embryonnaire est en cours afin de déterminer les causes de cette létalité. Les autres modèles sont tous viables et font l'objet d'une série d'analyses phénotypiques systématiques afin de mettre en évidence des caractères phénotypiques comparables à ceux qui sont observés chez les patients atteints de SD (malformation crânio-faciale, comportement, physiologie, squelette...). L'analyse approfondie d'un premier modèle monosomique pour la région *Prmt2-Col6a1* a montré que la perte d'une copie de cette région entraînait un dysfonctionnement au niveau de la réponse respiratoire et une réponse inflammatoire accrue après administration intranasale de lipopolysaccharide. Cette altération était accompagnée d'une augmentation de recrutement des neutrophiles et de sécrétion de cytokines dans les poumons. L'analyse des nouveaux modèles trisomiques est en cours et conforte l'impact du nombre de dose des gènes sur certaines voies métaboliques. Discussion : L'obtention d'un panel de modèles murins portant différentes duplications et délétions successives des régions murines homologues au HSA21 va nous permettre, par leur étude et par combinaison des différents modèles entre eux, de définir la contribution de gènes individuels ou groupes de gènes dans les différents phénotypes du SD et de tester les interactions génétiques à l'origine des phénotypes complexes observés chez les patients. Ainsi, par exemple, nous pourrions combiner les modèles trisomiques entre eux et voir si d'autres phénotypes apparaissent. Ces études devraient à terme conduire à l'identification des voies de signalisation perturbées chez les patients et permettre le développement de nouvelles approches thérapeutiques.

Mots-clés : trisomie 21, modèles murins, interactions génétiques.

■CO64 / 522. APPROCHES THÉRAPEUTIQUES DANS LA PROGERIA DE HUCHINSON GILFORD (HGPS)

S. Pereira (1), C. Navarro (1), A. De Sandre-Giovannoli (1, 2), P. Bourgeois (2), E. Francezon (1), I. Boccacio (1), P. Cau (1, 2), N. Levy (1, 2) (1) INSERM UMR910, Génétique Médicale et Génomique Fonctionnelle, Faculté de Médecine de Marseille, 27 bd Jean Moulin, 13385 Marseille ; (2) Département de Génétique et Biologie cellulaire Marseille, Hôpital la Timone, 13005 Marseille, France

Le syndrome de Hutchinson-Gilford (HGPS) ou Progeria typique est une pathologie extrêmement rare et sévère. Les patients présentent les symptômes d'un vieillissement prématuré en particulier une peau fine et translucide, une alopecie, des veines apparentes, une ostéolyse et une athérosclérose extrêmement sévère entraînant le décès prématuré à un âge moyen de 12,5 ans, la plupart du temps d'un infarctus myocardique. La mutation responsable du syndrome HGPS est une mutation hétérozygote apparue de novo dans le gène *LMNA* (c.1824C>T ; p.G608G) située dans l'exon 11 codant spécifiquement le précurseur de la Lamine A. Cette mutation active un site cryptique d'épissage et entraîne la production d'un précurseur de Lamine A, tronqué des 50 derniers acides aminés de la région C-terminale de la protéine et ne pouvant ainsi plus subir toutes les étapes nécessaires à sa maturation en particulier. Ce précurseur tronqué (Progerine) reste anormalement farnésylé et s'accumule avec un effet toxique dans les noyaux des patients, perturbant à la fois l'organisation de la lamina

nucléaire et plusieurs voies métaboliques dans lesquelles la lamina A est impliquée. Plusieurs études ont été menées afin soit de corriger le défaut d'épissage (oligonucléotides anti-sens) soit d'inhiber la farnésylation de la pré-lamine A en utilisant les inhibiteurs de la farnésyl-transférase (FTI) initialement développés comme agent anticancéreux. Toutefois, alors que les FTI améliorent la morphologie nucléaire de fibroblastes de patients HGPS *in vitro*, ils ne corrigent pas plusieurs des anomalies métaboliques (réparation de l'ADN,...) observées dans ces cellules et surtout n'ont qu'un effet très limité sur l'accumulation de pré-lamine A dans des modèles animaux de syndrome progeroïde. Nous avons développé une approche thérapeutique alternative, basée sur l'utilisation de molécules inhibant deux enzymes clé de la voie de synthèse des isoprénoides, les inhibiteurs de l'HMG CoA réductase d'une part et de la Farnésyl-Pyrophospho-synthase d'autre part. Nous avons montré, *in vitro*, par des études de dose-réponse et temps-réponse sur des fibroblastes témoins, que les deux molécules agissent en synergie sur l'inhibition de la farnésylation de la pré-lamine A. Par ailleurs, l'utilisation de cette combinaison sur des fibroblastes provenant de patients atteints de Progeria, entraîne non seulement une restauration du phénotype nucléaire dans plus de 50 % des cellules, mais également une nette amélioration de voies métaboliques perturbées par l'accumulation de Progerine (réparation de l'ADN) avec une efficacité positivement corrélée au vieillissement cellulaire. *In vivo*, cette approche pharmacologique a été utilisée dans un modèle de Progeria avec des résultats indiquant une efficacité significative sur le taux de prévention de l'atteinte osseuse, un maintien de la courbe de poids et une survie prolongée. Deux modèles murins authentiques de Progeria sont en cours d'évaluation et nous attendons l'autorisation finale de l'AFSSAPS afin d'inclure les patients dans un protocole thérapeutique temporaire (prévu en Janvier 2008). Si notre objectif n'est pas de reverser les effets dévastateurs de la maladie, nous pouvons toutefois espérer un ralentissement de son évolution, une prévention du risque cardio-vasculaire et un prolongement de la survie dans des conditions de vie améliorées pour les enfants atteints de Progeria ou d'une pathologie du vieillissement apparentée.

Mots-clés : vieillissement, traitement, prénatal.

■CO65 / 513. DÉFICITS BIOAMINÉRIQUES DANS LE SYNDROME DE RETT : DE LA PHYSIOPATHOLOGIE À UN ESSAI CLINIQUE

J.C. Roux (1), E. Dura (1), A. Moncla (1, 2), J. Mancini (3), O. Blin (4), L. Villard (1)

(1) INSERM U910 Faculté de Médecine-La Timone-Marseille, Université Aix Marseille ; (2) Département de Génétique Médicale-CHU la Timone-Marseille ; (3) Département de Neuropédiatrie-CHU la Timone-Marseille ; (4) Centre de Pharmacologie Clinique et d'Évaluations Thérapeutiques-Marseille, France

Le syndrome de Rett (SR) est un grave désordre neurologique d'origine génétique qui touche essentiellement les filles (1/12 000). Le gène responsable, *MECP2*, code pour une protéine ayant une fonction supposée de répresseur transcriptionnel. En plus de problèmes de développement du cerveau associé à un profond handicap mental et des déficits moteurs, les filles SR présentent des déficits du système nerveux autonome. Les systèmes cardiorespiratoires en particulier présentent de sévères arythmies qui pourraient être responsables chez les filles SR d'un quart des décès. Pour cette raison, nous avons décidé d'aborder l'origine des troubles respiratoires en utilisant un modèle de souris déficientes pour la protéine *Mecp2* (*Mecp2^{-/-}*). Nos résultats ont apporté de nouveaux éléments physiopathologiques et ont permis en premier lieu de montrer que le modèle murin présentait, comme chez les patientes, des troubles respiratoires importants. Ceux-ci apparaissent chez les souris *Mecp2^{-/-}* vers l'âge d'un mois et s'aggravent jusqu'à l'arrêt respiratoire survenant vers l'âge de deux mois. Le tronc cérébral est connu comme la structure responsable de la genèse et de la régulation de la respiration. L'étude du tronc cérébral chez les souris *Mecp2^{-/-}* nous a permis de montrer que les contenus en noradrénaline, neurotransmetteur essentiel à la commande respiratoire, sont fortement réduits à partir de l'âge d'un mois, ce qui coïncide avec l'apparition des troubles respiratoires chez ces mêmes animaux. Par ailleurs, l'analyse de coupes histologiques révèle que le nombre de neurones exprimant la tyrosine hydroxylase (TH), enzyme limitante de la synthèse de la noradrénaline, est fortement réduit dans le tronc cérébral des souris *Mecp2^{-/-}*. L'identification de déficits neurochimiques et cellulaires, pouvant expliquer l'origine des troubles respiratoires nous a permis d'envisager la possibilité d'une intervention pharmacologique chez la souris. Notre choix s'est porté sur la désipramine car cette molécule est l'inhibiteur de recapture de la noradrénaline le plus spécifique et qu'elle possède déjà une autorisation de mise sur le marché. Les souris *Mecp2^{-/-}* traitées par la désipramine montrent une amélioration importante du rythme respiratoire

pendant plusieurs semaines, essentiellement marqué par un seuil très bas d'apnée. De manière encore plus intéressante, le traitement prolonge la durée de vie des souris déficientes d'environ 50 % par rapport aux souris traitées par un placebo. Les résultats sont aussi spectaculaires au niveau cellulaire car ils montrent que, chez les souris mutantes traitées, le nombre de neurones exprimant la TH est similaire à celui des souris sauvages. La bonne connaissance de cette molécule, sa faible toxicité et le fait qu'elle ait déjà été utilisée chez l'enfant ouvrent donc la voie à des essais cliniques chez la fille SR. Ainsi, un essai clinique de phase II chez 36 filles SR vient d'être lancé à Marseille, financé par le ministère de la santé sous la forme d'un PHRC (programme hospitalier de recherche clinique) national et sous la responsabilité du Professeur Mancini, neuropédiatre à l'hôpital de la Timone. Le but de ce travail est de tester l'efficacité de la désipramine sur le fonctionnement du système nerveux végétatif des filles SR. Cette étude est réalisée en double-aveugle dans six centres hospitaliers répartis sur tout le territoire. Les résultats seront rassemblés au centre de pharmacologie clinique et d'évaluations thérapeutiques de Marseille (responsable : Pr. Olivier Blin) et les conclusions de ce travail devraient être connues au cours de l'année 2008.

Mots-clés : syndrome de Rett, Mecp2, Traitement pharmacologique.

■CO66 / 604. INTÉRACTION ENTRE LES VOIES DE SIGNALISATION WNT/BÊTA-CATÉLINE ET NF-KAPPAB ET DYSPLASIES ECTODERMiques ANHIDROTiques

C. Cluzeau (1), E. Bal (1), P. Guigue (1), N. Chassaing (2), S. Hadj-Rabia (1, 3), C. Bodemer (1, 3), P. Calvas (2), M. C. Vincent (2), A. Munnich (1), A. Smahi (1)

(1) INSERM U781, Hôpital Necker-Enfants Malades, Université Paris 5-René-Descartes, Paris, France ; (2) Service de Génétique médicale, Hôpital Purpan, Toulouse, France ; (3) Service de Dermatologie, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France

Les dysplasies ectodermiques anhidrotiques (EDA) sont des désordres de différenciation des annexes épidermiques caractérisés par une hypotrichose, une hypo- ou anodontie et hypo- ou anhidrose. Les formes d'EDA liées au chromosome X sont les plus fréquentes ; elles sont dues à des mutations dans le gène *ED1* codant pour l'ectodysplasine. Des formes autosomiques dominantes et récessives, identiques aux formes liées au sexe, résultent de mutations dans les gènes *ED2* et *ED3*, codant respectivement pour les protéines Edaradd et Edar. Les trois protéines appartiennent à la même voie de signalisation : l'ectodysplasine est le ligand du récepteur Edar, qui transmet un signal d'activation du facteur de transcription NF-kappaB via une interaction avec la protéine adaptatrice Edaradd. La voie de signalisation Wnt/bêta-caténine joue un rôle central au cours du développement et elle est largement impliquée dans les mécanismes de carcinogénèse. Récemment son rôle dans la morphogénèse des annexes épidermiques a émergé. Un lien entre la voie NF-kappaB médiée par l'ectodysplasine et la voie Wnt/bêta-caténine a été décrit. Nous avons confirmé par des expériences de transactivation après transfection des cellules HEK293T avec un rapporteur luciférase sous contrôle d'un promoteur NF-kappaB ou Lef-TCF que le récepteur Edar inhibe la voie Wnt/bêta-caténine. Nous avons étudié l'effet de sept mutations identifiées dans le gène *ED3* et responsables d'EDA autosomiques à la fois dominantes et récessives sur ces deux voies. Les mutations dominantes abolissent l'activation de la voie NF-kappaB et ne parviennent pas à inhiber la voie Wnt/bêta-caténine. Les mutations récessives perturbent sans les abolir complètement l'activation de NF-kappaB et l'inhibition de Wnt/bêta-caténine. Par ailleurs, nous avons démontré que l'inhibition de la voie Wnt/bêta-caténine par Edar est dépendante de NF-kappaB. En effet, la transfection d'un plasmide codant la protéine IkappaBalpha super répressive supprime cette inhibition. Nous avons pu établir par Western Blot que l'inhibition de la voie Wnt/bêta-caténine n'est pas liée à la dégradation de bêta-caténine, mécanisme habituellement impliqué dans sa régulation. Nous avons également montré par immunofluorescence que la transfection d'Edar n'interfère pas avec la translocation de bêta-caténine dans le noyau. Ainsi, l'inhibition de la voie Wnt/bêta-caténine par Edar se fait probablement par interaction compétitive entre les protéines NF-kappaB et la protéine bêta-caténine ou les facteurs de transcription Lef/TCF qui lui sont associés. La voie de signalisation ectodysplasine agit donc sur deux facteurs de transcription centraux impliqués dans la différenciation des annexes épidermiques, structures touchées chez les patients EDA. L'effet des mutations dans le gène *ED3* sur la régulation négative de la voie Wnt/bêta-caténine suggère que la dérégulation de cette voie pourrait être liée à une dysplasie des annexes épidermiques. La formation et la différenciation des placodes à l'origine des annexes épidermiques (dents, poils, glandes sudorales et mammaires) ont lieu très tôt au cours du développement embryonnaire. Elles nécessitent des interactions réciproques et séquentielles entre l'épithélium et le mésenchyme, faisant intervenir plusieurs voies de signalisation dont la voie NF-kappaB médiée par l'ectodysplasine et la voie

Wnt/bêta-caténine. L'expression de l'ectodysplasine est sous contrôle de Lef-1 et l'inhibition de la voie Wnt/bêta-caténine étudiée ici pourrait être un rétro-contrôle négatif de l'activation de la signalisation ectodysplasine au moment de la différenciation des annexes épidermiques.

Mots-clés : NF-kappaB, Wnt/bêta-caténine, EDA.

Session Simultanée « Génétique des Maladies Complexes »

■CO67 / 696. L'ORDERED TRANSMISSION DISEQUILIBRIUM TEST : RECHERCHE DE GÈNES MODIFICATEURS POUR LA SCLÉROSE EN PLAQUES

H. Perdry (1, 2), M.-C. Babron (1, 2), F. Clerget-Darpoux (1, 2)
(1) INSERM U535, Villejuif, France ; (2) Université Paris-Sud, IFR69, UMR-S535, Villejuif, France

Un locus modificateur est un locus qui est la cause de différences quantitatives ou qualitatives dans un aspect d'un phénotype morbide, distinct du locus morbide. L'effet d'un tel locus est une hétérogénéité clinique qui peut se refléter dans les valeurs d'une variable clinique appropriée, comme l'âge de début de la maladie ou sa sévérité. L'Ordered Transmission Disequilibrium Test (OTDT) teste l'existence d'une relation entre l'hétérogénéité clinique, mesurée par une variable clinique, et un marqueur bi-allélique M situé sur un gène candidat. La méthode s'applique à des trios constitués d'un patient et de ses parents, tous trois génotypés en M. Une valeur de la variable clinique est associée à chaque trio. Comme le TDT (Spielman *et al.*, 1993), l'OTDT est basé sur l'observation du taux de transmission d'un certain allèle en M. L'OTDT cherche une valeur critique de la variable clinique qui sépare l'échantillon de trios en deux groupes dans lesquels les taux de transmission sont significativement différents. Nous illustrons la méthode sur un échantillon de 268 trios où le patient est atteint de Sclérose en Plaques, recrutés par le REFGENSEP (Réseau Français d'Études Génétique sur la Sclérose En Plaques) qui sont génotypés pour plusieurs gènes candidats. L'EDSS (Expanded Disability Status Scale) des patients est utilisé pour calculer le MSSS (Multiple Sclerosis Severity Score) (Roxburgh *et al.*, 2005), que nous utilisons comme variable clinique.

Mots-clés : gènes modificateurs, liaison et association, sclérose en plaques.

■CO68 / 272. LE GÈNE DU FACTEUR D'HYPoxIE (*HIF1A*) EST ASSOCIÉ À LA SCLÉRODERMIE SYSTÉMIQUE DANS UNE COHORTE DE PATIENTS FRANÇAIS CAUCASIENS

J. Wipff (1, 2), J. Avouac (1, 2), P. Dieude (3), J. Cabane (4), E. Hachulla (5), B. Granel (6), E. Diot (7), J. Sibilia (8), L. Mouthon (9), O. Meyer (3), A. Kahan (1), C. Boileau (2), Y. Allanore (1, 2)

(1) Paris Descartes Université, Rhumatologie A, Hôpital Cochin, AP-HP, Paris, France ; (2) INSERM U781, Hôpital Necker, AP-HP, Paris, France ; (3) Paris 7 Université, Rhumatologie, Hôpital Bichat, AP-HP, Paris, France ; (4) Pierre-et-Marie-Curie Université, Hôpital Saint-Antoine AP-HP, Paris, France ; (5) Lille II Université, Médecine Interne, Lille, France ; (6) Inserm U399, faculté de médecine de La Timone, Marseille, France ; (7) INSERM EMI-U 00-10, CHU Bretonneau, Tours, France ; (8) Louis Pasteur Université, Rhumatologie, Hôpital Hautepierre, Strasbourg, France ; (9) Paris Descartes Université, Médecine Interne, Hôpital Cochin, AP-HP, Paris, France

Introduction : La sclérodermie systémique (ScS) est une maladie qui est notamment caractérisée par une atteinte microcirculatoire généralisée et précoce avec des phénomènes vasospasmes générant des phénomènes d'ischémie/reperfusion. Le facteur inductible par l'hypoxie (HIF-1) est le régulateur central de l'expression de gènes en hypoxie. Il s'agit d'un facteur de transcription qui en réponse à l'hypoxie active de nombreux gènes cibles comme *VEGF*, *eNOS* ou *Endotheline 1*. Un marqueur polymorphe SNP a récemment été trouvé associé au développement d'une vascularisation artérielle collatérale au cours de l'infarctus. Objectif : Evaluer, par une étude cas témoins, l'association éventuelle de marqueurs polymorphes du gène *HIF1A* à la ScS à partir d'une large cohorte française caucasienne. Patients et méthodes : Nous avons inclus 1 170 sujets non apparentés comprenant 659 patients atteints de ScS et 511 témoins appariés, tous d'origine française caucasienne. L'âge moyen des ScS était de 59 ± 11 ans et la durée de maladie moyenne de 11 ± 8 ans. 87 % (n = 574) étaient des femmes et 67 % avaient des formes cutanées diffuses. Trois SNPs (rs12434438 A/G, rs1957757 C/T et rs11549465 C/T) du gène *HIF1A* ont été génotypés. Ces SNPs ont été choisis afin de couvrir au mieux la totalité de l'information du gène *HIF1A* en tenant compte des éléments disponibles dans les bases de données actualisées (HapMap, NCBI). Les fréquences

alléliques et génotypiques de chaque SNP ont été comparées entre les deux populations par un test exact de Fisher. En l'absence d'hypothèse a priori, les Odds Ratio (OR) correspondants ont été calculés en prenant, pour chaque SNP, comme valeur de référence le génotype le plus fréquent. Résultats : Les 3 SNPs étaient à l'équilibre d'Hardy-Weinberg dans la population de témoins. Les génotypes contenant l'allèle G (A/G + G/G) du rs12434438 étaient significativement plus fréquents dans la ScS que chez les témoins ($p = 0,009$; OR = 1,39; 95 %IC [1,08-1,78]). Le génotype hétérozygote A/G du même SNP est associé à la ScS ($p = 0,004$; OR = 1,43; 95 %IC [1,13-1,9]) ainsi qu'à la présence d'anticorps anticeintromères ($p = 0,005$; OR = 1,61; 95 %IC [1,16-2,23]). Aucune différence n'a pu être mise en évidence pour les deux autres SNPs entre les témoins et les patients ScS ou appartenant à un de ses sous-groupes. L'analyse haplotypique n'a pas détecté d'association. Conclusion : Ces résultats montrent l'association d'un polymorphisme du gène *HIF1A* avec la SSs. Ceci suggère la possible implication de ce gène dans la physiopathologie de la maladie soit directement liée à rs12434438 (des tests cellulaires sont en cours pour l'étudier) soit à l'implication d'autres polymorphismes de *HIF1A* en déséquilibre de liaison avec rs12434438, *HIF1A* étant le seul gène dans ce bloc de déséquilibre (HapMap).

Mots-clés : *HIF1A*, sclérodémie systémique, études d'association.

■CO69 / 652. NOUVEAU FACTEUR DE SUSCEPTIBILITÉ À LA POLYARTHRITE RHUMATOÏDE DÉFINITIVEMENT CONFIRMÉ PAR LINKAGE DANS UN BLOC HAPLOTYPIQUE DES GÈNES *TRAF1* ET *C5* EN 9Q33

F. Kurreeman (1), D. Rocha (2), J. Houwing-Duistermaat (1), S. Vrijemoot (1), S. Garnier (2), P. Migliorini (3), A. Balsa (4), R. Westhovens (5), P. Barrera (6), H. Alves (7), C. Vaz (7), M. Fernandes (7), D. Pascual-Salcedo (4), S. Bombardieri (3), J. Dequeker (5), T. Radstake (6), P. van Riel (6), L. van de Putte (6), A. Lopes-Vaz (7), B. Prum (8), T. Bardin (2, 9), L. Sobre (10), I. Gut (10), F. Cornelis (2, 11, 12), T. Huizinga (1), E. Petit-Teixeira (2) et R. Toes (1) pour European Consortium on Rheumatoid Arthritis Families

(1) Leiden University Medical Center, 2333ZA Leiden, The Netherlands ; (2) GenHotel-EA 3886, University Evry-Paris 7 Medical School, France ; (3) Pisa University, Pisa, Italy ; (4) La Paz Hospital, Madrid, Spain ; (5) Katholieke Universiteit Leuven, Leuven, Belgium ; (6) Nijmegen University, Nijmegen, The Netherlands ; (7) Porto San Joao Hospital, Porto, Portugal ; (8) Laboratoire Statistique et Génome, Centre National de la Recherche Scientifique, Evry University, France ; (9) Fédération de Rhumatologie, Pôle de l'Appareil Locomoteur, Lariboisière Hospital, Paris, France ; (10) Centre National de Génotypage, Evry, France ; (11) Unité de Génétique Clinique, Pôle des Laboratoires Médicaux-Imagerie-Pharmacie, Lariboisière Hospital, Paris, France ; (12) Consultation de Génétique Adulte, Centre Hospitalier Sud Francilien, Evry-Corbeil, France

Introduction : la polyarthrite rhumatoïde (PR), la plus fréquente des maladies auto-immunes avec une prévalence estimée jusqu'à 1 % dans la population adulte caucasienne, est une maladie multifactorielle pour laquelle seulement deux facteurs génétiques sont définitivement confirmés, pour les gènes *HLA-DRB1* et *PTPN22*. Ces facteurs rendant compte d'environ 1/3 de l'agrégation familiale, d'autres facteurs restent à découvrir. Nos collègues américains et nous-mêmes avons récemment proposé un nouveau facteur de la PR, dans sa forme avec auto-anticorps, la plus fréquente, suite à des études cas-témoins (PLoS Med. 2007, 4:e278. et N Engl J Med 2007, 357 :1199-209). Ce facteur est situé entre les gènes *TRAF1* (TNF Receptor Associated Factor 1) et *C5* (Complement 5), compris dans un même bloc haplotypique en 9q33. Objectif : Notre but était de confirmer définitivement ce nouveau facteur par linkage. Matériel et méthodes : nous avons étudié 1 179 individus de 393 familles comportant une personne atteinte de PR et ses deux parents, originaires d'Europe occidentale. La personne atteinte de PR avait une forme avec auto-anticorps (facteurs rhumatoïdes) dans 296 familles. Nous avons génotypé le polymorphisme rs10818488, dont l'allèle A est le plus associé dans notre étude cas-témoins, par Taqman Allelic Discrimination Assay. Les génotypes ont été analysés avec les tests TDT et parentTDT (transmission disequilibrium test), GRR (genotype relative risk), et AFBAC (affected family-based controls), après vérification du respect de l'équilibre de Hardy-Weinberg. Résultats : nous avons observé un linkage significatif avec une sur-transmission à 57 % de l'allèle A des parents hétérozygotes aux patients atteints de PR avec facteur rhumatoïde, comparé aux 50 % attendus d'après Mendel, TDT $p = 0,02$. ($n = 296$ familles, 272 parents hétérozygotes). L'association est confirmée, avec une fréquence de l'allèle A et du génotype portant l'allèle A de 40 % et 64 % chez les patients, *versus* 33 % et 55 % chez les contrôles, respectivement, $p < 0,05$. En prenant en considération le phénotype des parents, dont 28 sont atteints de PR, l'association est plus marquée, parentTDT $p = 0,009$. Aucune sur-transmission

significative n'a été observée dans les familles des personnes atteintes de PR sans facteur rhumatoïde 47 % transmission, $p = 0,596$. Discussion et conclusion : nous confirmons définitivement ce nouveau facteur de la PR avec facteur rhumatoïde en apportant la preuve par linkage dans la population caucasienne européenne occidentale. Ce facteur peut donc désormais être considéré comme le 3^e facteur génétique de la PR. En l'absence d'effet fonctionnel évident de l'haplotype portant l'allèle associé, une investigation complémentaire est nécessaire pour identifier le mécanisme physiopathogénique sous-jacent, afin de définir de nouvelles cibles pour des thérapies innovantes. L'enjeu est majeur, dans la mesure où 64 % des patients de cette forme majoritaire de PR, qui sont porteurs du facteur, seraient directement concernés par une telle innovation thérapeutique.

Mots-clés : polyarthrite rhumatoïde, auto-anticorps (facteurs rhumatoïdes), TDT.

■CO70 / 131. INTERACTIONS GÈNE-ENVIRONNEMENT : UN NOUVEAU TEST SANS GÉNOTYPAGE !

R. Kzma (1, 2), C. Bonaiti-Pellié (2, 1), J.M. Norris (3), E. Génin (2, 1) (1) Université Paris-Sud, UMR-S535, Villejuif, F-94817, France ; (2) INSERM, UMR-S535, Villejuif, F-94817, France ; (3) Department of Preventive Medicine and Biometrics, University of Colorado at Denver and Health Sciences Center, USA

Les interactions gène-environnement jouent probablement un rôle important dans la susceptibilité aux maladies multifactorielles, mais sont souvent très difficiles à mettre en évidence. Nous présentons une nouvelle méthode de détection des interactions gène-environnement basée sur l'analyse de l'agrégation familiale de la maladie étudiée stratifiée selon le statut d'exposition de l'index. En présence d'une interaction gène-environnement, la distribution des génotypes des individus atteints (les index) et par conséquent le risque de maladie de leurs apparentés (leurs germains) dépendent du statut d'exposition des index. Partant de ce constat, nous avons développé un test de comparaison du risque des germains d'individus atteints selon le statut d'exposition des index. Afin d'évaluer les propriétés (erreur de type I et puissance) de ce nouveau test, nous avons déterminé les formules permettant de calculer les risques attendus de maladie chez les germains conditionnellement à l'exposition de leurs index pour différentes valeurs de paramètres : fréquence d'exposition, risque relatif de l'exposition, fréquence du ou des génotypes prédisposant à la maladie, risques relatifs génotypiques et coefficients d'interaction. Nous avons enfin appliqué cette méthode sur des données familiales de diabète de type 2 pour rechercher des interactions gène-environnement impliquant trois facteurs environnementaux : l'obésité, l'activité physique et le taux de lipide alimentaire. Nos résultats mettent en évidence que le rapport des risques de récurrence selon que l'index soit exposé ou non exposé est un bon indicateur de la présence d'un effet d'interaction entre ce facteur d'exposition et un facteur génétique. L'étude des propriétés du test que nous proposons montre que ce test a un intérêt pour des maladies dont l'agrégation familiale est modérée, quand le facteur d'exposition a un rôle clairement mis en évidence dans la maladie et pour détecter des effets d'interaction modérés à forts. Par ailleurs, étant donné qu'une corrélation du facteur d'exposition entre les index et leurs germains pourrait potentiellement induire à elle seule une différence de risque de récurrence entre les différentes strates d'exposition des index, nous avons introduit dans le modèle un coefficient de corrélation pour l'exposition. Étonnamment, quand ce facteur potentiel de confusion est contrôlé, la puissance du test n'est pas diminuée et est parfois même augmentée de façon significative. Bien que l'application sur les données de diabète de type 2 n'ait pas mis en évidence de différence significative entre les risques de récurrence stratifiés pour les différents facteurs d'exposition testés, la faible activité physique présente un rapport des risques de récurrence stratifié sur l'exposition de 1,51 [0,93-2,44]. En définitive, cette méthode se révèle une approche intéressante pour l'identification de facteurs environnementaux à inclure dans de futures études génétiques car susceptibles d'interagir avec des facteurs génétiques.

Mots-clés : interaction gène-environnement, agrégation familiale, diabète de type 2.

Session Simultanée « Conseil Génétique, Génétique et Société »

■CO71 / 259. PRÉDOMINANCE FÉMININE DANS LE SYNDROME DU QT LONG : TRANSMISSION PRÉFÉRENTIELLE DES MUTATIONS DES CANAUX POTASSIQUES *KCNQ1* ET *KCNH2* AUX FEMMES

M. Imboden (1), H. Swan (2), I. Denjoy (1, 3), I.M. Van Langen (4), P. Latinen-Forsblom (2), C. Napolitano (5), V. Fressart (6), G. Breithardt (7),

M. Berthet (1), S. Priori (5), B. Hainque (1, 7), AAM. Wilde (4), E. Schulze-Bahr (7), J. Feingold (8), P. Guicheney (1)
 (1) Inserm U582, GH Pitié-Salpêtrière, Paris ; (2) University of Helsinki, Finlande ; (3) Département de Cardiologie, Hôpital Lariboisière, Paris ; (4) Academic Medical Center, Amsterdam, Pays Bas ; (5) Fondazione Salvatore Maugeri, Pavia, Italie ; (6) University of Münster, Allemagne ; (7) Service de Biochimie, GH Pitié-Salpêtrière ; (8) Département de Génétique, GH Pitié-Salpêtrière, Paris, France

Introduction : Le Syndrome du QT long (LQT) est une maladie héréditaire caractérisée par des arythmies ventriculaires et un risque de mort subite. L'excès de femmes parmi les atteints pourrait être lié à un intervalle QT plus long chez ces dernières et à une susceptibilité plus grande aux arythmies cardiaques. Cependant, l'hypothèse d'une transmission préférentielle des mutations LQT aux femmes mérite d'être évoquée, c'est le but de l'étude rétrospective européenne que nous présentons. **Méthodes :** 1 534 descendants de 240 familles atteintes de LQT constituant 753 familles nucléaires entièrement génotypées (parent LQTS transmetteur et sa descendance) ont été inclus dans l'étude. 143 familles LQT type 1 (LQT1) avec 59 mutations distinctes du gène *KCNQ1* et 97 familles LQT type 2 (LQT2) portant 83 mutations distinctes dans le gène *KCNH2*. L'analyse de la transmission des mutations LQT parmi les descendants a tenu compte du mode de recrutement de ces familles. Les caractéristiques de la transmission des mutations LQT (proportions des porteurs de mutation, sex ratios) ont été analysées par le test du Chi2. **Résultats :** Nous confirmons une prédominance des femmes parmi la population atteinte, 68 % des cas index étaient du sexe féminin. La correction du recrutement (par cas index atteint) a conduit à l'exclusion de 157 cas index, dont 103 femmes, de l'analyse de la transmission. Nous observons une distorsion de la transmission des mutations LQT en faveur des porteurs de mutations. En effet, dans la descendance il y a plus de porteurs de mutations LQT par rapport aux membres non porteurs (57 %, n = 870) et les femmes LQT sont surreprésentées (55 %, n = 476). La transmission maternelle LQT1 et la transmission maternelle et paternelle LQT2 ne suivent pas une ségrégation mendélienne. Seule, la transmission paternelle LQT1 est celle attendue. Les mères LQT transmettent la mutation LQT plus souvent à leurs filles (55 % de filles porteuses LQT1 vs 45 % des fils porteurs LQT1 ; et 58 % de filles porteuses LQT2 vs 42 % des fils porteurs LQT2). Une analyse de la transmission par classe de mutations indique que les mutations liées à un phénotype plus sévère (mutations faux sens) sont associées avec une distorsion de transmission plus importante. La proportion de mutations maternelles transmises aux cas index est très élevée : 66 % pour LQT1 et 74 % pour LQT2. **Conclusion :** Notre étude rétrospective montre que la prédominance féminine observée dans le LQT est liée à une transmission favorisée des mutations LQT1 (d'origine maternelle seulement) et LQT2 à la descendance féminine. La distorsion plus importante observée chez les porteurs de mutations faux sens, qui sont associées à un phénotype plus sévère, comparées aux mutations faux sens, est en faveur d'une sélection positive et d'un possible rôle physiologique des canaux potassiques lors de la fécondation ou des premières étapes de la formation de l'embryon. D'autres facteurs contribuent probablement à ces observations d'autant que seules les mutations LQT1 d'origine paternelle sont transmises selon les lois de Mendel.

Mots-clés : transmission, syndrome du QT long, canaux ioniques.

■CO72 / 700. LES MALFORMATIONS DES MEMBRES : UN BON EXEMPLE DES MODES DE TRANSMISSION NON MENDÉLIENS
 S. Manouvrier-Hanu (1, 7), J. Andrieux (2, 3), F. Escande (5), L. Devisme (6), O. Boute-Bénéjean (1), A. Dieux-Coeslier (1), JP. Kerckaert (3, 7), M. Holder-Espinasse (1, 7)

(1) Service de Génétique clinique, CHRU de Lille, France ; (2) Laboratoire de Génétique, CHRU de Lille, France ; (3) Plateforme de Génomique Université Lille 2, France ; (4) Département de Génétique, CHU de Rouen, France ; (5) Laboratoire de Biologie moléculaire, CHRU de Lille, France ; (6) Laboratoire d'Anatomopathologie et fœtopathologie, CHRU de Lille, France ; (7) Université Lille 2, France

Plus aucun d'entre nous ne doute qu'à la faveur des découvertes de ces dernières années, nos certitudes basées la transmission monogénique et les « lois de Mendel » ont volé en éclat ; et que l'information génétique que nous devons à nos patients, si elle est mieux éclairée, n'en est pas moins devenue beaucoup plus difficile ! Ainsi la complexité des mécanismes qui régissent le développement des membres, les interactions entre les gènes qui y président et leurs anomalies constituent-elles un très bon modèle de ces entorses aux lois de Mendel ; Nous proposons d'en prendre quelques exemples Mosaïque germinale (SHFM, OPDS) ; Remaniement intragénique complexe (dactylin et SHFM) ; Mutations de séquences promotrices (Enhancer de *SHH* intronique de *LMBR1* polydactylie pré-axiale et pouces

triphalangés) ; Régulation épigénétique et asymétrie (exemple du syndrome CHILTD) Epistasie (mutations de *Dac* modulées par mDac chez la souris porteuse de dactylaplasia, syndrome TAR délétion 1q21.1 et probable mTAR qui reste encore à identifier)

Mots-clés : malformation des membres, épistasie, mécanismes transmissionnels.

■CO73 / 665. ÉTUDE COMPARATIVE DES PRATIQUES DE MARIAGES CONSANGUINS DANS DEUX RÉGIONS DU NORD-OUEST DU MAROC

H. Hami, A. Soulaymani, A. Mokhtari

Laboratoire de Génétique et Biométrie, Département de Biologie, Faculté des Sciences, Université Ibn Tofail, BP 133, Kénitra 14 000, Maroc

Introduction : Nombreux sont les marocains qui, pour des motivations culturelles ou encore économiques, optent pour un mariage avec un partenaire de la même famille. Ce type d'union est conclu très souvent au nom d'une sécurité financière et affective, mais au prix de la santé des enfants, qui courent le risque de maladies génétiques plus que d'autres. Ainsi, l'objectif de la présente étude est d'identifier les principaux facteurs déterminants de mariages consanguins dans deux régions : la région de Rabat-Salé-Zemmour-Zaer et celle du Gharb-Chrarda-Béni Hssen (Nord-Ouest marocain). **Matériel et Méthodes :** Cette étude se fonde sur les données de deux enquêtes prospectives menées auprès des familles échantillonnées au hasard dans la maternité de l'hôpital Souissi de Rabat et la maternité de l'hôpital Cherif Idrissi de Kenitra. **Résultats :** Selon les premiers résultats de l'étude, plusieurs variables apparaissent associées au choix des mariages consanguins dans les deux régions étudiées. En effet, d'après l'analyse de régression logistique multivariée, la probabilité de pratique de cette forme de mariage est loin d'être aléatoire et dépend de plusieurs facteurs économiques, socio-culturels et démographiques. Ainsi, les femmes qui ont vécu l'enfance à la campagne présentent quinze fois plus de risques de vivre une union consanguine que leurs concœurs du milieu urbain ($p < 0,001$). En effet, la majorité des citadines qui sont en unions consanguines dans la région de Rabat-Salé-Zemmour-Zaer et celle du Gharb-Chrarda-Béni Hssen, ont déclaré avoir passé leur enfance à la campagne, respectivement 60 % et 84 %. D'ailleurs, les femmes qui se marient avant d'atteindre l'âge de 20 ans multiplient par cinq leur probabilité de vivre une alliance consanguine par rapport à celles qui se marient à l'âge de 30 ans ou plus ($p < 0,05$). Toutefois, chez les hommes, ces deux variables ne montrent pas d'effet indépendant. Les femmes ayant participé à l'étude, d'après les données de deux enquêtes, avaient en fait un risque augmenté de pratique des mariages consanguins déterminé par leur âge précoce d'entrée en première union, et leur milieu rural d'enfance. Par ailleurs, les deux enquêtes mettent en lumière une différence significative entre les populations des deux régions quant au risque de pratique des mariages consanguins. En effet, la population de la région du Gharb-Chrarda-Béni Hssen présente 72 % moins de risques de vivre ce type d'union comparativement à celle de la région de Rabat-Salé-Zemmour-Zaer ($p < 0,001$).

Mots-clés : choix du conjoint, mariage consanguin, Maroc.

■CO74 / 549. L'INTERVENTION DE L'ÉTAT DANS LES DÉCISIONS REPRODUCTIVES DES COUPLES

C. Bouffard (1), J. K. Godin (2), B. Bévière (3)

(1) Service de génétique, Département de pédiatrie, Faculté de médecine et des sciences de la santé de l'Université de Sherbrooke ; (2) Service de génétique, Département de pédiatrie, Faculté de médecine et des sciences de la santé de l'Université de Sherbrooke ; (3) Faculté de droit de Besançon, Université de Franche-Comté, France

Le diagnostic préimplantatoire est un protocole médical d'assistance à la procréation, alliant fécondation *in vitro* et diagnostic génétique. En plus de faire l'objet de dispositions et d'actions préventives spécifiques à la santé de l'enfant, il est soumis à la loi française de bioéthique relative au don et à l'utilisation des éléments et produits du corps humain, à l'assistance médicale à la procréation et au diagnostic prénatal. Inscrire dans une perspective de préservation de l'espèce humaine et de l'embryon, cette loi de bioéthique prône une attitude préventive face aux dérives eugénistes, consuméristes ou transformistes. Dans son ensemble, ce modèle est un exemple au niveau international. Toutefois, en privilégiant les modèles de famille et de couple traditionnels comme garantie du bien-être de l'enfant, cette législation et certaines de ses modalités d'application, peuvent contrevenir à des valeurs et des principes éthiques se rapportant au respect de la vie privée, à l'autonomie de patient(e)s, à la confidentialité des renseignements personnels et médicaux, ainsi qu'à l'équité en matière d'accès aux services de santé. Dans ce contexte, suite à une recherche sur les interactions des chercheur(e)s, médecins et patient(e)s français, dans les



centres accrédités pour le diagnostic préimplantatoire en France, nous avons analysé la portée éthique de l'intervention de l'État dans les décisions reproductives des couples qui optent pour le diagnostic préimplantatoire, à partir d'une perspective bioéthique nord-américaine. Sept sources de problèmes éthiques ont été identifiées : La discrimination limitant l'accès à un service de diagnostic prénatal basée sur 1) l'orientation sexuelle et 2) la conformité à un modèle traditionnel de couple, de famille et de vie commune. L'iniquité 3) entre les couples atteints ou porteurs de maladie génétique, selon que le diagnostic est fait sur l'embryon ou sur le fœtus, ainsi qu'entre 4) les personnes infertiles et celles qui sont à risque de transmettre des maladies génétiques. On peut aussi considérer que la loi porte atteinte à l'autonomie des patient(e)s et au respect de la confidentialité à cause 5) de l'ingérence de l'État dans la vie reproductive des couples et dans l'exercice de leur responsabilité parentale, 6) de l'intrusion des équipes médicales clinico-biologiques pluridisciplinaires dans la vie privée des couples et dans l'évaluation de leur conformité morale et 7) du partage des informations personnelles, médicales et génétiques entre un nombre inutilement élevé de personnes. Méthodologie : Recherche ethnographique : 3 mois d'observation participante en automne 2004 et 79 entretiens semi-dirigés. Conclusion : Sans modifier la loi, l'État pourrait contribuer à améliorer les conditions éthiques de la pratique du diagnostic préimplantatoire par la mise en place de mécanismes d'évaluation des processus décisionnels des équipes médicales clinico-biologiques pluridisciplinaires et de formation en matière d'éthique. Ces mesures pourraient permettre : 1) d'améliorer le fonctionnement de ces équipes, 2) de réviser la pertinence de certaines conditions d'acceptation pour le diagnostic préimplantatoire et 3) de déterminer un niveau de confidentialité qui respecterait mieux la personne sans outrepasser la loi.

Mots-clés : bioéthique, diagnostic préimplantatoire, diagnostic prénatal.

■CO75 / 201. L'ANNONCE D'UNE MALADIE GÉNÉTIQUE À L'ENFANT LUI-MÊME

M. Gargiulo (1), A. Herson (1), N. Angeard (1), A. Jacquette (2), D. Héron (2)

(1) Institut de Myologie. Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière ; (2) Département de Génétique et Cytogénétique de la Pitié-Salpêtrière, Paris, France

L'annonce d'une maladie neuromusculaire et de son origine génétique est rarement faite à l'enfant lui-même. Pourtant cette absence de parole en direction de l'enfant a des conséquences majeures sur le vécu de la maladie tout au long de son évolution. Une étude a mis en évidence que nombreux sont les médecins qui déclarent ne pas avoir pensé un dispositif d'annonce concernant l'enfant et qui disent s'y prendre différemment selon la situation. Ils soulignent l'absence de formation au cours des années universitaires, ainsi qu'un manque de temps suffisant pour y réfléchir dans leur pratique quotidienne (Aubert 2005). C'est la peur de nuire à l'enfant avec une vérité trop difficile à dire et à entendre qui inspire souvent le silence des adultes. Cependant, notre expérience clinique nous démontre que l'absence de parole adressée à l'enfant concernant sa maladie, le nom de celle-ci et son origine génétique, entraîne un sentiment de danger non tangible dont l'enfant doit se protéger par une sorte de gel de son activité imaginaire et de l'expression de ses affects. Si parler à l'enfant de sa maladie est essentiel, la manière de le faire l'est aussi. Dans ce sens il paraît important de s'adapter à l'enfant, selon son âge, ses connaissances, son état psychologique, son entourage, ainsi que son désir de savoir ou de ne pas savoir. Ceci est très important à respecter car une information peut avoir un impact très violent pour l'enfant lorsqu'il n'est pas prêt à l'entendre, notamment si elle concerne l'évolution de la maladie ou son pronostic. Concernant la temporalité de l'annonce, une étude réalisée dans notre unité (Herson 2005) montre que les enfants n'ont pas pu faire rétrospectivement un récit de l'annonce du diagnostic comme moment unique mais ont raconté plutôt des micro-annonces étalées dans le temps. Conclusion : il ne s'agit pas de « parler à l'enfant » mais de « parler avec l'enfant » de sa maladie et de l'origine génétique de celle-ci. Dans ce dialogue entre enfant-médecin, le but premier n'est pas de livrer une information, purement médicale ou scientifique, mais de se livrer à un partage de questions, d'informations et également d'émotions. Le dispositif d'annonce d'une maladie génétique à l'enfant lui-même devrait faire l'objet d'une réflexion commune dans les équipes de génétique médicale.

Mots-clés : annonce d'une maladie génétique, enfants, psychologie.

4

POSTERS

Conseil Génétique, Génétique et Société

■P1 / 37. CONSEILLER EN GÉNÉTIQUE – LE MÉTIER ET SON ACTUALITÉ

M.A. Voelckel

A. F. C. G. Département de Génétique Médicale CHU Timone Marseille, France

Le Master Professionnel de « Conseil en Génétique et Médecine prédictive » a permis de former les premiers Conseillers en Génétique en France, pendant l'année universitaire 2004-2005. En septembre 2007, ils sont 34 diplômés dont 23 en poste et 4 en promesse de poste. Avec les données de l'AFCG (Association Française des Conseillers en Génétique – professionnels et étudiants), nous proposons de montrer la pluridisciplinarité du recrutement, l'évolution de ce nouveau métier et le parcours mené pour sa valorisation. Nous discuterons des difficultés rencontrées pour que le décret d'application puisse être publié. Nous préciserons les modalités de sélection des étudiants : qualification, pré requis et leur nombre. Nous décrirons le rôle et les fonctions des conseillers en poste dans les différents services répartis dans tout le pays. Nous insisterons également sur l'action menée pour une intégration au niveau national, européen et international de ces nouveaux professionnels français.

Mots-clés : nouveau métier, valorisation, organisation.

■P2 / 251. ANNONCER, C'EST COMMENCER À SOIGNER : RÔLE DE L'INFIRMIÈRE DANS LE CADRE DE L'ANNONCE D'UNE MALADIE GÉNÉTIQUE

M.C. Olichon (1), L. Lazaro (1), L. Pasquier (1), C. de la Rochebrochard (1), C. Dugast (1, 2), H. Journal (1, 3), M. Roblin (1), S. Odent (1)

(1) Génétique Médicale-CHU de Rennes ; (2) CRLCC Rennes ; (3) Génétique médicale, CH de Vannes, France

Introduction : Infirmière dans un service de génétique, mon questionnaire concerne le moment de l'annonce de diagnostic ; comment les

médecins et les autres professionnels soignants affrontent-ils ce moment ? Méthodologie À l'aide de grilles d'entretiens et d'appels téléphoniques, le discours des familles, et des médecins ont été recueillis dans un service de génétique, et des contacts ont été pris avec le CRCM (patients atteints de mucoviscidose), le secteur d'oncologie pédiatrique et une structure extra-hospitalière l'ERI (espace de rencontre et d'information). Au total, 20 familles ont été sélectionnées, 10 ont pu être interrogées, une a refusé ; 7 médecins ont été interrogés, 1 de Paris, 6 de Rennes. Résultats : Les familles : Leurs mots pour exprimer ce moment de l'annonce sont : «douloureux, dur, difficile». L'attente du diagnostic est une période difficile, mais la relation avec le médecin est décrite avec des mots comme : «douceur, explications claires, rendez-vous rapide». Pendant l'annonce, enfant (souvent 2 parents) comme médecin sont accompagnés et ce moment est empreint «d'écoute, de douceur, d'apaisement et explications claires». L'après-annonce est une période de «pleurs, de besoin de rechercher et communiquer». Les familles ont globalement peu de suivi psychologique, et trouve du bénéfice dans le lien avec le médecin traitant et les consultations multidisciplinaires. Les médecins : L'expérience, la fréquence des annonces influencent ce moment, les mots sont : «difficile, douloureux, angoissants, onde de choc». L'avant-annonce, la consultation d'annonce sont des moments pour lesquels ils se préparent. Le besoin d'échanger avec l'équipe, de reprendre contact avec les familles se révèle, ainsi que la difficulté de gestion des émotions. Il y a «besoin de temps pour laisser les émotions à l'hôpital». Autres secteurs : Le service accueillant les patients atteints de mucoviscidose apporte une expérience riche en matière de gestion de l'annonce de diagnostic. De même, l'oncologie pédiatrique bénéficie de moyens obtenus par le plan cancer pour l'accompagnement au moment du diagnostic. Des structures comme l'ERI se mettent en place et soutiennent les patients. Discussion Pour les familles, la mauvaise nouvelle réalise une rupture. Elles ont besoin d'une relation solide avec le médecin, de qualité pour le vécu de ce moment et enfin de communication après l'annonce. Pour les médecins, l'expérience aide, l'annonce est un exercice difficile, «don» de la vérité. Les conditions de l'attente et la qualité de l'après-annonce contribuent à la réussite du suivi. Le besoin



d'échanger, pour le bien-être du médecin, permet un équilibre personnel et un travail d'équipe. Rôle de l'infirmier(e) : Son rôle se détache à travers la notion de temporalité, de collaboration médicale et d'accompagnement des familles. Sa présence est logique pendant cette consultation, pour assurer le lien entre les différents partenaires. Sa présence empathique matérialise le fait qu'une équipe est disponible pour la famille. Son rôle de soutien du médecin n'est pas non plus à négliger. Conclusion : L'annonce est un moment complexe dans la pratique de la génétique clinique. Le soignant a sa place auprès des familles, des médecins, dans le dispositif d'annonce. Ce travail devrait permettre une meilleure prise de conscience de ce moment dans l'équipe, et ouvre sur d'autres perspectives : accompagnement de la fratrie et de la famille dans son nouveau rôle « d'annonceur ». La souffrance des médecins doit aussi être considérée au sein de l'équipe.

Mots-clés : annonce du handicap, infirmière, conseil génétique.

■P3 / 316. LE DÉLAI DE RÉFLEXION EN MÉDECINE PRÉDICTIONNELLE EST-IL OPPORTUN QUELS QUE SOIENT LA PATHOLOGIE ET LE BÉNÉFICE MÉDICAL ESCOMPTÉ ?

K. Lahlou-Laforet (1), A.-P. Gimenez-Roqueplo (2), M.C. Babonneau (3), A. Herson (3)(4), C. Roygnan (1), M. Gargiulo (3)

(1) Service de Psychologie Clinique et Psychiatrie de Liaison, Hôpital Européen Georges Pompidou (AP-HP) ; (2) Département de Génétique, Hôpital Européen Georges Pompidou (AP-HP) ; (3) Département de Génétique, Hôpital de la Salpêtrière (AP-HP) ; (4) Institut de Myologie, Hôpital de la Pitié-Salpêtrière (AP-HP), Paris, France

La collaboration entre généticiens, psychologues et psychiatres est dorénavant classique dans les consultations de génétique médicale. Après quelques années de fonctionnement et d'expériences très diverses, une mise au point nous paraît nécessaire, pour mieux définir les attentes en matière de consultation psychologique au sein de ces consultations. En effet, le protocole du test présymptomatique de la maladie de Huntington a servi de paradigme pour la mise en place de diverses équipes de consultation pluridisciplinaire, mais les pathologies pour lesquelles un test génétique est possible sont en réalité très différentes en termes de probabilité de survenue, de gravité, ou encore de possibilités de prévention (champs de la cancérologie, maladies neuromusculaires, cardiopathies...). L'apport du psychologue et du psychiatre peut être particulièrement précieux d'une part pour aider le demandeur du test dans son processus décisionnel (faire ou ne pas faire le test), d'autre part, pour lui permettre d'anticiper les conséquences du résultat du test qu'il soit favorable ou défavorable (qu'est-ce que cela changera dans sa vie ?) et de s'y préparer. La part respective de ces deux objectifs de l'entretien psychologique dépend intimement du bénéfice médical du test. Dans cette perspective l'aide à la prise de décision de faire ou de ne pas faire le test est capital dans les contextes cliniques qui ne comportent pas à l'heure actuelle d'implications thérapeutiques préventives. À l'inverse, l'accent sera mis sur l'anticipation du résultat du test génétique lorsque de telles implications existent. Ces considérations ont donc des conséquences pratiques sur le délai de réflexion proposé au demandeur du test, étape classiquement nécessaire entre l'information et la prise de sang, mais dont la durée et la systématisation nous paraissent devoir être modulées, notamment en fonction de l'existence ou non d'une prévention pour la pathologie en question. Ce travail collaboratif exposera la particularité du rôle de l'entretien psychologique dans plusieurs maladies génétiques pour lesquelles un test présymptomatique est possible.

Mots-clés : test présymptomatique, bénéfice escompté, délai de réflexion.

■P4 / 318. IMPACT PSYCHOLOGIQUE DU DIAGNOSTIC GÉNÉTIQUE DU PARAGANGLIOME/PHÉOCHROMOCYTOME HÉRÉDITAIRE : L'EXPÉRIENCE DE LA CONSULTATION MULTIDISCIPLINAIRE DE L'HÔPITAL EUROPÉEN GEORGES POMPIDOU

K. Lahlou-Laforet (1), S.M. Consoli (1), X. Jeunemaitre (2), A.-P. Gimenez-Roqueplo (2)

(1) Service de Psychologie Clinique et Psychiatrie de Liaison, Hôpital Européen Georges Pompidou (AP-HP) ; (2) Département de Génétique, Hôpital Européen Georges Pompidou (AP-HP), Paris, France

Introduction : Les paragangliomes et les phéochromocytomes sont familiaux dans 25 % des cas. Des mutations sur les gènes *SDHD*, *SDHB*, *SDHC*, *VHL*, *RET* ou *NF1* ont été identifiés. Le mode de transmission est autosomique dominant. Les formes familiales de la maladie sont plus précoces et s'accompagnent d'un risque de récurrence voire de malignité. Le diagnostic génétique chez les cas index et chez les apparentés permet un dépistage et un traitement chirurgical précoce des tumeurs. Objectif : Évaluer l'impact émotionnel du protocole de dépistage génétique de la

consultation multidisciplinaire d'oncogénétique dédiée aux paragangliomes, phéochromocytomes et autres tumeurs endocrines. Méthodes : Une première évaluation de l'anxiété trait et état (échelle STAI de Spielberger), de la dépression (BDI à 13 items de Beck), ainsi que du risque subjectif d'être porteur de la mutation rapporté par le sujet, est faite le jour de la première consultation avec le généticien. Le risque subjectif est évalué par une question portant sur l'intuition d'être plutôt porteur ou plutôt non porteur de la mutation. Une deuxième évaluation de l'anxiété-état, de la dépression ainsi que de l'impact traumatique du résultat (IES-R) a lieu le jour de la confirmation du résultat génétique (troisième consultation avec le généticien). Résultats : Nous rapportons des résultats sur 29 demandeurs de test dont 22 sujets ont déjà obtenu un résultat génétique confirmé (14 cas index, 8 apparentés). Le test s'est avéré positif chez 12 sujets et négatif chez 10 sujets. Le score d'humeur dépressive lors de la demande du test est corrélé positivement au nombre d'enfants du demandeur ($\rho = 0,40$; $p = 0,03$). Les scores d'anxiété-état sont stables entre la première et la deuxième évaluation (respectivement $32,2 \pm 10,5$ et $33,3 \pm 9,3$) ainsi que les scores de dépression (respectivement $2,55 \pm 3,08$ et $1,93 \pm 1,96$). Ces scores ne sont pas liés au contexte du test (diagnostique ou présymptomatique). Les scores d'anxiété-état, de dépression et d'impact traumatique ne dépendent pas du résultat du test. Treize sujets se considéraient comme intuitivement porteurs de la mutation lors de la première évaluation. L'impact traumatique consécutif au résultat est significativement lié à la non-concordance entre le risque subjectif d'être porteur de la mutation et le résultat définitif du test génétique, en particulier chez les sujets s'attendant à être porteurs de la mutation et dont le résultat du test s'avère négatif ($p < 0,05$). Conclusion : Ces résultats incitent à évaluer de façon systématique le risque subjectif d'être porteur de la mutation et à proposer une consultation systématique à distance du résultat, en particulier pour les patients dont le résultat génétique est en contradiction avec le risque subjectif initial.

Mots-clés : impact psychologique, dépistage génétique, tumeurs endocrines.

■P5 / 362. RÉARRANGEMENTS COMPLEXES DU GÈNE DYSTROPHINE ET RECOMBINAISON : PIÈGE TECHNOLOGIQUE POUR LE CONSEIL GÉNÉTIQUE ET LE DIAGNOSTIC PRÉNATAL

D. Méchin (1), D. Thorel (1), C. Saquet (1), M. Cossée (2), I. Creveaux (3), S. Tuffery-Giraud (1), M. Claustres (1), P. Khau Van Kien (1)

(1) Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHU de Montpellier/INSERM U827 ; (2) Laboratoire de diagnostic génétique, CHU de Strasbourg ; (3) Biologie Moléculaire, CHU de Clermont-Ferrand, France

Introduction : Les grands réarrangements du gène dystrophine (2/3 des cas de dystrophie musculaire de Duchenne (DMD) et 80 % des cas de Becker (DMB)), peuvent être désormais plus finement caractérisés, grâce aux technologies qui rendent possible l'analyse exhaustive des 79 exons et des promoteurs du gène dystrophine. Ces techniques permettent désormais de détecter des réarrangements dont la complexité n'était pas repérable par les technologies ciblées sur les délétions et/ou duplications les plus fréquentes. Nous illustrons ici le danger potentiel d'une caractérisation incomplète pour le conseil génétique et le DPN. Sujets et Méthodes : Collecte rétrospective au laboratoire de référence de Montpellier de tous les cas index étudiés par MLPA (Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification) et présentant un grand réarrangement du gène dystrophine. Dans tous les cas, ces grands réarrangements ont été précisément délimités et validés par l'utilisation d'au moins une deuxième méthode (PCR semi-quantitative, PCR multiplex, analyse de microsatellites...). Résultats 5 réarrangements complexes ont été identifiés parmi 63 cas index présentant une délétion ou une duplication étudiés par MLPA. Ces 63 cas sont issus d'une cohorte de 186 cas index porteurs d'une délétion : 142 cas ou d'une duplication : 44 cas. Ces réarrangements sont : 1 – une duplication non-contigüe des exons 45 à 47 puis 53 à 55, identifiée chez un enfant atteint de DMD et héritée de sa mère, 2 – une duplication non-contigüe du promoteur cérébral (Dp427c) et de l'exon 2, identifiée chez un enfant DMD sur le chromosome d'origine grand-paternelle, de novo chez sa mère, 3 – une délétion non-contigüe des exons 5 à 7 puis 10 et 11 survenue de novo chez un cas index présentant une forme intermédiaire de dystrophinopathie, 4 – une triplification des exons 2 à 7 chez un cas index DMD, 5 – une triplification des exons 19 à 51 chez deux frères DMD, héritée de leur mère. L'étude de marqueurs microsatellites, objective une recombinaison dans la région remaniée (intron 44) chez un des enfants : présence des deux allèles maternels en 3' de la recombinaison. Discussion : Nos données indiquent une fréquence non négligeable de réarrangements complexes du gène dystrophine dans les familles DMD/DMB. Nous ne pouvons cependant évaluer celle-ci précisément compte tenu d'un biais de recrutement du à

notre activité réseau de deuxième intention. Il nous semble cependant important d'attirer l'attention sur le danger majeur que peuvent représenter ces réarrangements complexes pour le conseil génétique et le diagnostic prénatal : les méthodes basées sur un criblage partiel et ciblé des délétions/duplications fréquentes n'ont pas permis par le passé de révéler leur complexité chez certains patients. Ce résultat incomplet sur le plan moléculaire peut avoir des conséquences importantes pour la détermination du statut des femmes apparentées et pour la réalisation du DPN. En effet, le taux élevé de recombinaisons (notamment au niveau de certains points chauds de recombinaison comme dans les cas 1, 3 et 5) peut conduire à un résultat erroné en ne prenant en compte qu'une seule des régions remaniées. Plus accessoirement, la présence de 2 allèles maternels sur un prélèvement fœtal masculin (cf. cas n° 5), peut-être source de confusion. Conclusion : L'identification de réarrangements complexes à une fréquence probablement non négligeable dans le gène DMD, impose de reconsidérer les approches du diagnostic moléculaire des dystrophinopathies et justifie que des études exhaustives soient réalisées non seulement chez les cas index mais également chez leurs apparentées, afin d'assurer un conseil génétique fiable et de limiter les risques prévisibles d'erreurs, notamment lors du DPN.

Mots-clés : réarrangements complexes, dystrophine, diagnostic prénatal.

■P6 / 369. IMPACT DU CONSEIL GÉNÉTIQUE SUR LES DÉCISIONS DE RECOURS

J.M. Rival, C. Lecaigec, M. Boceno, B. Isidore, A. David, S. Schmitt
Service de génétique médicale CHU-Nantes, France

L'augmentation importante, voire excessive du nombre d'amniocentèses réalisées en vue du diagnostic prénatal chromosomique n'est plus à démontrer. Elle est principalement liée à la généralisation des tests de dépistage biologique de la trisomie 21 au 2^e trimestre. La sous-information des patientes ayant recours à ce diagnostic a été soulignée. Nous avons repris 727 dossiers de consultation de patientes dont l'indication d'une amniocentèse avait été posée par le médecin et/ou le gynécologue traitant dans 212 cas pour âge maternel égal ou supérieur à 38 ans, dans 440 cas pour un test de dépistage biologique de la trisomie 21 positif. Dans tous les cas le risque est apprécié en fonction de l'âge, de la mesure de la clarté nucale à 12 SA et du dosage des marqueurs sériques maternels. À l'issue de la consultation, lorsqu'un délai de réflexion est demandé, un courrier est adressé le lendemain aux correspondants ainsi qu'à la patiente. Dans 329 cas sur 727 soit 45,25 % la réalisation d'une amniocentèse est refusée après information. Ce taux est passé de 39 % en 2005 à 49 % en 2007. Il en est ainsi pour 45 % des patientes âgées de 38 ans et plus. Ce taux varie peu selon les années étudiées. 42 % des patientes ayant un test de dépistage biologique positif décident également de ne pas réaliser un diagnostic prénatal. Ce taux passe de 34,4 % en 2005 à 47,5 % en 2007. 69 % des patientes adressées en vue d'une amniocentèse pour signes échographiques mineurs de trisomie 21 la jugent inutile après estimation du risque prenant en compte tous les paramètres à notre disposition. Il en est de même pour 53 % des femmes ayant déjà eu une grossesse aneuploïde. Toutes les issues de grossesse sont connues, aucun cas de trisomie 21 ou autres aneuploïdies n'est à déplorer. Les facteurs décisionnels sont sans doute multiples. L'influence de l'information et de sa compréhension sont certainement déterminants.

Mots-clés : information diagnostic prénatal trisomie 21.

■P7 / 386. MUTATION C3634R DU PROTOONCOGÈNE RET ET DIAGNOSTIC MOLÉCULAIRE DANS UNE GRANDE FAMILLE MAROCAINE DE NÉOPLASIE ENDOCRINIENNE MULTIPLE DE TYPE 2A

B. Benazzouz (1), A. Hafidi (2), S. Benkhira (1), A. Chraïbi (2), A. Kadiri (2), L. Hilal (1)

(1) Laboratoire de Génétique et de Physiologie Neuroendocrinienne, Équipe « Bases Moléculaires des Maladies Génétiques », UFR de Génétique et Biologie Moléculaire, Université Ibn Tofail, Faculté des Sciences, BP 133, Kénitra 14000, Maroc ; (2) Service d'Endocrinologie, Diabétologie et Nutrition, CHU Ibn Sina, UFR d'Endocrinologie, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Rabat, Maroc

Introduction : La néoplasie endocrinienne multiple (NEM) 2A représente une maladie héréditaire caractérisée par un cancer médullaire de la thyroïde (CMT), un phéochromocytome et/ou une hyperparathyroïdie. Elle a été associée à des mutations germinales du proto-oncogène RET. Le dépistage moléculaire permet l'identification des sujets à risque de développer la NEM 2A pour lesquels une thyroïdectomie prophylactique et des tests biochimiques à titre préventif, peuvent être proposés. Matériel et Méthodes : L'analyse des exons 8, 10, 13, 14, 15 et 16 de RET a été

réalisée par PCR et séquençage direct d'ADN. Résultats : Dans ce travail, nous décrivons une famille de NEM 2A qui a été longtemps considérée comme un cas sporadique de CMT. Nous avons tout d'abord identifié la mutation C634R du gène RET chez le propositus, puis nous avons identifié 3 sujets porteurs de la mutation qui se sont avérés cliniquement atteints, et 3 enfants porteurs asymptomatiques. Un conseil génétique et une prise en charge adéquate des porteurs de la mutation ont été proposés. Conclusion : Ce travail confirme que le dépistage moléculaire des mutations du gène RET, dans le but de détecter les sujets à risque, est techniquement possible au Maroc.

Mots-clés : néoplasie endocrinienne multiple de type 2, cancer médullaire de la thyroïde, proto-oncogène RET.

■P8 / 469. IMPACT ÉMOTIONNEL DE L'ANNONCE DU DIAGNOSTIC DE L'INVERSION DE SEXE

A. Amouri (1, 4), A. Zhioua (3), O. Kilani (1), I. El Kamel (1), O. Kacem (1), F. Zhioua (3), N. Bouayed Abdelmoula (2)

(1) Laboratoire de Cytogénétique, Institut Pasteur, Tunis, Tunisie ; (2) Laboratoire d'Histologie Embryologie Faculté de Médecine de Sfax, Tunisie ; (3) Unité de PMA, Hôpital Aziza Othmana, Tunis ; (4) Unité de recherche EMGOOD : Étude des Maladies Orphelines d'Origine Génétique, Institut Pasteur de Tunis, Tunisie

L'annonce du diagnostic constitue, pour tout malade, et plus particulièrement pour les patients infertiles, une phase nouvelle initiatrice et organisatrice de la relation médecin malade. C'est important que le médecin diffuse une information claire et progressive, respectueuse du sujet, une information qui aide le malade à trouver un sens à ce qui lui arrive. La question de l'information du malade infertile est traitée souvent sous un angle polémique : faut-il dire ou non la vérité au patient chez qui le sexe génétique ne concorde pas avec le sexe phénotypique ? Nous nous proposons ici, d'étudier les principaux aspects de l'information du malade au cours du conseil génétique prodigué aux patients porteurs d'une réversion de sexe. Comment informer ? Il n'y a pas de conduite à tenir mais il est possible de signaler quelques recommandations, surtout dans le contexte d'un pays arabo-musulman où la fertilité est synonyme de réussite sociale.

Mots-clés : inversion du sexe, conseil génétique, infertilité.

■P9 / 488. DÉLÉTION HOMOZYGOTE PARTIELLE DE L'INTRON 6 DU GÈNE SMN1 À L'ORIGINE D'UN DIAGNOSTIC ERRONÉ DE DÉLÉTION HOMOZYGOTE DE L'EXON 7 : UN PIÈGE POUR LE CONSEIL GÉNÉTIQUE

A. Contrain (1), S. Drunat (2), M. Cossée (3), A. Reeber (3), P. Soichot (4), A. Masurel-Paulet (1), J.V. De Monléon (5), P. Sagot (6), F. Huet (5), L. Olivier-Faivre (1), C. Thauvin (1)

(1) Service de Génétique Médicale, CHU de Dijon ; (2) Laboratoire de Biochimie Génétique, Hôpital Robert-Debré Paris ; (3) Laboratoire de Diagnostic Génétique, Strasbourg ; (4) Service de Neurologie Clinique, Hôpital général Dijon ; (5) Service de Pédiatrie, CHU de Dijon ; (6) Service de gynécologie-obstétrique, CHU de Dijon, France

Le syndrome de Werdnig-Hoffman est une maladie génétique de transmission autosomique récessive affectant les motoneurones de la corne antérieure de la moelle épinière. Les enfants atteints décèdent généralement, avant l'âge d'un an, par détresse respiratoire. Cette pathologie est dans 98 % des cas secondaire à une délétion homozygote de l'exon 7. Nous décrivons ici le cas d'une petite fille, d'origine maghrébine, de parents consanguins, atteinte du syndrome de Werdnig-Hoffman, et décédée à l'âge de 6 mois. Quatre frères et sœurs de la mère étaient décédés d'amyotrophie spinale infantile, confirmée à l'époque par EMG, et également dans le contexte d'une union consanguine. Une première analyse moléculaire identifiait une délétion homozygote de l'exon 7 confirmant le diagnostic. La recherche d'hétérozygotie réalisée ensuite chez les parents dans un autre laboratoire réalisant ce type d'analyse ne retrouvait pas de délétion hétérozygote de l'exon 7. L'étude moléculaire a alors été reprise chez le cas index, en utilisant des amorces de PCR différentes de celles utilisées par le premier laboratoire ayant fait le diagnostic, et ne retrouvait pas la délétion homozygote de l'exon 7 initialement identifiée. Une nouvelle analyse par long-range PCR du gène SMN1 a mis en évidence une délétion homozygote de l'intron 6, présente à l'état hétérozygote chez les parents. Cette mutation n'ayant jamais été décrite, une étude indirecte par marqueurs microsatellites de la région 5q13 a été entreprise dans la famille (parents, grands-parents maternels) afin d'étudier la coségrégation de cette mutation et a été en faveur de son caractère délétère. Le résultat du premier laboratoire en faveur d'une délétion homozygote de l'exon 7 du gène SMN1 s'explique par la présence de l'amorce PCR dans la délétion de l'intron 6. Cette situation confirme 1) le caractère indispensable de la confirmation



de l'hétérozygotie chez les parents une fois le diagnostic moléculaire établi dans un but de conseil génétique, et 2) la nécessité pour le laboratoire qui effectuera ces analyses de connaître les résultats de l'étude génétique du cas index et la technique utilisée avant d'envisager une étude familiale. Elle souligne également la complexité de l'interprétation des résultats des études moléculaires en cas de grands réarrangements.

Mots-clés : amyotrophie spinale infantile, *SMN1*, délétion intron 6.

■P10 / 568. PIÈGES DU CONSEIL GÉNÉTIQUE AU COURS DE LA COEXISTENCE DE DEUX GÉNOPATHIES

I. Chelly, L. Kraoua, I. Ouertani, H. Jilani, F. Maazoul, L. Ben Jemaa, M. Chaabouni, R. M'rad, H. Chaabouni

Service des maladies congénitales et héréditaires EPS Charles Nicolle Tunis Tunisie

La coexistence de pathologies génétiques dans une même famille peut poser de délicats problèmes de conseil génétique. Les avancées en matière de diagnostic apportées par la biologie moléculaire peuvent aider à éviter ces pièges de conseil génétique à condition que leur présence ait été dépistée et leur confirmation diagnostique réalisée. Nous rapportons dans ce travail 4 situations de coexistence de deux pathologies génétiques, colligées à notre consultation de conseil génétique à l'hôpital Charles Nicolle à Tunis pour illustrer ces pièges. Observation 1. Un couple apparenté ($f = 1/16$) a donné naissance à un enfant qui présente une polykystose rénale autosomique récessive. L'enquête génétique est par ailleurs sans particularités. Une étude moléculaire a pu être réalisée chez ce patient et a permis de mettre en évidence une mutation ponctuelle du gène *PKHD1*. Un diagnostic prénatal a été alors proposé au couple lors de la grossesse suivante et a permis de prédire un fœtus hétérozygote pour la mutation et donc phénotypiquement sain. Ceci a été confirmé à la naissance de l'enfant, qui était cependant porteur d'un albinisme occulo-cutané. Observation 2. Un couple apparenté ($f = 1/16$) consulte pour conseil génétique car il a un neveu atteint d'une amyotrophie spinale type II qui fut confirmée par la mise en évidence d'une délétion de l'exon 7 du gène *SMN*. L'enquête génétique révèle qu'un autre cousin de l'enfant malade présenterait des signes cliniques similaires. Une étude moléculaire a été alors réalisée chez ce dernier, cependant elle est revenue négative. Les examens cliniques et histologiques chez ce patient ont permis de suspecter une dystrophie musculaire des ceintures. Le diagnostic fut confirmé par la mise en évidence de la mutation de l'521 à l'état homozygote du gène codant pour la gamma sarcoglycane. Le couple était à risque pour les deux pathologies. Observation 3. Un couple libyen apparenté ($f = 1/64$) a eu un premier enfant atteint de Dystrophie Musculaire de Duchenne. Le diagnostic a été confirmé par la mise en évidence d'une délétion des exons 45 à 48 du gène de la dystrophine. À la grossesse suivante, le couple a eu une fille décédée en bas âge. La 3^e grossesse a abouti à la naissance d'une fille chez qui les différentes investigations cliniques et moléculaires ont posé le diagnostic d'AMS de type I. elle est décédée avant 1 an de vie. La 4^e grossesse est une grossesse gémellaire dizygote. Un diagnostic prénatal a été réalisé et a montré que la fille était indemne d'AMS et le garçon était indemne de la DMD et de l'AMS. Observation 4. Un couple apparenté ($f = 1/16$) a consulté pour conseil génétique car il a eu un premier enfant alors âgé de 2 ans atteint de xeroderma Pigmentosum (XP). L'enquête génétique révèle qu'un cousin lointain du couple a aussi un enfant atteint d'XP. À la grossesse suivante, un diagnostic anténatal par étude de la réparation de l'ADN des amniocytes en culture a été réalisé. Il a permis de conclure que le fœtus de sexe féminin est indemne d'XP, ce qui a été confirmé à la naissance. Mme a eu une troisième grossesse 9 mois après cette naissance, un second diagnostic prénatal a été réalisé et a permis de montrer que le fœtus était de sexe masculin et indemne d'XP. Vers l'âge de 8 à 9 ans les deux premiers enfants (le garçon atteint d'XP et la fille saine) développent un syndrome myopathique. Conclusion. Pour la fiabilité du conseil génétique, il est indispensable de préciser les antécédents familiaux et de confirmer le diagnostic chez chaque sujet atteint afin de ne pas méconnaître la coexistence de plusieurs affections génétiques dans une même famille.

Mots-clés : conseil génétique, comorbidité, consanguinité.

■P11 / 586. PROJET-PILOTE SUR L'ÉLABORATION DE DOCUMENTS DESTINÉS À LA DIFFUSION DE L'INFORMATION FAMILIALE EN CAS DE DIAGNOSTIC D'UNE ANOMALIE GÉNÉTIQUE GRAVE

S. Sigaudy (1), M.-A. Voelckel (1), P. Malzac (1)(2), N. Philip (1) et l'AFCG (3)

(1) Département de génétique médicale-CHU la Timone, Marseille ; (2) Espace Ethique Méditerranéen, CHU la Timone, Marseille, France ; (3) Association Française des Conseillers en Génétique, professionnels et étudiants

La loi du 6 août 2004 relative à la bioéthique a introduit la procédure dite « de l'information médicale à caractère familial », en cas de diagnostic d'anomalie génétique grave faisant courir un risque à la famille d'une personne concernée par un tel diagnostic et susceptible soit d'une prévention soit de soins. Le texte de l'Article L. 1131-1 prévoit que : « L'information communiquée est résumée dans un document signé et remis par le médecin à la personne concernée, qui atteste de cette remise. Dans ce cas, l'obligation d'information à la charge du médecin réside dans la délivrance de ce document à la personne ou à son représentant légal ». Le médecin généticien et/ou le conseiller en génétique a donc en charge l'élaboration et la remise d'un tel document. Dans le cadre du Master de conseil en génétique et médecine prédictive, nous avons engagé une discussion sur ce point avec les futurs conseillers en génétique. La première réflexion était qu'en l'absence de production de ce document, la responsabilité de la personne donnant le conseil génétique pourrait être engagée. Cependant, il est rapidement apparu que cette obligation légale, loin d'être une contrainte apportait une amélioration significative au conseil génétique. Les bénéfices attendus sont multiples : – le fait de disposer d'informations claires et écrites aide significativement les personnes concernées à entamer le discours avec leurs apparentés et évite la transmission de fausses informations – ce document écrit, s'il est suffisamment explicite, peut être transmis par voie postale, en cas de conflit familial, par exemple. Nous avons donc travaillé à l'élaboration de plusieurs documents-types sur des pathologies relativement fréquentes pour lesquelles des mesures de prévention ou de soin peuvent être proposées comme le syndrome de l'X fragile, la dystrophie myotonique de Steinert, la maladie de Fabry. Chaque fiche-type peut être adaptée au contexte familial. Nous présenterons ces exemples.

Mots-clés : information médicale, caractère familial, document.

■P12 / 656. DÉMÉTHYLATION DE LA RÉGION PROMOTRICE DU GÈNE *H19* CONFIRMANT UN SYNDROME DE SILVER-RUSSELL CHEZ UNE JEUNE ADULTE DE 28 ANS : ÉVOLUTION ET CONSEIL GÉNÉTIQUE

D. Martin-Coignard (1), C. Gicquel (2), Y. Le Bouc (2), I. Netchine (2), S. Rossignol (2)

(1) *UF de Génétique CH Le Mans ; (2) Laboratoire d'explorations fonctionnelles endocriniennes, Hôpital Armand-Trousseau Paris, France*

Le syndrome de Silver-Russell (OMIM 180860) fait partie des retards de taille ante et post natus les plus sévères. Il associe en outre une dysmorphie caractéristique, une asymétrie de croissance corporelle, des anomalies des extrémités en particulier une brachydactylie avec clinodactylie des 5^{es} doigts. Nous rapportons le cas d'une jeune adulte de 28 ans venue consulter pour connaître le risque de transmission à sa descendance de sa propre pathologie. Cette jeune femme née à terme présentait un RCIU sévère : PN : 1 400 gr (– 3 DS), T : 42 cm (– 3 DS), PC : 30 cm (– 4 DS) alors que sa mère avait pris 30 kg durant la grossesse. Elle a deux sœurs plus jeunes de taille normale (1 m 60 pour l'une et 1 m 65 pour l'autre) Sa croissance a été marquée par une asymétrie de longueur des membres portant sur l'hémicorps droit et nécessitant un allongement du fémur droit de 4,5 cm par la technique d'Ilizarov. Cette jeune femme qui n'a pas été traitée par hormone de croissance mesure 1 m 44 pèse 40 kg, PC 50,5 cm pointures de chaussure 33 à droite, 32 à gauche. Les premières règles sont apparues à l'âge de 16 ans. La scolarité lui a permis d'obtenir un CAP petite enfance. Dysmorphie associant un front grand et bombé, des sclérotiques bleutées, un visage triangulaire est et étroit, un menton pointu. Brachydactylie surtout marquée au niveau du 5^e doigt avec clinodactylie. Le diagnostic de Syndrome de Silver-Russell (SRS) est suspecté et l'analyse de la région 11p15 a permis de mettre en évidence une déméthylation de la région promotrice du gène *H19*, qui est associée à une déméthylation du centre d'empreinte (ICR1) du domaine IGFII/H19 (domaine télomérique de la région 11p15) (Gicquel C. *et al.* Nature Genet 2005 ; 37 : 1003-1007) Les causes moléculaires du SRS sont hétérogènes : environ 10 % des cas sont en rapport avec une disomie maternelle du chromosome 7. Plus de 50 % des cas sont en rapport avec une épimutation en 11p15 (perte de méthylation d'ICR1 sur l'allèle paternel), anomalie distribuée en mosaïque, dont le mécanisme n'est pas élucidé. Netchine I. *et al.* (J Clin Endocrinol Metab 2007 ; 92 : 3148-54) Le conseil génétique s'attachera à rassurer cette patiente qui présente certainement un risque très faible de transmettre ce SRS à sa descendance. Risque qui ne peut pas être complètement éliminé puisque l'on ne connaît pas le mécanisme de survenue de ces anomalies épigénétiques (accidentel ou génétique ?) L'intérêt de cette observation est de détailler le phénotype clinique d'un sujet adulte porteur d'un SRS non traité par hormone de croissance ce qui est très rare) et de s'appuyer sur les nouvelles bases moléculaires pour rassurer sur un risque de transmission très faible de cette pathologie.

Mots-clés : syndrome de Silver-Russell, région 11p15, épigénétique.

■P13 / 671. BILAN ET PERSPECTIVES D'UNE RECHERCHE SYSTÉMATIQUE DE MALADIES GÉNÉTIQUES DANS UNE POPULATION D'ADOLESCENTS ET DE JEUNES ADULTES HOSPITALISÉS EN PSYCHIATRIE

S. Lapuyade (1), J. Lena (2)

(1) Hôpital de Jour Santos Dumont 25 Villa Santos Dumont 75015 Paris ; (2) Hôpital Necker-Enfants Malades, Département de Génétique

Introduction : Nous souhaitons présenter un travail de collaboration originale (1998-2007) entre le Service de Génétique Médicale de l'Hôpital Necker (Pr A. Munnich) et un groupe de 3 Hôpitaux de Jour et 2 structures médico-sociales psychiatriques d'Ile de France. Il porte sur 155 patients âgés de 14 à 24 ans. Au cours de ces huit dernières années les généticiens se sont associés aux psychiatres pour proposer systématiquement des consultations à l'ensemble des patients hospitalisés sans autre critère d'inclusion que cette appartenance. Consultations bi-disciplinaires communes, sur place, accompagnées d'une articulation au long cours des équipes autour du suivi des patients et des dossiers. Ses objectifs ont été – l'identification de maladies génétiques associées aux pathologies psychiatriques (troubles envahissants du développement, retards mentaux, autismes) – l'actualisation, la mise à niveau des investigations somatiques et le réinvestissement de cette dimension en psychiatrie – l'articulation pratique des pratiques professionnelles entre disciplines – l'intégration de l'accompagnement psychique et physique des patients et des familles par les deux équipes étroitement associées (génétique – psychiatrie – psychothérapie – pédagogie – éducation). Méthode : Association aussi étroite que possible entre les praticiens, passant par un travail commun sur les points suivants : – rencontres et visites préalables mutuelles – information collective des équipes psychiatriques et des familles sur place puis reprise éventuelle des questions suscitées, individuellement – consultations en binôme (voire associant les référents éducatifs et les psychothérapeutes) sur place dans le cadre familial aux patients et aux familles – suivi systématique des dossiers (staffs communs) au long cours avec réactualisation périodique – mise en place d'un groupe dédié de coordination et de centralisation (Interface Psychiatrie-Génétique) avec le concours de l'ARH d'Ile de France – consultations de rendu en binôme. Le choix d'un unique critère d'inclusion : l'hospitalisation dans un des lieux de soins impliqués, a visé un double objectif : d'une part conférer un caractère démonstratif et exemplaire à cette exploration en n'accordant aucune place à des choix d'indications qui n'auraient pu être que le fait des psychiatres sur des bases sémiologiques forcément approximatives ou subjectives (ce d'autant qu'il est rapidement apparu aux généticiens que la systématisation des explorations pouvait être féconde)*, d'autre part offrir conformément aux prescriptions légales un égal accès à l'investigation diagnostique et à l'information *a posteriori* à une population dont nous avons tout lieu de penser (ce que confirme nos résultats) qu'elle en avait été abusivement exclue. Résultats : Sur 155 patients hospitalisés ayant accepté la consultation (8 refus) 32 diagnostics d'atteinte génétique ont pu être portés ou confirmés (5). 23 atteintes différentes ont pu être identifiées, seul l'X Fragile se présente dans 9 cas (dont plusieurs connus antérieurement) chacune des autres étant unique dans la population investiguée. La durée qui a séparé la 1^{re} consultation de l'obtention du diagnostic s'est étirée entre l'immédiat et 7 ans et demi. Au plan des pratiques psychiatriques, le résultat en terme de prise de conscience, de mobilisation dans ces équipes elles-mêmes a été surprenant. L'intérêt pratique des psycho-pédagogues, des éducateurs et des psychothérapeutes pour les aspects spécifiques des phénotypes de comportement, autant qu'ils soient connus, de ces pathologies a entraîné des modifications notables de comportement et d'attente, interagissant avec l'intériorisation par les patients eux-mêmes d'une représentation modifiée de leur souffrance

Mots-clés : partenariat généticiens-psychiatres, troubles envahissants du développement, phénotypes psychiatriques.

■P14 / 682. RÔLES COMPLÉMENTAIRES DE L'HISTOLOGIE ET DE LA BIOLOGIE MOLÉCULAIRE DANS LE DIAGNOSTIC D'UNE MYOPATHIE NÉONATALE SÉVÈRE : IMPACT SUR LE CONSEIL GÉNÉTIQUE

S. Moortgat (1, 2), C. Verellen-Dumoulin (2), P. Delrée (2), A. Destrée (2), J.-P. Langhendries (1), A. François (1), A. Marguglio (1), W. Marion (1), P. Maton (1)

(1) Service néonatal, Clinique Saint-Vincent, Rocourt, Belgique ; (2) Centre de génétique humaine, Institut de Pathologie et de Génétique, Gosselies, Belgique

Nous rapportons le cas d'un nouveau-né présentant une hypotonie sévère et une détresse respiratoire. L'enfant deviendra dès les premières heures

de vie dépendant d'un support ventilatoire non-invasif et décèdera à 6 semaines de son insuffisance respiratoire. Un conseil génétique avait été demandé en période préconceptionnelle par la mère, dont deux cousins germains (fils d'une tante maternelle) sont décédés en période néonatale d'une myopathie sévère ; un diagnostic de dystrophie myotonique de type 1 (maladie de Steinert congénitale) avait alors été posé sur base d'une biopsie musculaire. L'absence d'expansion de triplets CTG chez la mère de notre patient l'avait raisonnablement rassurée. La biopsie musculaire du petit patient met en évidence des myocytes petits et ronds avec un noyau central compatible avec des myotubes fœtaux. Cette image, associée à l'histoire familiale et au fait que la mère n'est pas porteuse de la maladie de Steinert congénitale, nous a fait évoquer le diagnostic de myopathie myotubulaire liée à l'X. Celui-ci a été confirmé en biologie moléculaire : le séquençage du gène *MTM1* en Xq28 a révélé une mutation tronquante (c.70C>T) chez notre patient, et un statut de conductrice chez sa mère et la grand-tante maternelle. Ce cas clinique nous rappelle que, devant une myopathie congénitale sévère, (1) la présence de myotubes fœtaux à l'histopathologie peut être le fait d'une maladie de Steinert congénitale mais également d'une myopathie myotubulaire liée à l'X, ce qui oriente différemment le conseil génétique ; (2) l'analyse par biologie moléculaire est un complément essentiel de l'anatomopathologie dans ce contexte. De plus, dans le cadre d'un conseil génétique approprié, il illustre la nécessité impérieuse de réapprécier d'anciens diagnostics d'affections neuromusculaires en revoyant tous les membres concernés de la famille.

Mots-clés : hypotonie néonatale, myopathie myotubulaire, *MTM1*.

■P15 / 691. ÉTUDE DE L'ENDOGENIE GÉOGRAPHIQUE DANS LA RÉGION DE SOUSS MASSA DRAA

L. Sbii, D. Benali, H. Hami, A. Mokhtari, A. Soulaymani

Laboratoire de génétique et Biométrie, Département de Biologie, Faculté des Sciences, Université Ibn Tofail, BP 133, Kenitra 14000, Maroc

Introduction : L'étude de l'endogamie géographique permet de donner des indications sur la variabilité génétique de la population du fait que des parents rapprochés ont plus de chances de porter les mêmes allèles que deux individus pris au hasard, ce qui favorise l'Homozygotie chez les enfants issus des couples apparentés. L'objectif de cette étude est d'évaluer l'endogamie géographique chez la population de la région de Souss Massa Draa au sud du Maroc, comme indicateur du degré d'isolement génétique de cette population. Matériel et méthodes : Le travail a été réalisé par une enquête prospective menée entre octobre 2005 et avril 2007, auprès de 190 familles échantillonnées au hasard dans la région de Souss Massa Draa. En effet, à partir des données de l'enquête, le choix du conjoint est traité selon l'origine géographique des deux conjoints chez la génération des couples étudiés et la génération de leurs parents, et l'intensité du comportement endogame est déterminée par le taux d'endogamie. Résultats : Les résultats obtenus indiquent clairement la tendance des couples à l'endogamie géographique. Ainsi, les conjoints ayant participé à l'étude se choisissent de même origine géographique à 95 % pour la génération des couples étudiés et 98 % pour la génération des parents. La comparaison intergénérationnelle des taux d'endogamie mesurés montre le même degré d'isolement génétique pour les deux générations ($p > 0,05$). Discussion : En comparaison avec d'autres résultats qui ont été obtenus dans d'autres régions du Maroc, la région de Souss Massa Draa est une région qualifiée de fermée, ce qui traduit en grande partie le patrimoine culturel et traditionnel de cette région.

Mots-clés : endogamie géographique, isolement génétique, Maroc.

Corrélations génotype-phénotype

■P16 / 19. ÉTUDE DE L'INFLUENCE DES POLYMORPHISMES GÉNÉTIQUES : VKORC1[G-1639A] [C1173T], CYP2C9*2/*3, CYP2A6*2/*3/*4 SUR LA RÉPONSE À L'ACENOCOUMAROL (SINTROM) CHEZ DES PATIENTS TRAITÉS PAR CET ANTICOAGULANT

F. Parisot, N. Vd-Taelem, A. Menzel, B. Weber

Laboratoires Réunis, Junglinster

Deux catégories de gènes sont connues pour jouer un rôle dans le dosage des anti-vitamines K. D'une part, ceux impliqués dans l'inhibition des anti-vitamines K, *VKORC1* : (Vitamin K Epoxide Reductase Multiprotein Complex 1) et, d'autre part, ceux impliqués dans le métabolisme des antagonistes de la vitamine K (*CYP2*). Cette étude a porté sur un panel de 164 patients d'origine caucasienne, traités par Sintrom dans le but de déterminer le ou les polymorphismes impliqués dans la détermination de la dose thérapeutique adaptée au patient. Suite au traitement, les patients du panel



présentent tous une valeur d'INR (International Normalized Ratio) comprise dans la norme thérapeutique entre 2 et 4. Le génotypage des SNPs : *VKORC1* [G-1639A] [C1173T], *CYP2C9**2/*3 et *CYP2A6**2/*3*4 a été réalisé pour chaque patient. Ce génotypage a été réalisé grâce à l'analyse de la courbe de fusion effectuée après la PCR en temps réel. Parmi les différentes mutations décrites pour le gène du *VKORC1*, les deux plus importantes pour le dosage des anticoagulants sont : [G-1639A] dans le promoteur du gène et [C1173T] dans sa séquence codante. Dans ce panel d'étude, les résultats obtenus pour ces deux polymorphismes sont reliés à 100 %. Ainsi la détermination d'un polymorphisme est suffisante. Les résultats ont montré que les patients de génotype homozygote sauvage sur le *VKORC1* [G-1639A] utilisent une dose moyenne hebdomadaire de 2,97 mg (3,0-4,0, CI 95 %) de Sintrom. Cette dose moyenne est diminuée à 2,09 mg (1,93-2,27, CI 95 %) pour les hétérozygotes [G/A] (n = 71 ; 43,3 %) respectivement à 0,91 mg (0,68-1,15, CI 95 %) chez les porteurs homozygotes [A/A] (n = 21 ; 12,8 %). L'analyse de ce polymorphisme permet d'expliquer la nécessité de diminuer la dose thérapeutique chez 56,1 % des cas de notre panel d'étude. Le cytochrome P450 *CYP2C9* est une enzyme synthétisée par le foie. Elle intervient dans le métabolisme des anticoagulants. Les deux variantes (SNPs) principales de ce cytochrome sont *CYP2C9**2 et *CYP2C9**3. Elles prédisposent à une réduction de l'activité enzymatique et ont été mises en évidence dans 12 % et 5 % des cas respectivement. La détection d'une mutation (hétérozygote) dans l'un de ces deux allèles permet d'expliquer la nécessité de diminuer la dose hebdomadaire de prise de Sintrom de 2,56 mg (2,28-2,84, CI 95 %) à 2,08 mg (1,89-2,28, CI 95 %). Lorsque les patients sont porteurs homozygotes (n = 5 ; 3,1 %) la dose moyenne est abaissée à 1,38 mg (0,25-2,51, CI 95 %). L'analyse de ce polymorphisme permet d'expliquer la nécessité de diminuer la dose thérapeutique chez 44 % (n = 72) des cas du panel d'étude. Les trois SNPs principaux du cytochrome *CYP2A6* sont *CYP2A6**2/*3 et *4. Ils prédisposent à une réduction de l'activité enzymatique et donc une augmentation de la demi-vie du médicament. Cette étude n'a pas permis d'établir de manière significative un lien entre la dose hebdomadaire de Sintrom et le génotype des patients pour ces allèles. Il a également été montré que les patients sauvages sur l'ensemble des allèles étudiés prennent en moyenne 3,50 mg (3,0-3,99, CI 95 %) de Sintrom hebdomadaire (représente 19,5 % du panel d'étude), alors que la présence d'une mutation homozygote explique la nécessité de prendre seulement 1,08 mg (0,82-1,34, CI 95 %) en moyenne de Sintrom par semaine chez ces patients (représente 15,85 % du panel d'étude). Le polymorphisme du *VKORC1* s'est révélé être aussi important que celui de *CYP2C9* pour expliquer les sensibilités interindividuelles face à la prise d'acénocoumarol. Selon cette étude, il est donc recommandé d'établir un schéma génétique sur les allèles : *VKORC1* [G-1639A] et *CYP2C9**2/*3 chez les patients avant le début d'un traitement anticoagulant basé sur l'acénocoumarol. Cette analyse génétique éviterait le surdosage de ces patients les premiers jours de leur traitement.

Mots-clés : pharmacogénétique, anticoagulants, *VKORC1*, *CYP2C9*.

■P17 / 22. CORRÉLATIONS GÉNOTYPE/PHÉNOTYPES DANS LA MALADIE DE NIEMANN-PICK TYPE C2

G. Millat (1), L. Verot (1), K. Chikh (1), E. Freydiere (1), M. Vanier (1)
(1) INSERM U820, Faculté de médecine RTH Laennec, Lyon

La maladie de Niemann-Pick type C (NPC, OMIM 257220) est une pathologie neurodégénérative à transmission autosomique récessive, résultant de mutations affectant soit le gène NPC1 (95 % des cas), soit le gène NPC2. Dans les deux cas, elle est caractérisée sur le plan cellulaire par une accumulation endolysosomale de lipides, plus particulièrement le cholestérol non estérifié et certains sphingolipides, due à des anomalies de transport. La fonction exacte des protéines NPC1 et NPC2 n'est toutefois pas encore élucidée. Peu d'études dédiées à la protéine NPC2 ont été réalisées. À ce jour, seules 22 familles NPC2 (dont 15 décrites par notre groupe) ont été rapportées dans la littérature permettant ainsi l'identification de 16 mutations. Parmi ces 16 mutations, 8 conduisent à un codon stop prématuré et 2 sont des mutations d'épissage. La mutation non-sens p.E20X correspond à la mutation fréquente de la maladie de Niemann-Pick C2 puisqu'elle représente 34 % des allèles NPC2 mutés. Seules 6 mutations faux-sens [c.115G>A (p.V39M), c.140G>T (p.C47F), c.199T>C (p.S67P), c.278G>T (p.C93F), c.295T>C (p.C99R), et c.358C>T (p.P120S)] ont pu être identifiées. La caractérisation fonctionnelle de chacun de ces mutants faux-sens a été effectuée soit en conditions natives, soit en utilisant un système de surexpression dans des cellules en culture. Les différentes protéines mutées ont pu être ainsi analysées par différentes techniques : western-blot, immunocytofluorescence, modélisation de la structure 3D, et/ou test de complémentation. La mutation p.V39M, préalablement identifiée à l'état homozygote chez 2 malades présentant une

forme neurologique adulte, conduit à la synthèse d'une protéine recombinante correctement adressée aux lysosomes et apparemment fonctionnelle. La modélisation 3D de la protéine mutée laisse apparaître quelques légères modifications. Les résultats obtenus laissent à suggérer que cette mutation a un impact fonctionnel modéré qui est probablement masqué par le système de surexpression utilisé. La mutation p.P120S conduit à la synthèse d'une protéine présente en faible quantité. Bien que correctement adressée dans les lysosomes, cette protéine est apparemment incapable de fixer le cholestérol. Cette mutation est la première mutation naturelle localisée dans l'ECR D (domaine probable de liaison au cholestérol). Le patient porteur de cette mutation à l'état homozygote présente une forme neurologique juvénile de la maladie. L'étude des 4 autres mutations faux-sens [p.C47F, p.S67P, p.C93F, p.C99R] montre que chacune d'entre elles conduit à la synthèse d'une protéine mutée de conformation incorrecte et qui est retenue dans le réticulum endoplasmique. En conclusion, pour chacune des 22 familles NPC2 identifiées, l'analyse des génotypes démontre une excellente corrélation entre la sévérité de la maladie neurologique et l'atteinte de la protéine NPC2. Le génotypage des patients NPC2 est souvent utile pour le pronostic. Une connaissance accrue permettra, avec une meilleure probabilité, de situer sur l'échelle de sévérité un patient diagnostiqué avant l'apparition des symptômes neurologiques. Par ailleurs, le génotypage est crucial pour le conseil génétique, en rendant le diagnostic prénatal plus rapide et applicable à toutes les familles. La caractérisation fonctionnelle des mutations identifiées est également nécessaire pour mieux délimiter les domaines fonctionnels d'une protéine dont la fonction exacte, à l'heure actuelle, n'a pas été élucidée.

Mots-clés : Niemann-Pick, NPC2, génomique fonctionnelle.

■P18 / 32. CONSÉQUENCES CLINIQUES ET CELLULAIRES DE MUTATIONS DU GÈNE *APIS2* : IDENTIFICATION D'UN SYNDROME DE RETARD MENTAL LIÉ À L'X CLINIQUEMENT RECONNAISSABLE

G. Borck (1), A. Molla Herman (6, 7), N. Boddaert (2), F. Encha-Razavi (3), A. Philippe (1), L. Robel (4), I. Desguerre (5), F. Brunelle (2), A. Benmerah (6, 7), A. Munnich (1), L. Colleaux (1)

(1) INSERM U781 and Département de génétique médicale ; (2) Département de radiologie pédiatrique et INSERM U797 ; (3) Département de génétique, Unité de pathologie embryofœtale ; (4) Département de psychiatrie pédiatrique ; (5) Département de neuropédiatrie Hôpital Necker-Enfants Malades, Université Paris 5, René-Descartes, Faculté de Médecine, Assistance Publique, Hôpitaux de Paris (AP-HP), 75015 Paris, France ; (6) INSERM U567 ; (7) Institut Cochin, CNRS UMR 8104, Université Paris 5, René-Descartes, Paris, France

Des mutations du gène *APIS2* ont été récemment identifiées dans cinq familles de retard mental lié à l'X (RMLX) dont deux familles présentant un syndrome de Fried [1, 2]. Les patients présentent une hypotonie majeure suivie d'un retard des acquisitions, un comportement agressif, des calcifications des noyaux centraux et, dans certains cas, une hydrocéphalie (2). Nous avons étudié quatre patients issus de deux familles distinctes dans lesquelles ségrège une mutation *APIS2*. Notre étude révèle que, outre les signes cliniques précédemment décrits, deux garçons présentent également une hyperprotéinorachie. De plus, une analyse neuroradiologique rétrospective montre que les calcifications des noyaux centraux observés chez les patients apparaissent pendant l'enfance et semblent être progressives. Ces résultats montrent que des mutations du gène *APIS2* sont responsables d'un syndrome de RMLX cliniquement reconnaissable et caractérisé par une hypotonie, un retard moteur, des troubles du comportement, une petite périmétrie crânienne, des calcifications cérébrales et une hyperprotéinorachie. Le gène *APIS2* code pour la petite sous-unité sigma 1B du complexe adaptateur associé aux clathrines AP-1. Le complexe AP-1 est impliqué dans le trafic de protéines cibles entre le Trans-Golgi-Network et l'endosome. Il est composé de deux grandes sous-unités (beta 1 et gamma), d'une moyenne (mu 1) et d'une petite sous-unité (sigma 1). Chez l'homme, trois gènes codent pour la sous-unité sigma 1 : *APIS1* (sigma 1A), *APIS2* (sigma 1B) et *APIS3* (sigma 1C). Le complexe AP-1 est structurellement et fonctionnellement apparenté au complexe AP-2 qui est impliqué dans le transport de protéines entre l'endosome et la membrane plasmique. Pour mieux comprendre les mécanismes physiopathologiques sous-jacents aux signes cliniques observés, nous avons réalisé une série d'expériences d'immunohistochimie et de Western Blot. L'étude de fibroblastes d'un patient montre que la mutation *APIS2* p.R52X n'entraîne aucune anomalie majeure de la stabilité, de la localisation intracellulaire et de la fonction du complexe AP-1. En revanche, nous avons montré que dans le cas du complexe AP-2, pour lequel un seul gène (*AP2S1*) code pour la petite sous-unité sigma 2, l'inactivation de ce gène par RNA interférence conduisait à la déstabilisation de l'ensemble du complexe. Ces résultats montrent qu'une

sous-unité sigma est nécessaire à la stabilité et donc à la fonction de complexes AP humains. En conclusion, nos résultats suggèrent que l'absence d'un défaut du complexe AP-1 dans les tissus périphériques est vraisemblablement due à la redondance fonctionnelle des sous-unités sigma de AP-1 (sigma 1A, sigma 1B et sigma 1C) et que le phénotype restreint au système nerveux central observé chez les patients est sans doute la conséquence d'un défaut du trafic AP-1-dépendant de protéines neuronales.

Références

1. Tarpey PS *et al.* Mutations in the gene encoding the sigma 2 subunit of the adaptor protein 1 complex, AP1S2, cause X-linked mental retardation. *Am J Hum Genet* 2006 ; 79 : 1119-1124.
2. Saillour Y *et al.* Mutations in the AP1S2 gene encoding the sigma 2 subunit of the adaptor protein 1 complex AP1S2 are associated with syndromic X-linked mental retardation with hydrocephalus and calcifications in basal ganglia. *J Med Genet* sous presse.

Mots-clés : retard mental, complexe AP-1, hyperprotéinorachie.

■P19 / 46. PREMIÈRE CARACTÉRISATION D'UNE FORME RÉCESSIVE DE SYNDROME D'EHRLERS-DANLOS VASCULAIRE AVEC DÉFICIT TOTAL EN COLLAGÈNE DE TYPE III : QU'EN EST-IL DE L'HAPLOINSUFFISANCE DE COL3A1 ?

A. Plancke (1), M. Holder-Espinasse (2), C. Rene (1), M. Taulan (1), B. Catteau (3), R. Sfeir (4), S. Coopman (5), S. Auvin (6), N. Pallares-Ruiz (1), S. Manouvrier-Hanu (2), M. Claustres (1), P. Khau Van Kien (1)
(1) Laboratoire de Génétique Moléculaire/INSERM U827, CHU de Montpellier ; (2) Service de Génétique Clinique, Hôpital Jeanne de Flandre, CHRU de Lille ; (3) Service de Dermatologie, Hôpital Huriez, CHRU de Lille ; (4) Service de Chirurgie Pédiatrique, Hôpital Jeanne de Flandre, CHRU de Lille ; (5) Service de Gastro-entérologie Pédiatrique, Hôpital Jeanne de Flandre, CHRU de Lille ; (6) Service de Neuropédiatrie, Hôpital Roger Salengro, CHRU de Lille

Nous rapportons l'observation d'un enfant décédée des complications d'une fragilité intestinale extrême et présentant une forme récessive de syndrome d'Ehlers-Danlos vasculaire. Cette enfant, 3^e d'une fratrie de 3 est née à 36 SA, par césarienne, au terme d'une grossesse normale. L'aînée de la fratrie, née prématurée, est décédée à 3 mois de vie sans qu'aucune cause n'ait été retrouvée. Elle présentait l'association d'une épilepsie sévère, d'un retard des acquisitions et d'un tableau suggérant un syndrome d'Ehlers-Danlos vasculaire (SED-vasc) avec fragilité cutanée importante, nombreuses cicatrices atrophiques et peau fine/translucide, varices précoces, ecchymoses extensives et hyperlaxité ligamentaire notamment des petites articulations. À l'âge de 10 ans, elle a présenté un épisode occlusif dans un contexte de nécrose et de perforation spontanée de l'intestin grêle. Une fragilité intestinale extrême était alors mise en évidence lors de l'intervention chirurgicale. Parmi les examens complémentaires effectués, l'IRM cérébrale avait permis de mettre en évidence une dysplasie corticale à prédominance frontale associée à une hypoplasie vermiennne et à une dilatation ventriculaire et l'échographie cardiaque avait montré une sténose valvulaire pulmonaire. L'échographie rénale, le caryotype haute résolution, l'étude en CGH-array (puce Agilent 44K) ainsi que le bilan biologique (ferritine, chromatographie des acides aminés plasmatiques et des acides organiques urinaires, isoelectrophorèse de la transferrine, recherche de thrombopathie) se sont avérés normaux. L'étude en biologie moléculaire du gène *COL3A1* révélait une duplication d'un nucléotide à l'état homozygote dans l'exon 5 : c.479_480dupT, prédictive de l'apparition d'un codon stop prématuré : p.Val160fsX46. Cette même mutation était retrouvée à l'état hétérozygote chez les parents. Lors du rendu du résultat, leur parenté oncle-nièce était alors révélée. L'examen clinique effectué chez chacun d'entre eux n'a pas permis de mettre en évidence d'anomalie particulière. Les données préliminaires des études de transcrits et d'expression menées à partir de fibroblastes cutanés en culture et sur biopsies intestinales de cette enfant indiquaient un déficit total en collagène de type III. Trois points peuvent être dégagés de cette première caractérisation d'une forme récessive de SED-vasc avec déficit total en collagène de type III : 1 – Le déficit total en collagène de type III apparaît viable à la naissance et dans la première enfance chez l'homme, alors qu'il est létal chez la souris. 2 – La présence d'un deuxième défaut génétique à l'origine des anomalies cérébrales ne peut être exclue chez cette enfant (consanguinité élevée). Néanmoins, celles-ci peuvent suggérer la participation du collagène de type III au développement cérébral humain et un recouvrement phénotypique avec les mutations du gène de la filamine A. 3 – Peu documentée à ce jour, l'haploinsuffisance de *COL3A1* attendue chez les parents et leur ascendant commun ne semble pas ici s'associer aux manifestations sévères du SED-vasc. Ceci, confronté aux données de la littérature sur les mutations de *COL3A1* rapportées chez des patients SED-vasc (quasi exclusivement prédictives d'un effet dominant-négatif), ouvre la voie à de

nouvelles perspectives de corrélations génotype/phénotype et de thérapie génique.

Mots-clés : Ehlers Danlos vasculaire (*COL3A1*), récessif, haploinsuffisance.

■P20 / 140. L'ALLÈLE HLA-DRB1*15 INFLUENCE L'ÉVOLUTION TARDIVE DES FORMES RÉMITTENTES DE SCLÉROSE EN PLAQUES

I. Cournu-Rebeix (PhD) (1), E. Génin (PhD) (2), M.-C. Babron (PhD) (2), J. Cohen (MD) (1), C. Gout (MS) (1), M. Alizadeh (PhD) (3), G. Semana (MD, PhD) (3), D. Brassat (MD, PhD) (4), F. Clerget-Darpoux (PhD) (2), J. Yaouanq (MD, PhD) (3), M. Rosenheim (MD, PhD) (5), B. Fontaine (MD, PhD) (1, 6)

(1) INSERM, UMRS 546 et Univ Pierre-et-Marie-Curie-Paris 6, Paris, France ; (2) INSERM, UMRS 535 et Univ Paris Sud, F-94817, Villejuif, France ; (3) Univ de Rennes 1, Rennes, France ; (4) INSERM, UMR 563, Toulouse, France ; (5) Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Groupe Hospitalier Pitié-salpêtrière, Département de Santé publique, Paris, France ; (6) Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Groupe Hospitalier Pitié-salpêtrière, Fédération de Maladies du Système Nerveux, Paris, France

Introduction : La sclérose en plaques (SEP) est une maladie du système nerveux central à composante multi-factorielle. Durant la dernière décennie, de nombreuses recherches ont été menées afin d'identifier les facteurs génétiques de prédisposition à cette maladie. À ce jour, HLA est le seul locus de prédisposition connu à la SEP. Alors que la plupart des travaux ont porté sur la recherche de gènes de susceptibilité, peu ont focalisé sur les facteurs influençant l'évolution ou la sévérité de la maladie. Depuis 1992 Le réseau Français d'Etude Génétique de la Sclérose en Plaques (REFGENSEP) recrute en France des patients et leurs familles pour les études génétiques. La qualité des annotations cliniques et moléculaires associées à l'ADN de chaque patient nous permet aujourd'hui de : 1) comparer la cohorte REFGENSEP aux cohortes de référence pour l'histoire naturelle de la maladie 2) Mettre en évidence une potentielle association entre le locus HLA et l'évolution de la SEP. **Matériel et méthodes :** 651 patients atteints de SEP issus de la cohorte REFGENSEP. Annotations cliniques : âge de début de maladie, durée de la maladie, forme clinique et degré de handicap évalué par EDSS (Expanded Disability Status Scale). Les temps mis par les patients pour atteindre les EDSS 4.0 et 6.0 ont été corrélés au statut HLA-DRB1, et à la forme clinique. Les délais d'atteinte des EDSS 4.0 et 6.0 ont été considérés comme des temps de survie. Les patients n'ayant pas atteint les EDSS 4.0 et 6.0 au moment de l'étude ont été censurés au moment de la dernière évaluation de handicap. Les patients ayant atteint les EDSS 4.0 et 6.0 à des dates inconnues ont été exclus de l'étude. Le « Multiple Sclerosis Severity Score (MSSS) » a été calculé pour chaque patient à l'aide de l'algorithme de Roxburgh. Les courbes de Kaplan-Meier ont permis de comparer les temps de survie entre les patients porteurs de l'allèle HLA-DRB1*15 et les non-porteurs (Log-rank Test). Afin de tester si l'allèle HLA-DRB1*15 influençait le passage en phase secondairement progressive (SP), nous avons développé un modèle de sélection. Dans ce modèle l'échantillon de patients rémittents (RR) est considéré comme l'échantillon avant sélection, l'échantillon de patients secondairement progressifs étant lui l'échantillon après sélection. **Résultats :** L'identification de facteurs génétiques influençant l'évolution de la maladie requiert d'importantes cohortes représentatives de l'histoire naturelle de la maladie. Le sex-ratio, l'âge de début de maladie, son évolution et le handicap moyen dans notre cohorte sont similaires à ceux observés dans les cohortes de référence. La distribution de patients porteurs de l'allèle HLA-DRB1*15 ne varie pas selon les groupes de sévérité évalué par MSSS. En revanche nous avons montré un excès de patients HLA-DRB1*15 positifs parmi les patients secondairement progressifs ($p = 0,035$). D'autre part nous avons montré que les patients RR et SP HLA-DRB1*15+ atteignaient plus rapidement et de façon significative l'EDSS6 ($p = 0,026$) que les patients HLA-DRB1*15 négatifs. De plus le modèle de sélection appliqué nous a permis de montrer une prédisposition augmentée des patients RR HLA-DRB1*15+ à évoluer en phase SP ($rf = 1,57$). **Conclusion :** Nous avons montré que la cohorte REFGENSEP était représentative de l'histoire naturelle de la sclérose en plaques et donc par conséquent adaptée à la recherche de facteurs génétiques influençant le développement ou l'évolution de la maladie. Notre étude d'autre part mis en évidence une influence de l'allèle HLA-DRB1*15 sur le passage en phase secondairement progressive. Ceci suggère qu'un même mécanisme physiopathologique, probablement inflammatoire serait impliqué, à la fois dans le développement et l'évolution tardive de la maladie.

Mots-clés : sclérose en plaques, HLA, évolution clinique.



■P21 / 151. CARACTÉRISATION PAR CGH-ARRAY D'UN MARQUEUR ANALPHOÏDE SURNUMÉRAIRE DÉRIVÉ D'UN CHROMOSOME 15 CHEZ UN PATIENT PRÉSENTANT UNE AVANCE STATURALE ET UNE CRANIOSTÉNOSE

V. Malan (1), M. Rio (2), J.M. Lapiere (1), N. Delcourt (1), L. Colleaux (3), M. Vekemans (1), O. Raoul (1), C. Turleau (1)
(1) Service de Cytogénétique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris ; (2) Service de Génétique Médicale, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris ; (3) INSERM U781, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris

Les observations de tétrasomies 15q distales sont liées le plus souvent à la présence d'un marqueur surnuméraire analphoïde dérivé d'un chromosome 15. Nous rapportons ici le cas d'un patient ayant bénéficié d'un caryotype en raison d'une craniosténose syndromique. Cet enfant est le deuxième enfant de parents jeunes et non apparentés, sans antécédent familial particulier. La grossesse avait été marquée par un diabète gestationnel. Il présentait à la naissance une trigonocéphalie avec un aspect de craniosténose sagittale et des mensurations supérieures au 95^e percentile pour tous les paramètres de croissance. À l'âge de 2 mois, il existe une avance staturo-pondérale (+ 3 DS) et une macrocéphalie (+ 2 DS). L'examen neurologique révèle une hypertonie périphérique avec des réflexes ostéotendineux vifs. L'examen morphologique note une importante trigonocéphalie et des anomalies de pigmentation cutanée suivant les lignes de Blaschko. L'examen clinique réalisé à 11 mois confirme l'avance staturo-pondérale (poids à +2 DS, taille à +4 DS) associée à une macrocéphalie (+3 DS) et note un examen neurologique et un développement psychomoteur rassurant. Le caryotype sur lymphocytes a mis en évidence un marqueur métacentrique dans environ 60 % des cellules examinées. Aucun signal n'a été détecté sur l'élément surnuméraire, avec des bandes C montrant qu'il s'agissait d'un marqueur analphoïde. La constriction primaire observée suggère la présence d'un néocentromère. Une étude par CGH-array avec la puce CytoChipTM (BlueGnome, Amplitech) a permis son identification en révélant un gain de matériel chromosomique en 15q distal (15q25.3q26.3). Les explorations complémentaires par FISH ont confirmé l'origine du marqueur et ont précisé sa structure en duplication inversée. La présence en 4 copies du gène *IGF1R*, sensible à l'effet de dosage, est probablement responsable de l'avance staturale de notre patient. La craniosténose observée dans notre cas a déjà été décrite chez des patients porteurs d'une trisomie ou d'une tétrasomie 15q distale sans qu'aucun gène causal n'ait été clairement identifié. La présence de lignes de Blaschko chez cet enfant suggère la présence du marqueur dans les fibroblastes. En effet, tous les marqueurs analphoïdes en duplication inversée rapportés dans la littérature sont présents le plus souvent en mosaïque dans le sang et dans la peau. Il s'agit à notre connaissance du premier cas de marqueur analphoïde surnuméraire dérivé d'un chromosome 15 caractérisé par CGH-array. Nous discuterons des corrélations phénotype-génotype des tétrasomies 15q distales ainsi que du mécanisme de formation de ce type de marqueur.

Mots-clés : tétrasomie 15q, craniosténose, avance staturale.

■P22 / 255. CORRÉLATION GÉNOTYPE-PHÉNOTYPE DANS LE SYNDROME DE RUBINSTEIN-TAYBI

S. Naudion (1), I. Coupry (2), C. Rooryck-Thambo (1, 2), M.-A. Delrue (1), D. Simon (2), M. Stef (2), E. Lasseaux (1), G. Lancelot (1), I. Burgelin (2), M. Marche (2), D. Lacombe (1), B. Arveiler (1, 2)
(1) Service de Génétique Médicale, CHU Bordeaux ; (2) Laboratoire de Génétique Humaine, Université Victor Segalen Bordeaux 2

Introduction : Le syndrome de Rubinstein-Taybi est une pathologie autosomique dominante rare dont l'incidence est de 1/125000. Il est caractérisé par une dysmorphie faciale, des anomalies des extrémités, un retard de croissance staturo-pondérale et un retard psychomoteur, associés à diverses malformations. Deux gènes ont été identifiés comme étant responsables de ce syndrome, *CREBBP* et *EP300*. **Patients et méthodes :** Notre cohorte se compose de 93 patients porteurs de mutations dans le gène *CREBBP* et de 2 patients porteurs de mutations dans le gène *EP300*. Nous avons recherché des mutations ponctuelles de *CREBBP* et *EP300* par DHPLC et séquençage. Des remaniements ont été recherchés par QMF-PCR et CGH-array. **Résultats :** Les mutations de *CREBBP* se répartissent de la façon suivante : 24 % de mutations non-sens, 24 % de mutations avec décalage du cadre de lecture, 26 % de réarrangement génomique (24 % de délétions, 2 % de duplication), 18 % de mutations d'épissage et 8 % de mutations faux-sens. Ces mutations se distribuent sans hot spot sur le gène. Il est à noter que 7 exons ne sont pas touchés dans notre série (exons 7, 9, 11, 18, 22, 23 et 29). Quels que soit le type de mutation et la localisation sur le gène, nous avons observé que les phénotypes dysmorphique et osseux étaient comparables au phénotype typique du syndrome de

Rubinstein-Taybi. Par contre, les patients porteurs de mutations non-sens présentent des anomalies associées à type de cardiopathie (33 % vs 26 %) et d'anomalies neurologiques (hypotonie 81 % vs 60 %, hyperréflexie 37 % vs 29 %) de façon plus fréquente que les patients porteurs d'un autre type de mutation. À l'inverse, les patients porteurs de mutation faux-sens ont, quant à eux, des phénotypes moins sévères puisqu'aucun ne présente de malformation ou d'anomalie associée. Pour les 2 patients porteurs de mutation dans le gène *EP300*, nos données sont corrélées aux données de la littérature puisque l'on retrouve un phénotype dysmorphique et des anomalies associées comparables au phénotype typique du syndrome de Rubinstein-Taybi avec un phénotype osseux beaucoup moins sévère, seul un des 2 patients présentant des gros pouces et des gros orteils sans autre anomalie osseuse associée.

Mots-clés : syndrome de Rubinstein-Taybi, mutations, phénotype.

■P23 / 256. RELATIONS ENTRE LES POLYMORPHISMES GÉNÉTIQUES DE TROIS CYTOKINES ET LEURS CINÉTIQUES D'ÉLEVATION AU COURS DE LA CHIRURGIE CORONAIRE AVEC CIRCULATION EXTRACORPORELLE

L. Gilmard (1), O. Hababou (2), L. Trinquart (3), N. Burnichon (1), J. Jouan (4), P. Menasche (4), E. Tartour (2), X. Jeunemaitre (1)
(1) Service de Génétique, Hôpital Européen Georges Pompidou, Paris ; (2) Service d'Immunologie Biologique, Hôpital Européen Georges Pompidou, Paris ; (3) Unité Recherche Clinique, Hôpital Européen Georges Pompidou, Paris ; (4) Service de Chirurgie cardiaque, Hôpital Européen Georges Pompidou, Paris

Introduction : La circulation extra-corporelle (CEC) en chirurgie cardiaque reste associée à une morbi-mortalité non négligeable, en partie attribuable à une réponse inflammatoire généralisée. Plusieurs études cliniques ont montré l'influence du polymorphisme génétique des cytokines et de l'apolipoprotéine E (apoE) sur la réponse inflammatoire à la CEC. Cependant la relation entre le profil génotypique de ces cytokines et la survenue d'événements clinico-biologiques post-opératoires a été peu étudiée. Notre étude a pour but de vérifier dans ce contexte ces corrélations génotype-phénotype pour plusieurs cytokines et d'analyser leur influence sur les événements cliniques post-opératoires. **Méthodologie :** Nous avons analysé une cohorte de 79 patients opérés de façon consécutive d'un pontage aorto-coronaire programmé. Différents polymorphismes (SNPs) ont été testés : deux SNPs du gène *LTA* (lymphotoxin alpha ou TNF bêta) : un SNP codant (Arg13Cys) et un SNP intronique (+252A>G) ; un SNP du gène *TNF* (tumor necrosis factor alpha) ayant été montré comme fonctionnel (-308G>A) ; trois SNPs dans la région promotrice du gène *IL6* (interleukin 6) (-597G>A, -572G>C et -174G>C) ; deux SNPs du gène *IL10* (interleukin 10) : un SNP dans le promoteur (-592C>A) et un SNP dans la région 3'UTR (c.*117C>T) ; deux SNPs caractérisant le polymorphisme classique de l'apo E déterminant les isoformes. Les concentrations plasmatiques de l'IL6, IL10 et TNF alpha ont été déterminées par méthode ELISA avant CEC, en fin de CEC (IL10) ou à la 4^e heure post-opératoire (IL6 et TNF alpha), et à la 24^e heure post-opératoire. La conformité à l'équilibre de Hardy-Weinberg a été testée pour chaque génotype. Les relations génotypes/concentrations des cytokines (niveaux de base et cinétiques) ont été analysées par ANOVA sur données répétées et tests non paramétriques de Kruskal-Wallis. **Résultats :** Les patients présentent une concentration plasmatique maximale de cytokines en fin de CEC (IL10) ou 4 heures après la CEC (IL6 et TNF alpha). Pour l'IL10 les valeurs médianes obtenues sont de 0,8 (base), 11,4 (post-CEC) et 5,0 pg/ml (24^e heure post-CEC). Pour l'IL6, elles sont respectivement de 1,0 (base), 107,5 (4^e heure post-CEC) et 63,5 pg/ml (24^e heure post-CEC). Enfin pour le TNF, elles sont respectivement de 1,0 (base), 3,0 (4^e heure post-CEC) et 1,0 pg/ml (24^e heure post-CEC). Malgré une cinétique d'élévation semblable, il n'existe pas de corrélation entre les concentrations plasmatiques de chacune des trois cytokines, excepté entre IL6 et IL10 à la 24^e heure post-op (r = 0,29, p < 0,01). Aucune association significative n'a été observée entre les concentrations des cytokines avant la CEC et les génotypes testés. Les cinétiques de l'IL6 sont associées aux SNPs IL6-597G>A (p < 0,02) et -174G>C (p < 0,008), l'allèle -597G correspondant aux concentrations les plus élevées et le génotype -174CC aux concentrations les plus faibles. La concentration maximale d'IL6 est associée au polymorphisme IL6-174G>C (p < 0,03). Par contre, nous n'avons pas observé d'association entre les SNPs testés du gène *IL10* et du gène *TNF* avec les concentrations des protéines pour lesquelles ils codent. La recherche de relations croisées entre les SNPs des gènes des trois cytokines et de l'apoE et les cytokines circulantes est négative, excepté pour le SNP Arg13Cys du gène *LTA* et la cinétique de l'IL10 (p < 0,04). **Discussion – Conclusion** Notre étude confirme les liens entre les concentrations d'IL6 et les SNPs IL6-597G>A et -174G>C au cours de la CEC. Par contre, nous ne

confirmons pas l'effet des SNPs des autres cytokines ni de l'apoE. L'association entre la concentration d'IL10 et le SNP Arg13Cys du gène LTA est un résultat original. Il est connu que l'IL10 peut inhiber la lymphotoxine alpha mais un effet inverse n'est pas démontré. Les conclusions de cette analyse intermédiaire restent à confirmer.

Mots-clés : polymorphisme génétique, cytokine, cœur.

■P24 / 276. LE PROJET FHYGAS : DÉTECTION D'ANEUSOMIES SEGMENTAIRES DANS LES SYNDROMES POLYMALFORMATIFS FŒTAUX PAR HYBRIDATION GÉNOMIQUE COMPARATIVE SUR MICRORÉSEAUX D'ADN (ARRAY-CGH)

C. Nemos (1), M. Valduga (2), D. Laurenceau (1), C. Philippe (1, 2), B. Leheup (1), J. Vigneron (4), B. Foliguet (3) et P. Jonveaux (1, 2)
(1) EA 4002, Nancy-Université, UHP 1, Faculté de médecine de Nancy, Vandœuvre les Nancy ; (2) Laboratoire de Génétique, Hôpitaux de Braibois, CHRU, Vandœuvre les Nancy ; (3) Laboratoire de Biologie de la Reproduction et du Développement, MRU, Nancy ; (4) Unité de génétique clinique, service de néonatalogie, MRU, Nancy

Un déséquilibre chromosomique identifiable par les techniques conventionnelles est observé dans environ 10 à 15 % des mort-nés et des nouveau-nés vivants avec des malformations. Toutefois plus de 50 % des syndromes polymalformatifs fœtaux restent inexplicables malgré l'ensemble des explorations cliniques et paracliniques effectuées. Un nouveau champ de la pathologie chromosomique est apparu depuis peu grâce au développement de la technique d'hybridation génomique comparative sur microréseaux d'ADN (array-CGH) autorisant l'étude des anomalies quantitatives du génome à un seuil de résolution 50 à 100 fois supérieur à celui du caryotype. Afin de rechercher les aneusomies segmentaires pathogènes, de novo, nous nous proposons d'étudier rétrospectivement le génome de 50 fœtus polymalformés (IMG jugée recevable par le CPDP de Lorraine). La chaîne technologique d'étude est constituée de la puce à BACs (5,6 k – 0,6 Mb de résolution) commerciale IntegraChip(tm) V7 (IntegraGen), du DNA Microarray Scanner® (Agilent Technologies), du logiciel GenePix Pro V6 (Molecular Devices) et du logiciel GenoCensus® (IntegraGen). La méthodologie d'étude des génomes fœtaux (n = 17) utilisée suit la méthode de triangulation avec un regroupement par sexe (sex matching). La validation des résultats obtenus est effectuée par Q-PCR SYBR® Green et/ou par FISH sur l'ADN fœtal et parental. Ici, nous présentons les résultats des modifications du « protocole Integrage ». Ces modifications ont permis de sauvegarder l'échantillon, de réduire le temps de travail d'un facteur 3 et d'améliorer notre analyse en diminuant considérablement (87,2 % en moyenne) le pourcentage des événements faux positifs. Par ailleurs, les résultats préliminaires obtenus à partir de l'ADN fœtal (n = 17) sont présentés et discutés. À terme, nous souhaitons redéfinir la fréquence des déséquilibres chromosomiques liée aux polymalformations humaines et préciser leurs caractéristiques cliniques et moléculaires. Notre objectif ultime est d'utiliser ces loci remaniés comme cibles diagnostiques pour améliorer la prise en charge précoce des grossesses dont le conceptus est polymalformé et ainsi améliorer le conseil génétique.

Mots-clés : array-CGH, polymalformations, fœtus.

■P25 / 283. PHÉNOTYPE DENTAIRE DE 67 INDIVIDUS PORTEURS DU SYNDROME DE PRADER-WILLI

I. Bailleul-Forestier (1, 2), O. Naghizadeh-Kashani (3), R. Zabalaoui (3), A. Vogels (2), D. Declerck (4), M. Taubé (5), F. Vaysse (3, 5)
(1) Odontologie Pédiatrique, Garancière Hôpital Hôtel-Dieu, AP-HP, France ; (2) Département de Génétique Humaine, Université Catholique, Leuven, Belgique ; (3) Odontologie Pédiatrique, Université Paul Sabatier, Toulouse, France ; (4) Dentisterie Pédiatrique et Soins Spécifiques, Université catholique, Leuven, Belgique ; (5) Équipe d'Endocrinologie, maladies osseuses, génétique et gynécologie médicale, Hôpital des Enfants, Toulouse Purpan, France

Le syndrome de Prader-Willi (SPW) est une affection génétique rare due à une mutation du chromosome 15q11-13. Il est caractérisé par une hypotonie néonatale, une hyperphagie, un retard statural et intellectuel, une dysmorphie faciale et des anomalies dentaires. Justification et objectifs : L'absence d'étude sur un grand nombre de patients, la création de centre national de référence pour le SPW, le décalage des observations cliniques et la littérature justifient ce travail. Un premier objectif est la description du phénotype bucco-dentaire : indice carieux (CAO), usures dentaires et flux salivaire. Le deuxième est de tester les liens hypothétiques entre le CAO et des variables médicales. Méthode : Nous avons réalisé une étude transversale multicentrique. L'indice carieux, le flux salivaire et la présence d'érosion sont enregistrés et étudiés en analyse univariée. Des informations médicales sont relevées : le type d'anomalie chromosomique, l'âge

du diagnostic et l'indice de masse corporelle (IMC) utilisés conjointement avec le CAO en analyse bivariée. Résultats : 67 enfants âgés de 6 mois à 18 ans ont été suivis. 72 % des patients sont indemnes de caries, l'indice CAO moyen est de 1,1. Ils présentent tous un flux salivaire diminué voire absent et un sur deux des usures dentaires. Les 3 tests réalisés ne mettent pas en avant d'association entre les variables médicales (IMC, génotype et âge du diagnostic) et le CAO. Conclusion : Dans cette large population de patients atteints du SPW, l'état buccodentaire paraît satisfaisant (faible taux de carie, absence d'hypoplasie). Ces observations sont probablement imputables à une prise en charge diététique et buccodentaire précoce, par des équipes multidisciplinaires.

Mots-clés : syndrome Prader-Willi, indice carieux, indice masse corporelle, génotype.

■P26 / 284. CONFIRMATION DIAGNOSTIQUE PAR CGH-ARRAY D'UNE DÉLÉTION INTERSTITIELLE DU BRAS LONG D'UN CHROMOSOME 14 CHEZ UN PATIENT DÉFICIENT MENTAL AVEC AGÉNÉSIE DU CORPS CALLEUX

B. Laudier (1), P. Callier (2), F. Mugneret (2) G. Haddad (3)
(1) Service de Génétique, CHU de Tours ; (2) Laboratoire de Cytogénétique, CHU de Dijon ; (3) Unité de Génétique, CH Blois

Nous rapportons l'observation d'un garçon âgé de 6 ans, seul enfant d'un couple jeune non apparenté. Il est né à 39 semaines d'aménorrhée et 3 jours, à l'issue d'une grossesse régulièrement suivie et sans particularité. L'accouchement a été marqué par la survenue d'une souffrance fœtale inexplicable avec un liquide amniotique méconial (Apgar 6-7-10). À la naissance, l'enfant présentait un purpura cutané généralisé. Dans le bilan de souffrance fœtale, une agénésie complète du corps calleux a été découverte par échographie trans-frontanellaire. Cliniquement, l'enfant présente une dysmorphie faciale associant un front haut et fuyant, un crâne relativement pointu, des oreilles un peu bas insérées, un hypertélisme modéré, des fentes palpébrales obliques en bas et en dehors, un rétrognathisme sévère et une lèvre large bifide. Sur le plan neurologique, il a développé une déficience mentale profonde associée à une microcéphalie à – 4DS et une épilepsie généralisée symptomatique, avec persistance d'une hypotonie axiale. L'ensemble de ces éléments cliniques a justifié la réalisation d'une étude du caryotype de l'enfant : une translocation impliquant un chromosome 6 et un chromosome 14 a été identifiée. Les points de cassure ont été précisés en haute résolution : 46,XY, t(6;14)(q22.1;q12). Les caryotypes des parents sont normaux. Devant cette translocation d'aspect cytogénétique équilibré à phénotype anormal, nous avons évoqué l'hypothèse de la rupture d'un gène ou d'une microdélétion et/ou microduplication au niveau de l'un des points de cassure. L'hypothèse d'une délétion interstitielle d'un chromosome 14 était d'autant plus tentante que le patient présentait des similitudes cliniques avec l'observation de Schuffenhauer *et al.* (1999), qui rapporte une délétion 14q11.2q13, intéressant la même région que le point de cassure sur le chromosome 14 de notre patient. En particulier, les 2 enfants ont en commun le retard psychomoteur profond, l'agénésie du corps calleux, la microcéphalie, l'hypotonie et l'hypertélisme. La lèvre bifide peut être rapprochée de la fente labio-palatine citée dans l'article. Notre hypothèse a pu être validée par l'analyse par CGH-Array avec une puce type BAC-Array (IntegraGen, résolution 1 Mb). Cette étude a révélé une délétion interstitielle de 7,3 Mb au niveau du point de cassure sur le chromosome 14 en 14q12-q13.2 (11 clones délétés). Cette observation montre l'importance d'une bonne analyse clinique et de la poursuite des explorations par des techniques de cytogénétique moléculaire, notamment par CGH-Array, des translocations apparemment équilibrées associées à un phénotype anormal.

Références

Schuffenhauer S, Leifheit HJ, Lichtner P, Peters H, Murken J, Emmerich P. De novo deletion (14)(q11.2q13) including PAX9 : clinical and molecular findings. *J Med Genet* 1999 ; 36 (3) : 233-236.

Mots-clés : délétion 14q, agénésie du corps calleux, CGH-array.

■P27 / 307. SYNDROME DE BARTTER NÉONATAL : CORRÉLATION PHÉNOTYPE-GÉNOTYPE

K. Brochard (1), O. Boyer (2), I. Roncelin (3) X. Jeunemaître (3), R. Vargas-Poussou (3), Réseau d'étude des tubulopathies primitives et centres de référence des maladies rénales héréditaires (Paris, Lyon et Toulouse)
(1) Service de Néphrologie Pédiatrique, Hôpital des Enfants, Toulouse ; (2) Service de Néphrologie Pédiatrique, Hôpital Necker, Paris ; (3) Département de Génétique, Hôpital Européen Georges Pompidou, Paris

Introduction : le syndrome de Bartter néonatal (SBN) est une tubulopathie héréditaire à transmission autosomique récessive, caractérisée par une perte de sel, un hyperaldostérionisme secondaire avec alcalose hypokaliémique,



une hypercalciurie, une polyurie et un retard de croissance. Il est du à des mutations dans les gènes codant pour 4 protéines participant à la réabsorption de sodium dans la branche large ascendante de l'anse de Henle : le cotransporteur Na-K-2Cl (SLC12A3), le canal potassique Kir 1.1 (KCNJ1), le canal chlore CIC-Kb (CLCNKB) et la sous-unité des canaux chlore, barttine (BSND). L'objectif de ce travail était d'établir une corrélation phénotype-génotype et de connaître l'évolution à long terme de la cohorte française de SBN. Patients : nous avons analysé rétrospectivement les données clinico-biologiques de 42 enfants avec un SBN confirmé génétiquement : 19 avec mutations du gène *KCNJ1*, 13 avec mutations du gène *SLC12A3*, 6 avec mutations du gène *CLCNKB* et 4 avec mutations du gène *BSND*. La durée moyenne du suivi était de 7,2 ans (range 0,7–17,4 ans). Résultats : tous les enfants sont nés prématurément après une grossesse marquée par un hydramnios excepté 4 enfants avec mutations de *CLCNKB*. Le signe clinique le plus fréquent était une mauvaise prise pondérale. Biologie : 63 % des patients avec mutations de *KCNJ1* présentaient une hyperkaliémie transitoire dans la période néonatale ($K > 5,5$ mmol/l), sans alcalose (réserve alcaline normale chez 8 patients et acidose chez deux patients). À l'opposé, les patients avec mutations de *CLCNKB* avaient la kaliémie la plus basse et l'alcalose métabolique hypochlorémique la plus prononcée. (*KCNJ1* vs *CLCNKB* : Kaliémie (mmol/l) $5,6 \pm 2,5$ vs $2,6 \pm 0,3$ $p = 0,012$; réserve alcaline (mmol/l) : $24,9 \pm 6,7$ vs $45,2 \pm 11,7$, $p = 0,02$). L'hypercalciurie était présente dès les premières semaines de vie chez tous les enfants avec mutations de *KCNJ1* et de *SLC12A3*, chez 2 sur 4 avec mutations du gène *BSND* et chez 2 sur 5 avec mutations du gène *CLCNKB*, conduisant pour tous à une néphrocalcinose excepté pour un enfant avec mutation de *CLCNKB*. L'indométacine, introduite chez 40 des 42 patients, a permis un rattrapage staturo-pondéral et une diminution modérée de l'hypercalciurie. Trois enfants sur 42 ont évolué vers l'insuffisance rénale chronique, indépendamment du gène atteint. Conclusion : le SBN est principalement lié à des mutations du gène *KCNJ1* (45 %). Une hyperkaliémie transitoire est présente dans 63 % des cas avec mutations de *KCNJ1*, ce qui fait confondre ce diagnostic avec celui de Pseudohypoadrénisme de type I. L'hypokaliémie avec alcalose hypochlorémique le plus sévère est constatée chez les patients avec mutations du gène *CLCNKB*. La plupart des anomalies cliniques et biologiques sont bien contrôlées sous traitement, mais l'hypercalciurie peut persister, et une insuffisance rénale chronique peut apparaître même en l'absence de néphrocalcinose. La prise en compte de la fréquence de chacun des gènes impliqués et de caractéristiques phénotypiques nous permet actuellement de mieux cibler le gène en cause dans les familles non consanguines.

Mots-clés : tubulopathie, perte de sel, dyskaliémie.

■P28 / 319. MICROCEPHALIA VERA : RELATIONS GÉNOTYPES-PHÉNOTYPE DANS 9 FAMILLES AVEC MUTATIONS DU GÈNE *ASPM*

A. Verloes (1, 2), L. Titomanlio (1, 2), S. Passemard (1, 2), F. Guimiot (3), J.-F. Gadioux (1), T. Billette De Villemeur (4), L. Bürglen (5), A. Afenjar (5), A. Megarbane (6), S. Odent (7), B. Isidor (8), O. Boespflug-Tanguy (9), J.-L. Alessandri (10), M. Abramowicz (11), J. Desir (11), B. Gerard (1)

(1) Département de Génétique ; (2) INSERM U676 ; (3) Service de fœtopathologie, Hôpital Robert DEBRE ; (4) Services de neuropédiatrie ; (5) génétique, Hôpital Trousseau, Paris ; France ; (6) Université Saint Joseph, Beyrouth, Liban, Services de Génétique ; (7) CHU de Rennes ; (8) CHU de Nantes ; (9) CHU de Clermont-Ferrand, France ; (10) Université Libre, Bruxelles, Belgique

La microcephalia vera (MV) est une entité génétique définie par la présence d'une microcéphalie congénitale, souvent progressive (en terme de DS), observée chez des patients de taille normale, sans malformations associées, présentant habituellement un développement moteur subnormal, et un retard mental léger à modéré sans troubles comportementaux. L'épilepsie ou un syndrome neurologique systématisé ne font pas partie du tableau clinique. À l'imagerie, le cerveau est de petite taille, mais ne montre pas de malformation supra- ou infratentorielle. Le cortex est normal ou aminci, et la gyrfication est d'apparence normale (relativement à la taille de l'encéphale) ou modérément simplifiée (microlissencéphalie de type I selon Barkovitch). L'incidence estimée en Europe est de l'ordre de 1/100 000. Six loci récessifs ont été identifiés pour la MV, dont le gène *ASPM*, localisé en 1q31, qui est responsable d'environ 50 % des cas. *ASPM* code pour plusieurs isoformes : le type principal est une protéine de 3477 acides aminés, qui est impliquée dans la régulation de l'orientation et/ou de la cinétique du fuseau mitotique, mais 3 isoformes de taille plus petite (1069, 1389 et 1892 aa) sont produits par splicings alternatifs. Nous rapportons les résultats d'une étude collaborative (toujours en cours), portant sur la clinique, la neuroradiologie, et l'évaluation neuropsychologique et

cognitive de la MV. Sur une série de 24 patients porteurs de MV, 9 patients non apparentés portent des mutations d'*ASPM* (non-sens ou décalage du cadre de lecture) à l'état homozygote (5) ou hétérozygote composite (4). Il existe d'autres apparentés atteints dans 3 cas. Les PC varient de -3 à -8 DS, avec une notable variabilité intrafamiliale. Les QI sont répartis entre 70 et 40, avec de bonnes capacités adaptatives. Le phénotype est souvent moins « typique » que celui habituellement retenu. Trois patients ont une gyration simplifiée. PC, QI et simplification gyrale sont corrélés. Il semble exister une corrélation entre la sévérité de la simplification gyrale et la rétention – ou l'abolition – de l'expression de certaines isoformes d'*ASPM*. Nous présenterons également les données neuropathologiques d'un fœtus muté.

Mots-clés : *ASPM*, microcéphalie, génotype.

■P29 / 346. CORRÉLATION GÉNOTYPE-PHÉNOTYPE DANS UNE SÉRIE DE 283 PATIENTS PORTEURS D'ANOMALIES DE L'ADN MITOCHONDRIAL (ADNmt)

S. Bannwarth (1), K. Fragaki (1), B. Chafino (1), B. Chabrol (2), J. Pouget (3), C. Desnuelle (4), B. Vialettes (5), D. Figarella-Branger (6), C. Richelme (7), J.-C. Lambert (1), V. Paquis-Flucklinger (1)

(1) Service de Génétique Médicale, Centre de Référence des maladies mitochondriales, Hôpital Archet 2, CHU Nice ; (2) Service de Neuropédiatrie, Hôpital Timone, CHU Marseille ; (3) Service de Neurologie, Hôpital Timone, CHU Marseille ; (4) Service de Rééducation Fonctionnelle, Hôpital Archet 1, CHU Nice ; (5) Service de Nutrition, Maladies métaboliques, Endocrinologie, Hôpital Timone, CHU Marseille ; (6) Service d'anatomopathologie et neuropathologie, Hôpital Timone, CHU Marseille ; (7) Service de Pédiatrie, Hôpital Archet 2, CHU Nice

Nous décrivons une série de 283 patients présentant des mutations ou des réarrangements de l'ADNmt explorés dans le Laboratoire de Génétique du CHU de Nice sur une période de 10 ans. Ces patients sont suivis principalement dans la région PACA (Marseille-Nice) mais également dans d'autres CHU français. Cette série comprend 155 individus de sexe féminin (55 %) et 128 individus de sexe masculin (45 %). L'âge moyen au diagnostic est de 46 ans, avec des extrêmes allant de quelques heures de vie à 84 ans. Nous rapportons 147 mutations ponctuelles (52 %), 129 délétions ou réarrangements (45,5 %) et 7 délétions de l'ADNmt (2,5 %). Parmi les mutations ponctuelles, la m.3243A>G est la plus fréquemment retrouvée (45,5 %) suivie par les mutations m.11778G>A (28,5 %), m.8993T>G (5 %), m.14709T>C (5 %), m.3460G>A (4 %) et m.8344A>G (2 %). Ces mutations sont recherchées systématiquement en fonction du tableau clinique présenté. Parmi les 67 patients porteurs d'une mutation m.3243A>G, l'association diabète/surdité est la plus fréquemment retrouvée (34/67) de manière isolée (19/67) ou associée à d'autres atteintes (15/67) digestives ou cardiaques responsables de formes graves. Une mutation m.3243A>G responsable d'un syndrome MELAS est retrouvée chez 4 patients seulement (4/67). Parmi les 42 mutations m.11778G>A identifiées, on observe une prédominance masculine (57 %) qui s'avère nettement inférieure à celle généralement rapportée. Les 14 autres mutations (10 %) que nous décrivons ont été identifiées chez 1 voire 2 patients dans le cadre de recherches « à l'aveugle » (par la technique de Surveyor ou séquençage). Elles sont localisées dans des gènes codant pour des ARNt (8/14), une sous unité du complexe I (3/14), du complexe III (2/14) ou l'ARNr 12S (1/14). Tous les patients, sauf un, présentaient une symptomatologie neuromusculaire. Dans le groupe des 129 patients porteurs de délétions, on distingue 54 délétions uniques et 75 délétions multiples. Parmi les délétions uniques, une seule patiente avait des antécédents familiaux correspondant à un cas de transmission mère-fille. Sur le plan clinique, l'atteinte la plus fréquemment retrouvée était une CPEO (42/54), isolée (19/42) ou associée à d'autres signes (23/42). Quatre patients présentaient une myopathie périphérique et une petite fille avait un syndrome de Pearson. Il faut également noter la présence d'un ptosis isolé uni ou bilatéral chez 5 patients âgés de 17, 24, 34, 36 et 42 ans. Dans la série des 75 délétions multiples, nous avons distingué celles retrouvées à la fois par « PCR grands fragments » et Southern blot (31/75) et celles uniquement retrouvées par « PCR grands fragments » (44/75). Dans le premier groupe, 21 patients sur 31 avaient des antécédents familiaux et tous présentaient une symptomatologie neuromusculaire. Le signe clinique le plus fréquemment retrouvé était une ataxie (12/31), cérébelleuse (10/12) ou par neuropathie sensitive (2/12). Les gènes nucléaires responsables de cette instabilité de l'ADNmt ont été identifiés chez 5 patients : POLG1 (3/5), Twinkle (1/5) et TP (1/5). Dans le groupe des délétions présentes en faible quantité puisque retrouvées uniquement par « PCR grands fragments », nous avons identifié 2 mutations dans le gène POLG1 chez une patiente qui présentait une neuropathie sensitive ataxiante isolée. Enfin, parmi les 7 jeunes enfants porteurs de délétions de l'ADNmt, les gènes nucléaires responsables ont

été identifiés dans 3 cas (2 *POLG1* et 1 *p53R2*). En conclusion, cette série illustre (i) la diversité des phénotypes associés aux anomalies de l'ADNmt, du nouveau né à la personne âgée, en mettant l'accent sur de possibles corrélations génotype-phénotype, (ii) l'évolution des stratégies d'exploration de l'ADNmt qui permettent la recherche, en routine, de mutations « à l'aveugle » et de délétions et, (iii) les problèmes posés par l'identification croissante de nouveaux variants dont la pathogénicité est souvent difficile à déterminer avec certitude.

Mots-clés : maladies mitochondriales, mutations ADNmt, corrélation génotype-phénotype.

■P30 / 373. SPECTRES CLINIQUE ET MUTATIONNEL DES HÉTÉROTOPIES NODULAIRES PÉRIVENTRICULAIRES LIÉS À FLNA

I. Couprie (1), G. Sole (1, 3), E. Guérineau (1), C. Rooryck (1, 2), F. Martins (1), I. Burgelin (1), D. Lacombe (1, 2), B. Arveiler (1, 2), C. Goizet (1, 2)

(1) Laboratoire de Génétique Humaine, Université Victor Segalen Bordeaux 2, 33076 Bordeaux ; (2) Service de Génétique Médicale ; (3) Fédération de Neurosciences Cliniques, Hôpital Pellegrin, CHU Bordeaux, 33076 Bordeaux

Introduction : Les hétérotopies nodulaires périventriculaires (HNP) sont caractérisées par la présence d'un ou plusieurs nodules de substance grise cérébrale localisé(s) en position ectopique dans la substance blanche. Les formes les plus fréquentes sont bilatérales et symétriques (HNPB). Les HNP peuvent entraîner une épilepsie de sévérité variable et un retard mental, mais aussi rester asymptomatiques. Elles sont fréquemment associées à des malformations de la fosse postérieure, à des hémorragies néonatales fatales, à des fausses couches spontanées, et plus rarement à un syndrome d'Ehlers-Danlos (SED). Les mutations du gène *FLNA*, codant pour la filamine A, expliquent environ 40 % des cas d'HNP et 100 % des formes familiales liées à l'X. Nous rapportons les données cliniques et moléculaires d'une série de patients atteints d'HNP chez qui le gène *FLNA* a été analysé. **Matériels et méthodes :** Notre étude a porté sur une série de 58 patients incluant 45 femmes et 13 hommes, tous atteints de différents types d'HNP. Une analyse des 48 exons du gène *FLNA* a été réalisée par DHPLC et les variants obtenus ont été séquencés. Une recherche d'anomalie du dosage génique a été effectuée par QMF-PCR. Un biais d'inactivation de l'X a été recherché chez toutes les femmes porteuses d'une mutation. **Résultats :** Les différentes formes de HNP se répartissaient entre 35 HNPB (9 hommes), 17 HNPB associées à d'autres anomalies cérébrales (dont 11 malformations de la fosse postérieure), et 6 HNP unilatérales (3 hommes). Parmi les HNPB, 6 patientes présentaient un SED associé. Nous avons mis en évidence 19 mutations différentes chez 23 patientes atteintes d'HNPB associées ou non à d'autres signes. La plupart des mutations entraînent l'apparition d'une protéine tronquée mais plusieurs mutations faux-sens ont été identifiées, toutes localisées dans le domaine CH1 du domaine ABD. Une délétion intragénique a été découverte dans une famille avec HNPB, mégagrande citerne, cardiopathie, et SED. **Discussion :** Nous rapportons la 2^e plus grande série de patients atteints de HNP avec analyse de *FLNA*. Il s'agit également de la 1^{re} série systématiquement analysée à la recherche d'anomalies du dosage génique. La majorité des mutations de *FLNA* responsables de HNP conduisent à la formation d'une protéine tronquée. Cependant, des mutations faux-sens peuvent également conduire à un phénotype d'HNP éventuellement associé à un SED. Ces mutations sont regroupées dans le domaine CH1. Nous démontrons que les délétions intragéniques sont également possibles dans le phénotype HNP avec SED. À ce jour, seules deux délétions intragéniques avaient été décrites : un cas avec HNPB, et une famille avec une dysplasie valvulaire cardiaque familiale. Enfin, il n'y a pas de corrélation entre la sévérité de l'atteinte et l'inactivation de l'X. Les conséquences physiopathologiques de chaque type de mutations semblent très variées et demeurent mal comprises.

Mots-clés : hétérotopies nodulaires, filamine A, épilepsie.

■P31 / 424. ANALYSE DES GÈNES *TREK1*, *TRAAK* ET *TASK3* DANS L'ÉPILEPSIE MYOCLONIQUE JUVÉNILE

M. Mazuca (1), C. Bayreuther (2), P. Roll (3), P. Genton (4), P. Gelisse (5), F. Lesage (1), M. Lazdunski (1), P. Thomas (1), P. Szeptowski (3)

(1) Institut de Pharmacologie Moléculaire et Cellulaire-CNRS-Valbonne ; (2) Service de Neurologie-CHU Nice ; (3) UNITÉ INSERM 491, Marseille ; (4) Centre Saint-Paul Marseille ; (5) Service d'Explorations Neurologiques et d'Épileptologie, CHU de Montpellier

Introduction : L'épilepsie myoclonique juvénile (EMJ) est une forme fréquente d'épilepsie idiopathique généralisée de l'adolescent. Elle est caractérisée par une forte composante génétique et un mode de transmission

complexe le plus souvent, et Mendélien dans quelques rares familles. Si des mutations causales ont été identifiées dans les gènes *EFHC1*, *GABRA1* et *CLCN2*, et des variants de susceptibilité proposés dans divers gènes tels que *GABRD* et *CACNB4*, l'immense majorité des déterminants génétiques des EMJ reste à identifier. Un criblage mutationnel systématique de l'ensemble des gènes à expression cérébrale et codant pour des canaux ioniques, est actuellement proposé comme une stratégie possible visant à identifier des variants rares pouvant participer à l'émergence des phénotypes épileptiques les plus fréquents. Parmi l'ensemble des canaux potassiques, ceux à deux domaines P (K2P), spécialisés dans la génération et le maintien du potentiel électrique de repos, jouent un rôle clef dans le contrôle de l'excitabilité neuronale. Le rôle des gènes codant pour ces K2P dans le déterminisme génétique des épilepsies mérite d'être considéré, les souris invalidées pour le canal *TREK1* présentent une hyperexcitabilité neuronale remarquable. **Objectifs :** Rechercher des mutations de trois gènes codant pour des canaux potassiques à 2 domaines P, *TREK1* (*KCNK2*), *TRAAK* (*KCNK4*) et *TASK3* (*KCNK9*), dans une population de patients avec EMJ. **Méthode :** 105 patients présentant une EMJ diagnostiquée selon les critères de classification de la Ligue Internationale Contre l'Épilepsie (Commission de Classification 1989) ont été phénotypés et prélevés lors des consultations de 3 CHU (Nice, Montpellier et Marseille). Le criblage des exons codants des gènes *TREK1*, *TRAAK* et *TASK3* a été réalisé à partir de l'ADN génomique des patients par séquençage direct. **Résultats :** Dans le gène *TASK3*, détection d'un SNP déjà décrit (rs2615374 : p.Gly212Gly) dans l'exon 2 de 94 patients. Dans le gène *TREK1*, observation d'une nouvelle variation (c.-49C>T) dans le 5' UTR du gène, chez un patient, de deux SNP déjà décrits (rs217024342 : p.Gly165Gly) dans l'exon 4 chez 10 patients et (rs1556907 : c.951+79A>G) dans l'intron 6 chez 75 patients, de 2 nouvelles variations, (p.Pro179Pro) dans l'exon 4 chez 3 patients et (c.951+7A>C) dans l'intron 6, à +7 de la jonction exon/intron chez un patient. Dans le gène *TRAAK* mise en évidence deux variations non décrites dans l'exon 5, à -2 de la jonction exon/intron chez un patient et (c.801+28C>G) dans l'intron 6, à +28 de la jonction exon/intron chez un patient. **Conclusion :** Le séquençage des gènes *TREK1*, *TRAAK* et *TASK3* dans une large population de patients présentant une EMJ a mis en évidence trois nouvelles variations génétiques rares (deux mutations ponctuelles respectivement exonique synonyme et intronique, et une délétion intronique) dans le gène *TRAAK*, ainsi que trois nouveaux variants rares (dans le 5'UTR, intronique, et exonique synonyme) du gène *TREK1*. L'effet fonctionnel éventuel de ces différents variants reste à explorer.

Mots-clés : épilepsie myoclonique juvénile, canaux ioniques, polymorphisme génétique.

■P32 / 437. RÉALISATIONS ET PERSPECTIVES DE RESOCA-NAUX, RÉSEAU COLLABORATIF FRANÇAIS CONSACRÉ AU DIAGNOSTIC ET À LA RECHERCHE SUR LES CANALOPATHIES MUSCULAIRES, APRÈS SIX ANNÉES D'EXISTENCE

D. Sternberg (1, 4), S. Vicart (2, 4), E. Fournier (3, 4), B. Hainque (1), B. Fontaine (2, 4), au nom de l'ensemble des participants de RESOCA-NAUX (1) Biochimie Métabolique, Pôle de Biologie Médicale, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Assistance Publique, Hôpitaux de Paris ; (2) Centre de Référence des Canalopathies Musculaires, Neurologie, Pôle Maladies du Système Nerveux, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Assistance Publique, Hôpitaux de Paris ; (3) Neurophysiologie Clinique, Pôle Maladies du Système Nerveux, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Assistance Publique, Hôpitaux de Paris ; (4) INSERM Unité 546 Affections de la myéline et des canaux ioniques musculaires

Les canalopathies du muscle squelettique sont des maladies génétiques de l'excitabilité de la membrane musculaire. Elles se manifestent par des épisodes de paralysie, ou au contraire de contraction musculaire inappropriée (myotonie ou paramyotonie), dont la survenue est étroitement liée à certaines phases de l'effort musculaire, à la température ou aux apports alimentaires. Ces manifestations, dont les circonstances, l'intensité et la fréquence sont variables, ont un retentissement fonctionnel allant d'une gêne bien tolérée à de rares complications létales. La classification clinique de ces affections comporte actuellement des entités majeures, bien établies, et d'autres entités cliniques plus rares ou moins universellement reconnues, ainsi que de rares variantes et présentations mixtes. Les gènes responsables actuellement connus ont été identifiés entre 1991 et 2001 et codent pour les sous-unités principales de canaux ioniques à expression musculaire (canal calcium sensible au voltage, gène *CACNA1S*, canal sodium sensible au voltage, gène *SCN4A*, canal chlore, gène *CLCN1*, canal potassium rectifiant entrant, *KCNJ2*). Les études génétiques effectuées initialement ont permis de poser les grandes lignes des corrélations génotype-phénotype. Différents traitements pharmacologiques existent, mais les posologies et les indications en fonction des particularités cliniques et génétiques sont



mal établies, et leur efficacité reste à quantifier. Objectifs : Le réseau français collaboratif RESOCANAUx a été initié en 2001 (i) pour améliorer les outils diagnostiques génétiques et électromyographiques (EMG) de ces affections ; (ii) pour approfondir la compréhension des mécanismes physiopathologiques ; (iii) pour mettre au point des outils de stratification et d'évaluation destinés à la conception et à l'interprétation d'essais thérapeutiques. Ce réseau implique tous les centres hospitaliers universitaires français, certains autres hôpitaux, ainsi que plusieurs correspondants étrangers. Pour chaque cas suspecté, les correspondants du réseau envoient un prélèvement pour analyse moléculaire, une observation clinique et les données EMG. Réalisations : De 2001 à 2008 plus de 750 cas indépendants (avec ou sans autre cas dans la famille) ont été identifiés par les correspondants du réseau, et leurs prélèvements envoyés pour analyse. Le protocole actuel de caractérisation moléculaire permet de retrouver l'anomalie causale et de confirmer le diagnostic dans 75 % des cas. Une prévalence minimale de ces affections prises dans leur ensemble ainsi que des différents sous-types a pu être établie. La fréquence des anomalies moléculaires dans la population de patients a également pu être établie. Pour certaines mutations originales, les corrélats cliniques, et biophysiques ont été caractérisés de façon approfondie. Des protocoles d'investigation EMG reproductibles, sensibles et spécifiques, ont été mis au point et permettent une classification en différents profils de réponse. Ces derniers sont très bien corrélés avec le type d'anomalie moléculaire. Ces tests sont maintenant utilisés en routine dans plusieurs centres, en France et à l'étranger. Un Centre de Référence des Canalopathies Musculaires a été créé en 2005 à l'hôpital Pitié-Salpêtrière, et un essai thérapeutique a commencé en liaison avec le consortium américain CINCH. Perspectives : Une analyse rétrospective des données cliniques est en cours afin de préciser les corrélations génotype-phénotype et de dresser un tableau plus précis de l'histoire naturelle de ces maladies à l'échelle d'une large population. Cela devrait permettre de valider ou d'affiner la classification actuelle de ces affections. Des échelles de sévérité, de retentissement fonctionnel et de qualité de vie, adaptées à ces affections et utilisables pour le suivi des patients, pour des corrélations avec le génotype ou les paramètres EMG, et pour des essais thérapeutiques, sont en cours d'élaboration.

Mots-clés : centre de référence maladies rares, canalopathie musculaire, corrélation génétique-électrophysiologie.

■P33 / 451. POLYMORPHISMS IN THE BETA-GLOBIN CLUSTER INFLUENCING THE CLINICAL EXPRESSION OF BETA-THALASSEMIA

A. Bibi, H. Siala, B. Dakhlou, M. Douiri, I. Ben Youssef, T. Messaoud, S. Fattoum

Laboratoire de Biochimie Clinique ; Hôpital d'Enfants ; Place Bab Saa-doun ; Tunis

The beta-thalassemia are a large group of inherited hemoglobin synthesis disorders characterized by an heterogeneity in clinical expression and a wide spectrum of mutations. At present, about 200 different mutations causing beta-thalassemia have been described in the beta-globin gene. The clinical expression of beta-thalassemia has been suggested to be influenced by several polymorphic markers located in the beta-globin cluster and involved in hemoglobin F expression. In this way, individuals presenting severe beta-thalassemia mutations and concomitant high levels of HbF usually show a beta-thalassemia intermedia phenotype instead of the classical beta-thalassemia major phenotype. In this study we analyzed forty-five homozygous thalassemic patients (thirty-four with a major phenotype and eleven showing an intermedia phenotype) with the intention of identifying factors contributing to the observed variability in the severity of the disease. The nucleotide sequence analysis has concerned the -158 (C->T) G(gamma) polymorphism, the (AT) xTy repeat motif in the region -540 to -525, 5' to the beta-globin gene, the restriction haplotype and the alpha-globin genotype. In the group of major patients with codon 39 (C->T), IVSI-110 (G->A) and codon 47 (+A) mutations the restriction haplotypes were respectively (I and II), II and V all associated with "C" at position -158 (C->T) in the G gamma gene and the usual (AT)7T7 configuration. No alpha-thalassemia was associated in this group. In the group of intermedia beta-thalassemic patients, we have noted different mutations : the codon 39 (C->T) and IVSI-110 (G->A) beta-thalassemia mutations in the homozygote state and milder beta-thalassemia defects -87 (C->G), IVSI-2 (G->A), codon 44 (-T). Two patients with codon 39 (C->T) and IVSI-110 (G->A) mutations had concomitant alpha-thalassemia in heterozygote state (-alpha3.7 deletion). The -158 (C->T) G (gamma) polymorphism was present in 38 % of cases. Within this group, four patients were informative because they had (AT) 9T5 configuration and a (C->T) change at -158 to the G gamma gene. The codon 39 (C->T) genotype was linked to haplotype III in one chromosome. Higher HbF

expression was noted in this group. We conclude that in beta-thalassemic patients, the phenotype observed is the result of the severity of the mutation and the result of other important factors such as the -158(C->T) G (gamma) polymorphism and (AT) 9T5 repeat motif, increasing the Hb F expression and ameliorating the clinical course of the disease even if associated with a classical severe mutation such as the codon 39 (C->T).

Mots-clés : beta-thalassemia, clinical expression heterogeneity, polymorphic sequence variations.

■P34 / 453. DUPLICATION DU GÈNE MECP2 : IDENTITÉ PHÉNOTYPIQUE AU SEIN D'UNE MÊME FAMILLE

B. Echenne (1), C. Goiz (2), D. Lacombe (2), A. Roubertie (1), J. Chelly (3), B.C.J. Hamel (4), D. Lugtenberg (4), H. Van Bokhoven (4), A.P.M. de Brouwer (4)

(1) Service de Neuropédiatrie-CHU de Montpellier ; (2) Service de Génétique Médicale-CHU de Bordeaux ; (3) Institut Cochin, CNRS (UMR8104) Paris ; (4) Department of Human Genetics-Nijmegen

Introduction : les duplications en Xp28 touchant le gène MECP2 sont responsables de déficience mentale sévère chez le garçon, avec des phénotypes hétérogènes liés aux nombreux réarrangements génomiques induits par cette anomalie. Méthodes : ces patients font partie d'une cohorte plus large étudiée par MPLA ciblant une région de 1,3 Mb incluant le gène MECP2. Cas cliniques : cette famille comporte 4 patients et 3 mères transmettrices sur 2 générations. La clinique est homogène : retard moteur et hypotonie, ataxie, déficience mentale non syndromique initialement puis progression des signes avec spasticité, dysmorphie (oreilles larges et décollées, racine du nez large, traits grossiers...), et extériorisation d'une épilepsie entre 10 et 18 ans, avec, dans 2 cas, une épilepsie myoclonique pharmacorésistante. L'IRM cérébrale montre un hypersignal de la substance blanche hémisphérique. La duplication Xp28 de cette famille a une taille maxima de 260 kb incluant les gènes LICAAM, IRAK1, et MECP2. Conclusion : la confrontation génotype-phénotype doit permettre d'affiner le diagnostic clinique d'une affection qui semble représenter 1 % des déficiences mentales liées à l'X.

Mots-clés : gène MECP2, déficience mentale, épilepsie.

■P35 / 495. PROTÉINE MDR3 MUTÉE : DU GÉNOTYPE AU PHÉNOTYPE. APPORT DE LA SPECTROMÉTRIE DE MASSE POUR CONNAÎTRE L'INFLUENCE DES MUTATIONS SUR LES PHOSPHOLIPIDES ET LES ACIDES BILIAIRES

V. Barbu (1), D. Rainteau (1), O. Rosmorduc (2), C. Morel (1), L. Humbert (1), C. Wolf (1), J. Masliah (1), R. Poupon (2), O. Lascols (1)

(1) Biochimie B et LCBGM, Hôpital Saint Antoine AP-HP, Paris ; (2) Service d'Hépatogastroentérologie, Hôpital Saint Antoine AP-HP, Paris

Introduction : MDR3 est le transporteur situé au pôle canaliculaire des hépatocytes qui permet le passage des phospholipides (essentiellement des phosphatidylcholines) dans la bile. Des mutations du gène ABCB4, codant la protéine MDR3, ont été trouvées dans certaines pathologies hépatobiliaires cholestatiques (cholestases intra-hépatiques familiales de type 3, cholestases gravidiques, syndrome « Low Phospholipid Associated Cholelithiasis (LPAC) »). Les conséquences fonctionnelles de ces mutations sur les composants lipidiques biliaires ne sont pas complètement connues. Le but de cette étude est d'analyser les modifications qualitatives et quantitatives des phospholipides de la bile par spectrométrie de masse chez des patients présentant des mutations de ce gène. Matériels et méthodes : Les deux patients étudiés présentaient respectivement une lithiase intra-hépatique symptomatique et une cholestase très modérée sans calcul. Les ADN ont été extraits à partir des globules blancs périphériques. Les PCRs purifiées des exons 2 à 28 incluant les régions périexoniques, ont été séquencées dans le séquenceur ABI 3130 DNA Analyser. Les acides biliaires (AB), les phospholipides (PL) ont été extraits à partir de bile, et analysés par Chromatographie Liquide couplée à la Spectrométrie de Masse sur un API 2000 QTRAP qui permet de séparer et de quantifier les acides biliaires libres et conjugués ainsi que les différentes espèces moléculaires de phosphatidylcholines. Les concentrations en cholestérol (Cs) et PL totaux ont été obtenues par dosage enzymatique. Résultats : Le génotypage ABCB4 a montré une mutation hétérozygote faux-sens (c.1576G>T dans l'exon 14) chez le patient avec syndrome LPAC (P1) et une délétion d'une base T dans le codon 518 (exon 13) chez le patient avec cholestase isolée (P3). L'étude phénotypique de la bile a été effectuée chez ces patients. Dans la bile normale, la composition en lipides est la suivante : PL (21 %, mole %), AB (69 %) et Cs (10 %) et les phospholipides biliaires sont principalement constitués de phosphatidylcholines (PC) (98 %) et de sphingomyélines (SM) (2 %). Ces concentrations biliaires en phospholipides (PL), acides biliaires (AB) et cholestérol (Cs) correspondent à la phase micellaire mixte

du triangle de Small compatible avec une bonne solubilité du cholestérol. La composition des billes provenant des deux patients étudiés correspond par contre à des phases instables non micellaires du triangle de Small compatibles avec la précipitation de cristaux de cholestérol : (P1) PL : 20,3 mmole/l (17 %, mole %), AB : 89 mmole/l (76 %) et Cs 8 mmole/l (7 %) ; (P3) PL : 1 mmole/l (16 %, mole %), AB : 4 mmole/l (68 %) et Cs : 1 mmole/l (16 %). La seule anomalie observée chez ces patients est une diminution modérée de la proportion des phospholipides biliaires. La composition en espèces moléculaires sécrétées majoritaires ((16 : 0,18 : 2) ; (16 : 0,18 : 1) ; (16 : 0,20 : 4)) des phospholipides biliaires n'est, par contre, pas modifiée (respectivement 40 %, 21,20 % et 7,2 % pour P1 par exemple) mais reste différente de celle des PL totaux du foie. En Conclusion, ces résultats suggèrent un rôle fonctionnel des mutations de la protéine MDR3 étudiées sur la composition quantitative mais non qualitative des phospholipides biliaires, et confirment le rôle essentiel de la protéine MDR3 dans la formation des micelles mixtes dans la bile.

Mots-clés : MDR3, phospholipides biliaires, cristaux de cholestérol.

■P36 / 525. DIAGNOSTIC MOLÉCULAIRE DE LA SCLÉROSE TUBÉREUSE DE BOURNEVILLE CHEZ DES PATIENTS ATTEINTS : BILAN DE L'ÉTUDE RÉALISÉE POUR 366 FAMILLES

M.C. Malinge (1), J. Le Marcou (1), A. Guichet (1), B. Vary (1), S. Péculier (1), C. Repussard (1), S. Triau (2), C. Verny (3), D. Bonneau (1)
(1) Département de Biochimie-Génétique, CHU Angers ; (2) UF de Fato-pathologie, Fédération de pathologie cellulaire et tissulaire, CHU Angers ; (3) Service de Neurologie, CHU Angers

Introduction : La sclérose tubéreuse de Bourneville (STB) est une maladie génétique autosomique dominante due à des mutations dans deux gènes suppresseurs de tumeurs *TSC1* (9q34) et *TSC2* (16p13) codant respectivement pour l'hamartine et la tubérine. Il s'agit d'une affection touchant de nombreux organes (cerveau, peau, rein, cœur...) avec une grande hétérogénéité clinique. Le risque majeur de la STB est du à la présence de lésions cérébrales responsables de retard du développement, d'épilepsie et de troubles du comportement. Le but de cette étude est de déterminer la prévalence des mutations dans les gènes *TSC1* et *TSC2* responsable de la STB et de confronter les résultats de l'étude moléculaire aux signes cliniques observés pour les 366 patients recrutés. Patients et méthodes : Cette étude porte sur 366 patients atteints de STB vus en consultation au CHU d'Angers où provenant de 37 centres français et de 4 centres étrangers (Liège, Lausanne, Genève et Coimbra). Il s'agit de 283 cas sporadiques (77,3 %) et de 83 cas familiaux (22,7 %). Seuls les cas index ont été retenus dans les formes familiales. Les données cliniques ont été obtenues à partir des dossiers pour les patients vus à Angers et par une fiche standardisée pour les patients de l'extérieur. Les cas découverts en prénatal n'ont pas été inclus dans cette cohorte. L'analyse moléculaire a été réalisée à partir de prélèvements de sang veineux. La recherche et l'identification des mutations ont été effectuées par DHPLC puis séquençage des exons à tracé modifié pour les gènes *TSC1* et *TSC2*. Si aucune mutation n'a été détectée par ces techniques, une recherche de grandes délétions a été réalisée par la technique MLPA (MRC Holland). Résultats et discussion : Le taux de détection des mutations dans les gènes *TSC1* et *TSC2* est de 71 % (260/366 patients). Les mutations de *TSC1* représentent 32,7 % (n = 85) et celles de *TSC2* 67,3 % (n = 175). La majorité de ces mutations n'a pas été décrite à ce jour. Dans les cas sporadiques, on trouve une plus forte proportion de mutations de *TSC2* (n = 141 ; 49,9 %) que de *TSC1* (n = 49 ; 17,3 %). Aucune mutation n'a été mise en évidence pour 93 cas sporadiques (32,8 %). Dans les cas familiaux, l'équilibre entre les mutations de *TSC1* (n = 36 ; 43,4 %) et de *TSC2* (n = 34 ; 41 %) est mieux respecté. Dans les formes familiales, aucune mutation n'a été détectée chez 13 individus (15,6 %). Les mutations non sens de *TSC1* entraînant une troncation de la protéine représentent 45,9 % des cas (39/85), alors que les mutations de *TSC2* se répartissent de façon plus homogène : grandes délétions (9,7 %), insertions (10,3 %) d'épissage (17,7 %), non sens (18,9 %), faux-sens (19,4 %), délétions (24 %). Dans la cohorte de 366 patients étudiés, nous avons 260 patients mutés pour le gène *TSC1* ou *TSC2*. Dans cette population de patients mutés, les signes cliniques les plus fréquents sont les signes cutanés : taches achromiques/peau de chagrin (71,2 % ; n = 185), angiofibromes faciaux (35,8 % ; n = 93), tumeurs de Koënen (13,1 % ; n = 34). Les signes cutanés sont un peu plus souvent liés à *TSC1* notamment pour les taches achromiques/peau de chagrin (75,3 % vs 67,4 %) et les tumeurs de Koënen (23,5 % vs 8 %). Les signes neurologiques se répartissent ainsi : épilepsie (52,7 % ; n = 137), un retard mental et des troubles du comportement (25,8 % ; n = 67), présence de tubers corticaux et/ou de nodules sous épendymaires (60,8 % ; n = 158), tumeurs cérébrales (8,1 % ; n = 21). Le gène *TSC2* est plus souvent impliqué dans les signes

neurologiques notamment pour l'épilepsie (65,2 % vs 27,1 %), le retard mental et les troubles du comportement (32 % vs 13 %). Les manifestations rénales sont aussi relativement fréquentes : angiomyolipomes (17,3 % ; n = 45), tumeurs (1,2 % ; n = 3), kystes (14,6 % ; n = 38). Les signes rénaux sont plus souvent associés à *TSC2* : angiomyolipomes (20,6 % vs 10,6 %), kystes (20 % vs 3,5 %). Des tumeurs cardiaques ont été détectées pour 47 patients (18,1 %) et des troubles du rythme cardiaque observés pour 10 d'entre eux.

Mots-clés : sclérose tubéreuse de Bourneville Gènes *TSC1* et *TSC2* Mutation.

■P37 / 528. PROFILS ENZYMATIQUES ET ANALYSES MOLÉCULAIRES DES ACIDÉMIES MÉTHYLMALONIQUES : CARACTÉRISATION DES FORMES CBLA ET CBLB

S. Lebon, N. Royer, S. Pereira, C. Acquaviva, B. Gérard, J.F. Benoist
Services de Biochimie, Hormonologie et Biochimie Génétique, Hôpital Robert-Debré, AP-HP, Paris

L'acidémie méthylmalonique (AMM) résistante au traitement par la vitamine B12, est une entité clinique rare, génétiquement hétérogène et de transmission autosomique récessive. Trois gènes peuvent être impliqués dans cette pathologie : le gène *MUT*, codant pour la méthylmalonyl-coA mutase (MCM), et deux gènes impliqués dans la production de son coenzyme (la déoxyadénosylcobalamine), le gène *MMAA* pour les formes CblA et le gène *MMAB* pour les formes CblB. L'histoire clinique et les outils classiques du diagnostic ne permettaient pas jusqu'à présent de prédire le gène en cause pour un patient donné. Nous avons élaboré une stratégie d'exploration enzymatique permettant de cibler l'étude moléculaire chez ces patients. Celle-ci repose sur deux méthodes de mesure de l'activité enzymatique de la MCM : (i) mesure de l'activité de l'apoenzyme en présence d'un excès de coenzyme exogène (ii) test d'incorporation du propionate sur des cellules en culture et en présence de concentrations croissantes en cobalamine, reflétant l'activité de l'holoenzyme. Nous avons exploré 70 patients porteurs d'une AMM classique. Cette étude a permis de différencier 3 groupes de patients : – Groupe 1 (43 patients) : activité enzymatique résiduelle de l'apoenzyme faible (< 20 %) et test d'incorporation négatif (absence totale de stimulation de la MCM par la cobalamine). – Groupe 2 (8 patients) : activité enzymatique résiduelle de l'apoenzyme forte (> 40 %) et test d'incorporation positif (l'incorporation de propionate augmente lorsque la concentration en cobalamine augmente). L'activité enzymatique résiduelle de l'apoenzyme est elle variable dans ce groupe (1 à 34 %). Les patients du groupe 1 sont tous porteurs de mutations inactivatrices sévères du gène *MUT* conduisant à une protéine tronquée ou à un défaut de repliement. Ces formes, notées mut0, sont associées à des atteintes cliniques précoces et sévères. Les patients du groupe 2 présentent tous des mutations du gène *MMAB* et constituent donc les formes CblB. Ces formes sont en général précoces et sévères. Les patients du groupe 3 présentent soit des mutations hypomorphes du gène *MUT* (formes mut-, 7 patients) affectant le site de liaison du coenzyme ou des mutations inactivatrices du gène *MMAA* (formes CblA, 12 patients). Les formes CblA ont généralement une réponse plus franche au test d'incorporation que dans le groupe des patients mut- mais cette tendance n'est pas suffisante pour conclure avec certitude sur le gène en cause. Les formes CblA (17 % des patients) et les formes CblB (11 %) présentent donc un profil enzymatique clairement différent des formes mut0. L'étude moléculaire peut donc être rapidement orientée à la suite de cette analyse biochimique. Chez les patients présentant un test d'incorporation positif, l'analyse sera dans un premier temps orientée sur le gène *MMAA* puis, en l'absence de mutation, sur le gène *MUT*. Par ailleurs, ce phénotype biochimique définit un groupe de patients présentant une atteinte clinique généralement moins sévère (forme à révélation tardive chez 14 patients sur 19) et chez lesquels il conviendrait de réévaluer la sensibilité *in vivo* à la vitamine B12.

Mots-clés : AMM, MMAA, MMAB.

■P38 / 534. ÉVALUATION DE LA PART DES FACTEURS GÉNÉTIQUES DANS LA VARIABILITÉ D'EXPRESSION DE LA NEUROFIBROMATOSE DE TYPE 1

A. Sabbagh (1, 2), D. Vidaud (1, 2), M. Vidaud (1, 2), L. Valeyrie-Allanore (3), S. Ferkal (3), P. Wolkenstein (3), Réseau NF France

(1) UMR745 INSERM, Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques Paris-Descartes, 4 av. de l'Observatoire, 75006, Paris, France ; (2) Service de Biochimie et de Génétique Moléculaire, Hôpital Beaujon AP-HP, 100 Bd du Gal Leclerc, 92110, Clichy, France ; (3) Service de Dermatologie, Hôpital Henri Mondor-APHP, 51 av. du Mal de Lattre de Tassigny, 94000 Créteil, France



Introduction : La neurofibromatose de type 1 (NF1, MIM162200) est une des maladies héréditaires autosomiques dominantes les plus fréquentes (1/3500). Cette maladie monogénique à pénétrance complète se caractérise par une extrême variabilité de son expression clinique, y compris au sein d'une même famille. À ce jour, seules deux études ont évalué la part des facteurs génétiques dans cette variabilité d'expression. La première (Easton *et al.* 1993) n'a concerné qu'un nombre limité de patients (175 patients NF1 appartenant à 48 familles) et la seconde (Szudek *et al.* 2002), bien que portant sur un plus grand nombre d'individus (904 patients NF1 appartenant à 373 familles), ne disposait pas d'information clinique suffisante pour pouvoir traiter les principaux signes cliniques de la NF1 (tâches café-au-lait, lentigines, neurofibromes cutanés, nodules de Lisch) comme des variables quantitatives. Objectifs : L'objectif de cette étude est d'évaluer la part des facteurs génétiques dans la variabilité d'expression de la NF1 en s'appuyant sur la vaste banque de données génotype/phénotype établie grâce au réseau NF-France. Matériel et méthodes : L'étude a concerné 812 patients NF1 répartis dans 302 familles multiplex, incluant 247 familles nucléaires et 55 familles plus étendues. Tous les patients ont fait l'objet d'une évaluation clinique exhaustive et standardisée. Une analyse des corrélations intra-familiales, une analyse de décomposition de la variance et une analyse de ségrégation ont été réalisées chez ces patients pour 10 signes cliniques de la NF1. Résultats : Nos résultats montrent une corrélation phénotypique significative entre apparentés au premier degré et une diminution progressive de la corrélation phénotypique avec le degré de parenté pour la plupart des signes cliniques étudiés, suggérant l'implication de polymorphismes situés sur l'allèle NF1 normal ou sur l'allèle porteur de la mutation délétère ou de gènes modificateurs non encore identifiés sur la variabilité d'expression phénotypique de la NF1.

Mots-clés : neurofibromatose de type 1, corrélations intra-familiales, analyse de ségrégation.

■P39 / 537. HYPERÉCHOGÉNÉCITÉ COLIQUE FŒTALE ET CYSTINURIE : ÉTUDE BIOCHIMIQUE ET MOLÉCULAIRE DE 11 CAS

N. Royer, S. Lebon, I. Czerkiewicz, F. Muller, A. Imbart, B. Gérard, J.F. Benoist

Services de Biochimie, Hormonologie et Biochimie Génétique, Hôpital Robert-Debré, AP-HP, Paris

De récentes observations ont montré qu'il existait une relation entre l'hyperéchogénicité fœtale du colon (détectée généralement au cours du 3^e trimestre de grossesse) et une maladie rénale : la cystinurie-lysineurie. La cystinurie est une pathologie rare se manifestant par la récurrence d'épisodes de lithiases rénales par précipitation de cystine dans les urines, avec une morbidité associée parfois sévère. Elle est génétiquement hétérogène et associée à une anomalie du transporteur de la cystine et des acides aminés dibasiques (ornithine, lysine et arginine). Ce transporteur intramembranaire est un hétérodimère exprimé au niveau de l'épithélium intestinal et du tubule rénal proximal. Il se compose des deux sous-unités rBAT et b⁰,+AT, codées respectivement par les gènes *SLC3A1* et *SLC7A9*. L'atteinte clinique et le profil biochimique des patients ne permettent pas de différencier les sujets porteurs de deux mutations du gène *SLC3A1* ou du gène *SLC7A9*. En revanche, l'étude des parents (sujets porteurs à l'état hétérozygote d'une mutation) permet de cibler l'analyse moléculaire sur un des deux gènes : les sujets hétérozygotes pour les mutations du gène *SLC3A1* présentent un taux normal de cystine dans les urines tandis que les sujets hétérozygotes pour les mutations du gène *SLC7A9* présentent une concentration anormale de cystine dans les urines. Nous avons étudié 11 cas d'hyperéchogénicité fœtale du colon. Cette anomalie échographique isolée a été mise en évidence au cours du 3^e trimestre de grossesse (entre 28 et 36 SA). L'analyse biochimique (dosage des acides aminés) a été réalisée sur les liquides amniotiques, si disponibles, et sur les urines des nourrissons. L'analyse des deux gènes a été orientée en fonction du résultat du dosage de la cystine urinaire chez les deux parents. Pour deux cas, les analyses biochimique et moléculaire ont montré que l'hyperéchogénicité colique n'était pas liée à une cystinurie. En effet, le dosage de la cystine était normal et aucune mutation n'a été retrouvée chez ces deux patients. Aucune étiologie de l'anomalie échographique n'a été, à ce jour, retrouvée pour ces deux cas. L'analyse des neuf autres cas a confirmé le diagnostic de cystinurie : dans 6 cas, l'anomalie était portée par le gène *SLC3A1* (rBAT) et dans les 3 autres cas, le gène *SLC7A9* (b⁰,+AT) était en cause. Ces résultats confirment que la présence d'un colon hyperéchogène isolé au troisième trimestre de la grossesse est fortement évocatrice d'une cystinurie de révélation anténatale. En revanche, nos observations montrent que les deux gènes peuvent être également impliqués dans ces formes à révélation anténatale.

Mots-clés : hyperéchogénicité fœtale du colon, cystinurie, *SLC3A1* et *SLC7A9*.

■P40 / 538. CORRÉLATION GÉNOTYPE-PHÉNOTYPE CHEZ LES PATIENTS NF1 MICRODELETES

A. Sabbagh (1, 2), B. Parfait (1, 2), M.J. Hamel (2), P. Wolkenstein (3), M. Vidaud (1, 2), D. Vidaud (1, 2) : Réseau NF France

(1) UMR745 INSERM, Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques Paris-Descartes, 4 av. de l'Observatoire, 75006, Paris, France ; (2) Service de Biochimie et de Génétique Moléculaire, Hôpital Beaujon AP-HP, 100 Bd du Gal Leclerc, 92110, Clichy, France ; (3) Service de Dermatologie, Hôpital Henri Mondor-APHP, 51 av. du Mal de Lattre de Tassigny, 94000 Créteil, France

Introduction : La neurofibromatose de type 1 (NF1, MIM162200) est une maladie héréditaire monogénique dont l'expression phénotypique, tant à l'échelle intrafamiliale qu'inter-familiale, est très variable. Cette importante variabilité d'expression pourrait s'expliquer en partie par l'extrême hétérogénéité des mutations délétères du gène *NF1*. Mais à ce jour, peu de corrélations génotype-phénotype ont été mises en évidence. Il semblerait toutefois que des délétions entières du gène *NF1*, incluant le plus souvent une série de gènes situés dans les régions environnantes, soient plus souvent associées à un phénotype particulier : le « syndrome de microdélétion NF1 », caractérisé par une forme plus sévère de la maladie. Objectif : L'objectif de cette étude est d'évaluer si un phénotype clinique particulier est associé aux microdélétions du gène *NF1*, en comparant l'incidence de 13 signes cliniques entre 31 patients NF1 microdélétés et 124 patients NF1 avec une mutation intragénique, parfaitement appariés pour l'âge et le sexe. Résultats : Nos résultats montrent une association significative de certains traits cliniques (difficultés d'apprentissage, dysmorphie faciale, présence de neurofibromes sous-cutanés, risque plus élevé de tumeurs) avec les microdélétions du gène *NF1*. Une étude est en cours pour déterminer plus précisément la taille des microdélétions de chaque patient à l'aide d'une puce CGH haute-définition dédiée à la région 17q11.2. Cette information supplémentaire permettra de réaliser des analyses plus fines de corrélation génotype-phénotype et d'identifier des gènes candidats qui seraient directement impliqués dans l'association avec les différentes manifestations cliniques caractéristiques du syndrome de microdélétion NF1.

Mots-clés : neurofibromatose de type 1, syndrome de microdélétion NF1, étude d'association.

■P41 / 545. ENREGISTREMENT DES PATIENTS ATTEINTS D'ATAXIE-TELANGIECTASIE (A-T) EN VUE DE L'ÉTABLISSEMENT DE CORRÉLATIONS GÉNOTYPE-PHÉNOTYPE

L. Ben Slama (1, 2), R. Micol (2), A. Laugé (1), C. Dubois d'Enghien (1), A. Fischer (2) D. Stoppa-Lyonnet (1)

(1) Service de Génétique, Institut Curie, Paris, France ; (2) Centre de Référence Déficiets Immunitaires Héréditaires, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France

L'ataxie-télangiectasie (A-T) est une maladie génétique rare transmise selon le mode autosomique récessif caractérisée par des anomalies neurologiques, cutanées, immunitaires et un risque élevé de cancer. Les atteintes peuvent être les suivantes : anomalies neurologiques dont la manifestation principale est une ataxie cérébelleuse, télangiectasies de la conjonctive et de la région périorbitaire, déficit immunitaire variable atteignant les réponses cellulaires et humorales, se traduisant le plus souvent par une susceptibilité aux infections pulmonaires et ORL (sinus) et enfin risque élevé de cancers, en particulier de leucémies et lymphomes. L'ensemble de ces manifestations n'est pas toujours présent. Les éléments biologiques d'orientation diagnostique sont : l'augmentation importante (≥ 5 N) du taux sérique d'alphafoetoprotéine (AFP), et la présence de remaniements des chromosomes 7 et/ou 14 sur le caryotype des lymphocytes. Le tableau clinique et biologique étant souvent incomplet, le diagnostic de l'A-T peut être difficile et la mise en évidence de mutations délétères du gène *ATM* (gène majeur responsable de la maladie identifié en 1995) est essentielle au diagnostic. Le Centre de Référence des Déficiets Immunitaires Héréditaires (CEREDIH), Centre de référence labellisé dans le cadre du plan maladies rares 2005-2008 par le Ministère de la Santé permet d'« Assurer l'équité pour l'accès au diagnostic, au traitement et à la prise en charge », et l'Institut Curie ont initié et réalisent un enregistrement informatisé des cas des patients atteints d'A-T suivis ou ayant été suivis en France. Ce projet a été possible grâce à l'instigation d'un couple de parents d'un enfant atteint et au soutien de l'APRAT (Association Pour la Recherche sur l'A-T). Le CEREDIH et l'Institut Curie ont contribué à la création du registre européen de l'A-T en partenariat avec l'ESID (European Society for Immunodeficiencies). L'enregistrement des cas d'A-T recensés au

niveau français est réalisé dans la base de l'ESID. Ce registre comporte plusieurs items qui renseignent les données cliniques de chaque patient. Outre la description des différentes mutations, il y a un inventaire de toutes les données neurologiques, immunologiques et cytogénétiques. Les complications infectieuses et tumorales sont également renseignées. L'objectif immédiat du registre est d'examiner s'il y a des corrélations génotype-phénotype. À terme, l'enregistrement prospectif contribuera à définir des critères d'évolution clinique et permettra de connaître le nombre d'enfants susceptibles de participer à un essai thérapeutique. Ce registre aura des retombées en terme d'aide à la mise en place de consultations multidisciplinaires impliquant la neurologie, l'immunologie et la génétique. Il permettra un contact direct avec les médecins, les échanges des informations médicales si l'enfant est suivi sur plusieurs sites hospitaliers. Une aide aux parents sera accessible pour les orienter vers les services adaptés pour une prise en charge optimale de l'enfant. Enfin ce registre servira à l'élaboration de recommandations nationales concernant la prise en charge diagnostic et thérapeutique. À ce jour, 244 patients ont été recensés grâce à la collaboration des services hospitaliers français de neuropédiatrie et d'immunohématologie pédiatrique. Les résultats de l'enregistrement de ces patients seront présentés en détail et les corrélations génotype phénotype seront décrites en janvier 2008.

Mots-clés : ataxie-télangiectasie, registre national, déficit immunitaire.

■P42 / 557. INCIDENCES CLINIQUES D'UNE MOSAÏQUE 45,X/46,XX À UN FAIBLE POURCENTAGE

L. Homer (1), M.T. Le Martelot (1), F. Morel (2, 3), V. Amice (2), V. Kerlan (4), M. Collet (1), M. De Braekeleer (2, 3)

(1) Service de Gynécologie Obstétrique et Médecine de la Reproduction, CHU Morvan, Brest ; (2) Service de Cytogénétique, Cytologie et Biologie de la Reproduction, CHU Morvan, Brest ; (3) Laboratoire d'Histologie, Embryologie et Cytogénétique, Faculté de Médecine et des Sciences de la Santé, Université de Bretagne Occidentale, Brest ; (4) Service d'Endocrinologie, CHU Brest

Introduction : L'incidence de la mosaïque 45,X/46,XX à un faible pourcentage est augmentée chez la femme parmi les couples candidats à l'ICSI. Si l'impact sur les résultats des techniques d'assistance médicale à la procréation a été évalué, les corrélations caryotype-phénotype n'ont jamais été établies chez ces patientes dont les anomalies de nombre des chromosomes ont été diagnostiquées fortuitement. **Matériel et méthodes :** Nous avons analysé les répercussions cliniques et gonadiques d'une mosaïque 45,X/46,XX à un faible pourcentage au sein d'une population de 71 patientes recrutées au centre de Médecine de la Reproduction du CHU de Brest. Ces patientes n'ont pas fait l'objet d'un diagnostic de syndrome de Turner antérieurement. Nous avons également procédé à des comparaisons avec une population témoin à caryotype normal (46,XX) issue du même service. L'indication des caryotypes n'était pas connue lors de l'appariement des patientes à la population témoin. Tous les caryotypes ont été réalisés dans le service de cytogénétique de la Faculté de Médecine de Brest, par cytogénétique conventionnelle sur lymphocytes sanguins. L'analyse initiale a porté sur la lecture de 16 métaphases au minimum. Lorsqu'une cellule a présenté un gain ou une perte d'un chromosome X, le nombre de métaphases analysées a été porté à 25. Si une seconde cellule aneuploïde a été identifiée, 25 métaphases supplémentaires ont été analysées. Les études cliniques ont porté sur l'âge de la ménarche, la durée des cycles, la taille ainsi que sur l'indice de masse corporelle. Sur le plan biologique, nous avons mesuré les répercussions de la mosaïque sur les valeurs plasmatiques à J3 du cycle de la FSH, la LH, l'œstradiol et la TSH. Nous avons également évalué l'incidence de l'insuffisance ovarienne prématurée au sein de la population de patientes porteuses d'une mosaïque 45,X/46,XX à un faible pourcentage. Enfin, nous avons évalué les conséquences de cette mosaïque sur la fertilité spontanée des patientes. **Résultats :** Les caryotypes des patientes porteuses d'une mosaïque 45,X/46,XX comportent entre 4 % et 28 % de cellules aneuploïdes. La mosaïque 45,X/46,XX à un faible pourcentage a un impact sur le phénotype, puisque les patientes porteuses d'un pourcentage de cellules aneuploïdes supérieur à 8 % ont une taille significativement inférieure à celle des patientes présentant moins de 8 % de cellules aneuploïdes (160 ± 6 cm vs 164 ± 6 cm ; $p = 0,02$), et à celle de la population témoin (160 ± 6 cm vs 165 ± 6 cm ; $p = 0,01$). La mosaïque est par ailleurs corrélée positivement à l'indice de masse corporelle ($p = 0,0001$). Enfin, la mosaïque est corrélée négativement à l'âge de survenue de la ménarche ($p = 0,045$), et il existe un avancement de l'âge des premières règles pour les patientes qui présentent un taux de cellules aneuploïdes supérieur ou égal à 10 % ($12,3 \pm 1$ ans vs $13,5 \pm 1,3$ ans ; $p = 0,01$). Sur le plan biologique, seule l'œstradiolémie est corrélée négativement au pourcentage de cellules aneuploïdes ($p < 0,02$). La fertilité spontanée des patientes est également affectée, puisqu'il existe une

corrélation positive entre le pourcentage de cellules aneuploïdes et la répétition des avortements spontanés du premier trimestre ($p = 0,008$). Enfin, parmi les 71 couples pris en charge, 25 ont obtenu une grossesse clinique grâce aux techniques d'AMP (Fécondation *in vitro* avec ou sans ICSI). Trois couples ont souhaité la réalisation d'une amniocentèse en raison de la mosaïque à un faible pourcentage maternelle. Les 3 caryotypes ont été normaux. Aucune malformation fœtale n'a été diagnostiquée chez les 14 enfants issus de ces grossesses. **Conclusion :** La mosaïque 45,X/46,XX à un faible pourcentage entraîne des répercussions phénotypiques à partir de 8 % de cellules aneuploïdes. Elle n'est pas associée à une augmentation de l'incidence de l'insuffisance ovarienne prématurée, mais est corrélée positivement au nombre d'avortements spontanés du 1^{er} trimestre.

Mots-clés : mosaïque à un faible pourcentage, chromosome X, syndrome de Turner.

■P43 / 566. DÉLÉTION TÉLOMÉRIQUE PURE 10q CHEZ UNE MÈRE ET SA FILLE

M. Mathieu (1), A. Receveur (2), S. Drunat (3), C. Quibel (2), F. Raqbi (4), M. Hérou (4), G. Morin (1), H. Copin (2)

(1) Génétique clinique, département de pédiatrie, CHU Amiens ; (2) Biologie de la reproduction et cytogénétique, CHU Amiens ; (3) Service de génétique, Hôpital Robert-Debré, AP-HP, Paris ; (4) Service de pédiatrie, Hôpital de Creil

Introduction : Les anomalies télomériques sont responsables d'un certain nombre de retard mental avec phénotype anormal. Nous rapportons une observation familiale d'une monosomie 10q télomérique. **Observation :** – Patient 1 : M..., âgée de deux ans et demi est suivie pour un retard psychomoteur précoce, une hypotonie axiale et une absence de langage. L'anamnèse retrouve au cours de sa vie intra-utérine, une amniocentèse réalisée pour établir son caryotype en raison d'une nuque épaissie observée à l'examen échographique de 12 SA. L'examen cytogénétique avait conclu à un caryotype 46 XX sans anomalie décelée. À l'examen clinique, M... présente une microcéphalie mesurée à -2 DS, une hypotrophie modérée et une dysmorphie faciale (hypertélorisme, sourcils longs et droits, nez court, lèvre supérieure fine et coins de bouche tombants). Il n'y a pas de malformation viscérale et l'IRM cérébrale est normale. – Patient 2 : la maman présente un faciès identique, une petite taille (1 m 48) et avoue avoir eu des difficultés scolaires importantes contrairement à ses 4 frères et sœurs. **Méthode :** Une exploration cytogénétique en technique conventionnelle est réitérée chez la fille et réalisée chez la mère. Une exploration télomérique en MLPA est réalisée avec confirmation du résultat par hybridation *in situ* avec sonde fluorescente (FISH) sur les métaphases des deux patientes. **Résultats :** L'exploration en technique conventionnelle s'avère négative alors qu'une délétion télomérique pure du bras long du chromosome 10 est mise en évidence en MLPA chez les deux patientes et est confirmée en FISH. **Discussion et conclusion :** L'enquête cytogénétique familiale, n'a pas retrouvé cette délétion ni chez le frère aîné de M... ni chez ses grands-parents maternels. Il s'agit donc *a priori* d'une délétion de novo chez la mère, transmise à sa fille. Aucun autre remaniement chromosomique ne semble impliqué. Le phénotype des deux patientes est comparé aux données de la littérature.

Mots-clés : télomère 10q, MLPA, FISH.

■P44 / 577. DÉFICITS CONGÉNITAUX EN ALPHA-1-ANTITRYPSINE. CORRÉLATION PHÉNOTYPE-GÉNOTYPE

M.F. Odou (1, 2), F. Zerimech (1), N. Porchet (1, 3, 4), M. Balduyck (1, 2)

(1) Laboratoire de Biochimie et Biologie – Moléculaire. Hormonologie, Métabolisme, Nutrition, Oncologie, Centre de Biologie Pathologie, CHRU de Lille ; (2) Faculté de Pharmacie de Lille ; (3) Faculté de Médecine de Lille ; (4) Institut de Médecine Prédictive et de Recherche Thérapeutique. IFR 114, Centre de Recherche Jean Pierre Aubert U837, INSERM, Lille

Contexte : Le déficit congénital en alpha-1-antitrypsine (A1AT) est une maladie génétique héréditaire, dont l'impact s'exprime essentiellement par la survenue de troubles pulmonaires et/ou hépatiques graves qui sont le plus souvent cliniquement décelés à un stade évolutif tardif de la maladie et deviennent difficilement curables. La prise en charge précoce du déficit pourrait permettre de freiner l'évolution de la maladie et d'éviter l'apparition des symptômes cliniques graves. L'A1AT, principal inhibiteur de protéases du plasma humain, est une glycoprotéine codée par le gène *SERPINA1* localisé sur le chromosome 14. Il existe, pour cette antiprotéase, un polymorphisme génétique important : à ce jour, plus de 90 allèles différents ont été caractérisés. L'allèle le plus courant est l'allèle M retrouvé dans 90 % de la population d'origine caucasienne, les sujets homozygotes M ayant un taux circulant d'A1AT normal. Les deux allèles



déficitaires les plus fréquents sont les allèles S et Z, mais un certain nombre d'allèles répertoriés dans la littérature (Null, M malton, M proclida, Plowell...) donnent lieu aussi à des taux circulants très abaissés et à des pathologies associées. L'atteinte hépatique se manifeste principalement chez l'enfant par une cholestase et des anomalies du bilan biologique hépatique. Elle peut évoluer vers la cirrhose, nécessitant parfois le recours à la transplantation hépatique. L'atteinte pulmonaire se traduit généralement par un emphysème panlobulaire dont le risque est majoré chez les patients fumeurs. La sévérité de l'atteinte respiratoire est très variable. Le traitement de l'emphysème pulmonaire lié à un déficit en A1AT est réalisé par perfusion intraveineuse hebdomadaire d'A1AT (Alphalastin®). Par ailleurs, d'autres pathologies peuvent être associées au déficit en A1AT : bronchopneumopathie chronique obstructive, bronchiectasies, asthme, atteintes cutanées (panniculite), pancréatiques, rhumatismales (spondylarthrite ankylosante). Démarche biologique : Le diagnostic biologique du déficit en A1AT repose sur le dosage pondéral de l'A1AT sérique, sur la mesure du pouvoir antiélastasique du sérum et la détermination du phénotype d'A1AT par isoélectrofocalisation. Le génotypage de l'A1AT, réalisé par séquençage des exons codants et des jonctions introniques flanquantes sur les deux brins de l'ADN, permet de confirmer, si besoin est, les allèles identifiés par phénotypage et, le cas échéant, d'identifier des mutations correspondant à des allèles rares, parfois non encore répertoriés dans la littérature. Résultats : Depuis 2002, 304 patients ont bénéficié de l'exploration du déficit en A1AT selon la démarche biologique décrite avec étude génotypique : 100 patients présentaient un génotype homozygote M courant, 19 un génotype rare non déficitaire, 45 un génotype déficitaire SS, SZ ou ZZ, 101 un génotype partiellement déficitaire (hétérozygotes MS, MZ, FS, IS et IZ) et 35 un génotype déficitaire rare. Au cours de cette étude, nous avons mis en évidence, sur le plan biologique, une variabilité des concentrations sériques d'A1AT et de pouvoir antiélastasique, en lien direct avec le phénotype et le génotype d'A1AT. De plus, une variabilité d'expression clinique de ce déficit a pu aussi être observée. Perspectives : La mise en place, à l'échelle nationale, d'une cohorte de patients emphysémateux déficitaires en A1AT nous permettra d'approfondir cette corrélation phénotype-génotype. Par ailleurs, dans le cas de génotypes comportant un allèle déficitaire sous forme homozygote, et notamment en cas d'association à des concentrations sériques et une activité antiélastasique très effondrées, une perte d'allèle, une large délétion du gène *SERPINA1* et éventuellement une anomalie du gène *SERPINA3* (alpha-1-antichymotrypsine) peuvent être suspectées. Nous proposons le développement d'outils permettant la caractérisation de ce type de lésions rares.

Mots-clés : déficit en alpha-1-antitrypsine, gène *SERPINA1*, séquençage.

■P45 / 598. LE SYNDROME DE AXENFELD-RIEGER : LES ANOMALIES DENTAIRES ET OPHTALMIQUES REFLÈTENT-ELLES LE DIAGNOSTIC MOLÉCULAIRE ?

I. Bailleul-Forestier (1, 2), G. Lescaille (3), A. Verloes (4), I. Casteels (5), T. De Ravel (2), J.P. Fryns (2)

(1) Odontologie pédiatrique, Garancière-Hôpital Hôtel-Dieu, AP-HP France ; (2) Centre de génétique humaine, Université-Hôpital de Leuven, Belgique ; (3) Odontologie, Hôpital Pitié-Salpêtrière, chirurgie buccale, Garancière-Hôpital Hôtel-Dieu, AP-HP France ; (4) Unité Clinique de génétique, médecine génétique, INSERM U676, Hôpital R.-Debré, AP-HP, France ; (5) Département d'Ophtalmologie, Université-Hôpital de Leuven, Belgique

Le terme de malformations d'Axenfeld-Rieger regroupe un ensemble d'anomalies ophtalmiques associées à des atteintes systémiques et dentaires. Des agénésies dentaires, notamment du secteur incisif sont souvent rapportées, affectant les dents temporaires et permanentes. Dans 50 % des cas, les patients développent un glaucome pouvant entraîner la cécité. À ce jour, sept loci ont été associés au syndrome de Rieger et 4 gènes identifiés : *PITX2*, *FOXC1*, *PAX6* et *GJA1*. Il a été observé que les patients porteurs d'une mutation de *FOXC1* présentent un risque moins important de développer un glaucome. Nous rapportons les cas de 10 patients, présentant les malformations oculaires du syndrome d'Axenfeld-Rieger chez lesquels les gènes *PITX2*, *FOXC1*, *PAX6*, *GJA1* ont été testés, et le phénotype dentaire établi. Des anomalies ophtalmiques à type d'hypopiridie, de glaucome, d'anneau de Schwalbe proéminent et de synéchies iriennes sont observés. Trois patients présentent des mutations de *PITX2* et trois autres de *FOXC1*. Pour quatre patients, aucune mutation n'a actuellement été mise en évidence. Les patients porteurs d'une mutation de *PITX2* présentent des agénésies de 5 à 9 dents permanentes, les individus porteurs de *FOXC1* muté ou délété ont un nombre normal de dents, excepté prémolaire manquante pour un. Dans notre population, les patients atteints d'agénésies dentaires ont plus fréquemment des mutations du gène *PITX2* que du gène *FOXC1*. Ces observations pourraient contribuer au diagnostic précoce des

patients porteurs d'une malformation de Rieger, à l'orientation du diagnostic moléculaire et à la prévention du risque de cécité lié au glaucome.

Mots-clés : malformation d'Axenfeld-Rieger, agénésies, glaucome.

■P46 / 607. ANALYSE GÉNÉTIQUE DU SYNDROME DE SENIOR-LØKEN

K. Tory (1, 2), R. Salomon (1, 2, 3), V. Morinière (1, 2, 3), C. Becker (1, 2), C. Antignac (1, 2, 3, 4), S. Saunier (1, 2)

(1) INSERM U-574, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France ; (2) Université Paris Descartes, Paris, France ; (3) Centre de Référence Maladies Rénales Héritaires de l'Enfant et de l'Adulte ; (4) INSERM U-781, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France ; (5) Département de Génétique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France

La néphronoptose (NPH) est une néphropathie héréditaire de transmission autosomique récessive évoluant vers l'insuffisance rénale terminale avant l'âge de 20 ans dans la majorité des cas. Elle est caractérisée par des anomalies précoces des membranes basales tubulaires, associées à une fibrose interstitielle massive, et à un stade plus tardif, par l'apparition de kystes dans la médulla. L'association à une dystrophie rétinienne défini dans 10 à 15 % des cas le syndrome de Senior-Løken (SLS). L'atteinte rétinienne lorsqu'elle est sévère peut être responsable d'une cécité précoce apparentée à l'amaurose de Leber, mais des atteintes oculaires moins sévères sont également rencontrées. Des mutations dans 5 gènes, *NPHP1*, *NPHP3*, *NPHP4*, *NPHP5* et *CEP290* (*NPHP6*) ont été identifiées chez des patients avec SLS. Nous avons étudié une cohorte de 374 familles avec NPH dont 54 familles avec une atteinte rétinienne sans anomalies osseuses ou neurologiques (14 %). Afin de déterminer le taux de mutation de ces gènes dans le SLS et d'analyser les corrélations génotype-phénotype, nous avons recherché dans ces 54 familles des mutations dans les cinq gènes du SLS. Des mutations de *NPHP1* et de *NPHP5* ont été identifiées dans dix-sept (31 %) et 10 familles (19 %) respectivement. Il s'agit d'une délétion homozygote de la région du gène *NPHP1* dans 15 cas et d'une délétion hétérozygote associée à une mutation ponctuelle du gène sur l'autre allèle (mutation interrompant le cadre de lecture et mutation dans un site consensus d'épissage) dans 2 cas. Huit des familles mutées pour *NPHP5* ont des mutations tronquantes du gène homozygotes ou hétérozygotes composées, une seule mutation tronquante a été retrouvée dans 2 cas. Par ailleurs, bien que l'analyse des autres gènes soit en cours, des mutations du gène *CEP290* ont déjà été retrouvées dans deux familles. Les deux patients mutés pour *CEP290* sont soit porteurs d'une mutations faux-sens homozygote, soit d'une mutation tronquante associée à une mutation dans un site consensus d'épissage. Parmi les 123 familles avec une délétion homozygote du gène *NPHP1*, 15 seulement présentaient une rétinopathie (12 %). L'atteinte rétinienne chez les patients ayant une mutation de *NPHP1* est très modérée, seul l'ERG permettait d'en faire le diagnostic. La fréquence de l'atteinte rétinienne est probablement sous estimée au cours de la NPH. Par contre, les patients ayant une mutation dans les gènes *NPHP5* ou *CEP290* ont une rétinopathie sévère. Une rétinopathie sévère et précoce de type amaurose congénitale de Leber était présente chez la moitié des patients avec mutation *NPHP5*, et chez les deux patients mutés pour *CEP290*. En conclusion, les gènes *NPHP1* et *NPHP5* sont des gènes majeurs du SLS. Seule une minorité des patients avec mutation *NPHP1* ont une atteinte rétinienne modérée mais la fréquence de celle-ci est probablement sous-estimée. Les patients ayant une mutation *NPHP5* ont tous une atteinte sévère et précoce dont le diagnostic précède souvent celui de l'atteinte rénale.

Mots-clés : Senior-Løken, rétinopathie, néphronoptose.

■P47 / 608. ANALYSE GÉNÉTIQUE DES PATIENTS AVEC NÉPHRONOPTOSE ASSOCIÉE À UN SYNDROME DE JOUBERT

K. Tory (1, 2), T. Lacoste (1, 2), L. Burglen (3), V. Morinière (1, 2, 4), M. Delous (1, 2), N. Boddaert (5), T. Attie-Bitach (2, 6), C. Antignac (1, 2, 4, 7), R. Salomon (1, 2, 4), S. Saunier (1, 2)

(1) INSERM U-574, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France ; (2) Université Paris Descartes, Paris, France ; (3) Departments of Genetics and Pediatric Neurology, Hôpital Trousseau, AP-HP, Paris, F-75012, France ; (4) Centre de Référence Maladies Rénales Héritaires de l'Enfant et de l'Adulte ; (5) Hôpital Necker-Enfants Malades, Pediatric Radiology, AP-HP, Paris, F-75015, France ; (6) INSERM U-781, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France ; (7) Département de Génétique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France

La néphronoptose (NPH) est une néphropathie héréditaire de transmission autosomique récessive évoluant vers l'insuffisance rénale terminale avant l'âge de 20 ans dans la majorité des cas. Elle est caractérisée par des anomalies précoces des membranes basales tubulaires, associées à une

fibrose interstitielle massive, et à un stade plus tardif, par l'apparition de kystes dans la médullaire. Dans 10-15 % des cas, la NPH est associée à un syndrome de Joubert (SJ), un syndrome autosomique récessif, caractérisé par une ataxie cérébelleuse, un retard mental, une hypotonie, une arythmie respiratoire néonatale, et une agénésie du vermis cérébelleux. Des mutations dans les gènes *NPHP1*, *CEP290* (*NPHP6*) et *AHII* ont été mises en évidence chez des patients présentant une NPH associée à un SJ. Récemment, nous avons identifié des mutations dans un nouveau gène, *RPGRIP1L* (*NPHP8*), également muté chez des patients avec NPH associée à un SJ. *RPGRIP1L* co-localise avec les produits des gènes *NPHP1* et *CEP290* au niveau du cil primaire et du centrosome. Les patients avec mutations de *NPHP1*, ont en général une NPH isolée, une atteinte neurologique est notée dans environ 10 % des cas. Afin de préciser les facteurs génétiques prédisposants à l'atteinte neurologique, nous avons étudié les gènes *AHII*, *NPHP1*, *CEP290* et *RPGRIP1L* dans une cohorte de 30 familles ayant des signes neurologiques associés à l'atteinte rénale. Dans deux tiers des cas, des délétions du gène *NPHP1* (13/30), ou des mutations tronquantes du gène *CEP290* (8/30) ont été retrouvées. Des mutations faux-sens et/ou tronquantes du gène *RPGRIP1L* ont été retrouvées chez 4 patients (14 %). Par ailleurs, chez les patients avec des mutations du gène *NPHP1*, nous avons mis en évidence, une mutation hétérozygote des gènes *CEP290* et *AHII* (2/13) et d'un variant de *AHII* (5/13). Ce variant R830W, est significativement plus fréquent chez les patients par rapport aux contrôles. De plus, parmi les patients ayant une mutation de *NPHP1*, ce variant est significativement plus fréquent chez les patients ayant une atteinte neurologique par rapport aux patients avec des mutations sans atteinte neurologique. L'âge moyen d'apparition de l'insuffisance rénale terminale est de 11 ans (7-18), 16 ans (11-25) et 10 ans (6-18) chez les patients avec des mutations *NPHP1*, *CEP290* et *RPGRIP1L* respectivement. Les patients avec des mutations *NPHP1* ont un phénotype neurologique et oculaire modéré alors que les patients mutés pour *CEP290* ont un phénotype neurologique et rétinien plus sévère et précoce avec cécité dans la plupart des cas (6/8). L'atteinte neurologique chez les patients mutés pour *RPGRIP1L* est en général sévère, mais il n'y a pas d'atteinte rétinienne apparente chez ces patients. En conclusion, *NPHP1*, *CEP290* et *RPGRIP1L* sont mutés dans 83 % des cas de NPH associée au SJ dans notre cohorte. De plus, la moitié des patients mutés pour *NPHP1* sont aussi porteurs d'une mutation ou d'un variant hétérozygote des gènes *CEP290* ou *AHII*, suggérant que l'existence d'une atteinte neurologique chez les patients avec mutations de *NPHP1*, pourrait être due en partie à l'effet épistatique des mutations *CEP290/AHII*.

Mots-clés : néphronophthèse, syndrome de Joubert, ataxie cérébelleuse.

■P48 / 617. EFFETS PHÉNOTYPIQUES SUR LA CROISSANCE DES ANOMALIES DU DOSAGE GÉNIQUE DU RÉCEPTEUR DE L'IGF1 (IGF1R)

F. Petit (1), B. Néraud (2), P. Raniaud-Batair (2), J. Andrieux (3), L. Vallée (4), C. Vincent-Delorme (5), M. Cartigny-Maciejewski (2), M. De Braekeleer (6), B. Delobel (1), J. Weill (2)

(1) Centre de Génétique Chromosomique, Hôpital St Vincent, GHICL, Lille ; (2) Endocrinologie Pédiatrique, Hôpital Jeanne de Flandre, CHRU de Lille ; (3) Laboratoire de génétique médicale, Hôpital Jeanne de Flandre, CHRU de Lille ; (4) Service de Neurologie pédiatrique, Hôpital Salengro, CHRU de Lille ; (5) Unité de génétique médicale, Centre hospitalier d'Arras ; (6) Laboratoire de Cytogénétique, CHU Morvan, Brest

Les expériences animales d'inactivation génique et de transgénèse du gène d'IGF1R localisé chez l'homme en 15q25-q26 démontrent son rôle majeur dans la croissance pré et postnatale. Des anomalies du dosage du gène *IGF1R* dues à des aberrations chromosomiques de la région 15q25-q26 peuvent engendrer des troubles de croissance : retard en cas de monosomie, avance staturale en cas de trisomie. En fonction de la taille de l'anomalie ces anomalies de croissance peuvent être syndromiques, correspondant à des syndromes à gènes contigus. Nous rapportons 2 cas cliniques illustrant ces situations. Cas 1 : Un garçon né à 36 SA présente un RCIU sévère avec anomalies articulaires, hypospadias, cryptorchidie bilatérale et malrotation du mésentère sans dysmorphie faciale. À l'âge de 4,5 ans il n'a pas de déficit intellectuel, la taille est à -4,3 DS. Il est traité par hGH (0,4 mg/kg/semaine) mais le gain de taille est limité à 1 DS en 6 ans. L'IGF1 plasmatique est mesurée entre 1 et 2 DS sans hGH et entre 2,3 et 2,8 DS sous hGH ; IGFBP3 au 75^e percentile (p) sans hGH et vers les 75-85^e p sous hGH. La GH s'élève à 8,3 et 14,1 ng/ml aux tests de stimulation. Le caryotype en haute résolution (RBH) est normal. L'élévation anormale de l'IGF1 sous hGH fait suspecter une anomalie de dosage du gène *IGF1R*. L'hybridation in situ en fluorescence (FISH) avec des sondes de la région 15q terminale englobant le gène *IGF1R* détecte une microdélétion 15qter

de novo. Cas 2 : Une fille présente à l'âge de 4 ans une avance staturale à +3 DS avec retard des acquisitions prédominant sur le langage et une dysmorphie faciale (front large, hypertélorisme, menton pointu). Le caryotype en haute résolution décèle un excès de matériel chromosomique d'origine indéterminée sur les bras longs d'un chromosome 2. Ce chromosome 2p+, après analyse par puce pantélomérique et complément par FISH, correspond à une trisomie 15qter par déséquilibre d'une translocation réciproque (2 ; 15) apparue de novo. La trisomie 15qter mesure environ 19,5 Mb elle englobe le gène *IGF1R*, la délétion 2pter est < à 200 kb et ne participe probablement pas au tableau clinique. Conclusions : Une corrélation génotype-phénotype entre le dosage génique d'*IGF1R* et la croissance : retard statural en présence d'une seule copie du gène, avance en présence de trois copies, est illustrée par 2 nouveaux cas. Les techniques de cytogénétique conventionnelles peuvent être insuffisantes pour détecter des microremaniements intéressant ce locus. Une FISH spécifique du locus *IGF1R* nous semble intéressante en cas de : (i) pour la recherche de délétion : RCIU avec retard de croissance post-natal et IGF1 anormalement élevé sous hGH ou retard de croissance = -3 DS syndromique (ii) pour la recherche de délétion : avance staturale = +3 DS, quand les causes classiques de troubles de la croissance syndromiques ont été écartées.

Mots-clés : *IGF1R*, trisomie 15qter, monosomie 15qter.

■P49 / 634. LA BASE UMD-ATP7B ET LA MALADIE DE WILSON : NOUVELLES STRATÉGIES

E. Rouleau, S. Germann, C. Bérout*, L. Mockel, F. Lacaille**, D. Riquier, I. Ceballos-Picot

Laboratoire de Biochimie Métabolique ; ** Département de Pédiatrie, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris ; * Laboratoire de Génétique moléculaire/Institut Universitaire de Recherche Clinique, Montpellier

Introduction : La maladie de Wilson est causée par une altération du gène *ATP7b* codant pour une protéine impliquée principalement dans le transport du cuivre hépatique. Cette maladie, due à une toxicose cuprique, s'exprime sous deux phénotypes principaux : hépatique ou neurologique. L'âge d'apparition des premiers symptômes peut être précoce chez l'enfant ou bien tardif et apparaître à l'âge adulte. La variabilité phénotypique pose la question d'une possible relation entre le génotype et les manifestations cliniques. Matériels et Méthodes : La base de données Universal Mutation Database (UMD)-ATP7B a été mise en place à partir de données du génotype et du phénotype décrites dans la littérature internationale depuis 1993 incluant des données françaises décrites à l'hôpital Necker-Enfants Malades. 1 444 patients ont été analysés sur des données moléculaires et cliniques. Après une étude descriptive, une analyse des données par une approche statistique (modélisation logistique) et par un croisement des informations alléliques a été réalisée. Résultats : 1 444 individus ont été analysés, 1 566 allèles sont renseignés. Les mutations sont essentiellement faux sens (77 %), principalement sur l'exon 14 en fréquence et sur l'exon 8 en diversité. Nous avons validé les « hotspot » mutationnels géographiques entre l'Asie et l'Europe. Nous avons mis en évidence une prédominance des mutations autres que faux sens dans l'âge d'apparition de la maladie. Les modélisations ont permis de mettre en évidence une relation entre les mutations dans les exons impliqués dans l'épissage alternatif et le phénotype neurologique ou hépatique. De plus, l'analyse en prenant en compte les deux allèles nous a permis d'évaluer des effets de dominance en fonction de la nature des mutations. Conclusion : L'outil UMD permet de construire et d'analyser des bases de données locus-spécifiques. L'analyse de la base UMD-ATP7B a permis de lister de manière exhaustive les mutations du gène *ATP7B* responsables de la maladie de Wilson, d'établir des corrélations génotype/phénotype et a mis en évidence des mécanismes moléculaires pouvant être à l'origine des différents phénotypes. La base UMB-ATP7B doit se compléter pour permettre, à terme, de valider les modélisations réalisées.

Mots-clés : maladie de Wilson, UMD-ATP7B, corrélations génotype phénotype.

■P50 / 635. ANALYSE DES GÈNES *EYA1*, *SIX1* ET *SIX5* DANS LE SYNDROME BRANCHIO-OTO-RÉNAL

P. Krug (1, 2, 3), V. Morinière (1), L. Heidt (1, 2, 5), H. Dollfus (6), S. Marlin (7), C. Antignac (1, 2, 3, 4), R. Salomon (1, 2, 3, 5)

(1) Centre de Référence Maladies Rénales Hérititaires de l'Enfant et de l'Adulte ; (2) Inserm U574 ; (3) Université René-Descartes ; (4) Département de Génétique, Hôpital des Enfants Malades ; (5) Service de Néphrologie Pédiatrique, Hôpital des Enfants Malades ; (6) Laboratoire de Génétique Médicale, Faculté de Médecine de Strasbourg, Université Louis Pasteur, Strasbourg ; (7) Service ORL et Centre de Référence des surdités congénitales et héréditaires, Hôpital Armand-Trousseau



Le syndrome branchio-oto-rénal (BOR) est caractérisé par une surdité, des anomalies branchiales et rénales. Des critères diagnostiques ont été définis, on distingue des critères majeurs : anomalies branchiales, surdité, fistules pré-hélicéennes, anomalies rénales, et des critères mineurs : anomalies de l'oreille externe, moyenne ou interne, enchondromes pré-tragiens, anomalies faciales ou palatines. Le diagnostic de BOR est confirmé si 3 critères majeurs ou 2 critères majeurs et 2 critères mineurs sont associés ou encore si 2 personnes apparentées au premier degré présentent au moins un critère majeur. Le syndrome BOR se transmet selon un mode autosomique dominant, son expression est variable et la pénétrance parfois incomplète. Trois gènes ont été identifiés, le gène *EYA1* localisé sur le chromosome 8q13 codant pour un co-facteur de transcription et les gènes *SIX1* et *SIX5* codant pour des facteurs de transcription localisés respectivement sur les chromosomes 14q23 et 19q13. Des mutations du gène *EYA1* ont été identifiées dans 40 % des cas environ. Des délétions partielles du gène ont été mises en évidence dans 18 % des cas dans une série récente (1). Les gènes *SIX1* et *SIX5* sont mutés dans 4 et 5 % des cas dans la seule cohorte de patients étudiée jusqu'à maintenant. L'objectif de cette étude rétrospective multicentrique est d'évaluer la fréquence des mutations et délétions du gène *EYA1* et la fréquence des mutations ponctuelles des gènes *SIX1* et *SIX5* et d'analyser les phénotypes associés à ces mutations. Nous avons étudié une cohorte de 38 patients atteints d'un syndrome BOR. Nous avons défini trois groupes de patients : (i) syndromes BOR typiques remplissant les critères définis plus haut, (ii) syndromes BOR atypiques quand les symptômes faisaient évoquer le diagnostic mais que les critères n'étaient pas réunis et (iii) les syndromes BO quand les atteintes ORL étaient isolées. Les gènes ont été analysés par séquençage direct des exons codants et pour le gène *EYA1*, les délétions ont été recherchées par la méthode QMPSF par amplification des exons 1, 5, 10 et 15. Parmi les 38 patients, 14 (36,8 %) sont atteints de BOR typique, 12 (31,6 %) de BOR atypique et 12 (31,6 %) de syndrome BO. Une mutation du gène *EYA1* a été identifiée chez 9 patients dans le premier groupe (64,3 %), chez un patient atteint de BOR atypique (8,3 %) et chez 3 patients atteints de BO (25 %). Une mutation faux-sens de *SIX1* (Exon 2 : nt80C>T pP249L) a été mise en évidence chez un seul patient ayant un BOR typique et une mutation d'insertion dans l'exon 1 du gène *SIX5* (nt161InsCGGGGC, p54InsGA) a été mise en évidence chez un patient ayant un BOR atypique (rein unique dysplasique, anomalies des canaux lacrymaux). 23 patients sur 38 (60,5 %) ont des antécédents familiaux d'atteinte rénale et/ou ORL. De plus, chez les 13 patients présentant une mutation d'*EYA1*, 10 (76,9 %) ont des antécédents familiaux connus. Des phénotypes particuliers ont été observés chez les sujets porteurs de mutation *EYA1* : une hypothyroïdie, un ovaire unique, une cataracte, une dysmorphie faciale (épicanthus). Sur le plan rénal, les phénotypes rénaux observés sont variés : hypoplasie, dysplasie, kystes, agénésie, dilatation pyélique, duplication rénale, bifidité urétérale, rein en fer à cheval. Cette étude confirme l'hétérogénéité génétique du syndrome BOR. Une mutation du gène *EYA1* est présente dans 2/3 des cas lorsqu'il s'agit d'une forme typique alors que seuls 8,3 % des formes atypiques sont associées à une mutation. Des antécédents familiaux sont connus chez 76,9 % des patients avec mutation. Nous n'avons pas mis en évidence de délétion du gène *EYA1* par la technique QMPSF alors que cette technique permettait d'identifier une délétion chez 3 patients sur les 17 qui n'avaient pas de mutation ponctuelle (1). Par ailleurs, comme la fréquence des mutations de *SIX1* et *SIX5* dans notre population est faible, concordant avec les résultats précédemment décrits.

Références

1. Chang et al. *Hum Mutat* 2.

Mots-clés : BOR, *EYA1*, *SIX1*.

■P51 / 636. HÉTÉROGÉNÉITÉ PHÉNOTYPIQUE DES SYNDROMES D'INSULINO-RÉSISTANCE : NOUVELLES MUTATIONS DE LA LAMINE A/C RESPONSABLES DE LAMINOPATHIE MÉTABOLIQUE

O. Lascols (1, 2), A. Decaudain (1), M. Jodar (2), M.C. Vantyghe (3), B. Guerci (4), A.C. Hécart (5), M. Auclair (1), Y. Reznik (6), H. Narbonne (7), P.H. Ducluzéau (8), B. Donadille (1), C. Lebbé (9), V. Bérézat (1), J. Capeau (1, 10), C. Vigouroux (1, 10)
(1) INSERM U680, Paris ; (2) Laboratoire commun de biologie et génétique moléculaires, CHU Saint-Antoine, Paris ; (3) Service d'Endocrinologie et Maladies métaboliques, CHU-Lille ; (4) Service de Diabétologie, Endocrinologie et Nutrition, CHU Nancy ; (5) Service d'Endocrinologie, Maladies métaboliques et Médecine interne, CHU-Reims ; (6) Service d'Endocrinologie et Maladies métaboliques, CHU-Caen ; (7) Service de Nutrition, Maladies Métaboliques, Endocrinologie, CHU-Marseille ; (8) Centre de recherche en Nutrition Humaine, Hospices Civils, Lyon ; (9)

Service de Dermatologie, CHU-Saint-Louis, Paris ; (10) Hôpital Tenon, Service de Biochimie et d'Hormonologie, CHU Tenon, Paris

Les syndromes d'insulino-résistance sévères sont des maladies rares qui peuvent être associées à des lipodystrophies partielles lorsqu'ils ont pour origine, entre autres, des mutations du gène des lamines A/C (*LMNA*). Le phénotype le plus fréquent est celui du syndrome de Dunnigan ou FPLD2 (Familial Partial Lipodystrophy of the Dunnigan Type), dû majoritairement aux mutations hétérozygotes R482W et R482Q. La maladie se développe à la puberté avec une lipoatrophie des membres et du tronc, une accumulation cervico-faciale de tissu adipeux, un diabète insulino-résistant, une dyslipidémie, une stéatose hépatique et une hypertrophie musculaire. L'insulino-résistance sévère peut donner un acanthosis nigricans et une hyperandrogénie d'origine ovarienne chez la femme. À l'heure actuelle, plus de 200 mutations du gène *LMNA* ont été rapportées chez des patients présentant diverses laminopathies qui affectent outre le tissu adipeux, les muscles striés (cœur et muscles squelettiques), le cartilage, l'os, ou entraînent un syndrome de vieillissement accéléré dont la progéria. Cependant les corrélations génotype-phénotype sont complexes. Le phénotype ne peut être strictement corrélé aux localisations des mutations dans ce gène qui code une protéine nucléaire participant à la constitution de la lamina et établissant des interactions avec de multiples composants nucléaires. Ainsi, les mutations du domaine C-terminal codé par les exons 7 à 12 pourraient perturber les interactions avec l'ADN et la différenciation adipocytaire. Nous rapportons ici les cas de 9 patients porteurs de nouvelles mutations du gène *LMNA* présentant un phénotype d'insulino-résistance avec une lipodystrophie atypique. Le mode de révélation de la maladie a été pour 5 cas une insulino-résistance majeure et pour les 4 autres une lipodystrophie modérée. L'âge moyen du diagnostic de la laminopathie est de 47 ans, de 10 ans supérieur au diagnostic d'une FPLD2 typique. Outre la lipodystrophie absente ou réduite (épargnant en particulier le tronc et l'abdomen), le phénotype de ces patients se distingue du FPLD2 principalement par l'index de masse corporelle (26,9 +/- 4,6 vs 23,4 +/- 1,7 kg/m² chez les patients FPLD2), le tour de taille (93,6 +/- 9,0 vs 79,6 +/- 3,2 cm) et le taux de leptine (19,3 +/- 13,6 vs 5,4 +/- 2,6 ng/ml). Certains cas présentent aussi des signes musculaires et/ou cardiaques. L'analyse génétique, par séquençage des 12 exons et des régions périexoniques du gène *LMNA*, a révélé 4 domaines de mutations dans des régions très conservées de l'exon 1 (R28W, L92F), l'exon 7 (L387V, S395L, R399H, L421P, R439C), l'exon 9 (H506D) et l'exon 11 (T655fsX49). La quantification génique, réalisée par la technique MLPA (Multiplex ligation-dependent probe amplification), n'a révélé aucun réarrangement au sein du gène. Les analyses familiales n'ont pu être réalisées que dans une seule famille pour laquelle la coségrégation de la maladie et du variant génétique a pu être vérifiée. Dans les autres cas, le phénotype cellulaire (anomalies de la forme des noyaux) a pu être observé sur les fibroblastes de peau ou les cellules lymphoblastoïdes issues des patients. Les résultats présentés font partie d'une série de 277 sujets indépendants testés pour un diagnostic de laminopathies dont 17 présentaient une mutation FPLD2 typique au codon 482. À l'heure actuelle, la physiopathologie de ces différentes formes de lipodystrophies associées aux multiples mutations du gène *LMNA* n'est pas connue. En conclusion, l'hétérogénéité des phénotypes d'insulino-résistance et de lipodystrophie rend délicate la mise en place d'une stratégie décisionnelle d'analyse. Une insulino-résistance majeure, même en l'absence de lipodystrophie sévère, doit faire rechercher les mutations dans le gène *LMNA*. Le diagnostic moléculaire doit pouvoir être effectué le plus tôt possible pour une prise en charge précoce adaptée afin de limiter le développement du diabète et de ses complications.

Mots-clés : laminopathie, insulino-résistance, lipodystrophie.

■P52 / 641. ANOMALIES MORPHOLOGIQUES DES MITOCHONDRIES AXONALES DANS LES NEUROPATHIES PÉRIPHÉRIQUES DUES À DES MUTATIONS DE *MFN2* ET *GDAP1*

B. Funalot (1), C. Magdelaine (2), M. Ryan (3), D. Zhu (4), F. Sturtz (2), G. Nicholson (4), R. Ouvrier (5), J.-M. Vallat (1)
(1) Service et laboratoire de neurologie, CHU de Limoges ; (2) service de biochimie et génétique moléculaire, CHU de Limoges ; (3) Neurosciences Department, Royal Children's Hospital, Murdoch Children's Research Institute, Victoria, Australie ; (4) Molecular Medicine Laboratory & ANZAC Research Institute, Concord Hospital, Sydney NSW, Australie ; (5) Institute for Neuromuscular Research, The Children's Hospital at Westmead, Westmead, Australie

Introduction : des mutations des gènes codant pour la mitofusine 2 et GDAP1 (ganglioside-induced différenciation protein 1), protéines de la membrane mitochondriale impliquées dans les phénomènes de fusion-fission, sont responsables de formes variées de maladie de Charcot-Marie-Tooth (CMT). Les mutations du gène de la mitofusine 2 (*MFN2*) entraînent

des neuropathies axonales autosomiques dominantes (CMT2A2) mais aussi des formes récessives (cf abstract n° 630, Magdelaine *et al.*). Les mutations du gène *GDAP1* peuvent entraîner des neuropathies autosomiques récessives, de type démyélinisant, axonal ou intermédiaire. Des anomalies morphologiques et fonctionnelles des mitochondries ont été mises en évidence dans des neurones en culture exprimant une mitofusine 2 mutée et dans des cellules de souris KO-Mfn2. En revanche, seules des anomalies fonctionnelles mitochondriales ont été observées dans des fibroblastes provenant de patients atteints de CMT par mutations de *MFN2* ou *GDAP1*. Nous avons étudié les biopsies nerveuses de patients présentant des neuropathies périphériques avec mutations de *MFN2* ou *GDAP1* à la recherche d'anomalies morphologiques évocatrices d'une dysfonction mitochondriale. Matériel et méthodes : les biopsies nerveuses de neuf patients atteints de neuropathies sensitivo-motrices génétiquement déterminées et porteurs de mutations de *MFN2* ou *GDAP1* ont été analysées en microscopie optique et électronique (ME). Six patients étaient atteints de neuropathies axonales sévères à début précoce avec mutations de *MFN2* (trois patients avec mutations hétérozygotes considérées comme dominantes *de novo*, deux patients avec mutations hétérozygotes composites et un patient porteur d'une mutation à l'état homozygote). Trois patients étaient atteints de neuropathies mixtes ou axonales à début précoce et portaient des mutations sur les deux allèles de *GDAP1* (un patient avec mutations hétérozygotes composites et deux patients avec mutations homozygotes). Ces cas ont été comparés à des biopsies provenant de deux enfants atteints de neuropathies axonales sévères à début précoce mais sans mutations de *MFN2* ou *GDAP1*, de trois patients atteints de neuropathie axonale autosomique récessive par mutation de *LMNA*, de cinq patients atteints de neuropathies acquises axonales (2 cas) ou démyélinisantes (3 cas), et également à des nerfs normaux provenant de quatre adultes et trois enfants (huit mois, cinq ans, neuf ans). Résultats : Dans tous les cas il était observé une diminution marquée de la densité des fibres myélinisées, avec présence de quelques images en bulbe d'oignon chez les patients porteurs de mutations de *MFN2*, et d'anomalies démyélinisantes plus marquées chez les patients porteurs de mutations de *GDAP1*. Chez tous les patients, la majorité des mitochondries axonales présentaient des anomalies de forme et de taille en ME : au lieu de leur morphologie tubulaire habituelle, les mitochondries avaient un aspect sphérique, un diamètre réduit, formant des agrégats de petites mitochondries arrondies à la périphérie des axones. Il existait également des irrégularités des membranes internes et externes des mitochondries, avec une perte de la morphologie des crêtes mitochondriales. Ces anomalies n'étaient pas observées dans le cytoplasme des cellules périneurales ni dans les cellules de Schwann adjacentes aux axones. Conclusion : Des anomalies morphologiques des mitochondries axonales en ME paraissent caractéristiques des neuropathies dues à des mutations de *MFN2* et *GDAP1*. Ces anomalies pourraient résulter d'un dysfonctionnement des mécanismes de fusion-fission mitochondriaux dépendants de la mitofusine 2 et de *GDAP1*. Leur constatation peut être utile pour orienter le diagnostic moléculaire et fournir un argument fonctionnel en faveur de la pathogénicité de mutations non encore décrites.

Mots-clés : Charcot-Marie-Tooth, *MFN2*, *GDAP1*.

■P53 / 661. EXPLORATION DU PHÉNOTYPE BUCCO-DENTAIRE ET CORRÉLATIONS PHÉNOTYPE/GÉNOTYPE DANS L'HYPHOPHOSPHATASIE

A. Reibel (1, 2, 3), E. Mornet (4), Y. Alembik (5), M.-C. Maniere (1, 2), A. Bloch-Zupan (1, 2, 3)

(1) Faculté de Chirurgie Dentaire, Université Louis Pasteur, Strasbourg ; (2) Centre de Référence pour les Manifestations Odontologiques des Maladies Rares, Service de Soins Bucco-Dentaires, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg ; (3) IGBMC, Inserm, U596 ; CNRS, UMR7104, Illkirch ; (4) Laboratoire SESEP, Versailles ; (5) Service de Génétique Médicale, Hôpitaux universitaires de Strasbourg

L'hypophosphatasie (OMIM #146300, 241500, 241510) est une maladie métabolique héréditaire rare due au déficit ou à l'absence d'activité de la Phosphatase Alcaline Non Tissu-Spécifique. Le diagnostic de certitude fait suite à l'examen du taux sérique de l'enzyme ainsi qu'à l'analyse moléculaire du gène de la phosphatase alcaline osseuse, OMIM #171760. Les manifestations cliniques, principalement osseuses et bucco-dentaires, sont très variables allant de l'absence totale de minéralisation du squelette à la perte prématurée des dents. En fonction de l'âge d'apparition des symptômes, 6 formes cliniques sont actuellement décrites. On distingue ainsi les formes néonatale, prénatale bénigne, infantile, juvénile, adulte et enfin l'odontohypophosphatasie dont les signes cliniques semblent être uniquement dentaires. Les formes néonatale et infantile sont dites sévères, alors que les formes juvénile et adulte sont qualifiées de modérées. La variabilité clinique peut être corrélée aux nombreuses mutations retrouvées au sein

du gène. Les manifestations bucco-dentaires décrites dans la littérature, perte prématurée des dents temporaires et/ou permanentes et hypoplasies amélaïres sont présentes dans toutes les formes cliniques. La chute précoce des dents peut s'avérer être un signe d'appel au diagnostic des formes modérées. La phosphatase alcaline participe activement à la formation de l'organe dentaire et est retrouvée au sein des cellules dentaires (améloblastes et odontoblastes) et péri-dentaires (cémentoblastes, cellules du ligament alvéolo-dentaire et ostéoclastes de l'os alvéolaire). Cette expression pourrait ainsi expliquer les défauts observés cliniquement en cas de dysfonctionnement de l'enzyme. Dans un premier temps, nous nous sommes intéressés à redéfinir le phénotype bucco-dentaire en caractérisant les défauts de minéralisation amélaire et dentinaire et de mise en place du parodonte ainsi qu'en analysant les phénomènes d'éruption/résorption. Les pertes dentaires précoces au sein des familles ont aussi été étudiées. Dans un second temps, en nous appuyant sur les corrélations phénotype/génotype déjà établies grâce à l'utilisation d'un modèle 3D de l'enzyme, nous avons cherché à corréler la sévérité de la maladie, le nombre de dents perdues ainsi que l'âge de la chute des dents. En d'autres termes, est-ce que la perte dentaire peut être un signe prédictif de la gravité de la pathologie ? Il apparaît que la sévérité des défauts squelettiques et dentaires soit corrélée. En outre, dans les formes modérées, la perte des dents temporaires peut précéder l'apparition des manifestations osseuses. Le rôle de la phosphatase alcaline dans la formation, la minéralisation et l'homéostasie des tissus dentaires reste toutefois à préciser afin de mieux comprendre les défauts observés, notamment au niveau des dents permanentes.

Mots-clés : hypophosphatasie, TNSALP, dental anomalies.

■P54 / 669. A NEW MECHANISM OF DOMINANCE: THE MUTATED PROTEIN CAN DISTURB THE CELL LOCALIZATION OF THE WILD TYPE PROTEIN, MODEL OF HYPHOPHOSPHATASIA

A. S. Lia-Baldini (1), I. Brun-Heath (2), C. Carrion (3), B. Simon-Bouy (4), J. L. Serre (2), M. E. Nunes (5) and E. Mornet (2, 4)

(1) IUT du Limousin, Département Génie Biologique, Allée André Maurois, 87000 Limoges, France ; (2) Equipe Structure et Fonction, EA2493, Université de Versailles-Saint Quentin en Yvelines, Versailles, France ; (3) IFR 145, Confocal microscopy facility, Limoges, France ; (4) Centre d'Etudes de Biologie Prénatale, SESEP, Centre hospitalier de Versailles, Le Chesnay, France ; (5) US Air Force Medical Genetics Center, Keesler AFB, USA

Mutations with dominant negative effects are rare in metabolic diseases and their mechanisms have been little studied. Hypophosphatasia, an inherited metabolic disorder, is a good model because the disease can be dominantly transmitted, the gene product activity depends on a homodimeric configuration, and many mutations responsible for the disease have been reported in the *ALPL* gene. Using CFP or YFP-tagged-TNSALP constructs, transfections in COS cells, and confocal fluorescence analyses, we studied the point mutation c.746G>T (G232V), and showed that the G232V protein sequesters some of the wild-type protein into the golgi apparatus and prevents it from being transported to the membrane, which is required for its normal physiological function.

Mots-clés : dominance, hypophosphatasia, cell localization.

■P55 / 681. LA VARIABILITÉ DE L'EXPRESSION PHÉNOTYPIQUE DE L'HYPAGONADISME HYPAGONADOTROPE ISOLÉ DÉPEND DE MUTATIONS DANS PLUSIEURS GÈNES

G. Gelwane (1), M. Houang (2), L. Villoing (3), I. Julier (4), M. El Kholy (5), Y. Le Bouc (2), O. Admoni (6), J. Léger (1, 7), N. de Roux (3, 7)

(1) Service d'Endocrinologie Pédiatrique. Hôpital Robert-Debré. Paris ; (2) Laboratoire d'explorations fonctionnelles. Hôpital Trousseau. Paris ; (3) Laboratoire de Biochimie, Hormonologie. Hôpital Robert Debré. Paris ; (4) Service de Médecine. CH d'Ales ; (5) Service d'Endocrinologie Pédiatrique. Le Caire. Egypte ; (6) Pediatric Endocrine Department, Ha′Emek Medical Center, Afula, Israel ; (7) INSERM U690. Hôpital Robert Debré. Paris

L'hypogonadisme hypogonadotrope est défini par une diminution de la synthèse des hormones sexuelles suite à une anomalie de la synthèse des gonadotrophines hypophysaires LH et FSH. Il peut être associé à d'autres déficits hormonaux (déficit combiné) ou bien limité à l'axe gonadotrope (déficit isolé). Le déficit isolé ou hypogonadisme hypogonadotrope isolé (HHI) peut être évoqué à la naissance chez le garçon devant un micropénis et une cryptorchidie bilatérale, l'absence de puberté à l'adolescence ou une infertilité isolée chez l'adulte. Il existe des formes syndromiques dont la plus connue est le syndrome de Kallmann qui associe anosmie et déficit gonadotrope et des formes idiopathiques. Quatre gènes (*KAL1*, *FGFR1*,



ProK2, ProKR2) sont maintenant décrits dans le syndrome de Kallmann avec transmission liée à l'X ou autosomale dominante. Deux gènes (*GnRHR*, *GPR54*) sont décrits dans la forme idiopathique. L'expressivité phénotypique est très variable parmi les patients non apparentés ayant la même mutation mais également au sein de la même famille. Récemment, il a été rapporté un cas de syndrome de Kallmann suggérant que cette variabilité pourrait dépendre de mutations dans au moins 2 gènes (*FGFR1/GnRHR*). Nous rapportons 5 nouveaux cas de HHI avec mutations chez le propositus dans au moins 2 des 6 gènes connus. Les corrélations génotype-phénotype suggèrent que le di-génisme participe à la variabilité de l'expression phénotypique dans au moins trois cas (*FGFR1/GPR54*, *FGFR1/ProKR2*, *GnRHR/GPR54*). Dans un cas, le phénotype dépend directement d'une mutation dans chaque gène (*ProKR2/ProKR2*). Nos résultats montrent la fréquence élevée de digénisme dans le déficit gonadotrope isolé ce qui pourrait influencer sur le conseil génétique. Ils suggèrent de nouvelles hypothèses sur les interactions fonctionnelles probables entre les protéines codées par ces gènes.

Mots-clés : hypogonadisme hypogonadotrope, Kallmann, digénisme.

Cytogénétique

■P56 / 15. REMANIEMENT SUBTÉLOMÉRIQUE COMPLEXE 1P36.3 CHEZ UN ENFANT PRÉSENTANT UN RETARD MENTAL ET UNE DYSMORPHIE FACIALE ASSOCIÉS À UN NEUROBLASTOME

C. Le Caignec (1, 2), M. Le Cunff (2), M. Boceno (1), P. Boisseau (1), J.M. Rival (1), A. David (1), B. Isidor (1)

(1) Service de Génétique Médicale, Centre Hospitalier Universitaire, Nantes, France ; (2) L'institut du thorax, INSERM U.533, Nantes, France

La monosomie 1p36 est une des microdélétions subtélomériques les plus fréquentes caractérisée par un retard mental et une dysmorphie faciale évocatrice. Un retard de croissance, une hypotonie, des convulsions, des anomalies cérébrales, une surdité, des anomalies oculaires et des malformations cardiaques font partie des autres signes habituels. À l'inverse, le neuroblastome est un élément rarement associé jusqu'à notre connaissance seuls deux patients présentant une délétion 1pter « pure » associée à cette tumeur ont été rapportés. Nous décrivons ici un enfant présentant une dysmorphie faciale et un retard mental ayant présenté un neuroblastome à l'âge de un mois. Aucun autre site tumoral en dehors d'une atteinte hépatique n'a été observé. La tumeur a régressé spontanément. Le caryotype en bandes R réalisé sur sang veineux périphérique était normal. En revanche, la recherche d'un remaniement subtélomérique par MPLA a conduit à la mise en évidence d'une délétion 1p. Les analyses complémentaires par FISH et CGH array 244K Agilent ont permis la caractérisation d'un remaniement complexe avec délétion terminale de 1.5 Mb et duplication interstitielle de 3 Mb. Ces résultats illustrent la complexité de certains réarrangements chromosomiques et confortent le fait que la délétion 1p36 prédispose au neuroblastome.

Mots-clés : array CGH 1p36 neuroblastome.

■P57 / 49. ANALYSE DE CORRÉLATIONS GÉNOTYPE-PHÉNOTYPE CHEZ 13 PATIENTS PORTEURS D'UNE DÉLÉTION 13Q

C. Quélin (1), C. Bendavid (2), S. Odent (1), C. Dubourg (2, 3), C. de la Rochebrochard (1), J. Lucas (4), C. Henry (4), S. Jaillard (4), L. Lœuillet (5), K. Pluqualec-Bilavarn (6), P. Loget (7), H. Journel (8), D. Lacombe (9), Brigitte Gilbert-Dussardier (10), J.M. Rival (11), H. Moiriot (12), S. Sigaudy (13), O. Boute (14), V. David (2, 3), L. Pasquier (1)

(1) Service de Génétique Médicale, CHU Hôpital Sud, Rennes ; (2) CNRS UMR 6061 Génétique et Développement, Faculté de Médecine de Rennes ; (3) Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHU de Pontchaillou, Rennes ; (4) Laboratoire de Cytogénétique, CHU de Pontchaillou, Rennes ; (5) Service d'Anatomie et Cytopathologie, CHI Poissy/Saint-Germain-en-Laye ; (6) Laboratoire de Cytogénétique, 35510 Cesson-Sevigné ; (7) Département d'Anatomie et Cytopathologie, CHU de Pontchaillou, Rennes ; (8) Génétique Médicale, CHBA, Vannes ; (9) Service de Génétique Médicale, CHU Pellegrin, Bordeaux ; (10) Service de Génétique Médicale, CHU de Poitiers ; (11) Service de Génétique Médicale, CHU Hôtel Dieu, Nantes ; (12) Unité de Génétique Clinique, CHU Charles Nicolle, Rouen ; (13) Département de Génétique Médicale, CHU de la Timone, Marseille ; (14) Service de Génétique Clinique, CHRU Jeanne de Flandre, Lille

Le syndrome 13q- correspond à l'ensemble des anomalies phénotypiques résultant d'une délétion partielle du bras long d'un chromosome 13. Le large spectre phénotypique associe principalement retard mental, retard de croissance, dysmorphie cranio-faciale et anomalies congénitales variables

(squelettiques, cérébrales, oculaires, urogénitales, cardiaques...). La définition d'une région minimale critique pour les anomalies sévères en 13q32 a permis une classification des syndromes 13q- en 3 groupes. À ce jour, une seule étude sur 14 patients porteurs de délétions 13q en CGH-array et FISH a été publiée en 2007 et initie un début de caractérisation moléculaire, principalement pour les anomalies du système nerveux central. À partir de la cohorte de patients présentant une holoprosencéphalie liée à une délétion du gène *ZIC2* dans la bande 13q32, puis par extension aux patients ayant une délétion 13q visible en cytogénétique standard, nous avons étudié 13 nouveaux patients par CGH-array afin d'affiner ces corrélations génotype-phénotype. Après dosage du gène *ZIC2* par MLPA, l'étude a été menée en utilisant les puces pangénomiques 4X44K de la société Agilent Technologies. La taille des segments délétés varie de 15 à 77 Mb. Les 10 patients avec malformations cérébrales (holoprosencéphalie/aprosencéphalie, agénésie du corps calleux, hypoplasie vermineuse ou dysplasie de l'aqueduc de Sylvius) sont tous délétés pour le gène *ZIC2*. La description d'un syndrome de Steinfeld chez un des patients encourage à rechercher une délétion 13q devant toute malformation cérébrale associée à une anomalie de membres. Par ailleurs, l'étude a permis d'identifier de possibles régions critiques : bande 13q31.1 dans les cataractes congénitales (gène *SPRY2* impliqué dans la régulation de la croissance cristallinienne), ou bande 13q32 dont le gène *GPC5* serait un gène candidat intéressant pour les anomalies des membres supérieurs. En conclusion, ce travail confirme que la variabilité d'expression dans les monosomies 13q dépend de la taille et de la localisation du segment délété. Des gènes candidats sont suspectés pour expliquer les malformations associées aux anomalies cérébrales dans le cadre d'un syndrome des gènes contigus. D'autres études seront nécessaires pour confirmer ou infirmer leur implication dans les pathologies.

Mots-clés : CGH-array, délétions 13q, holoprosencéphalie.

■P58 / 51. BACH : BASE DE DONNÉES DES ANOMALIES CYTOGÉNÉTIQUES HUMAINES. UN OUTIL POUR LES CYTOGÉNÉTICIENS

J. Andrieux (1), J. Soula (2), B. Delobel (3), N. Douet-Guilbert (4), J.M. Dupont (5), J. Lespinasse (6), D. Sanlaville (7), P. Vago (8), J.B. Savary (1)

(1) Laboratoire de Génétique Médicale, Hôpital Jeanne de Flandre, CHRU de Lille ; (2) Centre de Bioinformatique, Université de Lille II ; (3) Centre de Génétique Chromosomique, Hôpital St Vincent de Paul de Lille, GHICL ; (4) Laboratoire de Cytogénétique, CHU Morvan, Brest ; (5) Service d'histologie-embryologie-cytogénétique, Groupe hospitalier Cochin-Saint-Vincent-de-Paul, AP-HP ; (6) Laboratoire de Cytogénétique, CHG Chambéry ; (7) Labo de cytogénétique, Hop Edouard Herriot, CHU de Lyon ; (8) Cytogénétique Médicale, CHU Clermont-Ferrand

La base de données BACH a été mise en ligne en 2006, elle est accessible après demande et réception du login/mot de passe. BACH a pour vocation d'être un outil francophone d'échange d'informations cytogénétiques. Elle a un double but : scientifique et épidémiologique. Elle est ouverte à tout centre de Cytogénétique pré et post-natale. Scientifique : BACH permet de connaître les informations disponibles concernant la clinique ainsi que les investigations cytogénétiques et moléculaires réalisées. Elle permet de recueillir des informations cytogénétiques sur des cas rares et de partager des informations sur ces cas. BACH peut aider à collecter ces cas rares en vue de publication de cas groupés. Elle permet de recenser quelle anomalie cytogénétique a été diagnostiquée et dans quel centre. Epidémiologique : BACH permet d'accéder aux statistiques intra-centre et inter-centres sur les proportions d'anomalies de nombre et de structure. Au 14/09/07, 3 697 cas sont répertoriés, 2 467 (67 %) anomalies de nombre : 65 % de trisomies autosomiques, 15 % de 45,X, 3,5 % de triploïdies, 8 % de 47,XXY, 2 % de 47,YYY, 2 % de 47,XXX, 2 % de trisomie par translocation robertsonienne. Parmi les 1230 anomalies de structure : 37 % de délétions, 5 % de translocations réciproques, 4 % de translocations déséquilibrées, 3,8 % d'inversions. Les statistiques sont actualisées en temps réel, c'est-à-dire à chaque nouveau cas inclus. Comment se servir de BACH ? : Les cytogénéticiens peuvent accéder à leurs anomalies diagnostiquées selon plusieurs critères de sélection : l'année de diagnostic, le type d'anomalie, le chromosome impliqué, la clonalité (homogène ou mosaïque), le diagnostic pré ou post-natal, le syndrome génétique récurrent éventuel (del 22q11.2, del 7q11.23, Prader-Willi...). Ces requêtes peuvent être effectuées en intra-centre et en inter-centre. Seul le centre ayant inclus les cas peut les modifier ou accéder à ses propres statistiques. Les données peuvent être modifiées en cas de nouvelle information (FISH, biologie moléculaire, CGH-array...) et sont sous la responsabilité du centre qui en est à l'origine. Les participants acceptent d'être contactés à cette adresse par un autre centre au sujet d'un cas qu'ils ont répertorié. Leur possible participation à une étude

concernant un cas qu'ils ont diagnostiqué et les collaborations pour publication sont bien évidemment sous leur responsabilité propre. Pour chaque cas rentré dans BACH, le participant peut choisir de recevoir un email confirmant la bonne inclusion de ce cas et un récapitulatif des données rentrées. Il peut alors utiliser librement ce document pour répertoire localement cette anomalie cytogénétique. L'avenir : Début 2008, BACH permettra de référencer et d'accéder aux données moléculaires des patients avec anomalies détectées par CGH-array. Une banque de BACs/PACs disponibles dans les centres participants sera accessible via BACH afin d'optimiser les collaborations scientifiques notamment le réseau télomères mis en place par l'ACLF. BACH est accessible sur <https://www.genopole-lille.fr/BACH/menu.php>.

Mots-clés : BACH, base de données, cytogénétique.

■P59 / 72. L'ANALYSE PAR CGH ARRAY D'UNE COHORTE DE PATIENTS AVEC RETARD MENTAL RÉVÈLE DES MICROREMANIEMENTS CHEZ AU MOINS 20 % DES CAS ET SUGGÈRE DE NOUVEAUX GÈNES CANDIDATS

C. Dubourg (1, 2), S. Jaillard (1, 3), L. Pasquier (1, 4), C. Bendavid (1), C. de la Rochebrochard (4), D. Bonneau (5), A. Guichet (6), H. Journel (7), B. Gilbert-Dussardier (8), A. Toutain (9), A. David (10), D. Martin (11), P. Parent (12), J. Mosser (1), C. Henry (3), V. David (1, 2) et S. Odent (1, 4)

(1) UMR 6061, IFR 140 GFAS, Faculté de Médecine, Rennes ; (2) Génétique Moléculaire, CHU Rennes ; (3) Cytogénétique, CHU Rennes ; (4) Génétique Médicale, CHU Rennes ; (5) Génétique Médicale, CHU Angers ; (6) Cytogénétique, CHU Angers ; (7) Génétique Médicale, CHBA Vannes ; (8) Génétique Médicale, CHU Poitiers ; (9) Génétique Médicale, CHU Tours ; (10) Génétique Médicale, CHU Nantes ; (11) Génétique Médicale, CH Le Mans ; (12) Génétique Médicale, CHU Brest

Introduction Le retard mental (RM) touche 1 à 3 % de la population générale. Il est défini par une diminution des aptitudes intellectuelles et des capacités d'adaptation. Ses étiologies sont très hétérogènes : de nombreuses causes génétiques et environnementales ont été rapportées, mais les bases moléculaires restent inconnues chez environ la moitié des patients avec RM. Matériel et méthodes Nous avons initié une étude de patients avec RM par hybridation génomique comparative (CGH-array) sur des puces oligonucléotides Agilent hautement résolutive 4x44K, de façon à mettre en évidence des microremaniements qui ne peuvent pas être détectés par les techniques cytogénétiques de plus faible résolution ou ciblés. Résultats : Des modifications de nombre de copies ont été repérées chez au moins 20 % des 65 patients étudiés : 11 délétions et 4 duplications. La taille de ces altérations varie de 250 kb à 12,5 Mb. Les microremaniements identifiés par CGH array ont été vérifiés par une technique complémentaire (FISH ou PCR multiplexe semi-quantitative avec analyse en chromatographie liquide). Parmi ces remaniements, 12 % sont survenus de novo et 5 % sont hérités de parents phénotypiquement normaux. Discussion : De nouvelles microdélétions en 2q (250 kb) et en 17q (510 kb) ont été mises en évidence. Ces anomalies chromosomiques semblent correspondre à de nouveaux syndromes microdélétionnels regroupant des signes cliniques caractéristiques et conduisant à l'identification de nouveaux gènes candidats pour le RM. De la même façon, une microdélétion en 17p11 a été observée chez un patient RM présentant un phénotype particulier avec notamment une hypertrophie musculaire. La puissance de la CGH array nous a également permis de détecter un réarrangement du chromosome 18 et de suspecter une mosaïque. Une confirmation par FISH a mis en évidence un chromosome isodiscentrique du 18 présent dans seulement 5 % des cellules observées. Conclusion : Nos résultats indiquent que le rendement diagnostique de la CGH-array est au moins deux fois plus élevé que celui du caryotype standard. De plus cette technique semble également efficace pour la détection de mosaïques. Enfin, la CGH-array nous permet de donner un conseil génétique plus précis dans bon nombre de cas de RM.

Mots-clés : CGH array, retard mental, microdélétion.

■P60 / 85. TRIPLICATION INTERSTITIELLE 11Q23.3-11Q24.1 CHEZ UN PATIENT PRÉSENTANT UN SYNDROME POLYMALFORMATIF : REVUE DE LA LITTÉRATURE, CARTOGRAPHIE PHYSIQUE, CORRÉLATION PHÉNOTYPE-GÉNOTYPE ET HYPOTHÈSES DE RECOMBINAISON

C. Beneteau (1), C. Gavazzi (1), C. Philippe (1), J. Vigneron (2), B. Leheup (3), M.J. Grégoire (1), P. Walrafen (4), J.M. Hascoet (2), P. Jonveaux (1) (1) Laboratoire de Génétique, CHU Nancy ; (2) Service de Néonatalogie, soins intensifs et réanimation médicale, génétique, Maternité régionale de Nancy ; (3) Service de médecine infantile 3 et génétique clinique- CHU de Nancy ; (4) Genomic Vision, Hôpital Cochin, Paris

Nous rapportons une triPLICATION interstitielle intrachromosomique 11q23.3-11q24.1 survenue chez un patient présentant un syndrome polymalformatif associant un retard mental, une surdité congénitale, une fente labio-palatine, un retard de croissance ante et postnatal, des anomalies osseuses, une ob s  et un kératocône. Les techniques d'analyse chromosomique en micror seau (ACM), d'hybridation in situ en fluorescence (FISH), de polymérisation en chaîne (PCR), de PCR quantitative (Q-PCR) et de peignage moléculaire démontrent qu'il s'agit d'un remaniement intrachromatidien de novo, d'origine maternelle et paternelle, avec segment du milieu inversé, sans mosaïcisme détecté. Ce remaniement ne fait intervenir que deux allèles, un d'origine maternel et un d'origine paternel impliquant un mécanisme de recombinaison complexe avec un événement pré et un événement post zygotique durant les premières divisions méiotiques.   notre connaissance aucune observation de triPLICATION constitutionnelle du chromosome 11, ni aucun cas de triPLICATION intrachromatidienne ne faisant intervenir que deux allèles n'a été rapporté. Les points de cassure sont localisés à proximité de sites fragiles par répétition de triplets CCG identifiés dans le syndrome de Jacobsen. Nous comparons le phénotype présenté par notre patient avec les cas rapportés de duplication et de délétion 11q23-q24. Nous discutons des possibles relations phénotype-génotype et en particulier du gène *TECTA*, présent en quatre exemplaires et impliqué dans la survenue des surdités génétiques non syndromiques. Sont aussi discutés les gènes potentiellement en cause dans le retard mental, le retard de croissance, les troubles anxio-dépressifs, et l'ob s  observés chez le patient.

Mots-clés : triPLICATION intrachromosomique, 11q, peignage moléculaire.

■P61 / 91. DUPLICATION XP CHEZ UNE FILLE AVEC PHÉNOTYPE ANORMAL ET INACTIVATION DE L'X AU HASARD : CARACTÉRISATION EN CYTOGÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE

S. Monnot (1), F. Giuliano (1), C. Massol (1), C. Fossoud (2), M. Cossée (3), J.C. Lambert (1), H. Karmous-Benailly (1)

(1) Service de Génétique Médicale, Hôpital l'Archet 2, CHU de Nice ; (2) Service de Pédiatrie, Hôpital l'Archet 2, CHU de Nice ; (3) Laboratoire de Génétique, CHU de Strasbourg

Les duplications partielles du chromosome X sont relativement rares et existent chez des hommes et des femmes. Nous décrivons une fillette de 4 ans 10 mois présentant un retard psychomoteur et un retard de langage important. Elle présente également une dysmorphie très modérée faite d'un grand front, de fentes palpébrales larges et de narines antéversées. Il n'y a pas de dysplasie pigmentaire cutanée. Les organes génitaux externes sont normaux. Le caryotype et la peinture du chromosome X ont montré une duplication partielle de novo du bras court du chromosome X. Nous avons utilisé une série de chromosomes artificiels de bactéries (BAC) s'étendant de la bande Xp11.22 à la bande Xp22.1 pour caractériser plus finement ce remaniement. Les BAC situés entre Xp11.23 et Xp11.4 étaient dupliqués permettant de déterminer le caryotype comme suit : 46,X,dup(X)(p11p11).ish dup(X)(p11.23p11.4)(WCPX+,RP11-416I6++,RP11-386N14++,RP11-466C12++). Le caryotype des deux parents était normal. L'étude de la méthylation des loci HUMARA et FRAXA ont montré une inactivation au hasard des chromosomes X. Habituellement, chez les femmes présentant une anomalie de structure du chromosome X, le chromosome X anormal est inactivé et ces femmes ont un phénotype normal. Nous supposons que le phénotype de notre patiente est dû à une disomie fonctionnelle des gènes situés dans la région dupliquée. Nous discuterons l'implication possible de chacun de ces gènes.

Mots-clés : duplication Xp, disomie Xp, anomalie structurale du chromosome X.

■P62 / 101. CARACTÉRISATION PRÉCISE PAR CGH-ARRAY D'UNE DUPLICATION INTERSTITIELLE 6Q24.3Q25.3 DE NOVO CHEZ UNE ENFANT PRÉSENTANT DES RAIDEURS ARTICULAIRES MULTIPLES

A.C. Tabet (1), M. Gérard (2), C. Dupont (1), E. Pipiras (3), D. Handelsman (1), A. Verloes (2), B. Benzacken (3), A. Aboura (1)

(1) UF cytogénétique département de génétique hôpital Robert-Debré Paris ; (2) UF de génétique clinique, Département de génétique, Hôpital Robert-Debré, Paris ; (3) Laboratoire de cytogénétique, hôpital Jean-Verdier, Bondy

Introduction : Le phénotype de la duplication 6q semble associé à un phénotype particulier. Toutefois, les duplications 6q pures sont rares et plusieurs points de cassure ont été rapportés. Nous décrivons un phénotype diff rent associé à une duplication 6q24.3q25.3 pure. Cas Clinique : Il s'agit de la première enfant d'un couple jeune non apparenté, sans



antécédent. La grossesse a été marquée par un retard de croissance intra-utérin. Le caryotype fœtal a été rendu : 46, XX. À l'âge de 5 ans, l'examen retrouve un poids et une taille à +2.5 DS, un périmètre crânien à -1DS, une dysmorphie, des raideurs articulaires au niveau des chevilles et des genoux, une désorganisation des doigts, des fossettes au niveau des omoplates et un retard des acquisitions. Matériel et méthode : Caryotype haute résolution (800 Bandes) pour l'enfant et ses parents, FISH (WCP6, Tel6p/6q) puis CGH-array utilisant une puce Bacs d'environ 5 000 clones (Integrage, Evry). Résultats : Le caryotype haute résolution met en évidence un excès de matériel au niveau du bras long du chromosome 6. Les techniques de cytogénétique moléculaire par FISH : peinture du chromosome 6 et étude des régions subtélomériques 6p et 6q nous font conclure à une probable duplication interstitielle 6q24q25.3 *de novo*. Le caryotype est 46,XX,dup(6)(q24q25.3). L'étude par Puce à ADN utilisant une puce Bac de 5 000 clones nous a rapidement permis de caractériser très précisément l'anomalie : duplication interstitielle pure 6q24.3q25.3 de 11 Mb. Après vérification par Bacs spécifiques, nous rapportons la première duplication directe interstitielle pure 6q24.3q25.3. La formule chromosomique est : arr cgh 6q24.3q25.3(RP11-545I5->CTB-54I24)x3. Discussion : Les trisomies interstitielles 6q pures sont extrêmement rares. Le phénotype habituellement rapporté dans les duplications 6q semble concerner des régions différentes. Après une revue de la littérature, et comparaison au seul cas précédemment décrit, nous discutons la corrélation génotype-phénotype dans la trisomie 6q24q25.3 pure.

Mots-clés : duplications 6q24.3q25.3, CGH-array, raideurs articulaires.

■P63 / 103. DÉCOUVERTE FORTUITE D'UN CHROMOSOME MARQUEUR SURNUMÉRAIRE DÉRIVÉ DU 15 DANS UN CAS D'AUTISME

M. Jamar (1), J.F. Vanbellinghen (1), R. Stevens (2), V. Bours (1)
(1) Centre Universitaire de Génétique Humaine, CHU Sart Tilman, 4000 Liège, Belgique ; (2) CHC Espérance, 4420 Montegnée, Belgique

T, âgée de 10 ans, nous est adressée pour bilan génétique dans le cadre d'une psychose infantile. Le caryotype standard (G-banding) établi après examen de 20 métaphases montre une formule 46,XX. Une recherche du syndrome d'Angelman par la technique MLPA (MRC-Holland[®]), comportant une étude semi-quantitative de la région 15q11q13 et une étude du statut de méthylation, met en évidence une augmentation de l'intensité des signaux pour toutes les sondes testées dans la région, avec un ratio de 1.4. Une analyse de FISH métaphasique avec des sondes spécifiques du chromosome 15 (SNRPN, PML, D15Z1, Vysis[®]) n'a pas montré de duplication ou triplification intrachromosomique, mais a permis la découverte fortuite d'un chromosome marqueur surnuméraire (« mcs ») de taille similaire à celle d'un chromosome du groupe E. Ce mcs est présent dans seulement 3 % des 200 métaphases observées. Il contient deux copies de la région centromérique et deux copies de la région SNRPN. La formule revue grâce à la FISH est libellée : Mos 47,XX,+mar.ish der(15)idic(15)(p11->q11.2 : :q11.2->p11)(D15Z1+,SNRPN+)[3]/46,XX[97]. Nous discutons 1) la discordance entre les valeurs observées en MLPA (correspondant à un taux de triplification dans 40 % de cellules) et par FISH (3 % de triplification), 2) la corrélation entre la présence anecdotique du mcs, à la limite de la signification clinique, et l'existence de signes cliniques classiquement compatibles avec une duplication ou triplification 15q11q12 homologue.

Mots-clés : chromosome marqueur, Angelman, MLPA.

■P64 / 107. UN NOUVEAU CAS DE MICRODÉLÉTION 17Q21.31 CHEZ UN PATIENT PRÉSENTANT UN RETARD MENTAL ET UNE DYSMORPHIE TYPIQUE : CONFIRMATION D'UN NOUVEAU SYNDROME MICRODÉLÉTIONNEL

S. Jaillard (1, 2), C. Henry (1), A. Toutain (3), M.R. Durou (4), J. Lucas (1), C. Quelin (1), S. Odent (5), J. Mosser (2), C. Bendavid (2), V. David (2, 4), C. Dubourg (2, 4)

(1) Cytogénétique-CHU Rennes ; (2) UMR6061-IFR 140 GFAS-Faculté de Médecine-Rennes ; (3) Génétique Médicale-CHU Tours ; (4) Génétique Moléculaire-CHU Rennes ; (5) Génétique Médicale, CHU Rennes

Les études récentes par CGH-array de patients avec retard mental ont mis en évidence quelques anomalies récurrentes et ont permis la description de nouveaux syndromes microdéletionnels comme le syndrome 17q21.31. Nous rapportons un nouveau cas de microdéletion 17q21.31 identifiée chez un patient étudié par CGH-array sur puces oligonucléotides Agilent 4x44K. La taille de la microdéletion est estimée à 510 kb, elle inclut la région minimale critique de 478 kb récemment définie. L'étude familiale par FISH réalisée à l'aide du BAC RP11-669E14 confirme cette déletion chez le patient et son caractère *de novo*. Parmi les gènes délétés (*IMP5*, *KIAA1267*,

CRHR1 et *MAPT*), *CRHR1* codant pour le récepteur 1 de l'hormone corticotrope et *MAPT* codant pour une protéine Tau associée aux microtubules sont les gènes candidats les plus probables pour ce syndrome du fait de leur forte expression dans le cerveau humain et de leur implication dans des syndromes neurodégénératifs. La description clinique du patient correspond au phénotype caractéristique rapporté chez les autres patients délétés pour cette même région et inclut : un petit poids de naissance, une hypotonie et des difficultés alimentaires néonatales, un retard mental modéré, une dysmorphie faciale particulière avec notamment un visage long et hypotonique, un nez bulbeux et des oreilles larges bas implantées. Les autres éléments du syndrome polymalformatif du patient sont une cardiopathie congénitale, une surdité de perception profonde et des anomalies des extrémités. Comme beaucoup de syndromes microdéletionnels récurrents (syndrome de Williams-Beuren, syndrome de Sotos, syndrome de Smith-Magenis), la microdéletion 17q21.31 survient par recombinaison homologue non allélique (NAHR) entre régions répétitives flanquant la région d'intérêt. Ce mécanisme est notamment possible entre les haplotypes H1 et H2 (polymorphisme à type d'inversion) et la présence de l'haplotype H2 chez un parent semblerait particulièrement favoriser la survenue de microdélections mais aussi de microduplications 17q21.31 dans la descendance. La microdéletion 17q21.31 apparaît donc comme un nouveau syndrome microdéletionnel cliniquement reconnaissable et dont un diagnostic ciblé par FISH est possible.

Mots-clés : CGH-array, syndrome microdéletionnel, retard mental.

■P65 / 119. LES CHROMOSOMES DICENTRIQUES : À PROPOS DE DEUX NOUVEAUX CAS

N.B. Abdelmoula (1), M. Meddeb (2), I. Trabelsi (3), M. Krid (4), T. Rebai (1)

(1) Laboratoire d'Histologie-Faculté de Médecine de Sfax Tunisie ; (2) Laboratoire de Génétique Tunis Tunisie ; (3) Service de Cardiologie-CHU Hédi Chacker de Sfax Tunisie ; (4) Urologie de Libre Pratique, Sfax Tunisie

Les chromosomes dicentriques sont parmi les anomalies de structure les plus fréquentes du chromosome Y (40 % environ) dont la prédiction des conséquences phénotypiques est souvent difficile pour plusieurs raisons : la diversité des séquences génomiques concernées par les différentes duplications et délétions du chromosome Y dicentrique, les degrés variables de mosaïcisme (lignée 45,X en particulier) qui, dans certains cas, restent indécélables et enfin, les difficultés techniques d'identification et d'analyse précise de la structure du chromosome Y remanié. Nous rapportons dans ce travail, deux chromosomes Y dicentriques, pour lesquels une identification précise a été menée par FISH dans un cas et par biologie moléculaire dans l'autre. O1 : Il s'agit d'une fille âgée de 16 ans pour laquelle un caryotype a été demandé devant la suspicion d'un syndrome de Turner associé à une cardiopathie congénitale à type de coarctation de l'aorte. Le caryotype pratiqué sur lymphocytes sanguins a montré une formule chromosomique en mosaïque : 45,X[8]/46,XY[42]. Une exploration complémentaire par hybridation *in situ* fluorescente utilisant la sonde LSI SRY/CEPX a été pratiquée afin de chiffrer mieux le mosaïcisme cellulaire et d'étudier la population XY. Cette analyse a montré que le chromosome Y était remanié. Il s'agissait d'un chromosome Y isodicentrique pour le bras court avec présence de deux copies en miroir du gène *SRY*. L'exploration du tractus génital a montré la présence d'organes génitaux externes de type féminin mais les gonades étaient absentes au niveau abdominal. O2 : Il s'agit d'un homme de 42 ans adressé pour étude cytogénétique devant une infertilité primaire de 7 ans avec une azoospermie de type sécrétoire. Son morphotype était de type gynécoïde avec une petite taille. Les testicules étaient hypotrophiques. Une 1^{re} tentative d'ICSI avec extraction intra-testiculaire de spermatozoïdes blanche a été arrêtée après stimulation de la conjointe. Le caryotype sur lymphocytes sanguins a montré la présence de façon homogène d'un petit chromosome Y dépourvu d'hétérochromatine. Une déletion cytogénétique homogène du chromosome Y a été donc suspectée : 46,X,del(Y). Une étude complémentaire par PCR multiplex explorant les loci AZF du bras long du chromosome Y a été alors réalisée. Cette analyse utilisant comme sonde contrôle le gène *SRY* du bras court de l'Y, a révélé la déletion totale de tous les STS des régions AZFa, AZFb et AZFc. Elle a aussi montré une duplication du gène *SRY* ce qui a permis de suspecter la nature dicentrique du chromosome Y. Nous discutons la corrélation génotype phénotype pour ces deux chromosomes Y dicentriques et nous insistons sur la complémentarité des différentes techniques de cytogénétique et de biologie moléculaire dans l'identification précise de certains remaniements cytogénétiques.

Mots-clés : dicentrique, caryotype, FISH.

■P66 / 121. UNE TRANSLOCATION RÉCIPROQUE FAMILIALE T(1;18) ASSOCIÉE À UN PROFIL SPERMATIQUE D'ASTHÉNO-TÉRATOSPERMIE

R. Frikha (1), L. Mokaddem (2), M. Meddeb (3), T. Rebai (1), N.B. Abdelmoula (1)

(1) Laboratoire d'Histologie-Faculté de Médecine de Sfax Tunisie ; (2) Centre de PMA Sfax Tunisie ; (3) Laboratoire de Génétique Tunis Tunisie

Les translocations réciproques entre autosomes sont parmi les remaniements chromosomiques les plus fréquents. Elles sont généralement équilibrées mais perturbent la reproduction par la création de gamètes déséquilibrés. Leur fréquence est estimée à 0.6 à 1.2 % chez les hommes oligospermiques et à 2-6 % chez les couples présentant des fausses couches à répétition. Nous rapportons dans ce travail, une translocation réciproque $trcp(1;18)(p21;q12)$ découverte chez deux hommes qui ont été explorés dans le cadre d'un bilan pré-ICSI. Ils présentent une asthénospermie constante aux spermogrammes avec une numération fluctuante des spermatozoïdes. Obs1 : Il s'agit d'un homme de 39 ans qui présente une asthénospermie avec infertilité primaire de 15 mois. Il a des antécédents d'ectopie testiculaire droite opérée à l'âge de 12 ans et de cure chirurgicale de varicocèle bilatérale. La numération étant fluctuante (numération à 20 millions/ml après la cure de varicocèle). Sa conjointe a été opérée pour 2 fibromes utérins et présente aussi une note d'insuffisance ovarienne. Des tentatives d'IAC et d'ICSI ont échoué. Dans les antécédents familiaux, il y a la notion d'un oncle et d'une tante paternels infertiles ainsi que la notion d'un cousin paternel ayant un enfant handicapé. Sa mère est une fille unique avec de nombreux décès en bas âge dans la fratrie. Obs2 : Il s'agit d'un homme de 39 ans qui présente une asthénospermie avec infertilité primaire de 5 ans. Il n'a pas d'antécédents personnels particuliers. La numération de spermatozoïdes était normale. Sa conjointe a été opérée pour un polype utérin et des synéchies du col. Des tentatives d'IAC et de FIV ont échoué. Une tentative d'ICSI a abouti à une grossesse qui s'est arrêtée précocement à 8 SA. Dans les antécédents familiaux, il y a la notion d'un oncle maternel et d'un cousin maternel qui sont infertiles. L'interrogatoire avec établissement des arbres généalogiques a permis de retrouver des liens de parenté entre les deux hommes avec notion d'autres membres de la famille, qui présentaient une infertilité et des antécédents de pertes fœtales précoces. Cette translocation réciproque familiale ségrège à travers les meioses féminines et s'accompagne chez les hommes d'une asthénospermie. Nous discutons à travers cette série, la relation des altérations de la mobilité et de la morphologie des spermatozoïdes avec les anomalies chromosomiques en général et les translocations réciproques en particulier. Nous discutons aussi les difficultés de l'enquête familiale en cas d'anomalie chromosomique dans un contexte d'infertilité dans notre société. Nous suggérons à travers ces deux observations, l'intérêt de l'exploration cytogénétique chez les couples infertiles même en dehors d'une azoospermie ou d'une oligospermie (indications courantes du caryotype).

Mots-clés : translocation, infertilité, asthénospermie.

■P67 / 133. CARACTÉRISATION MOLÉCULAIRE D'UN REMANIEMENT CHROMOSOMIQUE COMPLEXE FAMILIAL IMPLIQUANT LES CHROMOSOMES 2, 6 ET 18 : CONFIRMATION D'UN DIAGNOSTIC ÉVOQUE CLINIQUEMENT

N. Gruchy (1), M. Barreau (1), D. Gourdiér (1), K. Kessler (1), J.L. Taillemitte (2), N. Leporrier (2)

(1) Laboratoire de cytogénétique prénatale, département Génétique et Reproduction, CHU Caen ; (2) Laboratoire de cytogénétique, Hôpital Saint Antoine, Paris

Les remaniements chromosomiques complexes (RCC) sont des réarrangements de structure impliquant 3 chromosomes ou plus, ou ayant plus de 3 points de cassure. Les cas familiaux sont rares et peu rapportés dans la littérature. Nous décrivons le cas d'un RCC familial impliquant 3 chromosomes et 6 points de cassure, retrouvé sur 3 générations, avec 4 sujets équilibrés, et un cas « index » déséquilibré. Il s'agit d'Olivier, un garçon de 4 mois vu en consultation à l'hôpital Saint Antoine en 1979, pour dysmorphie, hypotrophie, hypotonie et anomalies des doigts, évoquant une monosomie 18q. Son caryotype montre un excès de matériel chromosomique au niveau d'un chromosome 18. Un remaniement complexe équilibré impliquant l'extrémité 2q, le bras court du 6, et le bras long du 18 est observé chez le père, le caryotype maternel est normal. L'enfant présente une trisomie 6p partielle associée à une probable monosomie 18q non visible en cytogénétique classique mais fortement évoquée par la dysmorphie faciale : rétraction de l'étage moyen de la face, « bouche de carpe ». Pour expliquer le phénotype, 4 points de cassure avaient été définis : un sur le 2 en 2q37 qui devait avoir reçu du 18, 2 sur le 6 en 6p21 et 6p22 bornant la région s'insérant sur le 18 cassé en 18q21.

Néanmoins, aucun montage cytogénétique n'était parfaitement concordant. L'étude familiale retrouve ce remaniement équilibré, chez le grand père paternel, l'oncle et la cousine. Cette dernière, en âge de procréer vient consulter en 2006, à Caen avant de débiter une grossesse. Des hybridations *in situ* avec des sondes de type BACs ont permis de préciser qu'il s'agissait d'un remaniement à 6 points de cassure. 3 points de cassure sur le bras court du chromosome 6 qui définissent 2 régions, la plus proximale s'insère en 2q37 et la plus distale en 18q21.3 ; deux points de cassure sur le 18, très proches l'un de l'autre, qui définissent une région de 2 Mb qui s'insère sur le dérivé du 6. La formule développée équilibrée obtenue chez cette patiente est donc $46,XX,t(2;6;18)(2pter \rightarrow 2q37.2 : 6p21.1 \rightarrow 6p12.3 : 2q37.2 \rightarrow 2qter : 6pter \rightarrow 6p22.3 : 18q21.32 \rightarrow 18q21.32 : 6p12.3 \rightarrow 6qter : 18pter \rightarrow 18q21.32 : 6p22.3 \rightarrow 6p21.1 : 18q21.32 \rightarrow 18qter)$ Le cas index a hérité du dérivé du 18, il a donc une trisomie 6p12.3-6p22.3 associée à une délétion cryptique 18q21.32. Olivier a été suivi à plusieurs reprises jusqu'à l'âge de 9 ans. Il a un retard mental sévère, une surdité de perception, une dysmorphie faciale, des doigts longs fins avec une pulpe en « goutte d'eau ». La rétraction de l'étage moyen de la face, la « bouche de carpe », la pulpe des doigts saillante et la surdité sont des éléments en faveur de la monosomie 18, en revanche l'extrémité du nez bulbueuse, le blépharoptosis et les cils longs et recourbés sont à mettre sur le compte de la trisomie 6p. L'identification par FISH des points de cassure en 18q21.32 définit une région minimale critique d'environ 2 Mb à l'origine de la dysmorphie observée en cas de monosomie 18q. Cette observation souligne l'importance de préciser les points de cassure d'un remaniement complexe par la cytogénétique moléculaire notamment lorsque la clinique est évocatrice d'un phénotype non expliqué par la cytogénétique classique.

Mots-clés : remaniement chromosomique complexe, délétion 18q, cytogénétique moléculaire.

■P68 / 142. DIAGNOSTIC PRÉNATAL D'UNE DUPLICATION INVERSÉE DU CHROMOSOME 11 CHEZ UN FETUS PRÉSENTANT UN TRÈS GRAND RETARD DE CROISSANCE INTRA-UTÉRIN

G. Quenum-Miraillet, V. Malan, H. Der-Sarkissian, T. Attié-Bittach, S. Fontaine, M. Vekemans, S. Romana, N. Morichon-Delvallez
Service d'Embryologie et de Cytogénétique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris

Les duplications inversées sont des anomalies récurrentes. Les plus connues sont celles intéressant l'extrémité du bras court du chromosome 8, liées à la présence sur le chromosome maternel d'une inversion paracentrique entre deux duplicons contenant plusieurs récepteurs olfactifs (OR). Cette inversion favorise les recombinaisons homologues non alléliques. Une délétion de l'extrémité télomérique est toujours associée. Nous rapportons ici l'observation d'un fœtus présentant une duplication inversée du bras court du chromosome 11. Madame A. nous est adressée suite à la découverte échographique à 28 semaines d'aménorrhée d'un retard de croissance sévère (tous les paramètres sont inférieurs au 5^e percentile), associé à un rein en fer à cheval. Il s'agit de la première grossesse de ce couple, non apparenté. L'étude chromosomique réalisée sur cellules amniotiques, montre dans toutes les mitoses analysées en bandes R et G, la présence de matériel additionnel à l'extrémité d'un des chromosomes 11. Des études de cytogénétique moléculaire ont permis de préciser la nature du remaniement de ce chromosome 11 : – l'utilisation de sondes subtélomériques et de la peinture du chromosome 11 montre que le matériel additionnel provient du chromosome 11 et est situé au-delà de la région subtélomérique du bras court qui est restée en place. – la sonde subtélomérique 11qter génère un signal en place à l'extrémité du bras long – l'utilisation de sondes étagées de la région 11p15 montre qu'il s'agit d'une duplication inversée – la sonde la plus distale du contig subtélomérique 11pter, située à 205 kb du télomère est délétée. Il s'agit donc d'une duplication inversée du chromosome 11. Des séquences répétées contenant des récepteurs olfactifs sont présentes à l'extrémité du bras court du chromosome 11. La caractérisation très précise des points de cassure à l'aide d'une puce de très haute résolution, permettra de mieux comprendre le mécanisme en cause. La recherche de l'origine parentale permettra d'établir une corrélation entre l'anomalie chromosomique et le phénotype fœtal.

Mots-clés : duplication inversée, chromosome 11, diagnostic prénatal.

■P69 / 150. QUAND UNE ANOMALIE EN CACHE UNE AUTRE : DÉCOUVERTE FORTUITE D'UNE DÉLÉTION (1)(Q24.1Q25.2) LORS DE L'EXPLORATION EN CGH ARRAY D'UNE INVERSION DU CHROMOSOME 8 APPAREMMENT ÉQUILIBRÉE

C. Schluth-Bolard (1, 2), A. Labalme (1), M. Till (1), N. Boutry-Kryza (1), A. Rafat (1), P. Edery (1, 2), D. Sanlaville (1, 2)



(1) *Hospices Civils de Lyon, Service de Cytogénétique Constitutionnelle* ;
(2) *Faculté de Médecine Lyon-Nord, Université Claude Bernard, Lyon 1*

Nous rapportons le cas d'une jeune fille de 14 ans suivie dans le service de génétique pour un retard mental léger, un retard de croissance et des anomalies des extrémités. Ses antécédents sont marqués par un retard de croissance intra-utérin, une naissance prématurée à 35 SA et un retard de croissance staturo-pondéral à -3,5 DS. Elle présente une dysmorphie faciale discrète (hypertélorisme, épicanthus), un palais ogival, une clinodactylie des 5^e doigts, des mains et des pieds courts avec un aspect trapu des phalanges à la radiographie, un pli palmaire transverse et une épilepsie. Le caryotype réalisé dans le cadre du bilan malformatif a mis en évidence une inversion péricentrique d'un chromosome 8 apparemment équilibrée *de novo* : 46,XX,inv(8)(p22q12.2)dn. La présence d'un remaniement chromosomique apparemment équilibré chez un enfant présentant un retard des acquisitions syndromique pose la question de l'absence réelle de déséquilibre (résolution du caryotype d'environ 5 Mb). En effet, De Gregori *et al.* (2007) ont récemment estimé que 40 % des translocations apparemment équilibrées à phénotype anormal sont associées à une perte de matériel chromosomique. Cette patiente a donc été explorée en CGH micro-array (puce 244K Agilent®) à la recherche d'un déséquilibre aux points de cassure pouvant rendre compte du phénotype. Alors que le profil du chromosome 8 est normal, une délétion de 9,2 Mb sur le bras long d'un chromosome 1 emportant les bandes q24.1 à q25.2 est décelée. Cette délétion a été confirmée par FISH à l'aide de BACs choisis dans l'intervalle délété (RP11-361A16, RP11-48017). Elle est, *a posteriori*, difficilement identifiable sur le caryogramme (RHG, GTG, 500 bandes). Le phénotype de la patiente est concordant avec les résultats de la CGH micro-array. En effet, la délétion 1q proximale (1q21q31) est caractérisée par un retard de croissance pré et post-natal, une microbrachycéphalie, des oreilles bas implantées et dysplasiques, un palais ogival, une absence de lueite, des extrémités petites, des ongles dysplasiques, un retard mental de sévérité variable et des malformations occasionnelles du cœur, des reins, des organes génitaux externes et du système nerveux central. Bien que ce cas soit l'une des plus petites délétions décrites à ce jour, trop peu de délétions 1q proximales ont été caractérisées en cytogénétique moléculaire pour permettre d'établir des corrélations génotype-phénotype. L'étude en cytogénétique moléculaire de remaniements chromosomiques apparemment équilibrés associés à un phénotype anormal a révélé une complexité insoupçonnée de ces réarrangements qui sont associés dans 40 % des cas à un déséquilibre. Ce déséquilibre peut survenir au niveau d'un point de cassure mais aussi à distance, sans lien apparent avec le remaniement équilibré, dans 30 à 40 % des cas. Cette observation plaide en faveur de l'exploration systématique de tels réarrangements par CGH micro-array avec une couverture de l'ensemble du génome.

Mots-clés : CGH array, délétion 1q, inversion.

■P70 / 159. MOSAÏCISME PIGMENTAIRE : À PROPOS DE TROIS CAS, INTÉRÊT DU CARYOTYPE FIBROBLASTIQUE

F. Petit (1), M. Holder-Espinasse (2), O. Boute-Benejean (2), B. Duban-Bedu (1), B. Catteau (3), S. Manouvrier-Hanu (2), B. Delobel (1)

(1) *Centre de Génétique Chromosomique, Hôpital St Vincent de Paul, GHICL, Lille* ; (2) *Service de Génétique Clinique, Hôpital Jeanne de Flandre, CHRU Lille* ; (3) *Service de Dermatologie, Hôpital Huriez, CHRU Lille*

Il est maintenant établi que les anomalies de pigmentation cutanée distribuées selon les lignes de Blaschko sont liées à la présence de 2 populations cellulaires génétiquement différentes. Elles peuvent résulter d'un mosaïcisme chromosomique ou génique, d'un chimérisme ou d'un phénomène d'inactivation de l'X associé à une pathologie génique (Incontinentia Pigmenti...) ou chromosomique (translocation X-autosome...). Les termes anciens, hypomélanoïse de Ito et Incontinentia Pigmenti achromians, doivent être abandonnés puisqu'ils ne correspondent pas à une entité syndromique, mais simplement à un phénotype cutané dont les étiologies peuvent être diverses. Le terme actuellement retenu est celui de mosaïcisme pigmentaire. Nous rapportons les observations de 3 patients présentant des anomalies de la pigmentation cutanée en rapport avec un mosaïcisme chromosomique. Chez ces 3 patients, les caryotypes lymphocytaires étaient normaux. Seuls les caryotypes réalisés après culture de fibroblastes ont permis de mettre en évidence en mosaïque, une trisomie 7 (40 % des cellules), une trisomie 12 (10 %), et une triploïdie (22 %). Dans les trois cas, il existe des signes associés aux anomalies de la pigmentation : pour le premier (trisomie 7) un retard de croissance à début anténatal est rapporté à un syndrome de Silver-Russell du fait de l'association à une disomie uniparentale maternelle du chromosome 7 ; pour le second (trisomie 12) une hémihypertrophie corporelle ; et pour le dernier (triploïdie) un syndrome polymalformatif avec retard psychomoteur. Ces observations

illustrent l'intérêt des analyses cytogénétiques sur différents tissus chez les patients présentant une asymétrie corporelle et/ou des anomalies de pigmentation, typiquement distribuées selon les lignes de Blaschko, même en l'absence de retard psychomoteur associé. Lorsqu'il n'est pas mis en évidence de mosaïcisme chromosomique ou de chimérisme, un mosaïcisme génique doit être suspecté.

Mots-clés : mosaïcisme pigmentaire, trisomie 7, trisomie 12.

■P71 / 161. CARACTÉRISATION PAR PUCE À ADN À HAUTE RÉSOLUTION D'UN CHROMOSOME 8 SURNUMÉRAIRE EN ANNEAU EN MOSAÏQUE

F. Niel (1), M.-C. Addor (1), B. Rapin (1), F. Béna (2), S.E. Antonarakis (2), J.S. Beckmann (1), D. Martinet (1)

(1) *Service de Génétique Médicale, Centre Hospitalier Universitaire Vaudois, Lausanne, Suisse* (2) *Service de Génétique Médicale, Hôpital Cantonal Universitaire de Genève, Suisse*

Nous rapportons dans cette observation l'apport des puces à ADN à haute résolution pour la caractérisation d'un chromosome surnuméraire en anneau. Il a été possible de mettre en évidence une trisomie 8 partielle dont le taux de mosaïcisme dans les lymphocytes avait été estimé à 21 %. Cette anomalie a été identifiée chez un enfant de 5 ans avec un retard de développement prédominant au niveau du langage associé à quelques traits autistiques. À remarquer comme anomalies mineures : de grandes oreilles, une mauvaise dentition et des doigts « boudinés ». L'analyse du caryotype en bande G (550 bandes) avait révélé un caryotype en mosaïque avec des métaphases normales et des métaphases avec un anneau chromosomique surnuméraire. L'utilisation combinée de sondes de peinture chromosomique, de sondes centromériques alpha-satellites et de sondes subtelomériques sur des préparations métaphasiques avait montré que cet anneau surnuméraire était dérivé du chromosome 8 avec son centromère mais dépourvu de ses deux régions 8pter et 8qter. Par les outils classiques à disposition, il n'avait pas été possible d'aller plus loin dans la définition de la structure de ce dérivé du chromosome 8. À ce jour, de nombreuses descriptions à la fois cytogénétiques et cliniques ont été rapportées dans la littérature concernant des patients avec un chromosome 8 surnuméraire sous forme de marqueur ou d'anneau dans un contexte de mosaïcisme cellulaire variable. Il existe une grande hétérogénéité phénotypique allant de l'absence de symptomatologie à des signes cliniques compatibles avec ceux de la trisomie 8 en mosaïque. Nous avons étudié le cas présenté par une puce à ADN à haute résolution d'oligonucléotides d'Agilent(tm) 244K afin de préciser la région du chromosome 8 impliquée dans cet anneau, et de déterminer s'il était possible de détecter une variation du nombre de copies génomiques associée à un faible taux de mosaïcisme. La puce à ADN est composée de 230 000 sondes représentant les régions codantes et non codantes du génome humain dont 10960 sondes retrouvées sur le chromosome 8. Les données obtenues ont permis d'identifier avec précision la portion du chromosome 8 surnuméraire impliqué dans l'anneau s'étendant des extrémités 8p23.1 à 8q11.23 (chr8 : 8,117,271 bp..55,634,100 bp). Dans cette région de 47 Mb, 349 gènes dont 150 gènes OMIM, sont répertoriés dans les bases de données (NCBI, build 36.2). La recherche de cet anneau du chromosome 8 par FISH (sonde centromérique) chez la mère s'est avérée négative (prélèvement du père non disponible). L'utilisation de la puce à ADN à haute résolution dans le cas présenté a permis d'une part de caractériser avec rapidité (3 jours) et précision le contenu génique de l'anneau surnuméraire dérivé du chromosome 8 et d'autre part de déterminer la sensibilité de cette technique dans un cas avec un faible taux de mosaïque (21 %). Ces données pourraient aider à établir des relations génotype-phénotype grâce à la détermination des gènes impliqués dans ce type de remaniement chromosomique.

Mots-clés : puce à ADN, anneau du chromosome 8 surnuméraire, trisomie 8 partielle.

■P72 / 165. CORRÉLATION ENTRE LES ANEUPLOÏDIES DES CHROMOSOMES SEXUELS ET LA MORPHOLOGIE SPERMATIQUE

M. Mehdi, H. El Ghezal, M. Ajina, A. Saad
Laboratoire de Cytogénétique, Biologie moléculaire et Biologie de la Reproduction humaines, CHU Farhat Hached, Sousse, Tunisie

Introduction : Notre étude a pour objectif de déterminer l'incidence des aneuploïdies gonosomiques chez des hommes ayant une téraatozoospermie sévère (formes spermatozoaires anormales > 80 %) et de déterminer une éventuelle corrélation entre aneuploïdie et une morphologie spécifique du spermatozoïde. Matériel et méthodes : La technique de l'hybridation *in situ* fluorescente (FISH) avec des sondes spécifiques des chromosomes X, Y et 18 a été appliquée sur les spermatozoïdes de 30 patients ayant au

spermogramme une tératozoospermie sévère. Les résultats ont été comparés avec ceux des spermatozoïdes prélevés à partir de 12 hommes avec paramètres spermatiques normaux qui ont joué le rôle de sujets contrôles. Résultats : Le taux moyen de tératozoospermie chez les patients a été de $91 \pm 6.99 \%$, il existe une fréquence élevée de disomies XY, XX et YY chez les patients par rapport aux contrôles, la différence est statistiquement significative (respectivement, 1.42 vs 0.31% , 1.13 vs 0.19% et 1.11 vs 0.25% , $P < 0.001$ dans toutes les comparaisons). Le taux de diploïde totale est statistiquement plus élevé chez les patients par rapport aux contrôles (1.46 vs 0.16 , $p < 0.001$) il existe une corrélation entre les spermatozoïdes macrocéphales et la diploïde d'une part ($r = 0.37$, $P < 0.05$) et entre spermatozoïdes macrocéphales et nullisomy XY, d'autre part ($r = 0.48$, $p < 0.005$). Conclusion : Ces résultats suggèrent que les patients avec tératozoospermie sévère présentent un taux élevé d'anéuploïdie gonosomique, ceci est particulièrement corrélé avec les spermatozoïdes macrocéphales.

Mots-clés : anéuploïdie, tératozoospermie, spermatozoïde.

■P73 / 166. ÉVALUATION DE L'INTÉGRITÉ DE L'ADN SPERMATIQUE SELON LES PARAMÈTRES SPERMATIQUES

M. Mehdi, L. Khantouche, M. Ajina, A. Saad

Laboratoire de Cytogénétique, Biologie moléculaire et Biologie de la Reproduction humaines, CHU Farhat Hached, Sousse, Tunisie

Introduction : Le but de notre étude est de mesurer la fragmentation de l'ADN des spermatozoïdes humains par la technique TUNEL (Terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated dUTP nick-end Labelling) et de déterminer les éventuelles corrélations qui peuvent exister entre l'index de la fragmentation de l'ADN spermatique (DFI) et les paramètres spermatiques. Matériel et méthodes : Nous avons donc sélectionné 90 sujets, 30 patients ayant une tératozoospermie au spermogramme, 30 patients avec asthénozoospermie et 30 sujets avec sperme de bonnes caractéristiques choisis comme sujets témoins. La fragmentation de l'ADN spermatique est mesurée par la technique TUNEL. Résultats : Pour les patients ayant une asthénozoospermie, nous n'avons pas trouvé de différence significative du taux de DFI par rapport au groupe témoin (respectivement, $9.46 \pm 8.68 \%$ et $8.19 \pm 6.84 \%$, différence non significative). En plus nous n'avons pas trouvé de corrélation entre la mobilité des spermatozoïdes et la fragmentation de l'ADN spermatique. Alors que le taux de fragmentation de l'ADN spermatique est plus élevé avec des différences hautement significatives chez les patients ayant une tératozoospermie par rapport au groupe témoin (Respectivement, $21.37 \pm 17.26 \%$ et $8.19 \pm 6.84 \%$, $p < 0.01$). Il existe une corrélation positive entre les formes atypiques et le DFI ($r = 0.44$, $p < 0.001$). Le DFI est particulièrement plus élevé quand la valeur des formes atypiques dépasse 90% . En conclusion, notre étude suggère que les affaiblissements des paramètres spermatiques sont associés à une altération de l'intégrité de l'ADN spermatique. Cette association est en rapport strict avec la morphologie atypique des spermatozoïdes. La tératozoospermie est donc un paramètre critique de l'hypofertilité masculine et quand elle dépasse la valeur de 90% de formes atypiques, elle serait un signe d'appel pour l'analyse de la fragmentation de l'ADN spermatique.

Mots-clés : fragmentation, ADN spermatique, paramètres spermatiques.

■P74 / 172. IDENTIFICATION RAPIDE PAR FISH MULTICENTROMÉRIQUE EN 3 HYBRIDATIONS DE MARQUEURS CHROMOSOMIQUES SURNUMÉRAIRES CHEZ 10 PATIENTS

M. Lelorc'h (1), J. Andrieux (2), H. Der Sarkissian (1), B. Duban-Bedu (3), O. Boute (4), L. Vallée (5), S. Romana (1), B. Delobel (3)

(1) Service d'Histologie-Embryologie et Cytogénétique, Hôpital Necker-Enfants Malades, AP-HP ; (2) Laboratoires de Génétique Médicale, Hôpital Jeanne de Flandre, CHRU de Lille ; (3) Centre de Génétique Chromosomique, Hôpital St Vincent de Paul de Lille, GHICL ; (4) Service de Génétique Clinique, Hôpital Jeanne de Flandre, CHRU Lille ; (5) Service de Neuropédiatrie, CHRU Lille

Les marqueurs chromosomiques surnuméraires représentent un groupe hétérogène d'anomalies structurales qui ne peuvent être identifiées par les techniques classiques de banding R ou G. Cette hétérogénéité est présente également au niveau clinique et demande, dans certaines situations comme en diagnostic prénatal, une caractérisation rapide afin de préciser le pronostic. Après les techniques de marquage d'hétérochromatine (NORs, DA-DAPI, bandes C), l'approche par cytogénétique moléculaire "centromère par centromère", en débutant par les chromosomes les plus fréquemment impliqués (15, 22, XY), permet d'identifier l'origine chromosomique du marqueur lorsque l'on a de nombreuses mitoses. Lorsqu'il existe peu de mitoses, ou lorsqu'elles sont regroupées au sein d'un clone, comme c'est le cas en diagnostic prénatal, il peut être difficile d'utiliser les sondes

centromériques telles qu'elles existent actuellement. Nous avons mis au point un set de sondes centromériques appelé M-cen (Multicolor – centromère) qui permet, à partir de l'analyse de seulement 3 mitoses, de caractériser tous marqueurs non analphoïdes. Ce système a été utilisé avec succès sur 10 patients porteurs de marqueurs chromosomiques. Pour déterminer la présence ou non d'euchromatine, nous avons utilisé pour chaque patient des sondes de peinture fabriquées par Alu-PCR sur de l'ADN de lignée hybride somatique ne contenant chacune qu'un seul chromosome humain qui de ce fait ne contiennent pas de séquences centromériques. Des expériences de CGH array ont été réalisées pour préciser la taille des régions euchromatiques chez trois de ces patients et d'éliminer un autre remaniement cryptique pour le cas du marqueur issu du chromosome Y. L'utilisation combinée de toutes ces techniques nous ont permis d'identifier des marqueurs des chromosomes 8, 12, 15, 20 et Y chez 9 des 10 patients. Un patient présentait 2 marqueurs provenant des chromosomes 5 et 8. La peinture avec les sondes de PCR Alu nous a permis d'affirmer la présence d'euchromatine chez 9 patients. Grâce à la CGH array, nous avons pu identifier l'origine du marqueur analphoïde et préciser la taille des régions euchromatiques des marqueurs de 3 patients. Avec ces résultats comparés à ceux de la littérature, des corrélations génotype-phénotype ont pu être établies pour ces patients. Cette étude met en exergue l'utilité de ces différents outils, M-cen, sondes de peinture inter-Alu et CGH array, pour la caractérisation des petits marqueurs chromosomiques et pour l'établissement d'un rapport phénotype-génotype indispensable pour le conseil génétique.

Mots-clés : marqueurs chromosomiques, FISH multicentromérique, sondes de peinture inter Alu.

■P75 / 173. INVERSION PÉRICENTRIQUE DU CHROMOSOME 4 [INV(4)(P16Q12)] ASSOCIÉE AU PIEBALDISM

C. Popovici (1), C. Missirian (1), S. Sigaudy (2), N. Philip (2), A. Moncla (1)

(1) Laboratoire de Génétique Chromosomique ; (2) Unité de Génétique Clinique, Département de Génétique Médicale, Hôpital de la Timone-Enfants, Marseille

Introduction : Le piebaldism est une maladie à transmission autosomale dominante caractérisée par l'association de manière constante d'une mèche blanche et de zones d'hypopigmentation cutanée. Une expressivité variable est parfois identifiée car certaines manifestations n'ont été décrites qu'occasionnellement : l'hétérochromie de l'iris, la surdité, le mégacolon, le retard mental ou des signes neurologiques. Des mutations de type perte de fonction (mutations ponctuelles, délétions hétérozygotes) responsables de cette pathologie ont été identifiées dans le gène *KIT*, gène localisé dans la région 4q12 et codant pour un récepteur transmembranaire à activité tyrosine-kinase impliqué dans la migration, la prolifération et la survie des mélanocytes. Cas clinique : Nous décrivons une famille présentant le tableau clinique classique du piebaldism associant, chez certains personnes, des signes rares comme la dépigmentation progressive (blanchiment progressif des cheveux), l'hétérochromie de l'iris ou la surdité. Ces manifestations cliniques sont associées à une anomalie chromosomique équilibrée de type inversion péricentrique du chromosome 4 [inv(4)(p16q12)]. Ce réarrangement chromosomique a été décrit antérieurement chez un garçon présentant l'association piebaldism / retard mental sans que la localisation précise des points de cassure soit identifiée (Ramadevi *et al.*, Am J Med Genet. 2002, 113 :190-2). Les expériences de d'hybridation *in situ* sur des métaphases que nous avons réalisées, en utilisant des BAC localisés sur le bras long du chromosome 4, ont permis d'encadrer un des points de cassure. Cette région contient, parmi d'autres gènes, le gène *KIT* ainsi que deux autres gènes (*PDGFR-alpha* et *VEGFR2*) codant pour deux autres récepteurs transmembranaires à activité tyrosine kinase. Discussion : Le réarrangement chromosomique équilibré que nous avons identifié dans cette famille est, fort probablement, responsable des manifestations pathologiques identifiées. Cette hypothèse est confortée par l'existence de modèles animaux de piebaldism (avec ou sans surdité) déterminé par des réarrangements génomiques de grande taille. Le clonage des points de cassures de l'inversion péricentrique du chromosome 4 permettra d'identifier le(s) gène(s) responsable(s) ainsi que le type d'anomalie moléculaire à l'origine de la pathologie (dérégulation transcriptionnelle ou gène de fusion).

Mots-clés : piebaldism, inversion péricentrique, gène *KIT*.

■P76 / 176. MICRODÉLÉTION 7Q31 ET DYSPRAXIE LINGUO-BUCCO-FACIALE

C. Jourmad (1), M. Fradin (1), N. Carelle-Calmels (1), F. Girard-Lemaire (1), D. Chaigne (2), E. Flori (1)

(1) Service de cytogénétique, CHU Haute-pierre, Strasbourg ; (2) Neuropédiatrie, Clinique Sainte Odile, Strasbourg



Nous rapportons l'observation d'une jeune fille de 20 ans qui présente un léger retard des acquisitions avec, en particulier, une dyspraxie linguo-bucco-faciale à l'origine d'un retard important du langage. L'enfant, née à terme après une grossesse sans particularité, normotrophe, développe dès le premier mois de vie des infections ORL répétées, avec, en particulier, des otites. Après une hospitalisation à l'âge de 11 mois pour un épisode de convulsions fébriles, une apathie et un bavage (transitoires), ainsi qu'une régression des capacités de communication sont observés. Le bilan étiologique réalisé alors (deux caryotypes standard, recherche du syndrome de l'X fragile, IRM et scanner) est négatif. À l'âge de 18 ans, le bilan étiologique est repris. Un nouveau caryotype sanguin met alors en évidence, à un seuil de résolution de 550 bandes, une délétion interstitielle du bras long d'un chromosome 7 dans la région 7q31.1q31.3 [46,XX,del(7)(q31.1q31.3)]. La taille de cette délétion est évaluée à environ 10 Mb par CGH array, puis précisée par hybridation *in situ* à l'aide de sondes BACs spécifiques de la région. La réalisation des caryotypes parentaux devrait permettre de déterminer le caractère probablement *de novo* de ce réarrangement. La jeune fille, vue en consultation de génétique à l'âge de 20 ans, ne présente aucune dysmorphie spécifique, à l'exception d'une paralysie faciale séquellaire d'une intervention sur un cholestéatome de l'oreille gauche. L'intérêt de cette observation réside dans le fait que le gène Forkhead box P2 (gène *FOXP2*), connu pour intervenir dans des dyspraxies orofaciales se trouve dans la région 7q31. Cette anomalie particulière du langage a certes déjà été observée dans d'autres anomalies chromosomiques, mais la région 7q31 semble la plus fréquemment impliquée. Des mutations du gène *FOXP2*, ainsi que des délétions de taille variable de la région incluant ce gène sont décrites dans la littérature en présence de difficultés du langage similaires à celles rapportées ici, associées ou non à des retards intellectuels de gravité variable. Cette observation souligne l'intérêt d'effectuer une étude cytogénétique approfondie en présence d'une dyspraxie linguo-bucco-faciale, qu'il existe ou non un retard mental associé et/ou une dysmorphie et d'accorder une attention toute particulière à la région 7q31, étant donné l'implication du gène *FOXP2* dans ce type de retard du langage.

Mots-clés : dyspraxie orofaciale, del. 7q31, gène *FOXP2*.

■P77 / 178. DIAGNOSTIC PAR HYBRIDATION IN SITU SUR NOYAUX INTERPHASAIQUES DE L'INVERSION DE LA RÉGION 7Q11.23 DU SYNDROME DE WILLIAMS – ASPECTS MÉTHODOLOGIQUES

G. Nadeau (1), F. Amblard (2), F. Devillard (2), V. Satre (2), S. Frasca (2), G. Michalowicz (2, 3), Y. Usson (3), P.-S. Jouk (2, 3)
(1) Service de Cytogénétique du CH de Valence ; (2) Département de Génétique et de Procréation du CHU de Grenoble ; (3) TIMC-IMAG UMR CNRS 5525 Faculté de Médecine de Grenoble

Introduction : Le syndrome de Williams-Beuren est une maladie multisystémique, rare dont la fréquence est de 1/20 000 naissances. Ce syndrome microdélétionnel apparaît de manière sporadique dans la majorité des cas. Toutefois quelques rares cas de transmission autosomique dominante ont été décrits dans certaines familles. Un polymorphisme d'inversion de la région 7q11.23 a été décrit chez environ un tiers des parents de sujets atteints de syndrome de Williams. Des études suggèrent que la présence de ce variant génomique pourrait être associée à la maladie et serait un facteur de prédisposition à l'origine de la microdélétion de 1,5 Mégabases dans la descendance. **Matériels et Méthodes :** Afin de mieux préciser l'importance et l'implication de cette inversion de la région d'intérêt, nous avons débuté une étude chez 11 couples ayant un enfant atteint et 11 couples témoins. Nous avons effectué une hybridation *in situ* en fluorescence, conjointe de 3 sondes, en 2 couleurs, sur noyaux interphasiques : RP11-815K3, sonde de 215 kb situé à 71 Mb de l'extrémité télomérique des bras courts du chromosome 7, RP5-1186P10 de 100 kb localisée à 3,4 Mb de la précédente, toutes 2 marquées au FITC et CTA-208H19 de 50 kb située entre les 2 sondes précédentes et marquée à la Rhodamine. La lecture des signaux d'hybridation a permis de comptabiliser les noyaux pour lesquels les paires de triplets, correspondant aux deux chromosomes 7, sont interprétables. Un chromosome non inversé correspond à un triplet vert-rouge-vert (VRV) et un chromosome inversé à un triplet vert-vert-rouge (VVR). **Discussion :** Cependant les méthodes de comptage « classiques » du fait de l'enchevêtrement de la chromatine interphasique se sont révélées non reproductibles et l'interprétation de l'ordre d'alignement des signaux aléatoire. Nous avons donc mis au point un système d'analyse d'images qui permet de segmenter les noyaux et de mesurer l'angle d'alignement des 3 signaux. Un programme enregistre les positions des signaux et recherche pour les différentes configurations possibles de triades, celle qui donne l'angle le plus ouvert. Si l'angle d'alignement est supérieur ou égal à 110° et que la distance entre les signaux est suffisamment grande et équidistante, on retient la configuration et on en déduit l'ordre

correspondant. Pour chaque individu ont été déterminés les proportions de cellules inversées et de cellules non inversées. **Résultats :** Les résultats préliminaires retrouvent 3 patients sur 18 compatibles avec une inversion dans une population encore indiscriminée, l'anonymat des témoins et des parents d'enfants atteints n'étant pas encore levé. La spécificité de cette analyse est de 96,7 %. La définition de la sensibilité ne pourra être établie que par comparaison avec une méthode de génétique moléculaire validée. **Conclusion :** La mise en évidence des inversions par les techniques d'hybridation *in situ* sur noyaux interphasiques nécessite la mise en œuvre de techniques d'analyses d'images adaptées au problème posé. Le traitement et l'analyse des images sont des outils précieux pour assurer la reproductibilité, la traçabilité, le caractère non opérateur-dépendant et éviter les biais de sélection inhérent à la FISH.

Mots-clés : syndrome microdélétionnel, FISH noyaux interphasiques, traitement et analyse des images.

■P78 / 195. RELATION GÉNOTYPE/PHÉNOTYPE : LA CGH MICRO-ARRAY, UNE AIDE SUPPLÉMENTAIRE ?

N. Boutry-Kryza (1), A. Labalme (1), M. Till (1), C. Schluth-Bolard (1, 2), J. Langue (3), P. Edery (1, 2), D. Sanlaville (1, 2)
(1) Hospices Civils de Lyon, Service de Cytogénétique Constitutionnelle, Centre de Biologie et de Pathologie Est ; (2) Faculté de Médecine, Université Claude Bernard, Lyon 1 ; (3) Hospices Civils de Lyon, Service de Neuropédiatrie, Hôpital Debrousse

Nous rapportons le cas de Jessica, 6 ans, présentant un retard des acquisitions psychomotrices et un syndrome dysmorphique. Elle n'a pas d'antécédent familial particulier. Ses antécédents personnels sont marqués par un retard de croissance intra-utérin harmonieux. L'accouchement s'est déroulé à terme, son poids était de 2,560 Kg (-2DS), sa taille de 44,5 cm (-2DS) et son périmètre crânien de 32,2 cm (-2DS). Un caryotype standard a été réalisé à la naissance pour suspicion d'ambiguïté sexuelle. Un fragment chromosomique surnuméraire de très petite taille a été mis en évidence sur toutes les mitoses observées. Les caryotypes des parents étaient normaux. Une étude complémentaire par hybridation *in situ* a montré qu'il s'agissait d'un dérivé 17. Deux sondes des régions 17p11.2 (FLI) et 17p13.3 (LIS1) ont ensuite été utilisées. Aucune ne s'est hybridée sur le fragment surnuméraire. Nous avons donc conclu qu'il s'agissait probablement d'un dérivé 17 ne comportant que de l'hétérochromatine centromérique. Cependant l'évolution de Jessica est marquée par un retard des acquisitions psychomotrices (tenue assise à 10 mois, marche à 21 mois) et un retard de langage. Sur le plan morphologique, il existe des signes dysmorphiques discrets : rétraction temporale, oreilles petites en rotation postérieure, fistule pré-auriculaire, nez court, bouche petite, pieds et mains de petite taille. En raison de l'évolution clinique il nous a semblé probable que le dérivé chromosomique 17 pouvait être responsable du phénotype clinique de Jessica et qu'il devait alors exister une part d'euchromatine sur ce fragment. Avec accord des parents, une étude par CGH micro-array a été effectuée. Nous avons étudié l'ADN de Jessica sur des puces Agilent haute densité (244000 oligonucléotides). Les résultats obtenus montrent un gain de matériel génomique d'environ 1,8 mégabases dérivé du chromosome 17 dans la région 17p11.2 entre les oligonucléotides A_16_P40777061 et A_14_P113402 (en position 20404913 et 22004995). Ce résultat a été vérifié par FISH à l'aide de deux BACs localisés en 17p11.2 (RP11-93H8 et RP11-458P8) prouvant la présence d'euchromatine sur le marqueur. Les points de cassure se situent d'une part au niveau du centromère du 17 et d'autre part au niveau du LCR proximal de la région du SMS (Smith-Magenis Syndrome). Cette région n'implique pas les zones classiquement touchées dans le syndrome de Potocki-Lupski et ne correspond donc pas à une région associée à un phénotype clairement défini. Une délétion de 800 kb en 17q32.2 (entre les oligonucléotides A_14_P122497 et A_16_P03272806 (en position 57344164 et 58119047) a également été mise en évidence lors de l'analyse des données issues de la CGH array. Cette délétion a été confirmée par PCR quantitative et s'est révélée être *de novo*. Elle comprend au moins 7 gènes dont le gène *TLK2* impliqué dans la régulation de l'assemblage chromatine et *THRAP1* impliqué dans la transcription. Au final, nous avons pu confirmer la présence d'euchromatine sur le dérivé du chromosome 17, mais nous avons également découvert de façon inattendue la présence d'une petite délétion de 800 kb *de novo* en 17q32. Il nous semble difficile de déterminer qu'elle est la part relative de chaque anomalie dans le phénotype et si l'anomalie initiale (trisomie 17p partielle) participe réellement au phénotype. Cette observation met en évidence d'une part l'intérêt de la CGH micro-array dans l'exploration des marqueurs chromosomiques, d'autre part la possibilité de déséquilibre chromosomique multiple chez un même patient et la difficulté des relations génotype/phénotype et du conseil génétique dans ces cas.

Mots-clés : CGH array, retard mental, chromosome 17.

■P79 / 199. SYNDROME DE ROBERTS : APPORT DE LA MICROSCOPIE CONFOCALE (FISH 3D) ASSOCIÉE À LA CYTOGÉNÉTIQUE CLASSIQUE

C. Dupont (1, 2), M. Bucourt (3), F. Cornelis (3), A. Benbara (4), B. Gérard (5), JM. Dupont (6), D. Le Tessier (6), AC. Tabet (2), A. Aboura (2), A. Delahaye (1), S. Kanafani (1), B. Benzacken (1, 2) et E. Pipiras (1)

(1) Service d'Histologie Embryologie Cytogénétique et Biologie de la Reproduction, Hôpital Jean-Verdier, AP-HP, Bondy, France, UFR-SMBH, Paris XIII, France ; (2) Unité fonctionnelle de Cytogénétique, Hôpital Robert-Debré, AP-HP, Paris, France ; (3) Laboratoire de Fœtopathologie, Hôpital Jean-Verdier, AP-HP, Bondy, France ; (4) Service de Gynécologie Obstétrique, Hôpital Jean-Verdier, AP-HP, Bondy, France ; (5) Unité fonctionnelle de Biologie moléculaire et Biochimie Génétique, Hôpital Robert-Debré, AP-HP, Paris, France ; (6) Service Histologie Embryologie Cytogénétique, Hôpital Cochin, AP-HP, Université Paris-Descartes, Faculté de Médecine, Unité INSERM U709, France, 75014 Paris

Introduction : Le syndrome de Roberts, décrit pour la première fois en 1919, est une affection autosomique récessive rare (environ 100 cas rapportés) qui associe retard de croissance, anomalies réductionnelles des membres (phocomélie, syndrome pseudothalidomide) et dysmorphie cranio-faciale. Récemment des mutations du gène *ESCO2* situé en 8p21.1 (gène humain homologue d'une cohésine de la levure) ont été retrouvées dans plusieurs familles atteintes de syndrome de Roberts. Nous rapportons le cas d'un fœtus mort in utero à 18 SA avec suspicion phénotypique de syndrome de Roberts. Matériel et méthodes : Un examen fœtopathologique a permis de suspecter ce syndrome. Une analyse cytogénétique a été effectuée afin de confirmer ce diagnostic. Puis les fibroblastes de ce fœtus ont été analysés en microscopie confocale après une technique de FISH en 3 dimensions avec des sondes de peintures chromosomiques et des sondes spécifiques de l'hétérochromatine de certains chromosomes. L'objectif de cette technique était d'observer le comportement des structures chromosomiques atteintes dans cette pathologie, au sein du noyau en interfase. Enfin la recherche d'une éventuelle mutation causale d'*ESCO2* va être réalisée. Résultats : L'examen fœtopathologique a montré une tétraphocomélie avec oligodactylie, une dysmorphie cranio-faciale caractéristique avec hypoplasie de l'étage moyen et saillie des globes oculaires. On notait également une absence de fente labio-palatine. L'analyse cytogénétique des cultures fibroblastiques de ce fœtus a montré un aspect caractéristique des chromosomes avec 1) aspect des chromatides en « rail de tramways », 2) absence de constriction primaire touchant essentiellement les chromosomes riches en hétérochromatine (1, 9, 16, 19) et les chromosomes acrocentriques, 3) images de répulsion des chromatides, 4) aspect caractéristique en bandes C avec dédoublement des centromères et « puffing » de l'hétérochromatine. Discussion – Conclusion : L'apport dans la compréhension de la physiopathologie de cette maladie, des résultats du séquençage d'*ESCO2* associé au phénotype particulier observé en microscopie confocale, sera discuté. Par ailleurs, le diagnostic prénatal de ce syndrome repose actuellement principalement sur l'échographie fœtale. L'intérêt d'un diagnostic plus précoce par cytogénétique et/ou biologie moléculaire dans des familles ayant déjà eu un cas index et une mutation causale identifiée, sera également discuté.

Mots-clés : syndrome de Roberts, FISH 3D, *ESCO2*.

■P80 / 200. DIAGNOSTIC PRÉNATAL D'UN FŒTUS ISSU D'UN PÈRE PORTEUR D'UNE INVERSION DUPLICATION (INV DUP DEL) DU BRAS COURT D'UN CHROMOSOME 18

E. Pipiras (1), C. Vincent-Delorme (2), A. Delahaye (1), A. Aboura (3), AC. Tabet (3), F. Cortet (4), B. Benzacken (1, 3) et C. Dupont (1, 3)

(1) Service d'Histologie Embryologie Cytogénétique Biologie de la Reproduction, Hôpital Jean-Verdier, Bondy, AP-HP, UFR-USMBH, Paris XIII, France ; (2) Consultation de génétique, Centre Hospitalier d'Arras, Arras, France ; (3) Unité Fonctionnelle de Cytogénétique, Hôpital Robert-Debré, AP-HP, Paris, France ; (4) Service d'Obstétrique, Centre Hospitalier d'Arras, Arras, France

Introduction : Les inversions duplications avec délétion terminale sont des remaniements complexes décrits sur différents chromosomes, 1q, 2q, 3p, 4p, 10q, 11p, 18q, 21q. Un seul cas d'inv dup del(18p) a déjà été décrit en 1994. Nous rapportons le diagnostic prénatal d'un fœtus dont l'un des parents est porteur d'une inversion duplication avec délétion terminale (inv dup del) du bras court d'un chromosome 18. Le diagnostic cytogénétique a été porté chez le père à l'âge de 8 ans. Le caryotype avait été motivé par un retard des acquisitions modéré. La formule chromosomique était la suivante 46, XX, add18p, de novo. Les parents n'ont jamais informé leur fils des résultats de son caryotype. Vingt ans plus tard, le patient, dont la femme débutait une grossesse, a été vu par un généticien en présence de ses parents. Une étude cytogénétique plus

approfondie du remaniement a été réalisée. Matériel et méthodes : Des études en FISH : peinture du chromosome 18, extrémités subtélomériques du 18, et cartographie des points de cassure en utilisant des BACs situés sur le bras court du chromosome 18, ont été réalisées chez le père. Un caryotype associé à une FISH subtélomérique du bras court du chromosome 18 a été effectué sur les cellules fœtales à partir du liquide amniotique. Résultats : Les résultats de l'hybridation *in situ* chez le père ont montré tout d'abord une délétion terminale du bras court d'un des chromosomes 18 et la peinture de ce chromosome a permis d'éliminer l'implication d'une autre paire chromosomique. Puis, grâce à l'hybridation de plusieurs BACs nous avons caractérisé la taille de la délétion et mis en évidence une duplication inversée sous-jacente associée. L'analyse du liquide amniotique (caryotype et FISH) a montré un caryotype normal chez le futur enfant de ce patient. Discussion – Conclusion : Cette anomalie a été observée sur le caryotype du père et étudiée en cytogénétique moléculaire. Cette analyse souligne l'intérêt de mieux comprendre le mécanisme des inv dup del et d'établir un diagnostic prénatal mieux ciblé.

Mots-clés : inv dup del, deletion 18p, duplication 18p.

■P81 / 209. MICRODÉLÉTION 6P25 : CARACTÉRISATION CLINIQUE, CYTOGÉNÉTIQUE ET MOLÉCULAIRE, À PROPOS D'UNE OBSERVATION

G. Joly-Helas (1, 2), P. Saugier-Verber (2, 3), H. Moïrot (1, 2), V. Drouin-Garraud (3), S. Radi (4), C. Tiercin (1), B. Mace (1), T. Frebourg (2, 3) (1) Laboratoire de Cytogénétique, CHU de Rouen ; (2) Service de Génétique, CHU de Rouen ; (3) Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHU de Rouen ; (4) Département de Pédiatrie, CHU de Rouen

La délétion de l'extrémité télomérique du bras court de chromosome 6 est associée à un phénotype clinique particulier associant un retard de développement psychomoteur, une surdité, une cardiopathie congénitale, des anomalies ophtalmologiques (atteinte de la chambre antérieure de l'œil, microphthalmie) et une dysmorphie faciale caractérisée par un hypertélorisme, des fentes palpébrales antimongoloïdes et une racine du nez plate. À notre connaissance, seulement quatre cas de délétions 6pter non détectables par caryotype mais par technique d'hybridation *in situ* en fluorescence (FISH) à l'aide de sondes subtélomériques ont été décrits. Nous rapportons un nouveau cas de délétion 6pter détectée par technique de FISH. Anthony est né à 40 SA, après une grossesse marquée par un hydramnios ayant motivé la réalisation d'un caryotype sur amniocytes sans anomalie décelée. Les mensurations de naissance étaient normales. D'emblée, était notée une dysmorphie faciale caractéristique (hypertélorisme, fentes palpébrales antimongoloïdes, racine du nez plate, front bombant et large), une hypotonie axiale, une hypoplasie unguéale et des cornées opalescentes. L'examen ophtalmologique a retrouvé une imperforation bilatérale des canaux lacrymaux, des opacités cornéennes périlimbiques, des pupilles déformées, des opacités cristalliniennes centrales et une altération des réponses à l'électrorétinogramme. Une surdité suspectée devant la négativité des oto-émissions acoustiques a été confirmée par la négativité des potentiels évoqués auditifs. Le bilan malformatif a retrouvé la persistance d'un canal artériel et l'existence d'une hydrocéphalie. L'association des anomalies ophtalmologiques, de la surdité et de la dysmorphie faciale a fait évoquer le diagnostic de délétion 6pter. Les caryotypes réalisés en bandes RHG, GBG et RBG n'ayant pas révélé d'anomalie (46,XY et résolution de 550 bplh), une délétion subtélomérique de bras court du chromosome 6 a été recherchée et confirmée par technique de FISH (sonde subtélomérique 6p, Abbott). L'analyse des extrémités subtélomériques de l'ensemble des chromosomes par technique de QMPSF a permis de retrouver l'association d'une trisomie subtélomérique de bras court de chromosome 20 non visible sur les caryotypes. Seul le caryotype maternel a pu être réalisé qui n'a pas mis en évidence de t(6;20)(p25;p23). Contrairement à nombre d'extrémités télomériques, le phénotype de la délétion 6p subtélomérique est caractéristique et permet d'orienter le clinicien vers le diagnostic. Il associe une surdité, une dysmorphie faciale et des anomalies ophtalmologiques caractéristiques. Plusieurs gènes ayant un rôle important dans la morphogénèse sont localisés en 6pter. Le gène *FOXC1* est localisé en 6p25 et des mutations dans ce gène ont été rapportées chez des patients avec des anomalies variées de la chambre antérieure de l'œil et chez des patients avec syndrome d'Axenfeld-Rieger. Des études complémentaires sont en cours afin de rechercher une délétion de *FOXC1* chez notre patient.

Mots-clés : microdélétion, FISH, QMPSF.

■P82 / 213. DÉLÉTION INTERSTITIELLE 2Q14.3-Q22.2 DE NOVO PRESERVANT LE GÈNE *ZFX1B* ASSOCIÉE À UN PHÉNOTYPE DE SYNDROME DE MOWAT-WILSON

P. Chambon (1, 2), A. Goldenberg (2), H. Moïrot (1), L. Guyant-Marechal (4), G. Joly-Hélas (1), T. Frebourg (2, 3), P. Saugier-Verber (2, 3)



(1) Laboratoire de Cytogénétique, CHU de Rouen ; (2) Service de Génétique, CHU de Rouen ; (3) Inserm U614, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Institut Hospitalo-Universitaire de Recherche Biomédicale de Rouen ; (4) Service de Neurologie, CHU de Rouen

Le syndrome de Mowat-Wilson (SMW) est une anomalie complexe du développement caractérisée par une dysmorphie typique associée, de manière fréquente mais inconstante, à une maladie de Hirschsprung, une microcéphalie, une épilepsie, une agénésie du corps calleux ainsi qu'à des malformations cardiaques et urogénitales. Hormis quelques cas de délétion ou de translocation affectant la région 2q22, la grande majorité des patients présente une mutation *de novo*, hétérozygote et tronquante du gène *ZFHX1B* localisé en 2q22. *ZFHX1B* est un gène hautement conservé, largement exprimé au cours du développement embryonnaire. Il code pour une protéine interagissant avec le gène *SMAD*, un répresseur transcriptionnel intervenant dans la transduction des signaux de la voie de signalisation du TGF-beta. Nous rapportons l'observation d'une patiente de 37 ans présentant un SMW associé à une délétion interstitielle 2q14.3-q22.2 mise en évidence sur le caryotype en bandes RBG (450 bphl). La dysmorphie faciale est caractéristique du SMW hormis les oreilles dont les lobes ne sont pas déjetés en avant. La patiente présente un retard mental sévère avec un langage quasiment absent, des troubles du comportement et quelques stéréotypies des mains. On note, par ailleurs, une épilepsie dans l'enfance. Il existe également la notion de constipation récurrente non explorée. Enfin, l'examen cutané montre un lacis veineux apparent, l'aspect de la peau semblant prématurément vieilli. Contre toute attente, l'hybridation des BACs RP11-9509 et RP11-107E5 incluant le gène *ZFHX1B* n'oriente pas vers l'existence d'une délétion de ce gène. L'amplification par QMPSF des premier et dernier exons du gène *ZFHX1B* confirme l'absence de délétion, même partielle, de ce gène. Une cartographie des points de cassure de cette délétion par BACs et QMPSF objective une délétion d'environ 20 Mb. Le point de cassure distal interromp le gène *ARHGAP15* situé à 1 Mb en amont du gène *ZFHX1B*. Cette délétion en amont de l'unité de transcription emporte très probablement des éléments de régulation actifs en cis. Il s'agirait ainsi de la première délétion responsable d'un SMW par effet de position. L'identification de ces régions régulatrices est importante car elle suggérerait la nécessité de séquencer ces régions chez les patients atteints de SMW typique sans mutation du gène *ZFHX1B*.

Mots-clés : Mowat-Wilson, délétion, *ZFHX1B*.

■P83 / 239. ÉTUDE D'UNE TRANSLOCATION APPAREMMENT ÉQUILIBRÉE ET DIAGNOSTIC PAR CGH-ARRAY D'UNE MICRODUPLICATION DE 800 KB DE LA RÉGION 12Q13.3-Q14.1 ASSOCIÉE À UN PHÉNOTYPE MARFANOÏDE AVEC RETARD PSYCHOMOTEUR

P. Callier (1), L. Faivre (2), C. Thauvin-Robinet (2), N. Marle (1), A.L. Mosca (1), C. Charon-Barra (1), A. Masurel-Paulet (2), D. Metaizeau (3), F. Huet (2), P. Khau-Van-Kien (4), F. Mugneret (1)

(1) Laboratoire de Cytogénétique ; (2) Génétique médicale ; (3) Chirurgie Pédiatrique, CHU Le Bocage, DIJON, France ; (4) Laboratoire de Génétique Moléculaire, IURC, Montpellier, France

Nous rapportons l'observation d'un patient âgé de 10 ans présentant un phénotype marfanoïde avec un retard psychomoteur et une translocation *de novo* apparemment équilibrée t(12;19)(q13.3;p12). Il s'agit de l'unique enfant d'un couple non consanguin. À la naissance le diagnostic de syndrome de Marfan avait été suspecté devant un aspect longiligne et une arachnodactylie. À l'âge de 10 ans, l'examen clinique met en évidence un thorax étroit, un pectus carinatum asymétrique, des épaules déjetées en avant, un trouble de la statique vertébrale important et une bascule du bassin, une hypoplasie malaire franche, des fentes palpébrales obliques en bas et en dehors, un palais ogival et des malpositions dentaires. Il présente toujours un morphotype très longiligne avec une taille supérieure au 97^e percentile. Il a bénéficié d'une cure de hernie inguinale. Il est pris en charge en éducation spécialisée, il présente un gros retard de langage et une voix très nasonnée. Il souffre d'une myopie et l'examen cardiaque montre une aorte ascendante à la limite supérieure de la normale pour l'âge au niveau des sinus de Valsalva. Les feuillets mitraux sont légèrement redondants et entraîne une insuffisance mitrale. L'analyse des gènes *FBN1*, *TGFBR1* et *TGFBR2* s'est révélée normale. En raison du tableau clinique présenté par le patient, une analyse par CGH-Array (IntegraGen, résolution 1 Mb) a été réalisée pour rechercher un microremaniement au niveau des points de cassures de sa translocation. Cette analyse a révélé une microduplication interstitielle de 800 kb de la région 12q13.3-q14.1 (5 clones), anomalie confirmée par FISH à l'aide de Bacs et Pacs de la région 12q. En conclusion, cette observation permet de proposer une région candidate pour la recherche de nouveaux gènes responsables de phénotypes

marfanoïdes et montre l'importance de l'analyse par CGH-Array dans l'étude de translocations apparemment équilibrées associées à un phénotype anormal

Mots-clés : CGH-Array, translocation apparemment équilibrée, microduplication.

■P84 / 241. RISQUE CHROMOSOMIQUE ÉLEVÉ POUR UN PATIENT FERTILE PORTEUR D'UNE TRANSLOCATION T(Y;10)

D. Molina-Gomes, F. Vialard, J. Roume, M. Albert, I. Hammoud, Ph. de Mazancourt, J. Selva

Fédération de Génétique Hôpital de Poissy St Germain 10 rue du Champ Gaillard 78303 Poissy Cedex

Introduction : Chez l'homme, les translocations impliquant les gonosomes sont habituellement décrites comme responsables d'azoospermie ou *a minima* d'oligospermie sévère, conduisant les patients à demander une AMP. Nous rapportons ici le cas d'un patient fertile, porteur d'une translocation (Y;10) à haut risque chromosomique pour le descendance. Cas clinique : Monsieur D consulte dans le cadre d'une enquête familiale suite à l'identification d'une translocation réciproque déséquilibrée chez sa fille conçue sans aide médicale : 46,XX,der(10),t(Y;10)(q12;p15). Le caryotype montre chez Mr D, la translocation réciproque équilibrée : 46,X,t(Y;10)(q12;p15). L'étude du chromosome Y par biologie moléculaire a mis en évidence chez sa fille la présence du gène *KALY* et de tous les marqueurs en aval du chromosome Y. La même étude chez Mr D confirme l'absence de microdélétion du chromosome Y. L'ensemble de ces résultats nous a conduit à proposer une exploration des spermatozoïdes par FISH pour connaître le mode de ségrégation de la translocation et le risque pour la descendance de Mr D. Parallèlement un spermogramme a été réalisé. Les déséquilibres méiotiques directement liés à la translocation ont été étudiés en utilisant 3 sondes marquant le centromère du chromosome 10 et les télomères de la région du bras court du chromosome 10 et du bras long des chromosomes X et Y. Il a été décidé de compléter cette évaluation en examinant les chromosomes 13, 18 et 21, non impliqués dans la translocation. Résultat : L'examen du sperme a montré une numération normale (52 M/ej) avec une asthénospermie modérée (a+b à 35 %) associée à une tératospermie importante (3 % de spermatozoïdes typiques). Parmi les 984 spermatozoïdes étudiés 50,3 % de spermatozoïdes étaient normaux ou équilibrés pour les chromosomes impliqués dans la translocation. L'analyse par FISH, respectivement des chromosomes 13, 18 et 21, montre un taux d'aneuploïdie à 0,4 % (n = 1963), 0,5 % (n = 1516) et 0,9 % (n = 1516). Discussion : Il s'agit du premier cas rapporté de translocation réciproque équilibrée, impliquant le chromosome Y, chez un sujet fertile (avec tératospermie). Généralement, ces patients présentent une altération majeure de la spermatogenèse et le diagnostic cytogénétique est établi dans le cadre de la prise en charge en ICSI. Le risque de malségrégation lié à la translocation était élevé et comparable à celui de patients portant une translocation équilibrée qui n'implique pas les gonosomes. En ce qui concerne le risque d'effet interchromosomique, celui-ci est modéré, et ceci a été confirmé avec l'étude des chromosomes 13, 18 et 21, avec pour chacun d'eux un taux inférieur à 1 %.

Mots-clés : chromosome Y, translocation, spermatozoïdes.

■P85 / 246. CARACTÉRISATION MOLÉCULAIRE D'UN PREMIER CAS D'INVERSION DUPLICATION AVEC DÉLÉTION TERMINALE DU BRAS COURT DU CHROMOSOME 20

S. Leclercq (1), A. Lebbar (1), K. Maincent (2), F. Baverel (1), D. Le Tessier (1), J.M. Dupont (1)

(1) AP-HP ; Université Paris-Descartes, Faculté de médecine Unité de Cytogénétique, Groupe Hospitalier Cochin, Saint Vincent de Paul, Paris ; (2) AP-HP, Service de Neuropédiatrie, Groupe Hospitalier Armand-Trousseau, Paris

Les duplications inversées associées à des délétions terminales sont des anomalies qui ont été, à ce jour, décrites pour un nombre croissant d'extrémités chromosomiques. Celle intéressant l'extrémité 8p est la plus fréquemment rapportée et la mieux caractérisée au niveau moléculaire. Dans ce cas, le mécanisme proposé repose sur la présence d'une micro-inversion polymorphe parentale entre deux clusters de gènes de récepteurs olfactifs en 8p23 qui favorisent la survenue d'une recombinaison allélique non homologue. Nous rapportons ici le premier cas, à notre connaissance, d'inversion duplication délétion intéressant l'extrémité 20p chez un garçon de 2 ans qui présente un retard des acquisitions psychomotrices, une dysmorphie faciale et une discrète hypotrophie de l'antéhypophyse. Une anomalie du bras court du chromosome 20 a été observée sur le caryotype standard et les analyses complémentaires en hybridation in situ ont mis en

évidence une duplication inversée associée à une délétion 20pter. La délétion 20p terminale est d'au moins 1.3 Mb (avec une incertitude d'environ 0.9 Mb) tandis que le segment dupliqué concerne les bandes 20p11.23-20p13 (soit 17.7 Mb). Ce remaniement est survenu *de novo*. Le phénotype de cet enfant est compatible avec la description clinique de la trisomie 20p : en effet 5 des 8 traits phénotypiques les plus fréquents sont présents dans notre cas. Les autres signes, à ce jour non observés, permettent néanmoins d'orienter le clinicien sur le bilan complémentaire à réaliser (en particulier radiologie du squelette et échographie cardiaque). Il est plus délicat de mesurer le retentissement phénotypique de la délétion 20pter car peu de cas de délétions terminales pures sont décrits à ce jour. L'architecture de la région 20p13 nous permet d'évoquer un mécanisme comparable à celui proposé pour le 8p. En effet deux duplicons séparés de 20 kb sont localisés à 1.5 Mb du télomère 20p (<http://projects.tcag.ca/variation>) et pourraient être impliqués dans la genèse de ce remaniement. Toutefois aucune micro-inversion n'a été décrite à ce jour dans cette région. Compte tenu de sa faible taille théorique, son identification par FISH chez un des parents est impossible. Cependant, de tels microremaniements équilibrés sont maintenant détectables grâce aux puces SNP, à partir de l'étude statistique des déséquilibres de liaison entre des marqueurs successifs (Feuk 2005, Bansal 2007). Dans notre cas, l'identification d'un tel déséquilibre de liaison permettrait de conforter notre hypothèse.

Mots-clés : duplication inversée, duplicons, trisomie 20p partielle.

■P86 / 247. DIAGNOSTIC PRÉNATAL D'UNE DÉLÉTION INTERSTITIELLE 4Q

N. Bigi (1), A. Schneider (1), P. Blanchet (1), T. Roucaute (2), P. Vago (2), G. Lefort (1), P. Sarda (1), J. Puechberty (1)
(1) Service de Génétique Médicale, Centre de Référence des Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs, Hôpital Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France ; (2) Laboratoire de Cytogénétique Médicale, Faculté de Médecine, Clermont-Ferrand, France

Les petites délétions interstitielles du bras long du chromosome 4 sont rarement rapportées en période anténatale. Lors d'un diagnostic prénatal pour une clarté nucale mesurée à 3,5 mm au premier trimestre, le caryotype fœtal a fait suspecter une délétion interstitielle 4q25-q28. L'hybridation génomique comparative (CGH) a permis de confirmer la délétion 4q25q28. Les caryotypes parentaux étaient sans particularité. À 22 semaines, l'échographie morphologique a retrouvé une pyélectasie bilatérale isolée. Devant la gravité du pronostic, une interruption médicale de grossesse a été discutée avec les parents puis acceptée par le Centre Pluridisciplinaire de Diagnostic Prénatal. L'examen du fœtus à 24 semaines d'aménorrhée a révélé une trophicité normale, un syndrome dysmorphique associant une face large, un occiput proéminent, un front haut, un hypertélorisme avec fentes palpébrales obliques en bas et en dehors, des replis sous-orbitaires marqués, un nez pointu avec les narines pincées, une petite bouche avec lèvres minces, des oreilles basses en rotation postérieure et dysplasiques, un cou large. Des anomalies des extrémités sont présentes associant une camptodactylie, des pieds varus équinés. La peau ombilicale remonte haut sur le cordon. L'examen des viscères confirme une pyélectasie gauche, l'examen des globes oculaires à la recherche d'une malformation de la chambre antérieure est en cours. Les délétions interstitielles de la région 4q25-q28 sont rares et le phénotype décrit est variable. Il comporte préférentiellement un syndrome dysmorphique et un retard de développement psychomoteur associé dans 50 % des cas à une épilepsie. Les malformations sont peu nombreuses. Les anomalies oculaires (microphthalmie, malformations de la chambre antérieure intégrées dans le syndrome de Rieger par délétion du gène *RIEGL*) sont les plus caractéristiques de cette délétion. Des malformations cardiaques (44 % des cas), ainsi que des anomalies des extrémités (66 % des cas), sont rapportées. Le diagnostic prénatal des délétions interstitielles 4q reste exceptionnel du fait du caractère peu malformatif de ces délétions. À ce jour, en incluant notre observation, au moins quatre cas de diagnostic prénatal de délétion interstitielle 4q ont été rapportés dans le cadre du dépistage prénatal de la trisomie 21, deux pour une anomalie des marqueurs sériques maternels, un pour l'âge maternel et notre observation pour anomalie de la nuque.

Mots-clés : diagnostic prénatal, délétion interstitielle 4q, dépistage trisomie 21.

■P87 / 257. DOUBLE RÉARRANGEMENT CHROMOSOMIQUE DE LA RÉGION 22Q11.2 CHEZ LE PÈRE D'UN ENFANT PRÉSENTANT UN SYNDROME VÉLOCARDIOFACIAL : MICRODÉLÉTION D'UN CHROMOSOME 22 ET MICRODUPLICATION DU CHROMOSOME 22 HOMOLOGUE

N. Carelle-Calmels (1), G. Rudolf (2), F. Girard-Lemaire (1), C. Joumard (1), B. Doray (3), P. Saugier-Verber (4), C. Gilch (1), E. Schmitt (1), E. Flori (1)

(1) Service de cytogénétique, CHU Haute-pierre, Strasbourg ; (2) Service de neurologie, Hôpital civil, Strasbourg ; (3) Service de génétique médicale, CHU Haute-pierre, Strasbourg ; (4) Service de génétique, CHU de Rouen

La région 22q11.2 est sujette à de multiples réarrangements récurrents causés par des recombinaisons homologues non alléliques entre duplications segmentaires ou LCR (low copy repeats). Parmi ces réarrangements, les microdélétions 22q11.2, à l'origine du syndrome vélocardiofacial, représentent le syndrome microdélétionnel le plus fréquent. Plus récemment, des microduplications de la même région ont été décrites, associées à des troubles cognitifs, à des insuffisances vélopharyngées ainsi qu'à une dysmorphie faciale. La découverte, en période néonatale, d'une microdélétion 22q11.2 chez un enfant présentant une dysmorphie faciale, une hypocalcémie sévère et persistante ainsi qu'une absence de thymus nous a conduit à rechercher un réarrangement de cette région chez ses parents, cliniquement indemnes. Le caryotype sanguin réalisé chez le père de l'enfant a révélé, par hybridation *in situ* avec une sonde de la région 22q11.2 (D2S75), la présence, sur l'ensemble des mitoses analysées, d'une délétion de cette région au niveau de l'un des chromosomes 22 et d'une duplication de la même région au niveau du chromosome 22 homologue. Le conseil génétique est donc particulièrement délicat dans cette famille : les gamètes du père étant toujours déséquilibrés, porteurs soit de la délétion, soit de la duplication de la région 22q11.2, les enfants de ce couple ont un risque de 50 % d'être atteint d'un syndrome vélocardiofacial et un risque de 50 % d'être porteur d'une microduplication de la région 22q11.2. Nous discutons le mécanisme de formation de ce réarrangement. Outre le caractère exceptionnel d'une telle anomalie, cette observation souligne l'importance d'analyser la région 22q11.2 chez les parents des enfants porteurs d'un microremaniement de cette bande chromosomique, y compris en l'absence de tout signe clinique.

Mots-clés : chromosome 22, duplication, délétion.

■P88 / 262. DIAGNOSTIC PRÉNATAL D'UN SYNDROME DE WOLF HIRSCHHORN RÉSULTANT D'UNE TRANSLOCATION T(Y ;4) SURVENUE DE NOVO

A. Receveur, G. Morin, C. Vergne, C. Quibel, J. Gondry, H. Copin
Centre Pluridisciplinaire de Diagnostic Prénatal du CHU d'Amiens, Amiens

Introduction : Les délétions et microdélétions chromosomiques reposent sur des mécanismes variés. Certaines translocations y sont parfois impliquées et leur récurrence dans des familles différentes doit être soulignée car elles peuvent être sous-tendues par des particularités moléculaires. Le cas clinique que nous rapportons se situe dans un contexte de diagnostic prénatal, et correspond à notre connaissance à la deuxième observation d'un syndrome de Wolf-Hirschhorn secondaire à une translocation t(Y ;4). Observation : Une femme nullipare, primigeste, âgée de 22 ans, est adressée en consultation à 25 semaines d'aménorrhée. Son fœtus, de sexe masculin, présente un syndrome polymalformatif associant RCIU, hypertélorisme, microcéphalie, fente labio-alvéolaire bilatérale, pieds bots et malposition rénale gauche. Il s'agit de la première grossesse d'un couple non consanguin, sans antécédent familial particulier. Après information du couple, une ponction de sang fœtal est réalisée avec son accord afin d'explorer le caryotype fœtal. Méthode : Les mitoses obtenues par stimulation des lymphocytes fœtaux par la phytohématagglutinine ont fait l'objet d'une part de techniques conventionnelles et d'autre part d'une analyse moléculaire par hybridation *in situ* avec sondes fluorescentes (FISH). La résolution obtenue en bandes R (RHG) et en bandes G (GTG) a été de l'ordre de 400 bandes par lot haploïde pour les techniques conventionnelles. Deux sondes « locus spécifique » et une sonde peinture du chromosome 4 (WCP4) ont été utilisées pour l'étude moléculaire. L'hybridation avec la sonde WHS/CEP4 est réalisée de principe face à ce type de syndrome polymalformatif. Les hybridations avec les sondes SRY (Yp11.3)/CEP X et WCP4 ont été réalisées du fait du résultat en technique conventionnelle confronté au sexe masculin observé en échographie. Résultats : Les techniques conventionnelles révèlent deux anomalies : d'une part, un remaniement du bras court d'un chromosome 4 avec présence à son extrémité d'un segment chromosomique de petite taille, non identifiable, et d'autre part, une monosomie X. La formule chromosomique est 45,X,add(4)(p15). L'analyse cytogénétique moléculaire met en évidence au niveau du chromosome 4 remanié : une microdélétion 4p16.3 caractéristique d'un syndrome de Wolf-Hirschhorn ainsi que la présence de SRY à l'extrémité de son bras court. Ce dernier résultat explique le sexe masculin malgré la monosomie X et permet d'identifier un fragment de bras court du chromosome Y à l'extrémité du bras court du chromosome 4 remanié. La formule chromosomique est donc : 45,X,ish der(4)t(Y ;4)(p11.3 ;p15.1)(SRY+,WHS-,WCP4+). La demande



d'interruption médicale de grossesse formulée par le couple, à l'issue de la communication du résultat cytogénétique, a été acceptée par le centre. Discussion et Conclusion : Le mécanisme de survenue dans notre cas suppose un déroulement en deux étapes. Initialement une translocation entre les bras courts des chromosomes 4 et Y (t(Y;4)(p11.3;p15), suivie d'une perte du dérivé Y (der(Y)), provenant de la translocation. Ainsi, les chromosomes partenaires incriminés dans la translocation signent une très probable origine paternelle du chromosome 4. Diverses études ont d'ailleurs montré une implication préférentielle du chromosome paternel pour ce syndrome. L'association préférentielle du chromosome 4 paternel, au chromosome Y pourrait être liée à la présence de séquences répétées identiques dans ces deux régions. Enfin, la perte du der(Y) qui n'a pas été retrouvée dans les cellules pourrait être liée à une instabilité du chromosome Y remanié qui a déjà été notée par certains auteurs.

Mots-clés : syndrome de Wolf-Hirschhorn, translocation t(Y;4), caryotype fœtal.

■P89 / 269. DIAGNOSTIC PRÉNATAL DIFFICILE D'UNE RÉCIDIVE DE TRISOMIE 1QTER

B. Duban-Bedu (1), B. Lenne (1), S. Sukno (2), F. Petit (1), J. Andrieux (3), B. Delobel (1)

(1) Centre de génétique chromosomique, Hôpital St Vincent, Lille-GHICL ; (2) Service de neuropédiatrie, Hôpital St Vincent-Lille-GHICL ; (3) Laboratoire de génétique, CHRU de LILLE

Mme W., 31 ans, enceinte, est vue en consultation de génétique car son fils, Léo, âgé de 4 ans et demi a un retard mental non exploré associé à une instabilité. La patiente s'inquiète des risques de récurrence. Mme W. a une fille aînée en bonne santé et a eu deux fausses couches. Il n'y a pas d'antécédent familial particulier. La grossesse a été marquée par des métrorragies du deuxième trimestre et un hydramnios du troisième trimestre. Léo a marché à 2 ans, il a un retard de langage important avec troubles de prononciation et une instabilité majeure rendant la scolarisation difficile. Il est suivi par un CAMSP. Il existe une dysmorphie avec visage triangulaire, grand front, oreilles décollées, philtrum long et effacé. La croissance est normale. En l'absence d'orientation clinique, un caryotype standard et une recherche du syndrome de l'X fragile sont demandés en urgence. Ce caryotype met en évidence des bras courts d'un chromosome 13 d'aspect inhabituel faisant suspecter une anomalie chromosomique. Des analyses complémentaires confirment qu'il ne s'agit pas d'un simple hétéromorphisme, fréquent sur les bras courts des chromosomes acrocentriques (hétérochromatine), mais que ces bras courts sont composés d'euchromatine. Les caryotypes parentaux révèlent chez la mère de Léo le même chromosome 13 associé à une anomalie de l'extrémité distale des bras longs d'un chromosome 1 : elle est porteuse d'une translocation entre les bras longs d'un chromosome 1 et les bras courts d'un chromosome 13 [46,XX,t(1;13)(q43;p11)]. L'anomalie s'est déséquilibrée chez Léo, il est donc porteur d'une trisomie 1qter pure (la monosomie 13p est sans conséquence) [46,XY,der(13)t(1;13)(q43;p11)mat]. Dans un temps très court se pose le problème de l'annonce du diagnostic de l'anomalie chromosomique de Léo, de son caractère hérité et des risques de récurrence, avec proposition d'un diagnostic anténatal. Une amniocentèse est réalisée à 16 SA. Le caryotype fœtal révèle le même déséquilibre chromosomique que celui de Léo. Après plusieurs consultations de génétique et d'obstétrique, M. et Mme W. décident de poursuivre la grossesse notamment en raison de leur vécu avec Léo, leurs convictions personnelles et la variabilité phénotypique abordée lors des consultations. Ils souhaitent néanmoins un suivi échographique régulier à la recherche d'une malformation de pronostic péjoratif susceptible de modifier leur décision quand à une éventuelle interruption de grossesse. Aucun signe d'appel échographique n'est visualisé. Eve naît à 39SA, après un accouchement eutocique, sans malformation ni dysmorphie majeure. Eve a maintenant 3 ans et bénéficie d'un suivi neuropédiatrique. Son évolution est plus favorable que celle de Léo. Il existe des difficultés en psychomotricité fine, mais la marche a été acquise dans des délais normaux. L'acquisition du langage est marquée par des troubles de prononciation. Il n'existe pas, à ce jour, de trouble majeur du comportement. La plupart des caractéristiques du visage décrites chez Léo sont retrouvées à un degré moindre chez Eve. Cette observation soulève les problèmes suivants : Les difficultés d'interprétation des variations, souvent sans conséquence, des bras courts des chromosomes acrocentriques. L'importance d'une bonne visualisation des régions télomériques, fréquemment remaniées dans un contexte de retard mental. Les difficultés pronostiques liées à la variabilité phénotypique d'une même anomalie chromosomique. L'exploration encore trop souvent tardive des retards d'acquisitions. En cas d'anomalie génétique potentiellement transmissible durant une grossesse en cours cela engendre le problème de la gestion pour les familles de l'annonce quasi-simultanée du diagnostic pour leur enfant, pour

eux-même et pour leur fœtus. En cas d'anomalie, ils doivent prendre en urgence la décision d'une éventuelle interruption thérapeutique de grossesse si son indication est recevable médicalement.

Mots-clés : trisomie 1q, translocation réciproque, diagnostic prénatal.

■P90 / 275. APPORT DE LA BIOLOGIE MOLÉCULAIRE À L'ÉTUDE DE LA TRANSMISSION FAMILIALE D'UNE INSERTION INTRACHROMOSOMIQUE DANS LE BRAS LONG DU CHROMOSOME 7 AVEC DUPLICATION DE LA RÉGION CHEZ UN ENFANT

F. Prieur (1), B. De Fremerville (1), V. Adouard (1), A. Taimi (2), R. Touraine (1)

(1) Service de génétique CHU Saint Etienne, Hôpital Nord, 42055 Saint Etienne cedex 2 ; (2) Service Pédiatrie, CHG, 42328 Roanne

Nous rapportons l'observation d'une petite fille de quatre ans et demi, adressée dans le cadre d'un retard des acquisitions. Elle est la troisième de sa fratrie, elle a un demi frère né en 1999 d'une première union de la maman, en bonne santé. Il y a eu ensuite une deuxième union avec, une fausse couche, un autre frère en bonne santé né en 2001, l'enfant atteint puis une grossesse extra-utérine. La maman débute une sixième grossesse lors de la consultation pour le retard. L'enfant atteint est né à 37 semaines d'aménorrhée avec des mensurations dans les normes. Elle a rapidement présenté des difficultés d'alimentation avec régurgitations fréquentes et des bronchiolites. Dès la première année de vie un décalage des acquisitions a été noté avec une marche finalement acquise à 19 mois. Les parents décrivent un comportement très passif. Le langage est apparu dans la troisième année de vie. Elle a 4 ans et demi lors de l'examen, elle bénéficie d'une prise en charge type CAMPS depuis l'âge de 3 ans, avec une scolarisation à temps partiel en moyenne section de maternelle et progresse régulièrement. Elle est capable de faire des phrases mais il y a des troubles de la prononciation. Elle comprend les ordres simples, est assez sociable, mais ne respecte pas toujours les limites. Elle gribouille. Elle mange seule, se déshabille mais ne s'habille pas encore seule. La croissance est régulière avec une taille et un poids à - 0,5 DS, un périmètre crânien à + 0,5 DS. Elle présente une dysmorphie faciale avec un visage triangulaire, des cheveux difficiles à coiffer, un front bombant, une discrète asymétrie du visage, les yeux sont bleus avec un discret épicanthus. L'entaille nasale est marquée, les oreilles en rotation postérieure. La bouche est grande, la lèvre inférieure charnue, le menton proéminent. Elle n'a pas d'anomalie viscérale avérée. L'étude chromosomique objective chez elle un remaniement chromosomique sur les bras longs du chromosome 7 en q21.2. Les investigations complémentaires pratiquées (FISH, étude moléculaire par microsatellites) aboutiront au diagnostic de duplication des bandes q32 et q33, insérées dans la région q21.2. L'étude du caryotype des parents montre qu'il s'agit d'un remaniement déséquilibré d'origine familiale, transmis par la mère, qui présente, elle, une insertion directe de la région q32 q33 dans la bande q21.2, qu'elle a reçu de son père. L'étude familiale réalisée en biologie moléculaire permet de suivre la ségrégation des chromosomes 7 normaux et remaniés sur trois générations. Elle nous indique que l'enfant porteuse du déséquilibre a en fait reçu le chromosome 7 normal de sa mère avec une double recombinaison entre chromosomes homologues, aux bornes de l'insertion maternelle qui conduit à une duplication de cette région chez elle. Ce résultat a permis de proposer au couple un diagnostic prénatal. Il montre que le fœtus a hérité de l'insertion maternelle *a priori* équilibrée. L'étude cytogénétique a été complétée par la FISH et l'étude moléculaire. Cette dernière objective que le fœtus a reçu le chromosome remanié de sa mère sans recombinaison mise en évidence. L'utilisation de ces techniques en parallèle nous a paru renforcer la fiabilité de l'interprétation de ce diagnostic prénatal, dans la mesure où de tels remaniements peuvent conduire à l'apparition de déséquilibres de nature et de taille variables dans la descendance. Une étude complémentaire par CGH array est prévue. Celle-ci permettra de définir plus précisément le déséquilibre chez l'enfant atteint et de rechercher une éventuelle délétion associée.

Mots-clés : insertion intrachromosomique, duplication, chromosome 7.

■P91 / 287. A FORGOTTEN BOTTLENECK FROM THE BEGINNING OF HUMAN LIFE: (CHANGING OUR VIEW AND OPENING A NEW ERA IN CYTOGENETIC STUDIES TO PREVENT CONGENITAL AND SPORADIC GENETIC DISEASES)

S. K. Bidoki (1), S. Serri (1), F. Kakavand (1), P. Fereidouni (2), R. Bayat (2)

(1) Medical Science Department, University of Payame Nour, Fallahpour Avenue, Nejatollahi Street, Tehran, Iran ; (2) Dr bidoki Medical Genetics Centre, No 204, Yas Building, Hafte Tir Square, Karaj, Iran

Most genetic diseases in human are the result of abnormal genetic structure of the cells. Mutagenic factors could produce various types of the defects and damages. These somatic defects could be present in various numbers of the cells in the body. There is a bottle-neck for the nuclear genetic material to pass through at the time of conception, as for the mtDNA. At this time, there would be only one gamete from each parent which could pass genetic component to the next generation. At this stage each gamete on its own could have an important role to make a healthy or abnormal human body depending on their genetic structure. Gametes harbouring scattered chromosomal defects could pass damaged DNA molecules to the next generation and this would end in possible problems before, during and after birth. In this study we investigated 2000 related and un-related couples attending to the medical genetic centre for genetic analysis before their marriage and pregnancy. High resolution chromosome analysis was carried out using thymidine blocked synchronization cultures, GTG and solid staining. Presence or absence of any unanimous or scattered chromosomal structural changes was studied using this technique. Sixty two percent of the couples were carrying scattered chromosomal structural changes with different intensities. Most of these damages within the cells were seen as chromosomal interchanges, breakages, gaps, secondary constrictions, small deletions, acentric fragments, etc. We tried to monitor these scattered chromosomal defects during a three to four years period for each individual. We have found that if the conception happens when these scattered defects are less the chance to have a healthier baby is far more than when different scattered chromosomal structural changes exist. This could prevent passing the genetic abnormalities through the bottle-neck and could lower the risk of abnormal conception, abortion, problems in fetus growth, and disorders of the human body. This finding also indicates that we should not have look at a single karyotype as a representation for whole body during the lifetime. In this way each cell should have a unique karyotype at one moment and this could changes as time passes like a floating process.

Mots-clés : bottleneck, scattered chromosomal structural defects, floating karyotype.

■P92 / 294. INTÉRÊT DE LA CGH ARRAY DANS L'ÉTUDE DES PATIENTS PRÉSENTANT UN SYNDROME CHARGE SANS MUTATION DU GÈNE *CHD7*

D. Sanlaville (1, 2), JP Kerckaert (3), J. Andrieux (4), G. Goudefroye (1), S. Thomas (1), V. Abadie (5), A. Munnich (1), M. Vekemans (1), S. Lyonnet (1), T. Attié-Bitach (1)

(1) Département de Génétique et Unité INSERM U-781, Hôpital Necker-Enfants Malades, AP-HP 75015 Paris ; (2) Service de Cytogénétique constitutionnelle, Centre de Biologie et de Pathologie Est, Lyon ; (3) Plateforme de Génomique, Université de Lille 2, IMPRT, IRCL ; (4) Laboratoire de Génétique Médicale, Hôpital Jeanne de Flandre, CHRU de Lille ; (5) Service de Pédiatrie Générale, Hôpital Necker-Enfants Malades, AP-HP, 75015 Paris

La dénomination CHARGE désigne une association malformative complexe décrite par Hall (1979) et dont l'acronyme anglais proposé par Pagon (1981) signifie : C, colobome ; H, cardiopathie ; A, atresie des choanes ; R, retard statuel et de développement ; G, hypoplasie génitale ; E, anomalies des oreilles et déficit auditif. Sa fréquence est estimée à 1/10.000 naissances et la très grande majorité des cas est sporadique. En 2004, par une approche de CGH array, Vissers *et al.* ont mis en évidence une délétion cryptique en 8q12 chez deux patients CHARGE qui a permis d'identifier le gène *CHD7* dont des mutations hétérozygotes ont été trouvées chez une majorité des patients. Depuis, plusieurs études ont confirmé l'implication de ce gène dans le syndrome CHARGE en trouvant des mutations chez 60 % des patients, pour la très grande majorité tronquantes. Dans 40 % des cas cependant, aucune anomalie dans la séquence codante du gène *CHD7* n'est mise en évidence chez des patients présentant pourtant des critères diagnostiques convaincants. Or, plusieurs études ont montré que des déséquilibres chromosomiques pouvaient mimer un syndrome CHARGE. De plus, récemment, Udaoka *et al.* ont rapporté le cas d'un patient avec une délétion des exons 8 à 12 du gène *CHD7*. Afin de tester ces deux hypothèses, délétions exoniques au locus *CHD7* ou autres déséquilibres chromosomiques nous avons étudié en CGH array 10 patients répondant aux critères diagnostiques du syndrome CHARGE pour lesquels aucune anomalie de la séquence codante n'a été trouvée par séquençage direct des 37 exons codants. Nous avons utilisé une puce Agilent 44k modifiée afin qu'au minimum deux oligonucléotides couvrent chacun des exons du gène *CHD7*. Nous avons mis au point 160 oligonucléotides 60 mers et en avons ajouté 862 de la série Agilent dont 20 % (205) se situent dans les séquences exoniques et 80 % dans les introns du gène *CHD7* (817). Cette puce couvre par ailleurs la totalité du génome (résolution de

200 kb) avec maillage très dense pour le gène *CHD7* (une sonde tous les 200 pb en moyenne). Nous avons testé cette puce en caractérisant la taille d'une anomalie chromosomique préalablement identifiée chez un patient CHARGE présentant un der(9)t(9;13) dérivant d'une translocation paternelle. Cette puce a permis de borner la délétion 9pter et la trisomie 13qter : délétion 9p24.3p22.3 de 14 Mb et duplication 13q33.2q34 de 9 Mb. Sur les 10 patients étudiés, nous avons trouvé deux anomalies : une délétion d'environ 1 Mb en 8q12 comprenant les gènes *CHD7*, *RAB2A* et *CA8*, et, chez l'autre patient, une délétion 10pter de 5Mb associée à une trisomie 19qter de 5Mb. Nous discutons : 1) l'intérêt et les indications de l'utilisation de la technique de CGH array dans l'exploration moléculaire des syndromes CHARGE en raison des déséquilibres génomiques cryptiques mimant le syndrome CHARGE ; 2) le phénotype du patient présentant la monosomie 10p associée à la trisomie 19q vis-à-vis du syndrome CHARGE, un autre cas de trisomie 19qter ayant été publié en 1999 ; 3) la nécessité de rechercher une délétion complète du locus *CHD7* éventuellement par une autre technique (FISH, MLPA, QMPSF) ; 4) la rareté des délétions exoniques du gène *CHD7*.

Mots-clés : syndrome CHARGE, gène *CHD7*, array CGH.

■P93 / 298. TRISOMIE 3P ET MONOSOMIE 5P CHEZ UN FŒTUS À PHÉNOTYPE ÉVOQUANT UN SYNDROME DE LARSEN

C. Goumy (1), L. Gouas (1), A-M. Beaufrère (2), L. Veronèse (1), T. Roucaute (1), F. Gaspard (3), A. Tchirkov (1), D. Lemery (4), P. Déchelotte (2), P. Vago (1)

(1) Univ Clermont 1, Fac de Médecine, Histologie Embryologie Cytogénétique, Clermont-Ferrand, F-63001 ; (1) CHU Clermont-Ferrand, Cytogénétique Médicale, Clermont-Ferrand, F-63003 ; (2) CHU Clermont-Ferrand, Anatomie Pathologique, Clermont-Ferrand, F-63003 ; (3) CHU Clermont-Ferrand, Imagerie Médicale, Clermont-Ferrand, F-63003 ; (4) CHU Clermont-Ferrand, Gynécologie Obstétrique, Clermont-Ferrand, F-63003

Introduction : Le syndrome de Larsen (LS) est caractérisé par la luxation congénitale de nombreuses articulations et une dysmorphie faciale. Il existe une grande variabilité clinique et des cas familiaux ont été décrits avec une transmission autosomique dominante (OMIM 150250) ou récessive (OMIM 245600). Récemment, des mutations dans le gène *FLNB* localisé en 3p14.3 ont été rapportées dans des cas de LS (1, 2). Nous rapportons ici le cas d'un fœtus présentant les caractéristiques cliniques et radiologiques du LS et porteur du dérivé 5 d'une translocation (3;5)(p21;p13) à l'origine d'une trisomie partielle 3p et d'une monosomie partielle 5p. **Méthode et Résultats :** L'anomalie chromosomique, invisible au caryotype standard malgré sa taille, a été mise en évidence par CGH (hybridation génomique comparative) sur métaphases et a été confirmée par FISH à l'aide des sondes de peinture des chromosomes 3 et 5. Par FISH (fluorescence *in situ* par hybridation), avec des sondes subtelomériques des chromosomes 3 et 5, la translocation (3;5) a été mise en évidence chez la mère. Le gène *FLNB* étant localisé à proximité du point de cassure de la translocation en 3p, nous avons exploré par FISH, à l'aide d'une sonde maison (BAC RP11-754F19), la région de *FLNB*. Cette FISH montre la présence de 2 spots dans toutes les métaphases analysées. **Discussion :** La présence en seulement deux exemplaires de *FLNB* permet d'exclure l'hypothèse d'un effet de surdosage génique pour expliquer les anomalies squelettiques du fœtus. Seulement trois cas de LS associés à des anomalies chromosomiques déséquilibrées (trisomie 1q/10q et monosomie 6p) ont été décrits (3,4). À notre connaissance, il s'agit du premier cas décrit de LS associé à un déséquilibre impliquant les bras courts des chromosomes 3 et 5.

Références

1. Zhang D *et al.* *J Med Genet* 2006 ; 43 (5).
2. Bicknell LS *et al.* *J Med Genet* 2007 ; 44 (2).
3. Pierquin G *et al.* *Hum Genet* 1991 ; 87 (5).
4. James PA *et al.* *Am J Med Genet A* 2003 ; 119 (3).

Mots-clés : trisomie 3p/monosomie 5p, Larsen syndrome, CGH.

■P94 / 306. DÉLÉTION TERMINALE CRYPTIQUE FAMILIALE DU BRAS LONG D'UN CHROMOSOME 4

S. Bourthoumieu (1), C. Yardin (1), A. Bedu (2), V. Abadie (3), J. Languepin (2), F. Terro (1), F. Esclaire (1)

(1) Service de Cytogénétique, Hôpital de la Mère et de l'Enfant, CHU Limoges ; (2) Service de Pédiatrie, Hôpital de la Mère et de l'Enfant, CHU Limoges ; (3) Service de Pédiatrie, Hôpital Necker, CHU Paris

Nous rapportons le cas d'un nouveau-né présentant de nombreuses anomalies : un retard de croissance inférieur au 3^e percentile, un syndrome dysmorphique (oreilles basses, micrognathisme), une cryptorchidie



bilatérale, un macropénis et des troubles importants de la succion et de la déglutition. Devant ce tableau clinique, un caryotype et une recherche des remaniements sub-télomériques par FISH (TotalVision®, Vysis) sont réalisés. Une délétion sub-télomérique cryptique du bras long d'un chromosome 4 est retrouvée. Des investigations familiales sont réalisées par cytogénétique moléculaire (étude des régions sub-télomériques 4qter par FISH, sondes Vysis et Q-biogene) et permettent de retrouver cette délétion sub-télomérique 4qter chez la mère et le grand père maternel. L'étude des points de cassure de cette délétion par cytogénétique moléculaire à l'aide de BACs (Chromosomes Artificiels de Bactéries) a montré les mêmes résultats chez les trois patients avec un point de cassure en 4q35.2 : délétion correspondant au BAC RP11-818C3 et marquage normal pour les BACs RP11-629I23 et RP11-597P9. Cette délétion terminale 4qter familiale semble donc avoir une expression phénotypique variable. Cependant, au cours des consultations post-natales, il a été noté un alcoolisme chronique chez la mère. Un syndrome d'alcoolisation fœtale pourrait donc être responsable du tableau clinique décrit chez l'enfant âgé de 19 mois : dysmorphie faciale avec visage allongé, oreilles basculées, philtrum long et plat, retard de croissance (-2 DS) et difficultés alimentaires. De rares cas de délétion sub-télomérique 4qter ont été décrits dans la littérature. Ces délétions sont généralement associées à des retards mentaux (Pickards BS, 2004). Récemment, Balikova *et al.* ont rapporté 18 cas de délétions sub-télomériques hérités de parents phénotypiquement normaux et un des cas concernait la région télomérique 4q. Plusieurs hypothèses peuvent être évoquées pour expliquer le cas présenté : polymorphisme avec syndrome d'alcoolisation fœtale, phénomène d'empreinte parentale ou phénomène épigénétique. Nous discuterons ces différentes hypothèses.

Mots-clés : délétion 4qter, anomalie familiale, cytogénétique moléculaire.

■P95 / 309. CARACTERISATION CYTOGÉNÉTIQUE D'UN DÉRIVÉ DU CHROMOSOME Y CHEZ UN ENFANT PRÉSENTANT UN RETARD MENTAL

S. Bourthoumieu (1), F. Esclaire (1), C. Laroche (2), F. Terro (1), Clotilde Thuillier (2), C. Yardin (1)

(1) Service de Cytogénétique, Hôpital de la Mère et de l'Enfant, CHU Limoges ; (2) Service de Pédiatrie, Hôpital de la Mère et de l'Enfant, CHU de Limoges, France

Un caryotype standard en bande R est réalisé chez un jeune garçon de 7 ans devant un retard mental modéré et une hyperactivité. Le caryotype révèle la présence d'un dérivé du chromosome Y de façon homogène. Les caryotypes parentaux sont normaux. Afin de caractériser ce remaniement chromosomique, des investigations complémentaires par cytogénétique moléculaire (FISH) sont réalisées à l'aide des sondes sub-télomériques Ypter/Xpter et Yqter/Xqter et des sondes marquant les satellites de l'Y (centromère et hétérochromatine de l'Y). Les résultats de la FISH montrent une délétion des bras longs du chromosome Y (délétion de l'hétérochromatine et de la région télomérique Yqter) et une duplication de la région télomérique Ypter. Ces premiers résultats semblent donc en faveur d'un isochromosome Yp. Cependant, cette anomalie chromosomique n'est généralement pas accompagnée d'un tel retard mental. Devant cette discordance génotype-phénotype, nous suspectons un dérivé du chromosome Y par déséquilibre d'une translocation (X;Y)(q22.3;q11.2). De nouvelles études complémentaires par cytogénétique moléculaire à l'aide de sondes commerciales et de BACs (Chromosomes Artificiels de Bactéries) sont réalisées et ont montré les résultats suivants : - un bras Yp normal avec la région pseudo-autosomale (télomère Xpter/Ypter, le gène *SHOX* et le BAC RP11-155F12) et le gène *SRY*. - un bras Yq remanié comportant une région spécifique du chromosome X (BAC RP11-131H1 en Xq22.3 et hybridation des sondes de peinture du chromosome X) et la région pseudo-autosomale (télomère Xpter/Ypter, le gène *SHOX* et le BAC RP11-155F12). Ces derniers résultats confirment l'hypothèse d'un dérivé du chromosome Y par translocation (X;Y) et permettent d'établir la formule chromosomique suivante : ish der(Y)t(X;Y)(Ypter->Yq11 :Xp22.3->Xpter). Ce réarrangement chromosomique est donc survenu *de novo* au cours d'une méiose paternelle. Il est à l'origine d'une trisomie de la région pseudo-autosomale, d'une disomie partielle des bras courts du chromosome X (Xp22) et d'une monosomie partielle des bras longs du chromosome Y (Yq11->Yqter). Ces dérivés du chromosome Y par translocation (X;Y) ont déjà été rapportés dans la littérature. Ils sont généralement accompagnés d'un retard mental et d'anomalies génitales. Ce cas suggère la prudence en présence d'un dérivé du chromosome Y avec une duplication de la région télomérique Ypter. En effet, cette duplication peut avoir deux origines : isochromosome Yp ou translocation (X;Y)(p22.3;q11). Ces deux anomalies présentent des pronostics différents.

Mots-clés : dérivé de l'Y, retard mental, cytogénétique moléculaire.

■P96 / 310. VERS L'IDENTIFICATION DES MÉCANISMES À L'ORIGINE DES ANEUPLOÏDIES SPERMATIQUES CHEZ LES PATIENTS KLINEFELTER

F. Vialard (1), J.C. Pont (1), V. Mendes (1), M. Albert (1, 3), D. Molina Gomes (1), M. Bailly (2), R. Wainer (2), M. Bergere (1, 3), I. Hammoud (1, 3), J. Selval (3)

(1) Laboratoire d'Histologie, Embryologie, Biologie de la reproduction, Cytogénétique et Génétique médicale ; (2) Service de Gynécologie Obstétrique Hôpital de Poissy St Germain, 78303 Poissy Cedex ; (3) EA 2493, UVSQ, Saint Quentin en Yvelines, France

Introduction : Le syndrome de Klinefelter (47,XXY) est la principale étiologie connue des azoospermies sécrétoires. La biopsie testiculaire permet dans certains cas de retrouver quelques spermatozoïdes. Néanmoins, ces spermatozoïdes présentent une augmentation du taux d'aneuploïdie par rapport à des sujets témoins à sperme normal selon les critères de l'OMS. Cette augmentation des anomalies gamétiques, également retrouvée chez des sujets à caryotype normal mais atteints d'azoospermie sécrétoire, pourrait être due soit à l'entrée en méiose de spermatogonies 47,XXY, soit à une augmentation des anomalies méiotiques, éventuellement liée à un micro-environnement testiculaire délétère et commun avec d'autres étiologies non chromosomiques d'altération de la spermatogenèse. Afin de répondre à cette question, nous avons voulu comparer les anomalies méiotiques chez 2 groupes de patients avec une altération sévère de la spermatogenèse mais présentant des spermatozoïdes à la biopsie testiculaire : des patients Klinefelter et des patients présentant une azoospermie sécrétoire à caryotype normal, et 2 groupes de patients à spermatogenèse normale, des patients présentant une azoospermie excrétoire d'origine infectieuse, et des patients témoins à sperme normal. Patients et méthodes : 4 groupes de patients ont été étudiés : Groupe 1 : 10 patients Klinefelter (9 patients azoospermes et 1 patient ayant une oligospermie sévère et un syndrome de Klinefelter en mosaïque avec 5 % de cellules normales 46,XY) ; Groupe 2 : 10 patients présentant une azoospermie sécrétoire (confirmée par l'examen anatomopathologique) et un caryotype normal ; Groupe 3 : 5 patients présentant une azoospermie excrétoire d'origine infectieuse ; Groupe 4 : 11 patients témoins ayant des caractéristiques spermatiques normales selon les critères de l'OMS et ayant obtenu une grossesse en FIV réalisée pour indication tubaire ou don d'ovocytes. Une étude en FISH a été effectuée sur cellules testiculaires (pachytènes et cellules post méiotiques) ou sperme entier (groupe 4), avec 3 sondes (centromères des chromosomes X, Y et 18 ; Abbott®). Résultats : Les taux d'aneuploïdie spermatique (X, Y et 18) étaient plus élevés ($p < 0.0001$) dans les groupes 1 et 2 (pas de différence entre ces 2 groupes), à spermatogenèse altérée : respectivement 3.9 % ($n = 1968$) et 4.2 % ($n = 1477$), que dans les groupes 3 et 4 (pas de différence entre ces 2 groupes) à spermatogenèse normale : respectivement 0.7 % ($n = 5106$) et 0.6 % ($n = 11178$). La fréquence des anomalies des chromosomes X et Y était plus élevée ($p < 0.0001$) dans les groupes 1 et 2 (respectivement 2.59 % et 2.10 %) que dans les groupes 3 et 4 (respectivement 0.69 % et 0.49 %). Il en est de même pour les anomalies du chromosome 18 avec respectivement dans les 4 groupes des taux de 1.02 %, 1.42 %, 0.08 % et 0.10 %. Aucun pachytène aneuploïde n'a été observé chez aucun patient, et les taux de non appariements (X et Y) étaient plus élevés dans les groupes 1 et 2 (respectivement de 16.9 % ($n = 174$) et 13.2 % ($n = 295$)) versus 3.3 % ($n = 870$) pour le groupe 3. Conclusion : Dans cette étude, les spermatozoïdes trouvés chez les patients Klinefelter ont été obtenus à partir de pachytènes chromosomiquement normaux et dans des proportions identiques à celles d'un groupe de patients azoospermes à caryotype normal. L'augmentation du nombre de spermatozoïdes aneuploïdes observée est donc probablement la conséquence d'une anomalie méiotique des gonies initialement normales. Ces accidents peuvent être liés à un environnement testiculaire délétère commun à celui des patients ayant une azoospermie sécrétoire et un caryotype normal. Ce risque pourrait impliquer non seulement la paire XY mais aussi les autosomes. Cette hypothèse est renforcée par le fait qu'en cas d'azoospermie excrétoire inflammatoire ou infectieuse, il n'y a pas d'augmentation du taux d'aneuploïdie par rapport à des patients témoins à sperme normal, ni du taux de non appariement des chromosomes X et Y.

Mots-clés : Klinefelter, Aneuploïdie spermatique, biopsie testiculaire.

■P97 / 312. PRÉVALENCE DES ANOMALIES CHROMOSOMIQUES DANS LE RETARD MENTAL NON SYNDROMIQUE

I. Ben Abdallah, H. Elghezal, S. Mougou, A. Saad
Service de cytogénétique et de biologie de la reproduction. Hôpital universitaire farhat hached, Sousse, Tunisie

Introduction : Les anomalies chromosomiques représentent l'une des causes majeures du retard mental. En dehors du retard mental syndromique (trisomie 21, syndrome de Wolf-Hirschhorn, syndromes microdélétionnels...),

des anomalies chromosomiques non récurrentes peuvent être retrouvées dans toutes les formes du retard mental. Nous rapportons dans ce travail les résultats des caryotypes d'une large série de 1420 patients atteints de retard mental non syndromique afin de déterminer la prévalence des anomalies chromosomiques en fonction des différentes associations cliniques. Patients et méthodes Il s'agit de 1420 patients âgés au moment du diagnostic entre 3 et 18 ans (âge moyen 8 ans) adressés au service de cytogénétique et de biologie de la reproduction de Sousse (Tunisie) pour étude de caryotype. Le caryotype est réalisé sur une culture de sang périphérique. Le marquage est réalisé en bandes R avec une résolution variable de 400 à 800 bandes. Résultats et discussion : 112 anomalies chromosomiques sont retrouvées (7.89 %). La répartition des anomalies chromosomiques en fonction du degré du retard mental montre la présence de 44 anomalies chez 316 enfants atteints de retard mental profond (13.92 %), 29 anomalies chez 354 enfants atteints de retard mental moyen (8.19 %) et 16 anomalies chez 452 enfants atteints de retard mental léger (3.54 %). 23 anomalies sont retrouvées chez 298 enfants atteints de retard mental non évalué (7.72 %). La répartition en fonction des atteintes associées montre la présence de 21 anomalies chez 509 enfants atteints de retard mental isolé (4.13 %), 54 anomalies chez 562 enfants atteints de retard mental avec dysmorphie faciale évidente (9.61 %), 11 anomalies chez 112 enfants atteints de retard mental avec une ou plusieurs malformations associées (9.82 %) et 26 anomalies chez 237 enfants atteints de retard mental associé à une dysmorphie faciale évidente et une ou plusieurs malformations (10.97 %). Par ailleurs, nous avons retrouvé 51 anomalies chez 394 enfants épileptiques (12.94 %) contre 61 anomalies chez 1 026 enfants non épileptiques (5.95 %). Conclusion : les anomalies chromosomiques sont fréquentes dans toutes les formes du retard mental. Leur prévalence augmente en cas d'association avec une dysmorphie faciale et/ou des malformations. En plus, la présence d'une épilepsie est très évocatrice de la présence d'une anomalie chromosomique. Par contre aucune anomalie chromosomique n'est retrouvée chez les 154 enfants atteints de retard mental léger et isolé.

Mots-clés : retard mental, anomalie chromosomique, épilepsie.

■P98 / 323. ÉVALUATION DE LA SENSIBILITÉ ET DE LA SPÉCIFICITÉ DES AGENTS ALKYLANTS UTILISÉS DANS LE DIAGNOSTIC CYTOGÉNÉTIQUE DE L'ANÉMIE DE FANCONI

S. Bouraoui, H. Elghezal, A. Saâd

Service de cytogénétique et de biologie de la reproduction. Hôpital universitaire farhat hached. Sousse, Tunisie

Introduction : L'anémie de Fanconi est une maladie autosomique récessive, caractérisée par une hétérogénéité phénotypique qui inclut une insuffisance médullaire, un syndrome malformatif variable et une prédisposition à développer des cancers. Le diagnostic cytogénétique de l'anémie de Fanconi repose sur la mise en évidence d'une instabilité chromosomique qui se manifeste par la présence de cassures chromosomiques et d'images radiales. En fonction des laboratoires de diagnostic, de nombreux agents alkylants sont utilisés pour évaluer le degré de l'instabilité chromosomique et aucun consensus n'est établi pour le diagnostic cytogénétique de cette maladie. Le but de cette étude est d'évaluer la sensibilité et la spécificité de trois conditions de culture cellulaires différentes quant au diagnostic cytogénétique de l'instabilité chromosomique associée à l'anémie de Fanconi. Patients et méthodes : Les prélèvements de sang périphérique de 10 patients atteints de maladie de Fanconi, de 10 contrôles hétérozygotes pour la maladie et 10 témoins sont étudiés. Quatre cultures des lymphocytes périphériques sont réalisées pour chaque prélèvement. Il s'agit d'une culture sans agent alkylant, une culture avec de la mitomycine C à 25 ng/ml, une culture avec de la mitomycine C à 40 ng/ml et une culture avec du diépoxybutane à 0.1 µg/ml. 100 mitoses sont analysées après chaque culture cellulaire. Résultats et discussion : Les résultats obtenus montrent que la culture sous mitomycine C est la plus sensible à la détection d'un syndrome d'instabilité chromosomique avec la présence de cassures chromosomiques dans plus de 75 % des mitoses chez tous les patients atteints de la maladie de Fanconi. Cependant, la spécificité de cette technique est moindre car nous avons détecté 25 % de cassures chromosomiques chez deux sujets parmi les 10 contrôles. La culture sous diépoxybutane paraît la plus spécifique car tous les contrôles présentent moins de 10 % de cassures chromosomiques. La sensibilité est par contre moindre car les patients possèdent un pourcentage de cassures allant de 20 à 100 %. La culture sous mitomycine C à 40 ng/ml paraît moins sensible et moins spécifique alors que la culture sans agents alkylants ne permet pas de différencier entre les maladies, les hétérozygotes et les témoins. Conclusion : Nous suggérons que l'utilisation systématique de deux cultures avec la mitomycine C à 25 ng/ml et le diépoxybutane permet d'améliorer la qualité du diagnostic cytogénétique de l'anémie de Fanconi.

Mots-clés : anémie de Fanconi, mitomycine C, diépoxybutane.

■P99 / 333. UNE INVERSION PÉRICENTRIQUE D'UN CHROMOSOME X À TRANSMISSION FAMILIALE POSE PROBLÈME POUR LE CONSEIL GÉNÉTIQUE

A.M. Francès (1), O. Dupuy (1), K. Guérin (1), F. Cartault (1), P. Collignon (1)

(1) Service de Génétique Médicale CHI de Toulon-La Seyne sur Mer ; (2) Service de Génétique CHD de Saint-Denis de la Réunion, France

Peu de publications font état d'une délétion terminale du bras court de l'X chez un sujet de sexe masculin qui sont à l'origine d'anomalies diverses et potentiellement létales. L'impact de ce type d'anomalie chez un sujet de sexe féminin dépend à priori du profil d'inactivation de l'X dormant mais les choses ne sont pas si simples et le conseil génétique peut s'avérer difficile dans certaines situations de grossesse à risque. Nous rapportons l'observation d'une patiente de 35 ans référée à notre consultation dans le contexte d'une grossesse en cours de 23 semaines d'aménorrhée. L'échographie morphologique fœtale révélait une malformation cardiaque à type de ventricule unique associé à une communication interauriculaire. Le caryotype fœtal de sexe masculin mettait en évidence une délétion terminale du bras court du chromosome X avec un point de cassure en Xp22. Le caractère non curable des anomalies justifia une demande d'interruption médicale de grossesse mais la réalisation d'un examen fœtopathologique fut refusée par la consultante. L'enquête familiale mit en évidence chez celle-ci une inversion péricentrique d'un chromosome X avec des points de cassure situés en Xp22.1 et Xq27. L'étude du profil d'inactivation par incorporation de BrdU révélait un biais avec une inactivation préférentielle de l'X normal dans 90 % des mitoses étudiées. Le même remaniement cytogénétique était objectivé chez la mère de notre consultante avec un profil d'inactivation opposé portant sur l'X inversé dans 100 % des mitoses étudiées. Le recours aux techniques de cytogénétique moléculaire mettait en évidence des résultats comparables pour les deux dossiers avec les marqueurs suivants : sondes télomériques Xp et Xq, peinture spécifique des bras longs et des bras courts, peinture spécifique des bandes Xq26-q28. Aucune de ces deux personnes ne présentait de pathologie avérée et l'enquête généalogique n'apportait aucun élément complémentaire. Ces résultats nous permettaient d'établir un conseil génétique pour une future grossesse sur les bases suivantes. La transmission de l'X inversé chez un fœtus de sexe féminin ou masculin ne devrait pas poser de problème compte tenu de l'absence d'expression phénotypique chez notre consultante malgré un profil d'inactivation « atypique ». La mise en évidence d'une aneuploïdie de recombinaison avec duplication déficience serait d'un mauvais pronostic pour un fœtus de sexe masculin comme l'illustre notre observation. Par contre le conseil génétique serait dans l'impasse pour un fœtus de sexe féminin compte tenu d'une inactivation aléatoire. Dans cette dernière hypothèse le recours à l'imagerie fœtale par échographie et IRM pourrait être déterminante. Néanmoins certaines anomalies ne seraient pas accessibles aux techniques de diagnostic anténatal comme en témoigne la publication récente d'une mère asymptomatique et de sa fille porteuse d'un syndrome MLS (microphthalmia linear skin defect) en rapport avec une délétion Xp22.2-pter. Dans les deux cas l'inactivation portait préférentiellement sur l'X délété. La seule différence concernait l'existence d'une mosaïque cytogénétique chez la mère avec 11 % de cellules monosomiques pour l'X normal. Les auteurs mettent en cause cette mosaïque dans l'absence de symptomatologie chez celle-ci. Notre dossier pourrait faire l'objet d'études complémentaires par des équipes impliquées dans la recherche sur le phénomène d'inactivation de l'X. REF : Wimplinger I *et al.*, Mother and daughter with a terminal Xp deletion : implication of chromosomal mosaicism and inactivation in the high clinical variability of the microphthalmia with linear skin defects (MLS) syndrome, Eur J Med Genet. (2007), doi :10.1016/j.ejmg.2007.07.004

Mots-clés : inversion péricentrique de l'X, conseil génétique, inactivation de l'X.

■P100 / 354. ANOMALIES DE STRUCTURE DU CHROMOSOME Y EN MOSAÏQUE ET SYNDROME DE TURNER. À PROPOS D'UN CAS

H. Karmous-Benailly (1), J.C. Mas (2), C. Aimé (1), J.C. Lambert (1)

(1) Service de génétique médicale, CHU Nice ; (2) Service de Pédiatrie, CHU de Nice, France

La fréquence du syndrome de Turner est, à la naissance, de un pour 2 500 filles. Un caryotype 45,X homogène est retrouvé chez environ 50 % des patientes. Les mosaïques sans anomalie de structure représentent 15 % des cas, la plus fréquente étant la mosaïque 45,X/46,XX. Des anomalies de structure de l'X sont retrouvées chez 30 % des patientes. Enfin, la présence d'un chromosome Y normal ou remanié n'est rapporté que dans 5 % des cas, avec de plus, un risque accru de développer un gonadoblastome. Par ailleurs le matériel chromosomique Y peut être présent sous la forme de



tout petits marqueurs qui peuvent être omis lors de l'établissement du caryotype. L'utilisation de la FISH avec des sondes des chromosomes X et Y peut alors s'avérer contributive. Nous rapportons le cas d'une patiente de 8 ans et 10 mois présentant un retard de croissance isolé. Le caryotype a révélé, dans un premier temps, une monosomie X homogène. Une étude complémentaire par FISH avec les sondes CEPX/ SRY a permis d'identifier la présence de différentes populations cellulaires comportant du matériel Y. L'utilisation des sondes télomériques TEL XYp et TEL XYq a permis de caractériser ce matériel Y comme étant des anneaux du chromosome Y. Dans le sang, 10 % des cellules avaient une monosomie X, 90 % des cellules étaient positives pour SRY avec 81 % comportant un tout petit anneau positif pour SRY, 8 % avaient 1 anneau avec 2 loci de SRY et 1 % deux anneaux. Une gonadectomie a été réalisée chez la fillette à l'âge de 11 ans. L'étude histologique des gonades a mis en évidence des « streak gonads ». Nous avons pu étudier la répartition de ces différentes populations cellulaires dans d'autres tissus (gonade, peau, frottis jugal) par FISH avec la sonde CEPX/SRY. Dans les gonades, un peu moins de la moitié des cellules étaient positives pour SRY alors qu'elles l'étaient pour environ 90 % dans le sang, la peau et les cellules jugales. Ainsi, la lignée 45,X était présente dans une plus grande proportion de cellules (52 %) dans les gonades que dans les autres tissus étudiés. Au total, il s'agit d'une fillette présentant une monosomie X (45,X) en mosaïque par perte post zygotique des anneaux (r(y)), très instables. Généralement, les anomalies de structure du chromosome Y sont associées à des phénotypes très divers tel qu'un phénotype masculin normal, une ambiguïté sexuelle ou un syndrome de Turner. Dans notre cas, la patiente présente peu de signes du syndrome de Turner hormis la petite taille et l'aspect histologique des gonades, et aucun signe de virilisation malgré la présence de SRY. Ceci peut être expliqué par le fait que SRY était inactif pendant l'embryogenèse et ce, par un effet position secondaire à cette anomalie de structure.

Mots-clés : syndrome de Turner, anomalies de structure du chromosome Y, r(y) en mosaïque.

■P101 / 379. LES APLASIES MÉDULLAIRES : ANALYSE D'UNE SÉRIE DE 104 PATIENTS TUNISIENS

F. Talmoudi (1, 2), A. Amouri (1, 2), S. Abdelhak (2) et le groupe Tunisien d'étude de l'Anémie de Fanconi

(1) *Laboratoire de Cytogénétique, Institut Pasteur de Tunis ; (2) Unité de recherche EMMGOOD : Exploration moléculaire des maladies orphelines d'Origine Génétique, Institut Pasteur de Tunis, Tunisie*

L'aplasie médullaire (AM) est un déficit de production des cellules sanguines responsable d'anémie arégénérative. Les insuffisances médullaires peuvent être d'origine constitutionnelle ou acquise. Il est essentiel de reconnaître précocement les formes liées à une anémie de Fanconi (cause constitutionnelle la plus fréquente) afin d'adapter la prise en charge. Dans le but d'analyser les particularités cliniques, hématologiques et cytogénétiques de l'AM, nous avons testé une série de 104 cas porteurs d'une aplasie médullaire dont l'âge varie de 4 mois à 44 ans, colligés entre 2002 et 2007. Les patients ont été évalués selon une grille clinique et des tests de sensibilité chromosomique à la Mitomycine C (MMC) et/ou au DEB. Les patients ont pu être classés en 3 groupes d'après leur sensibilité à la MMC. 1) Une AM idiopathique 2) Aplasie probablement constitutionnelle (histoire familiale et ou signe congénitaux) 3) Anémie de Fanconi. Un caryotype médullaire a été effectué chez 45 de ces patients. Une anomalie clonale a été décelée chez 5 d'entre eux. En conclusion, le diagnostic des AM repose sur la conjonction de plusieurs données cliniques, hématologiques et cytogénétiques. Devant une insuffisance médullaire, la recherche d'un excès de cassures chromosomiques en culture avec la MMC devrait être systématique, pour exclure une AF favorisant ainsi une meilleure adaptation de la prise en charge.

Mots-clés : aplasie médullaire, anémie de Fanconi, instabilité chromosomique.

■P102 / 381. MOSAÏCISME FIBROBLASTIQUE POUR UNE TRANSLOCATION DÉSÉQUILIBRÉE : À PROPOS DE DEUX CAS

G. Joly-Helas (1, 2), V. Drouin-Garraud (2), A. Goldenberg (2), P. Saugier-Verber (2), C. de La Rochebrochard (1), P. Chambon (1, 2), H. Moïrot (1, 2), C. Tiercin (1), B. Macé (1), T. Frébourg (2)

(1) *Laboratoire de Cytogénétique, CHU de Rouen ; (2) Service de Génétique, CHU de Rouen, France*

Léo est né au terme de 41 semaines d'aménorrhée (SA) avec des mensurations normales. La grossesse a été simplement marquée par la découverte à l'échographie du deuxième trimestre d'un kyste du septum lucidum sans autre anomalie retrouvée. À la naissance, il présente une dysmorphie faciale, une polydactylie préaxiale du pouce droit, un hypospade, une communication

inter-auriculaire et une hypotonie axiale. Le bilan urologique fait au décours d'une pyélonéphrite met en évidence un reflux vésico-urétral. Léo développe un retard de croissance postnatal et un retard psychomoteur. L'enquête chromosomique (caryotype standard et en haute résolution sur lymphocytes, recherche de remaniements subtelomérique par FISH et analyse tout génome par CGH) est négative. Devant la forte suspicion d'anomalie chromosomique et la présence de deux petites taches dépigmentées infracentimétriques, un caryotype sur fibroblastes cutanés est alors effectué. Ce caryotype sur fibroblastes révèle une mosaïque chromosomique avec présence d'une translocation déséquilibrée *de novo* dans 97 % des mitoses : 46,XY, der(10)t(1 ; 10)(q41 ; p15). Dorian est né au terme de 37 SA avec des mensurations normales. À la naissance sont notées une hypotonie axiale, une dysmorphie faciale, une camptodactylie d'un index et une hernie ombilicale. Il présente des troubles de la succion et de la déglutition. Il développe un retard staturopondéral postnatal et un retard psychomoteur. Un caryotype sanguin est réalisé qui met en évidence une monosomie X : 45,X.ish(SRY-). Le phénotype masculin sans ambiguïté rendant peu probable l'absence de gène SRY, un nouveau caryotype est alors réalisé sur fibroblastes cutanés. Ce caryotype révèle une mosaïque chromosomique avec présence d'une translocation déséquilibrée *de novo* dans 6 % des mitoses : 45,X[94]/46,X,der(Y).ish t(Y ; 6)(q11 ; q16)(SRY+, DYZ3+, DYZ1-, WCP6+, VIJyRM2158+ ; WCP6+, VIJyRM2158+)[6]. Ces deux observations soulignent l'importance de réaliser un caryotype sur fibroblastes pour rechercher une mosaïque chromosomique, d'une part chez les patients dont la présentation clinique est très évocatrice d'une pathologie chromosomique mais sans anomalie chromosomique détectable sur sang périphérique, et d'autre part, chez les patients dont le caryotype sanguin révèle une anomalie qui n'explique pas la présentation clinique.

Mots-clés : mosaïcisme, translocation, fibroblastes.

■P103 / 388. DIAGNOSTIC PRÉNATAL D'UNE TRISOMIE PURE 15QTER CHEZ UN FŒTUS ISSU D'UN D'UNE FIV-ICSI

A.L. Mosca (1), F. Manson (2), D. Eurin (3), Ph. Vagot (4), V. Layet (5) (1) *Service de Génétique, CHU de Dijon ; (2) Gynécologue-Obstétricien, Fécamp ; (3) Service de Radiologie Pédiatrique, CHU Rouen ; (4) Laboratoire de Cytogénétique, CHU de Clermont-Ferrand ; (5) Unité de Génétique Médicale et de Cytogénétique, CH Le Havre, France*

Les trisomies de la portion distale du bras long du chromosome 15 sont le plus souvent secondaires à des déséquilibres de translocations réciproques parentales équilibrées. Ainsi, les trisomies 15qter pures sont rares et à ce jour seuls 2 cas ont été décrits sans l'association d'une monosomie partielle d'un autre chromosome. Nous rapportons le cas d'un diagnostic prénatal de trisomie pure 15qter chez un fœtus issu d'une FIV-ICSI. Les parents non consanguins avaient déjà bénéficié de 2 FIV-ICSI, dans le cadre d'une oligoasthénospermie, dont une avait donné naissance à des jumeaux en bonne santé. La 3^e FIV-ICSI réalisée à partir d'un embryon congelé a conduit à une grossesse évolutive. L'échographie du premier trimestre n'a pas retrouvé d'anomalie mais le dosage des marqueurs sériques maternels donnait un risque de trisomie 21 fœtale de 1/58. Dans ce contexte, un caryotype fœtal a été réalisé et interprété comme étant normal 46,XY. À 22 SA l'échographie a révélé l'association d'un hypospade, d'une dysmorphie faciale et d'une trigonocéphalie conduisant à une analyse plus fine du caryotype qui a permis de mettre en évidence un gros satellite 15p ne prenant pas la coloration des NOR. La réalisation d'une multiFISH a alors permis d'identifier que ce matériel en excès appartenait au chromosome 15. Les analyses par FISH utilisant une sonde ciblant la région 15q22 et une sonde de la région subtelomérique 15qter ont révélé une trisomie de la région terminale n'impliquant pas la région 15q22. Une analyse par CGH-array est en cours pour permettre de mieux définir cette région. Les analyses chromosomiques des parents n'ont mis en évidence aucune anomalie constitutionnelle. En raison de la fréquence du retard mental et donc du mauvais pronostic associé aux trisomies 15qter, une interruption médicale de grossesse a été demandée par les parents. L'examen du fœtus à 30 SA retrouvait une dysmorphie faciale caractéristique des trisomies 15qter comprenant un visage allongé avec une asymétrie faciale, un philtrum long, un hypertélorisme, un blépharophymosis, une bouche à coins tombants avec une lèvre supérieure longue et fine, un nez large, des oreilles anormales et un cou court. De plus il était noté une déformation thoracique, un occiput proéminent et des anomalies des extrémités. Aucune anomalie viscérale n'a été retrouvée et il n'y avait pas de trouble de la croissance. Ce nouveau cas de trisomie pure 15qter est comparé aux autres cas déjà décrits permettant ainsi d'affiner la corrélation génotype/phénotype en fonction de la région concernée. Le mécanisme en cause n'est pour l'instant pas déterminé mais ce cas soulève la question de l'implication d'une anomalie des gamètes paternelles ou plus directement de la technique de FIV-ICSI.

Mots-clés : trisomie 15qter pure, cytogénétique, FIV-ICSI.

■P104 / 398. INVDUP (8p) : À PROPOS DE 2 OBSERVATIONS

I. Ouertani (1), M. Chaabouni (1), A. Rouissi (2), L. Kraoua (1), I. Chelly (1), L. Ben Jemaa (1), N. Gouider (2), H. Chaabouni (1)

(1) Service des maladies congénitales et héréditaires, hôpital Charles Nicolle, Tunis, Tunisie ; (2) service de neuro-pédiatrie, institut national de neurologie, Tunis, Tunisie

L'invdup (8p) est une entité clinique décrite au cours de la dernière décennie. L'invdup (8p) est un dérivatif d'une inversion maternelle équilibrée. À la suite d'un mésappariement au moment de la méiose I maternelle, cette inversion se traduit par 3 anomalies distinctes au niveau des gamètes : l'invdup (8p), la del (8p) et le chromosome marqueur invdup (8p). L'invdup (8p) se manifeste sur le plan clinique par un retard mental sévère, une dysmorphie faciale minime, une agénésie du corps calleux, une hypotonie, des malformations osseuses et cardiaques. Sur le plan cytogénétique, il s'agit d'une inversion duplication du bras court du chromosome 8 séparée associée à une délétion télomérique. Nous présentons les observations de deux patientes consultant pour un retard mental associé à une dysmorphie faciale. La première patiente âgée de 3 ans et 9 mois présente une encéphalopathie, un retard psychomoteur, une hypotonie et une dysmorphie faciale : synophris avec des sourcils fournis, des yeux en amande, un strabisme convergent, une petite dentition espacée, un rétrognathisme et un cou court. Elle présente également des problèmes orthopédiques nécessitant un appareillage. La croissance est normale. L'échographie cardiaque et le BER sont normaux. La deuxième patiente âgée de 21 mois présente un retard psychomoteur, une hypotonie et une dysmorphie faciale : un front bombé, un nez en bec, un microrétrognathisme, une petite dentition espacée et un cou court. La croissance est normale. Le caryotype standard en bandes R montre un additif du chromosome 8p add (8p). L'étude par FISH avec des sondes étagées au niveau du chromosome 8p (GATA4, FRp11-297K5 en 8p23.1, FR10722H2 en 8p23.3, tel 8p et D8Z1) montre une duplication de la région étudiée et une délétion télomérique 8p. Le tableau clinique de nos patientes est compatible avec celui de la littérature.

Mots-clés : inv dup(8p), cytogénétique moléculaire, FISH.

■P105 / 399. COMPLÉMENTARITÉ DES TECHNIQUES DE CYTOGÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE ET DE BIOLOGIE MOLÉCULAIRE DANS L'IDENTIFICATION D'UN REMANIEMENT COMPLEXE IMPLIQUANT LE GÈNE MLL

E. De Braekeleer (1, 2), C. Meyer (3), M.-J. Le Bris (4), N. Douet-Guilbert (1, 2, 4), F. Morel (1, 2, 4), C. Férec (1, 5), R. Marschalek (3), M. De Braekeleer (1, 2, 4)

(1) Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale (INSERM), U613, Brest 2 Laboratoire d'Histologie, Embryologie et Cytogénétique, Faculté de Médecine et des Sciences de la Santé, Brest, France 3 Institute of Pharmaceutical Biology / DCAL / ZAFES, JWG-University of Frankfurt, Biocenter, Max-von Laue-Str. 9, 60438 Frankfurt / Main, Allemagne 4 Service de Cytogénétique, Cytologie et Biologie de la Reproduction, CHU Morvan, Brest 5 Etablissement Français du Sang-Bretagne, Brest, France

Les anomalies de structure impliquant le gène *MLL* sont associées à de nombreux types de leucémies. Un diagnostic de leucémie aiguë monoblastique (LAM) de type 5, associée à un sarcome granulocytique, fut établi. Nous avions alors interprété une translocation rare t(1;11)(p36;q23) impliquant un réarrangement du gène *MLL* qui avait été confirmé par hybridation *in-situ* fluorescente (FISH) (Douet-Guilbert *et al.*, 2005). Nous avons alors voulu déterminer le gène partenaire de *MLL* et identifier le remaniement l'impliquant avec des techniques de cytogénétique moléculaire et de biologie moléculaire. Tout d'abord, nous avons effectué une PCR longue distance inverse (LDI-PCR) avec l'ADN extrait des culots cytogénétiques. Ensuite, nous avons confirmé la fusion des gènes par FISH avec des Bacterial Artificial Chromosomes (BAC) marqués par nick-translation avec différents fluorochromes FITC (vert), Spectrum Orange (rouge) et Aqua (bleu) ainsi que des sondes subtélomériques du bras court du chromosome 1 en FITC (Abbott, Rungis, France) et du bras long du chromosome 19 en Spectrum Orange (Abbott). Finalement, nous avons étudié l'expression de ce gène de fusion par RT-PCR avec l'ARN extrait des culots cytogénétiques. Grâce à la technique de LDI-PCR, nous avons déterminé que la partie 5' du gène *MLL* fusionnait avec la partie 3' du gène *ELL*, situé normalement sur le chromosome 19. Au vu de ces résultats, pour les confirmer, nous avons hybridé les BACs RP11-937I20 (19p13.11) en Spectrum Orange et RP11-91A14 (11q23.3) en FITC. Nous avons obtenu deux signaux verts (un sur le chromosome 11 et un sur le dérivé du chromosome 1), deux signaux rouges (un sur le chromosome 19 et un sur le dérivé du chromosome 19) et un signal jaune sur le dérivé du chromosome 11. Une étude complémentaire avec des sondes sub-télomériques 1p marquées en FITC et 19q marquées en Spectrum Orange, nous a permis de confirmer

la translocation complexe t(11;19;1)(q23;p19.1;p36). De plus, la présence du transcrit de fusion *MLL-ELL* confirme l'expression du gène de fusion. Dans la littérature, 2 gènes partenaires de *MLL* sont connus sur le chromosome 1 : *EP315*, situé en 1p32 et *AF1Q*, situé en 1q21. Comme le point de cassure n'est situé dans aucune des deux bandes décrites, nous pensions que *MLL* avait fusionné avec un nouveau partenaire. La LDI-PCR a mis en évidence qu'il y avait bien un gène de fusion avec *MLL* mais pas avec un gène situé sur le chromosome 1. *ELL* est situé sur le chromosome 19 et est connu depuis 1994 comme étant un partenaire récurrent du gène *MLL*. En résumé, la région 3' du gène *MLL* est transloquée sur le bras court du dérivé du chromosome 1, le segment du chromosome 1 est transloqué sur le dérivé du chromosome 19, au niveau de la région 5' du gène *ELL* et la région 3' du gène *ELL* fusionne avec la partie 5' du gène *MLL* sur le dérivé du chromosome 11. Ce cas clinique nous a permis de montrer la complémentarité de la cytogénétique avec la biologie moléculaire pour connaître les différents remaniements. La LDI-PCR a permis de déterminer le gène de fusion. Cependant, la cytogénétique a pu mettre en évidence la présence d'un remaniement complexe, une translocation t(11;19;1)(q23;p19.1;p36) que n'a pu montrer la LDI-PCR. Des recherches sont en cours pour essayer de déterminer les autres gènes de fusion possibles qui seraient présents sur le dérivé du chromosome 1 et sur le dérivé du chromosome 19 ainsi que l'expression de ces deux gènes de fusion afin de déterminer s'il n'y aurait pas un ou des effets additionnels dans la maladie. Douet-Guilbert N., Morel F., Le Bris M.-J., Sassolas B., Giroux J.-D., De Braekeleer M., Rearrangement of *MLL* in a patient with congenital acute monoblastic leukemia and granulocytic sarcoma associated with a t(1;11)(p36;q23) translocation. *Leukemia & Lymphoma*, 2005, 46(1), 143-146.

Mots-clés : *MLL*, LDI-PCR, gène de fusion.

■P106 / 405. DIAGNOSTIC PRÉNATAL D'UN ANNEAU DU CHROMOSOME 6 : ÉMERGENCE D'UN PHÉNOTYPE

H. Hardizi (1), S. Leclercq (1), V. Tsatsaris (2), A.E. Millisher (3), C. Fallet-Bianco (4), J. Tantau (5), A. Lebbar (1), J.M. Dupont (1)

(1) AP-HP ; Université Paris-Descartes, Faculté de médecine Unité de cytogénétique, Groupe Hospitalier Cochin-Saint Vincent de Paul, Paris ; (2) AP-HP ; Service de Gynécologie-Obstétrique, Groupe Hospitalier Cochin-Saint Vincent de Paul, Paris ; (3) AP-HP ; Service de Radiologie, Groupe Hospitalier Cochin-Saint Vincent de Paul, Paris ; (4) Service d'Anatomie Pathologique, Centre Hospitalier Saint-Anne, Paris ; (5) Service de Fœtopathologie, Groupe Hospitalier Cochin-Saint Vincent de Paul, Paris, France

L'anneau du chromosome 6 est une anomalie chromosomique très rare. Seules 22 observations ont été publiées à ce jour dont 6 en prénatal. Nous décrivons une nouvelle observation d'anneau du 6 diagnostiqué à la suite d'anomalies identifiées à l'échographie morphologique du second trimestre. Mme H, 39 ans est primipare, 3^e geste. La mesure de la clarté nucale à l'échographie de 12SA était normale. Les marqueurs sériques ont été calculés à 1/1152. Le calcul de son risque intégré de trisomie 21 étant faible, elle n'a pas bénéficié d'amniocentèse au terme habituel de 16-17 SA. L'échographie morphologique réalisée à 22 SA a montré des biométries céphaliques et abdominales inférieures au 3^e percentile, une agénésie vermineuse et un corps calleux non visualisable en totalité. L'IRM cérébrale décrit une hypoplasie ponto-cérébelleuse associée à une agénésie partielle postérieure du corps calleux. Une amniocentèse a alors été pratiquée mettant en évidence une majorité de cellules avec une monosomie 6 et de rares cellules comportant un chromosome 6 en anneau. Le caryotype réalisé sur ponction de sang fœtal a retrouvé l'anneau dans la majorité des cellules analysées. Ceci indique que l'anneau a été perdu au cours de la culture cellulaire du liquide amniotique. Une IMG a été réalisée ainsi qu'un examen fœtopathologique. Notre observation, comparée aux rares cas d'anneau du 6 rapportés dans la littérature au cours d'un diagnostic prénatal, nous permet de mettre en évidence un phénotype commun centré sur l'hypoplasie ponto-cérébelleuse. Il existe dans la région 6q terminale de nombreux gènes impliqués dans le développement du cerveau. La précision de la taille de la monosomie 6q à l'aide de BACs étagés par hybridation *in situ* nous permettra de préciser l'implication de certains d'entre eux dans la genèse des anomalies décrites.

Mots-clés : diagnostic prénatal, anneau du chromosome 6, hypoplasie ponto-cérébelleuse.

■P107 / 417. ORIGINE PATERNELLE D'UN GRAND MARQUEUR SURNUMÉRAIRE INV DUP (15) : ABSENCE DE PHÉNOTYPE ANORMAL À 2 ANS

A. Guichet (1), P. Boisseau (2), O. Ingster (1), S. Beziau (2), D. Bonneau (1)



(1) Service de Génétique, CHU Angers ; (2) Service de Génétique, CHU Nantes, France

Les marqueurs surnuméraires sont retrouvés avec une fréquence de 0,8 à 1,5/1 000 en prénatal et dans 50 % des cas dérivent d'un acrocentrique. Le plus fréquent d'entre eux est l'inversion duplication du chromosome 15 : inv dup(15). Chen (1999) a classé ces inv dup(15) en 3 classes : les plus petits constitués que par du matériel hétérochromatique avec 2 centromères du 15 [dic(15)(q11)] ; ceux qui contiennent du matériel euchromatique avec une partie toute proximale du 15 mais sans impliquer la région Prader Willi/Angelman et enfin dans le troisième groupe ceux qui contiennent une duplication de la région de Prader Willi/Angelman. La plupart de ces inv dup 15 de la dernière classe (c'est-à-dire contenant une duplication des locus de PWS-Angelman) ont un phénotype sévère avec un retard mental, des troubles du comportement de type autistique et une épilepsie. Dans ces cas, l'origine du marqueur est presque toujours d'origine maternelle. La taille de cette tétrasomie/trisomie partielle 15q12q13 ainsi que l'origine parentale sont déterminants pour la sévérité du retard mental et des troubles du développement observés. Nous rapportons l'observation d'une découverte prénatale d'un marqueur surnuméraire confirmée après la naissance de cet enfant. Il s'agit du deuxième enfant d'un couple jeune non apparenté. Une amniocentèse a été réalisée à 23A suite à la découverte d'une nuque épaisse à 22SA, l'échographie du premier trimestre était normale. Les résultats du caryotype sur liquide amniotique montrent un marqueur surnuméraire en faible mosaïque : 47,XX,+mar[3]/46,XX[52]. L'étude des caryotypes parentaux est normale. À la naissance l'étude sur sang, frottis jugal et biopsie de peau confirme la présence de ce marqueur en mosaïque et montre qu'il dérive du chromosome 15 avec une tétrasomie du locus SNRPN et une trisomie du locus GABR3 : 47,XX,+inv dup(15)(q11q12)/46,XX. De plus la recherche de l'origine parentale montre que le marqueur est hérité du père. À l'âge de 2 ans, cet enfant a un développement psychomoteur tout à fait satisfaisant et pas de signe dysmorphique. En conclusion, nous rapportons l'observation d'un enfant porteuse d'une grande inversion duplication du chromosome 15 en mosaïque (responsable d'une tétrasomie de SNRPN et trisomie de GABR3) dont l'origine paternelle est exceptionnellement décrite (2 observations à ce jour dans la littérature) et qui pourrait expliquer la bonne évolution psychomotrice de cet enfant.

Mots-clés : inv dup15, origine paternelle, tétrasomie 15q.

■P108 / 419. PURE TRISOMIE 4Q32-Q34 : DESCRIPTION CLINIQUE D'UNE NOUVELLE FAMILLE

A. Guichet, E. Colin, O. Ingster, D. Bonneau
Service de Génétique, CHU Angers, France

Les duplications d'un bras long d'un chromosome 4 ont été décrites dans plus d'une soixantaine d'observations. Dans la plupart des cas ces duplications sont liées à une malségrégation d'une translocation réciproque équilibrée parentale et sont associées à une monosomie partielle de la seconde paire de chromosome impliquée. Cela explique la grande variabilité clinique décrite dans la littérature de ces duplications 4q en rapport avec le chromosome concerné par la monosomie et la taille de la région dupliquée définie par les points de cassure. Les duplications partielles et pures du chromosome 4q ont été peu rapportées. Nous présentons l'observation familiale d'une pure duplication 4q32q34 qui concerne la mère et ses deux garçons, caractérisée par une dysmorphie faciale et un retard mental. Le cas index a été vu en consultation de génétique à l'âge de 18 mois pour un retard des acquisitions : il ne marche pas et n'a aucun langage. La grossesse avait été sans particularité. Ce garçon présente une dysmorphie faciale, un strabisme bilatéral convergent apparu à l'âge de 12 mois mais pas de retard de croissance. Il n'a pas d'anomalie rénale ni des extrémités. Le caryotype, réalisé sur sang veineux, met en évidence un chromosome 6 anormal : 46,XY,der(6)ins(6 ;4)(q26 ;q32.1q34). Les études complémentaires par hybridation *in situ* (sondes commerciales, BACs et MFish) confirment qu'il s'agit d'une trisomie pure 4q32q34 par insertion interchromosomique de la région 4q32q34 dans un bras long d'un chromosome 6. Les caryotypes réalisés chez les parents du cas index ont montré que la mère avait la même formule chromosomique déséquilibrée que son enfant : 46,XX, der(6)ins(6 ;4)(q26 ;q32.1q34). Elle présente également une dysmorphie faciale avec un retard mental modéré et un strabisme. Lors de la seconde grossesse, le couple n'a pas voulu de diagnostic prénatal chromosomique. À la naissance, l'enfant présentait des traits dysmorphiques comparables à son frère sans le strabisme. Le couple a autorisé le caryotype qui a confirmé que ce nouveau né était porteur de la même formule chromosomique déséquilibrée que son frère aîné et que sa mère. La mère de ces 2 garçons ayant été adoptée nous n'avons pu réaliser le caryotype de ses parents afin de rechercher l'insertion équilibrée entre le chromosome 4 et le chromosome 6. Les duplications simples sont les plus utiles pour

définir un phénotype associé et notre observation familiale de pure trisomie 4q32q34 contribue à la corrélation phénotype génotype de cette région critique.

Mots-clés : trisomie 4q32q34, pure trisomie 4q, familiale.

■P109 / 435. REMANIEMENT CHROMOSOMIQUE DÉSÉQUILIBRÉ CHEZ UN PATIENT INFERTILE AU PHÉNOTYPE NORMAL

S. Kanafani (1), C. Dupont (1), E. Pipiras (1), A. Delahaye (1), C. Sifer (1), A.-C. Tabet (3), A. Aboura (3), I. Cédric-Durnérin (2), J.-N. Hugues (2), B. Benzacken (1), E. Snaifer (2)

(1) Service d'Histologie-Embryologie et Cytogénétique, Biologie de la Reproduction, Hôpital Jean-Verdier, AP-HP, Bondy, France ; UFR-SMBH, Paris XIII, France ; (2) Service d'Aide Médicale à la Procréation, Hôpital Jean-Verdier (AP-HP), Bondy, France ; (3) Unité fonctionnelle de Cytogénétique, Hôpital Robert-Debré, AP-HP, Paris, France

Introduction : Les remaniements chromosomiques déséquilibrés peuvent être à l'origine d'anomalies de la spermatogenèse chez l'homme hypo ou infertile. Nous rapportons le cas d'un patient sans anomalie phénotypique, porteur d'une délétion 2qter et d'une délétion juxta-centromérique d'un chromosome 21 par translocation déséquilibrée au caryotype sanguin. Les conséquences pour la prise en charge du couple, dans le service d'aide médicale à la procréation (AMP), sont discutées. Examen clinique et investigations cytogénétiques : Un jeune couple (28 ans chacun) d'origine algérienne, consanguin, est adressé en 2004 à la consultation d'AMP de l'hôpital Jean-Verdier pour une infertilité primaire. - L'époux, sans antécédents médico-chirurgicaux particuliers, a un frère et 3 sœurs en bonne santé, qui n'ont pas d'enfant, selon lui, par choix. Par ailleurs, il rapporte la mort d'une sœur à la naissance de cause indéterminée, et une fausse couche spontanée chez sa mère. Un spermogramme sur un premier éjaculat découvre une oligospermie sévère avec seulement 22 spermatozoïdes de mobilité b ou c. Le couple revient en 2007 pour d'autres investigations. Leur caryotype est alors prescrit en vue de la micro-injection (ICSI). Celui de l'épouse ne retrouve pas d'anomalie. Celui de l'époux est à 45 chromosomes avec un remaniement entre le bras long terminal d'un 2 et la partie juxta-centromérique du bras long d'un 21 (bandes RHG et GTG). Les bandes C sont absentes au niveau du point de cassure de la t(2qter ;21q), indiquant l'absence de l'hétérochromatine centromérique du 21 transloqué. La formule chromosomique s'écrit : 45,XY,der(2)t(2 ;21)(q37.3 ;q11),-21[18] Les techniques de cytogénétique par FISH ont permis de préciser le remaniement avec 1 - Les sondes 2qter, wcp21 (Cyto-cell Aquarius) et wcp2 (Vysis) : les peintures des 2 et 21 confirment le remaniement entre uniquement un 2 et un 21. Par contre il n'y a qu'un seul signal 2qter qui hybride sur le chromosome 2 normal et qui est absent sur le der(2) : cette délétion 2qter correspond au clone non polymorphe 172113 (D2S447 à 240 kb du télomère 2q). 2 - Les sondes alpha-satellites D13Z1 et D21Z1 à la recherche du der(21) décèlent 2 signaux du 13 mais un seul signal du 21 sur 100 noyaux analysés. Ainsi dans le sang le der(21) n'étant pas retrouvé est présumé perdu. L'hybridation sur un autre tissu (frottis buccal par exemple) pourrait être proposée à la recherche du der(21) manquant, d'autant que le phénotype de l'époux est normal. 3 - La sonde LSI 13/21 (AneuVysion) montre la présence de 2 signaux LSI 21 en 21q22, l'un qui hybride sur le chromosome 21 normal et l'autre sur le der(2). La formule chromosomique après cytogénétique moléculaire s'écrit : 45,XY,der(2)t(2 ;21)(q37.3 ;q11),-21[18].ish der(2)t(2 ;21)(wcp2+,D2S447-,D21Z1-,wcp21+,LSI 21+,21qter+). FISH sur spermatozoïdes : une hybridation sur spermatozoïdes a également été réalisée avec les sondes 2qter (Cyto-cell) et CEP 18/X/Y AneuVysion. Le der(2) est retrouvé dans environ un tiers des spermatozoïdes, indépendamment de la présence de l'X ou Y. Un recours au don de sperme est envisagé. L'étude familiale n'a pu être réalisée pour raisons géographiques et par souhait du couple. Conclusion : Au total, ces analyses nous ont permis de mettre en évidence un remaniement chromosomique déséquilibré chez un patient présentant une infertilité primaire et une oligoasthénospermie. De plus, ce cas souligne l'importance des techniques de cytogénétique conventionnelle et moléculaire sur sang et spermatozoïdes pour caractériser le déséquilibré et ainsi déterminer les risques d'une conception naturelle ou après ICSI.

Mots-clés : remaniement chromosomique, FISH, infertilité primaire.

■P110 / 436. DÉLÉTION INTERSTITIELLE DU CHROMOSOME 4 (P15.2P15.31) ASSOCIÉE À UNE AVANCE STATURALE

N. Aboussair (1), S. Chafai El Alaoui (1), S. Charquoui Dequai (1), V. Malan (2), C. Turleau (2), M. Vekmans (2), A. Sefiani (1)

(1) Département de Génétique Médicale, Institut National d'Hygiène, Rabat, Maroc ; (2) Département d'Histo-Embryo-Cytogénétique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France

Les délétions interstitielles siégeant au niveau du bras court du chromosome 4 sont à l'origine de trois syndromes cliniques différents. En effet, les délétions distales emportant la région 4p16 sont responsables de deux syndromes sévères : le syndrome de Wolff-Hirschhorn et le syndrome de Pitt-Rogers-Danks. En revanche, les délétions proximales du chromosome 4 comprises entre 4p14 et 4p16 sont à l'origine d'une entité clinique distincte et caractérisée par des degrés variables du retard mental, un syndrome dysmorphique mineur et une grande taille contrastant avec le retard de croissance pré et postnatal retrouvé dans le syndrome de Wolff-Hirschhorn. À ce jour plus d'une vingtaine de cas de délétion proximale du bras court du chromosome 4 sont déjà décrits. Nous rapportons dans ce travail, l'observation d'un adolescent âgé de 15 ans (suivi en consultation de génétique depuis l'âge de 5 ans), présentant une dysmorphie faciale évoquant un aspect en casque de guerrier grec, un retard mental modéré et une avance staturale (Bilan endocrinien normal). La cytogénétique conventionnelle a mis en évidence une délétion interstitielle du chromosome 4 (p15.2p15.31) d'apparition *de novo* qui a été confirmée par l'hybridation *in situ* en fluorescence (FISH). Par ailleurs un remaniement complexe ou une délétion de la région critique du syndrome de Wolff-Hirschhorn ont été exclus. De même, une duplication de la région 4p16.3 (duplication du *FGFR3*) pouvant expliquer l'avance staturale a été exclue par FISH. En conclusion, nous rapportons un nouveau cas de délétion proximale du chromosome 4 (p15.2p15.31) ayant comme particularités, d'une part l'association à une dysmorphie faciale caractéristique du syndrome de Wolff-Hirschhorn et d'autre part l'association à une avance staturale.

Mots-clés : délétion interstitielle du chromosome 4 (p15.2p15.31), avance staturale, cytogénétique.

■P111 / 461. DÉLÉTION 6Q16.2-6Q21 : ÉVALUATION CLINIQUE, CYTOGÉNÉTIQUE ET PAR HYBRIDATION GÉNOMIQUE COMPARATIVE SUR PUCES À ADN D'UN NOUVEAU PATIENT A. Destrée (1), B. Grisart (1), B. Parmentier (1), W. Marion (2), S. Moortgat (2, 3), Ch. Verellen-Dumoulin (1)
(1) Centre de Génétique Humaine, Institut de Pathologie et de Génétique, Gosselies, Belgique ; (2) Centre néonatal, Clinique Saint-Vincent, Rocourt, Belgique ; (3) Département de pédiatrie, Cliniques Universitaires Saint-Luc, Bruxelles, Belgique

Les délétions interstitielles de la région 6q16.2-6q21 sont rares. D'après la littérature, 3 patients présentent une délétion de la même région et 14 patients ont une délétion qui chevauche celle que nous décrivons. À ce jour, seuls 5 cas rapportés ont bénéficié d'une analyse par hybridation génomique comparative sur puces à ADN (CGH array). La symptomatologie clinique varie suivant la taille et la localisation de la délétion. Toutefois, des traits communs peuvent être retrouvés tels qu'une dysmorphie faciale, une hypotonie, une cardiopathie et un retard mental. Nous rapportons l'observation d'un nouveau-né hypotonique présentant une dysmorphie faciale, une hypotonie, une téralogie de Fallot, un micropénis et un hypospade. La formule chromosomique a montré l'existence d'une délétion de la région 6q16.2-6q21. Cette délétion a été caractérisée par CGH array. D'après les données de la littérature, les cardiopathies semblent associées à une délétion de la région 6q21. Le patient rapporté par Zherebtsov et coll. (Clin Dism, 2007) présente une délétion de la région 6q16.1-6q22.32, caractérisée par CGH array. La symptomatologie de ce patient comprend une dysmorphie faciale, une hypotonie, une ectrodactylie et une téralogie de Fallot. Les 4 autres cas ayant été analysés par CGH array et rapportés par Klein et coll. (Clin Genet, 2007) ne présentent pas de cardiopathie. Zherebtsov et coll. ont proposé 2 gènes pouvant être impliqués dans l'apparition d'une cardiopathie chez les patients présentant une délétion 6q, le gène *GJA1* qui code pour la connexine 43 dont le rôle semble crucial pour le développement embryonnaire du cœur et le gène *HEY2* qui intervient dans le développement du cœur chez les mammifères. Ces 2 gènes ne sont pas compris dans la région délétée chez notre patient. Grâce aux cas rapportés et au nôtre, nous avons pu délimiter un intervalle minimal de 4,596,329 pb commun aux 2 cas avec téralogie de Fallot. Cette région contient 36 gènes dont le gène *LAMA4* qui encode la chaîne alpha4 de la laminine et est exprimé dans le cœur. Des mutations dans ce gène ont récemment été rapportées chez des patients présentant une cardiomyopathie dilatée. Chez le poisson-zèbre, il joue un rôle essentiel dans la formation de la notochorde et dans celle des vaisseaux sanguins intersegmentaires. Ce gène pourrait ainsi être un gène candidat pour expliquer la cardiopathie retrouvée chez ces patients.

Mots-clés : délétion interstitielle, chromosome 6q, hybridation génomique comparative.

■P112 / 463. DIAGNOSTIC D'UN SYNDROME MYÉLOPROLIFÉRATIF (SMP) JAK2-V617F DEVANT L'APPARITION D'UNE

THROMBOCYTOSE LORS D'UNE LEUCÉMIE MYÉLOÏDE CHRONIQUE (LMC) EN RÉPONSE MOLÉCULAIRE À L'IMATINIB

L. Véronèse (1, 2), A. Tchirkov (1, 2), M. Berger (3), A. Ledoux-Pilon (4), B. Perissel (1, 2), J.O. Bay (5), C. Chaletex (5), N. Boiret-Dupré (3), P. Vago (1, 2), O. Tournilhac (5)

(1) Univ Clermont 1, UFR Médecine, Histologie Embryologie Cytogénétique, Clermont-Ferrand, F-63001 France ; (2) CHU Clermont-Ferrand, Cytogénétique Médicale, Clermont-Ferrand, F-63003 France ; (3) Service d'Hématologie Biologique, CHU, Clermont-Ferrand, F-63003, France ; (4) Service d'Anatomie Pathologique, Hôtel-Dieu, CHU, Clermont-Ferrand, F-63003, France ; (5) Service d'Hématologie Clinique, CHU, Clermont-Ferrand, F-63003, France

Case report : Nous rapportons l'histoire d'une patiente présentant une leucémie myéloïde chronique (LMC) typique avec translocation (9 ;22)(q34 ;q11) au caryotype standard et transcrit BCR-ABL de type b3a2 quantifié par RT-PCR. Une thérapeutique par imatinib s'avère efficace avec obtention d'une réponse moléculaire, le ratio BCR-ABL/ABL passant de 70 % au diagnostic à 0,5 % à 6 mois. Cependant, une thrombocytose importante est constatée après 6 mois de traitement et persiste sur les bilans ultérieurs. Après 12 mois de traitement, une exploration de cette thrombocytose est effectuée : la biopsie ostéo-médullaire est en faveur d'une thrombocytemie essentielle (TE) ; le caryotype médullaire met en évidence 2 clones anormaux Philadelphie négatifs, le caryotype s'écrivant 46,XX,t(13 ;17)(q21 ;q22)[8]/46,XX,del(13q)[6]/46,XX[1] ; le ratio BCR-ABL/ABL est à 0,85 % ; les cultures de progéniteurs produisent des colonies spontanées ; la recherche de mutation JAK2-V617F par PCR spécifique d'allèle s'avère positive (ratio JAK2-V617F/JAK2 total = 92 %). Le diagnostic de SMP avec mutation JAK2-V617F est retenu, probablement de type TE. Discussion : Ce cas démontre pour la troisième fois qu'une translocation BCR-ABL et une mutation JAK2-V617F peuvent être détectables de manière concomitante dans les cellules hématopoïétiques d'un patient. Ce cas soulève la question de savoir si la TE et la LMC surviennent indépendamment l'une de l'autre, représentant la transformation de deux cellules souches normales, ou si la mutation JAK2-V617F survient dans une cellule souche appartenant au clone de LMC. Comme dans l'un des deux cas rapportés précédemment, il s'agit vraisemblablement d'événements indépendants. En effet, la TE ne semble pas être la conséquence d'une progression de la LMC puisqu'elle apparaît lors d'une réponse moléculaire de la LMC ; cette augmentation progressive de la thrombocytose tandis que le taux de transcrit BCL-ABL régresse est en faveur de 2 clones distincts se développant à partir de 2 cellules souches aberrantes. Cependant, il a récemment été démontré que la mutation JAK2-V617F peut survenir avant l'apparition d'un chromosome Philadelphie, la translocation (9 ;22)(q34 ;q11) étant dans ce cas une anomalie secondaire. Conclusion : Les cliniciens doivent garder à l'esprit qu'une thrombocytose persistante ou croissante sous traitement efficace d'une LMC Phi+ peut témoigner d'une transformation de la LMC, mais peut également être révélatrice d'un syndrome myéloprolifératif associé positif pour la mutation JAK2-V617F.

Mots-clés : SMP, JAK2-V617F, LMC.

■P113 / 484. INSERTION BETWEEN CHROMOSOME 12 AND 8 : SEGREGATION IN A FAMILY

S. Rombout, K. Rack, B. Grisart, S. Vidrequin, Ch. Verellen-Dumoulin, A. Destrée
Centre de Génétique Humaine, Institut de Pathologie et de Génétique, Avenue Georges Lemaitre 25, 6041-Gosselies, Belgium

A balanced insertion between the long arm of chromosome 12 (q12q14) and the long arm of chromosome 8(q22) was observed in a pregnant women at prenatal diagnosis performed following a CMV sero-conversion at 23 weeks of pregnancy. The female fetus inherited an unbalanced karyotype: the deleted form of chromosome 12 from her mother and two normal chromosomes 8 (46,XX,der(12)ins(8 ;12)(q22 ;q12q14)mat). The clinical examination of the girl after delivery was normal. Family studies demonstrated that one half-sister had inherited the balanced form of the maternal insertion whilst another half-sister had inherited the same unbalanced karyotype. The former (balanced) was born at 6.5 months of pregnancy and had some intellectual and psychomotor difficulties. The later (unbalanced) was also born at 6.5 months of pregnancy and suffers of hemiparesis which could be due to neonatal anoxia. Later, she presented a psychomotor and learning disabilities. ArrayCGH analysis using the 1 Mb clone set from Sanger identified 5 deleted clones corresponding to the region 12q14.1-q14.3 and complementary FISH analysis confirmed the karyotype. A recurrent interstitial deletion of 12q14 has been already



reported by Ivy Jennes and al. (BeSHG – six annual meeting), Jan Hellemans (2004) and Bjorn Menten (2007) but the associated features are more severe (osteopoikilosis, short stature and mild mental retardation). The phenotype associated with our deletion is at present unclear because mild mental retardation is also noted in the balanced carriers suggesting either disruption of critical genes at the breakpoints or environmental factors. The clinical evolution of the proband needs to be assessed as well as investigation of other family members (other brothers and sisters) in order to determine the clinical impact of this rearrangement.

Mots-clés : insertion, array-CGH, family studies.

■P114 / 493. RECHERCHE DE DÉSÉQUILIBRÉS GÉNIQUES PAR CGH-ARRAY CHEZ 100 ENFANTS PRÉSENTANT UN RETARD GLOBAL DU DÉVELOPPEMENT

E. Landais (1), A. Schneider (1), N. Bednarek (2), P. Sabouraud (2), J. Motte (2), J. Couchot (3), M. Khoury (4), R. Klink (4), E. Lagonotte (1), C. Leroy (1), M. Mozelle (1), D. Gaillard (1), M. Doco-Fenzy (1)

(1) Service de Génétique, CHU Reims, UFR de Médecine, IFR53, France ; (2) Service de Pédiatrie, American Memorial Hospital, Reims, France ; (3) Service de Pédiatrie, CHG Charleville, France ; (4) CAMSP, Service de Pédiatrie, CHG Laon, France

Introduction : Le retard mental est un problème majeur qui touche 3 % de la population. Ce retard s'explique par un remaniement chromosomique chez un enfant sur 157 d'après les données récentes de la littérature notamment grâce aux progrès de la technique d'hybridation génomique comparative ou CGH-array qui permet de détecter des délétions et duplications interstitielles de tailles inférieures à celles observées par caryotypage conventionnel. Nous rapportons les résultats obtenus par caryotypage moléculaire dans une population de 125 enfants présentant un retard global du développement (RGD) avec ou sans anomalies congénitales. **Patients et méthodes :** Patients : Nous avons analysé l'ADN d'une cohorte de 125 enfants pour lesquels un caryotype de résolution 850 bandes avait été réalisé. Un remaniement a été observé pour 25 d'entre eux. Ces 25 enfants constituent nos témoins positifs. **Méthodes :** Les échantillons d'ADN ont été traités selon la méthode en triangle (3 par 3) et hybridés sur une puce CGH-array BAC/PAC de résolution 1 Mb (Micro Array Facility, VIB Leuven, Belgique) suivant le protocole préconisé par J. Vermeesch. Après lecture des lames sur le scanner Axon 4200A et analyse des données sur le logiciel GenePix Pro 6.0, les données ont été interprétées par le logiciel fourni par le VIB. Les remaniements suspectés ont été ensuite confirmés par FISH (délétion et duplication de grande taille) ou par Q-PCR (duplication de petite taille). **Résultats :** Témoins positifs L'étude par CGH-array a confirmé et précisé la taille et la localisation des réarrangements chromosomiques pour les 25 témoins. Pour deux de ces patients, des délétions ou duplications supplémentaires ont été trouvées prouvant la présence de translocations déséquilibrées et modifiant le conseil génétique. **Cohorte de 100 patients sans étiologie :** Nous avons identifié des déséquilibres *de novo* chez neuf patients dont huit déséquilibres de grandes tailles (de 1,3 à 7,1 Mb) (six délétions et deux duplications) et un déséquilibre ne concernant qu'un seul clone BAC. Voici le détail de ces déséquilibres : arr cgh 1p36.3p36.22 (RP3-491M17 à RP5-888M10) x 1 ; arr cgh 1p35.2p34.3 (RP11-84A19 à RP11-327P22) x 1 ; arr cgh 3p25.1p24.3 (RP11-165B2 à RP11-27J5) x 1 ; arr cgh 7p14.1p13 (RP4-612F12->8722 :> RP11-111G20) x 1 ; arr cgh 10q23.31q23.32 (RP11-380G5->8722 :> RP11-92H8) x 1 ; arr cgh 10q26.11q26.12 (RP11-355F22 à RP11-359E7) x 1 ; arr cgh 11q23.3q24.1 (RP11-142I2 à RP11-93E4) x 3 ; arr cgh 22q11.21q11.21 (87H3->8722 :>2C9) x 3 ; arr cgh 14q32.33 (RP11-417P24) x 1. Un déséquilibre ne concernant qu'un seul clone a été également retrouvé chez neuf autres patients. Les résultats de CGH-array sont en cours de confirmation par FISH ou de Q-PCR pour trois enfants. Pour les six autres, le déséquilibre est hérité pour au moins deux familles. **Discussion :** La difficulté majeure pour cette puce de résolution 1 Mb réside dans l'interprétation des variants de nombre de copie (CNV) portant sur un seul clone, difficulté résolue par la FISH chez l'enfant avec l'ADN des clones correspondants et par la recherche des déséquilibres chez les parents afin d'écarter les variants polymorphiques inconnus. Parmi les neuf déséquilibres observés, seuls deux se situent dans des régions impliquées dans un syndrome connu : del(7)(p14.1p13) (Syndrome de Greig) et dup(22)(q11.2 q11.2). **Conclusions :** Nous avons identifié, sur 100 patients porteurs de RGD sans étiologie connue, au moins neuf déséquilibres survenus *de novo* et deux déséquilibres hérités. Nous avons ainsi pu caractériser sept anomalies chromosomiques non encore décrites pour lesquelles nous avons précisé le phénotype avec les données cliniques. Cette étude a également permis de proposer un diagnostic prénatal à trois couples.

Remerciements : AOL 2003-2005 – PHRC 2005 CHU Reims

Mots-clés : CGH-array, remaniement chromosomique, retard global du développement.

■P115 / 496. ANOMALIES DE STRUCTURE DU CHROMOSOME Y

O. Kilani (1), N. Bouayed Abdelmoula (2), F. Talmoudi (1), I. El Kamel (1), O. Kacem (1), A. Zhioua (3), A. Amouri (1)

(1) Laboratoire d'Histologie et de Cytogénétique Médicale, Institut Pasteur de Tunis, Tunisie ; amouri.ahlem@pasteur.rns.tn ; (2) Laboratoire d'Histologie Embryologie, Faculté de Médecine de Sfax, Tunisie, (3) Laboratoire de Biologie de la Reproduction, Hôpital Aziza Othmana, Tunis, Tunisie

Des anomalies de structure du chromosome Y, découvertes chez 4 patients infertiles par un caryotype conventionnel, ont été confirmées et précisées par une analyse en Hybridation *In Situ* Fluorescente (FISH). Il s'agit de trois hommes porteurs d'une anomalie de structure du chromosome Y : 2 découverts lors d'un bilan d'infertilité, 2 porteurs d'un isodicentrique pour le bras court de l'Y, l'autre ayant une délétion du bras long de l'Y. Le quatrième, contestant sa paternité, est porteur d'un isodicentrique du bras long. Les résultats obtenus par FISH avec une sonde centromérique de l'X, une sonde centromérique de l'Y et une sonde de l'hétérochromatine de l'Y ont permis : – de confirmer et préciser les remaniements de structure ; – de corriger dans certains cas la formule chromosomique déterminée par cytogénétique conventionnelle ; – et enfin, grâce à l'analyse rapide et facile d'un nombre important de cellules, d'évaluer correctement les différentes populations cellulaires dans les syndromes en mosaïque. Les informations apportées par les techniques de FISH dans ces observations démontrent bien leur intérêt dans la précision du diagnostic cytogénétique.

Mots-clés : chromosome Y, FISH, Infertilité.

■P116 / 502. CARACTÉRISATION MOLÉCULAIRE DE DÉLÉTIONS XP TERMINALES PAR LES TECHNIQUES DE M-BANDING ET DE CGH-ARRAY DANS QUATRE FAMILLES

C. Leroy (1), E. Landais (1), V. Sulmont (2), A. Hecart (3), H. Grulet (3), N. Michel (1), N. Gruson (1), S. Clomes (1), M. Mozelle (1), J. Motte (2), D. Gaillard (1), M. Doco-Fenzy (1)

(1) Service de Génétique, CHU Reims, UFR Médecine IFR53, Reims, France ; (2) Service de Pédiatrie, American Memorial Hospital, CHU Reims, Reims, France ; (3) Service d'Endocrinologie, CHU Reims, Reims, France

Introduction : Les délétions du bras court du chromosome X (Xp) sont diagnostiquées dans environ 6 % des syndromes de Turner. Le phénotype est probablement lié à l'haploinsuffisance de gènes dans la région déléetée, mais la relation entre la taille de la délétion et le phénotype reste non évaluée. Nous avons étudié la taille de la délétion terminale Xp observée dans quatre familles. **Matériel et Méthodes :** Nous rapportons ici les phénotypes et les données biologiques de huit sujets féminins porteurs d'une délétion Xp. Les délétions ont été diagnostiquées en cytogénétique par les techniques de R et G-Banding avec une résolution de 400 bandes. Ces analyses ont été complétées par la technique de M-Banding (Metasystems-Althusseim-Allemagne) spécifique du chromosome X. Les résultats ont été ultérieurement précisés par la méthode de CGH-Array (comparative genomic hybridization array). Nous avons utilisé une puce académique BAC-PAC de résolution 1 Mb et suivi le protocole préconisé par l'équipe de Leuven qui produit ces puces. Les ADN ont été testés par la méthode en triangle. Les lames ont été lues sur un scanner Axon et les données analysées avec le logiciel genepix pro 6.0. Les résultats ont été interprétés avec le logiciel arrayCGHbase software (J.Vermeesch-Leuven). **Résultats :** Les études cytogénétiques ont permis d'identifier les points de cassure suivants sur le bras p de l'X : del(X)(p22.2), del(X)(p21.3), del(X)(p11.4), der(X)(qter->p22.2 :>q22->qter) respectivement dans les familles 1, 2, 3 et 4. La CGH-Array a permis de mesurer la taille des délétions Xp : 7,5 Mb, 20,3 Mb, 24,2 Mb et 9,5 Mb respectivement dans les familles 1, 2, 3 et 4. **Discussion :** Aucune des huit patientes ne présentait de retard mental. Leur signe clinique commun était la petite taille lorsqu'elle était présente (taille adulte entre 1,40 m et 1,64 m). La région de SHOX était déléetée chez chacune d'entre elles. La CGH-Array a permis une comparaison de chaque association génotype-phénotype. Une importante variabilité interindividuelle et intrafamiliale a été observée, liée à des paramètres comme la taille de la délétion, le biais d'inactivation de l'X ou des délétions ou disruptions de gènes. Nos données ne montrent aucune corrélation entre la taille adulte des patientes et la longueur de leur délétion, cependant il n'y a encore que peu de données dans la littérature. Ces analyses demandent à être élargies afin de préciser leur intérêt dans la prise en charge thérapeutique de ces femmes porteuses d'une délétion Xp terminale.

Financement : PHRC-2005-CHU-Reims.

Mots-clés : délétion Xp terminale, CGH-Array, syndrome de Turner.

■P117 / 511. DÉLÉTION INTERSTITIELLE CHROMOSOMIQUE 2P21 EMPORTANT SIX3 CHEZ UN FŒTUS PRÉSENTANT UNE ATELENCÉPHALIE ET UNE QUASI-CYCLOPIE

C. Dupont (1, 2), S. Khung (3), A. Aboura (1), D. Handelsman (1), E. Vuillard (4), C. Huel (4), E. Pipiras (2), F. Guimiot (3), D. Le Tessier (5), A. Delahaye (2), S. Kanafani (2), B. Benzacken (1, 2), A.L. Delezoide (3) et A.C. Tabet (1)

(1) *Unité fonctionnelle de Cytogénétique, Hôpital Robert-Debré, AP-HP, Paris, France*; (2) *Service d'Histologie Embryologie Cytogénétique et Biologie de la Reproduction, Hôpital Jean-Verdier, AP-HP, Bondy, France*; (3) *Service de Biologie du Développement, Hôpital Robert-Debré, AP-HP, Paris, France*; (4) *Service de Gynécologie Obstétrique, Hôpital Robert-Debré, AP-HP, Paris, France*; (5) *Service Histologie Embryologie Cytogénétique, Hôpital Cochin, AP-HP*; *Université Paris-Descartes, Faculté de Médecine*; *Unité INSERM U709*; *France*; 75014; Paris, France

Introduction : L'holoprosencéphalie est l'anomalie du développement cérébral antérieur la plus fréquente chez les humains avec une prévalence de 1/16000 nouveau-nés. Plusieurs gènes ont été impliqués dans la constitution de cette malformation (*SHH, ZIC2, SIX3, TGIF, GLI2...*). Nous rapportons le cas d'un fœtus polymalformé de 25 SA présentant notamment une holoprosencéphalie sévère. **Matériel et méthodes :** L'examen fœtopathologique réalisé après interruption médicale de grossesse à 25 SA a permis de décrire précisément l'ensemble malformatif dont souffrait ce fœtus. Un caryotype a été réalisé de principe sur le sang fœtal et a mis en évidence une anomalie chromosomique. C'est en cytogénétique moléculaire que le diagnostic a été précisé, à l'aide de sondes commerciales (peinture du chromosome 2, sondes subtelomériques 2p et 2q) et d'une sonde spécifique fabriquée à partir du BAC RP11-3H18 (2p21). **Résultats :** L'examen fœtopathologique a retrouvé un fœtus de sexe féminin, eutrophe, présentant une holoprosencéphalie sévère avec quasi-cyclopie et atelencéphalie. On note par ailleurs de discrètes anomalies cardiaques et urogénitales. Le caryotype fœtal a mis en évidence une délétion interstitielle 2p21p22 homogène. Cette anomalie a été précisée en cytogénétique moléculaire avec l'hybridation *in situ* en fluorescence (FISH) de plusieurs sondes : 1) une peinture du chromosome 2 a permis d'éliminer l'implication d'une autre paire chromosomique dans ce remaniement, 2) les sondes des extrémités subtelomériques du chromosome 2 (Tel2p/2q) ont en place confirmant la présence d'une délétion interstitielle, 3) et enfin il existe une délétion du BAC RP11-3H18 emportant le gène *SIX3* situé en 2p21. Un caryotype et une FISH du gène *SIX3* ont été réalisés chez les parents et n'ont montré aucune anomalie. Par ailleurs des BACs spécifiques de la région ont confirmé l'absence de microinversion parentale pouvant favoriser la survenue de remaniements interstitiels. **Discussion :** Plusieurs gènes sont impliqués dans la physiopathologie de l'holoprosencéphalie. Concernant *SIX3*, plusieurs cas de mutations sont rapportés avec une large variabilité phénotypique. Toutefois, certains auteurs suggèrent que les mutations ou délétions de *SIX3* sont associées à une holoprosencéphalie plus sévère que lorsque les autres gènes sont en cause, notre observation semble le confirmer. De plus, *SIX3* impliqué dans le développement des yeux, semble être le premier gène à tester lorsqu'on observe une holoprosencéphalie associée à une malformation oculaire (quasi-cyclopie ici). À notre connaissance, peu de cas de délétions cytogénétiques emportant *SIX3* ont été rapportées. Bendavid *et al.*, en 2006, rapportent 2 cas de microdélétions cryptiques 2p21 emportant *SIX3*. Quelques délétions interstitielles plus larges ont également été décrites. Une corrélation génotype-phénotype du syndrome malformatif de ce fœtus sera discutée en comparant notre cas à ceux de la littérature. Les délétions interstitielles sont des remaniements rares qui peuvent être favorisés par la présence de séquences répétées dans le génome (duplicons, low copy repeat,...). Il existe des duplications segmentaires en 2p22.2, 2p22.1 et 2p21 qui pourraient être à l'origine de cette délétion par l'intermédiaire de NAHR (non allelic homologous recombination).

Mots-clés : holoprosencephalie, *SIX3*, 2p21.

■P118 / 529. INSUFFISANCE OVARIENNE PRÉMATURÉE CHEZ UNE JEUNE FILLE DE 14 ANS PRÉSENTANT UN ISODICENTRIQUE DU CHROMOSOME X EN MOSAÏQUE

D. Handelsman (1), A.C. Tabet (1), C. Dupont (1, 2), C. Kanengiesser (3), B. Gérard (1), A. Paulsen (5), C. Huguet-Nedjar (1), A. Verloes (1), A. Delahaye (2), E. Pipiras (2), C. Pignal (1), M.A. Thaly (1), B. Grandchamp (3), B. Benzacken (1, 2), A. Aboura (1)

(1) *Unité de Génétique, Hôpital Robert-Debré, AP-HP, Paris, France*; (2) *Service d'Histologie Embryologie Cytogénétique et Biologie de la Reproduction, Hôpital Jean-Verdier, AP-HP, Bondy, France*; (3) *Service de*

Biochimie, Hôpital Bichat, AP-HP, Paris, France; (5) *Service d'Endocrinologie, Hôpital Robert-Debré, AP-HP, Paris, France*

Introduction : L'insuffisance ovarienne prématurée (IOP) se définit par une aménorrhée de plus de six mois, survenant avant l'âge de 40 ans, avec sur le plan biologique des gonadotrophines élevées (FSH>40 UI/L) et une hypostrogénie. Deux régions chromosomiques sont impliquées dans les IOP, POF1 (Premature Ovarian Failure 1) en Xq26-28 et POF2 en Xq13-21. Nous rapportons le cas d'une jeune fille présentant une IOP avec une trisomie partielle Xp et une monosomie partielle Xq en mosaïque. **Patient :** La patiente est âgée de 14 ans. Elle consulte pour un retard staturo-pondéral et pubertaire avec aménorrhée primaire. La FSH est de 75UI/L, LH est de 12 UI/L. **Matériel et méthodes :** Un caryotype standard et un caryotype en haute résolution ont été réalisés. Des techniques de cytogénétique moléculaire (FISH) ont été effectuées en utilisant des sondes de peinture du chromosome X, du centromère du chromosome X, des régions subtelomériques Xpter/Xqter ainsi qu'une série de BACs étagés entre Xq23 et Xq27.3. Des techniques de génétique moléculaire ont permis d'étudier le biais d'inactivation de l'X en utilisant le gène du récepteur aux androgènes (HUMARA). **Résultats :** Le caryotype standard retrouve deux populations cellulaires : une majoritaire 45, X et une minoritaire présentant deux chromosomes X dont un de taille anormalement grande. Le caryotype des parents est normal. La FISH retrouve un chromosome X anormal. Il s'agit d'un isodicentrique présentant une délétion de la région Xq26.3-Xqter emportant POF1 et une duplication de la région Xpter-Xq26.2. La population 45,X est de 85 %. L'étude par génétique moléculaire a démontré l'existence d'un biais d'inactivation du chromosome X dans la population 46, X, idic(X). En effet le chromosome X d'origine paternelle est toujours inactivé. Hors, le caryotype haute résolution a montré que le chromosome inactif est toujours le X dicentrique. On peut donc déduire que ce chromosome dicentrique est d'origine paternelle. **Discussion :** Nous rapportons le cas d'une jeune fille de 14 ans qui présente des signes d'insuffisance ovarienne prématurée. Nous tenterons d'établir une corrélation génotype-phénotype en comparant notre cas à ceux de la littérature (notamment ceux rapportés dans la revue de Tsai *et al.*, 2006). Les patientes qui présentent une IOP et un isodicentrique du chromosome X sont rares. Les mécanismes de formation du chromosome X dicentrique et l'implication de l'origine parentale seront discutés.

Mots-clés : insuffisance ovarienne prématurée, isodicentrique, origine parentale.

■P119 / 535. TRISOMIE SUBTELOMÉRIQUE XQ/YQ : ANOMALIE CAUSALE OU VARIANT ?

C. Michot (1), I. El Kamel-Lebbi (1), M. Mirc (2), M.L. Moutard (3), M.-P. Beaujard (1), J.-L. TAILLEMITTE (1), J.-P. SIFFROI (1), M.F. PORTNOÏ (1)

(1) *Service de Génétique et Embryologie Médicales, CHU Trousseau, Paris 12*; (2) *Service de Pédiatrie, CH Montreuil*; (3) *Service de Neuropédiatrie, CHU Trousseau, 75012 Paris, France*

Introduction : De nombreuses publications ont montré que l'analyse des régions subtelomériques, en FISH ou en MLPA, détectait des remaniements infracytogénétiques chez 3 à 7 % des patients avec retard mental. Cependant, un certain nombre d'anomalies dépistées se sont avérées héritées de parents phénotypiquement normaux, et ont été considérées comme des polymorphismes. Récemment, des études en CGH array rapportent que 10 % des déséquilibres découverts sont hérités d'un parent phénotypiquement normal, et la majorité des loci impliqués n'ont jamais été décrits comme polymorphiques [Ravel *et al.*, 2006 et Balikova *et al.*, 2007]. Les auteurs ne réfutent pas l'implication de ces remaniements hérités dans le phénotype. Plusieurs hypothèses sont avancées pour expliquer la différence phénotypique entre le parent et l'enfant. Ainsi, la découverte d'une anomalie subtelomérique chez un propositus, peut-elle poser un réel problème de conseil génétique, en post ou prénatal. **Observation :** Nous rapportons une nouvelle observation illustrant cette difficulté d'interprétation. Un caryotype standard, chez une petite fille avec dysmorphie faciale, troubles neurologiques et agénésie du corps calleux, montre un aspect particulier d'un bras court de chromosome 15, évoquant un variant ou un remaniement semi-cryptique. Une étude tous télomères en FISH (ToTelVision, Vysis®) révèle la présence de trois signaux avec la sonde Xq/Yq, située dans la région pseudoautosomale 2 (PAR2), dont un signal sur le 15p. Le caryotype est interprété : 46,XX,der(15)t(15)(X;15)(qter;p12)(Xqter+). Le phénotype de l'enfant est ainsi initialement rapporté à une probable disomie fonctionnelle Xq28. Le caryotype paternel est normal ; celui de la mère révèle un chromosome 15 identique à celui de sa fille, évoquant chez elle, une translocation semi-cryptique (Xq;15p), avec transmission déséquilibrée mère-fille. Mais l'examen tous télomères de la mère donne un résultat identique à celui de la fille, avec un troisième signal Xq/Yq sur le 15p. Un variant de la PAR2 consistant en une duplication du BAC



RP11-479B17 (PAR2) a été répertorié dans la base de données des variants génomiques de Toronto (<http://projects.tcag.ca/variation>) [Sharp *et al.*, 2005]. Ces résultats nous ont incité à rechercher un variant 15p+, dérivant d'une éventuelle translocation t(Y;15) survenue chez le grand-père maternel ; celle-ci a été confirmée par le résultat de l'hybridation avec une sonde Yqh (DYZ1, Qbiogene®), marquant effectivement le 15p. Le caryotype de l'enfant est finalement : 46,XX,der(15)t(Y;15)(q12;p12)(Yqter+,Yqh+). Le signal Xq/Yq sur le 15p+ est donc un variant hérité, a priori sans relation avec le phénotype. Conclusion : Notre cas illustre une nouvelle fois le fait que tous les déséquilibres découverts à l'analyse subtélomérique ne sont pas obligatoirement responsables de troubles phénotypiques. Toute anomalie subtélomérique identifiée impose donc la prudence, surtout lorsque l'analyse des parents n'est pas disponible et que l'anomalie n'est pas un remaniement récurrent connu.

Mots-clés : remaniement subtélomérique, variant chromosomique, translocation t(Y;15).

■P120 / 541. TRANSLOCATION DÉSÉQUILIBRÉE (X;5) DE NOVO CONDUISANT À UNE MONOSOMIE 5P ET UNE DISOMIE FONCTIONNELLE XQ27-QTER CHEZ UN GARÇON PRÉSENTANT UNE ENCÉPHALOPATHIE SÈVÈRE

A. Aboura (1), A.-C. Tabet (1), I. Husson (2), S. Drunat (1), K. Krabchi (1, 3), F. Guimiot (1), D. Handelsman (1), A. Delahaye (1), B. Benzacken (1), M.A. Thaly (1), C. Dupont (1), C. Baumann (1), A. Verloes (1)
(1) Département de Génétique, Hôpital Robert-Debré, Paris ; (2) Service de Neurologie Pédiatrique, Hôpital Robert-Debré, Paris ; (3) Département de Génétique, Hôpital Fleurimont, Sherbrooke, Canada

Introduction : Les disomies fonctionnelles de la région Xq résultant d'une translocation déséquilibrée entre le bras long d'un chromosome X et un autosome sont rares. Elles entraînent un retard mental et un retard d'acquisition motrice. Nous rapportons ici une observation de disomie fonctionnelle Xq par translocation déséquilibrée entre le bras long d'un chromosome X et l'extrémité du bras court d'un chromosome 5. **Patient** : Il s'agit du deuxième enfant d'un couple non consanguin sans antécédent particulier, âgé de 11 ans qui présente une dysmorphie faciale (épicanthus, brachycéphalie, nez court, narines antéversées, philtrum long), un hypogonadisme avec hypoplasie scrotale, un retard staturo-pondéral et une microcéphalie. Il présente par ailleurs une hypotonie axiale majeure, une absence de langage et des épisodes assez fréquents d'infection pulmonaire (encombrement bronchique fréquent nécessitant une antibiothérapie et une kinésithérapie), un écart entre le gros orteil par rapport aux autres orteils et une constipation opiniâtre. L'examen IRM retrouve une leucodystrophie accompagnée d'une hypoplasie du corps calleux avec une atrophie vermienne. L'enfant présentait également une hypothyroïdie frustrée à la naissance. **Méthodes** : Un caryotype standard, une étude par MLPA et par FISH télomérique (Total Vysis) ont été réalisés à la recherche de remaniements chromosomiques. Une étude par CGH-array et une analyse de la méthylation de l'ADN du chromosome X vont être effectuées. **Résultats** : Le caryotype standard ne montre pas d'anomalie chromosomique apparente. L'étude par MLPA retrouve une duplication Xqter (région PAR2) et une monosomie 5pter. L'analyse FISH avec la sonde spécifique de la région subtélomérique 5p (Total mix 5, Vysis) montre une délétion de cette région sur le der(5), alors que l'analyse avec la sonde Cri du chat (LSI 5p13.2 Vysis) montre que ce locus est conservé. L'étude précise de la taille des régions délétée et dupliquée, par la technique d'hybridation génomique comparative (CGH) sur puce à ADN est en cours. **Conclusion** : Nous rapportons le cas d'un enfant de 11 ans qui présente une encéphalopathie grave non convulsive, une microcéphalie, une hypoplasie du corps calleux, une atrophie vermienne et une dysmorphie faciale modérée associées à une translocation déséquilibrée (Xq;5p) de novo. Le tableau clinique est comparable avec la duplication du gène *MECP2*. Nous comparerons le phénotype de l'enfant à celui des cas déjà publiés présentant une duplication du gène *MECP2* par disomie fonctionnelle de l'X et nous discuterons l'éventuelle implication de la délétion 5p terminale.

Mots-clés : disomie fonctionnelle, translocation X, autosome, duplication de *MECP2*.

■P121 / 546. TÉTRASOMIE 8P RÉSULTANT D'UN MARQUEUR SURNUMÉRAIRE EN POSTNATAL

N. Aouchiche (1), K. Krabchi (2, 3), M. L. Motard (4), M. Hully (4), A. C. Tabet (3), A. Marc (3), B. Benzacken (3, 5), C. Dupont (3, 5), D. Handelsman (3), A. Verloes (3), L. Burglen (4), et A. Aboura (3)
(1) Faculté Agro-vétérinaire et Biologique Université Saad Dahlab, Blida, Algérie ; (2) Département de Génétique Médicale, hôpital Fleurimont, Sherbrooke, Canada ; (3) Service de génétique et de cytogénétique, Hôpital Robert-Debré, France ; (4) Service de génétique et de cytogénétique,

Hôpital Trousseau, France ; (5) Service de génétique et de cytogénétique, Hôpital Jean-Verdier, France

Introduction : La tétrasomie 8 p a été décrite pour la première fois par Kristefferson en 1988. C'est un syndrome chromosomique rare puisque seulement 14 cas ont été rapportés dans la littérature, dont 13 retrouvés en mosaïque et un cas seulement à l'état homogène (tétrasomie 8p pure). Nous rapportons un cas de tétrasomie 8p en mosaïque avec agénésie complète du corps calleux et un retard de croissance. Nous discutons, à la lumière des données rapportées dans la littérature, de la corrélation existante entre le génotype et le phénotype. **Patient** : Il s'agit du deuxième enfant d'un couple non consanguin sans antécédent particulier, âgé de 9 mois qui présente une dysmorphie faciale (un épicanthus, un hypertélorisme, un micrognathisme, et un strabisme convergent de l'œil droit) avec plagiocéphalie. Elle présente par ailleurs une hypotonie axiale, des plis capitonés au niveau des mains. Elle présente une agénésie du corps calleux et une communication intraventriculaire. **Matériels et méthodes** : Caryotype standard en bandes R et G ; Technique Multiplex ligation dépendant amplification Probe (MLPA) : SALSA P036B, P070. Cytogénétique moléculaire : Les sondes utilisées : sonde de peinture chromosomique WCP 8 ; sonde subtélomérique du chromosome 8 : 8pter/8qter ; sonde alpha satellite du chromosome 8. **Résultats** : L'analyse cytogénétique préliminaire a montré un caryotype normal. L'analyse des réarrangements chromosomiques de la région subtélomérique par MLPA a mis en évidence un gain de la région subtélomérique du bras court du chromosome 8. En augmentant l'analyse des mitoses sur 20 cellules, un marqueur chromosomique surnuméraire a été retrouvé sur 2/20 cellules ; l'hybridation *In Situ* sur 100 cellules avec les sondes alpha satellite, subtélomérique, et peinture du chromosome 8, a confirmé que ce marqueur dérivait du chromosome 8. Le caryotype des parents est normal. **Discussion et conclusion** : Nous avons rapporté le cas d'un marqueur surnuméraire dérivé du chromosome 8 chez une fille présentant une agénésie du corps calleux et une malformation cardiaque ; La Tétrasomie 8p est une anomalie rare, rencontrée le plus souvent en mosaïque, le marqueur chromosomique est toujours retrouvé dans les lymphocytes. Nous soulignons l'intérêt de réaliser un caryotype pour la recherche étiologique d'une ACC en période anténatale ou à la naissance avec recherche spécifique d'une trisomie 8 en mosaïque par hybridation *in situ* (HIS). l'examen cytogénétique, tout comme l'IRM (imagerie à résonance magnétique) cérébrale sont des examens indispensables du bilan d'une ACC, pouvant orienter la prise en charge médicale.

Mots-clés : tétrasomie 8p, agénésie du corps calleux, FISH.

■P122 / 552. TÉTRASOMIE 12P EN MOSAÏQUE CHEZ UNE FILLE DE 12 ANS PRÉSENTANT DES ANOMALIES DE LA PIGMENTATION ET SANS DYSMORPHIE

A. Aboura (1), A.-C. Tabet (1), K. Krabchi (2), C. Pignal (1), C. Dupont (1), B. Benzacken (1), A. Verloes (1)
(1) Département de Génétique, Hôpital Robert-Debré, Paris Service of Medical Genetics, Department of Pediatrics, University of Sherbrooke ; (2) Fleurimont hospital, 3001, 12th North avenue, # 1428, Sherbrooke, QC, J1H 5N4 Canada

Introduction : L'hypomélanose de ITO est un phénotype dermatologique témoignant d'une mosaïque habituellement chromosomique. Elle est caractérisée par des alternances de bandes de peau hypo- et normopigmentées suivant les lignes de Blaschko. Ces lésions cutanées sont associées dans plus de 50 % des cas à des manifestations neurologiques (retard mental, épilepsie, autisme), oculaires, squelettiques ou autres. Sur le plan cytogénétique, de nombreux mosaïcismes cellulaires avec anomalies cytogénétiques variées ont été décrits. Le syndrome de Pallister-Killian ou tétrasomie 12p en mosaïque associe une dysmorphie faciale caractéristique, des anomalies de pigmentation cutanée, des malformations viscérales, un retard mental profond avec épilepsie. Il est dû à la présence d'un marqueur surnuméraire, interprété comme un isochromosome 12p. Nous décrivons un cas de tétrasomie 12p en mosaïque chez une fille sans dysmorphie qui présente uniquement un retard mental léger, et des troubles de la pigmentation. **Patient** : La patiente est âgée de 12 ans et est la deuxième d'une fratrie de deux enfants. Elle est née à terme. Les parents ne sont pas apparentés et sont d'origine Nigérienne. Le père est l'aîné d'une fratrie de 2. Il a présenté des crises convulsives jusqu'à l'âge de 12 ans. La maman est sans particularité. Le frère aîné de la patiente est décédé à l'âge de 7 ans dans un contexte de convulsions fébriles. Elle consulte en Neurologie pour des crises convulsives et une anomalie de pigmentation faisant évoquer un diagnostic d'hypomélanose de Ito. **Méthodes** : Caryotype sur fibroblastes : biopsie sur peau pigmentée et non pigmentée, ainsi qu'un caryotype standard sur sang périphérique et une étude par la cytogénétique moléculaire FISH : WCP 12 et centromère du 12 ont été effectués. La FISH a été réalisée sur culture de fibroblastes, culture de sang, sur urines et sur un frottis buccal. **Résultat** : Le

caryotype sanguin retrouve une formule 46,XX normale alors que sur la culture de peau, on met en évidence un marqueur chromosomique surnuméraire en mosaïque. L'Hybridation in Situ avec les sondes alpha satellite, et peinture du chromosome 12, a confirmé que ce marqueur dérivait du chromosome 12. Ce marqueur est présent sur la peau, sur l'urine, et le frottis buccal et est absent sur le sang. Le caryotype des parents est normal Discussion et conclusion : Il s'agit d'un phénotype rare du syndrome de PKS. Cette patiente présente un syndrome PK cytogénétique sans les caractéristiques phénotypiques habituellement décrites dans ce syndrome.

Mots-clés : syndrome de pallister de killian, hypomélanose de Ito, absence de dysmorphie.

■P123 / 554. TRANSLOCATION DÉSÉQUILBRÉE (9;16) DE NOVO CHEZ UN GARÇON AYANT UN PHÉNOTYPE ÉVOQUANT UNE TRISOMIE 9

L. Rifai (1, 2), A. Aboura (1), S. Chafai Elalaoui (2), L. Bouffard (1), B. Benzacken (1), A.-C. Tabet (1), C. Dupont (1), K. Krabchi (1, 3), A. Verloes (1), A. Sefiani (2)

(1) Département de Génétique, Hôpital Robert-Debré, Paris ; (2) Département de Génétique Médicale, Institut national d'Hygiène, Rabat, Maroc ; (3) Service of Medical Genetics, Department of Pediatrics, University of Sherbrooke, Fleurimont hospital, CHUS 3001, 12th North avenue, # 1428, Sherbrooke, QC J1H 5N4, Canada

Nous rapportons le cas d'un garçon âgé de 9 ans, issu de parents bien portants et non consanguins. Il est le septième d'une fratrie de 7, né au terme d'une grossesse marquée par un oligoamnios. L'accouchement était dystocique avec notion de souffrance néonatale. L'enfant est adressé en consultation de génétique pour dysmorphie faciale et retard des acquisitions. Un bilan biologique a été effectué. Le caryotype standard révèle la présence d'un matériel excédentaire au niveau du bras court du chromosome 16. L'exploration par FISH, utilisant des sondes de peinture totale du 16 (WCP16) et des sondes télomériques a permis d'identifier le remaniement chromosomique. Le caryotype de l'enfant est : 46,XY,ish der(16)t(9;16)(p23;p13)(WCP9+,tel9p+,tel16p-,RP11-75p12+). Ce remaniement est *de novo*. Sur le plan clinique, le patient présente des signes évocateurs de la trisomie 9p. Il est revu régulièrement en consultation de génétique et adressé au neuropédiatre pour ses troubles du comportement à type d'autisme. Une étude par CGH est souhaitable afin de déterminer précisément les points de cassures et mieux caractériser le remaniement. Une corrélation phénotype-génotype est discutée et comparée aux cas rapportés dans la littérature

Mots-clés : trisomie 9p, translocation déséquilibrée, 16p+.

■P124 / 556. TÉTRASOMIE 9P RÉSULTANT D'UN MARQUEUR SURNUMÉRAIRE EN POSTNATAL

N. Benmansour (1), A. Aboura (2), A. C. Tabet (2), L. Druart (3), I. Baatout (2), A. Verloes (2)

(1) Service de Pédiatrie, Oran Algérie ; (2) Service de génétique et de cytogénétique, Hôpital Robert-Debré, France 3 Département de cytogénétique, laboratoire LCL Paris, France

Introduction : Le premier cas de tétrasomie 9p a été décrit par Ghymers en 1973. Depuis, environ 50 cas ont été rapportés de tétrasomie 9p homogène ou en mosaïque. Nous rapportons un cas de tétrasomie 9p en mosaïque chez un enfant de 3 ans qui présente un retard psychomoteur, une dysmorphie faciale et une atrophie cortico-sous-corticale. Patient : Il s'agit du deuxième enfant d'un couple non consanguin sans antécédent particulier, âgé de 3 ans qui présente une dysmorphie faciale (oreilles bas implantées, front haut, ensellure nasale, philtrum court, lèvres tombantes et bosses frontales), des syndactylies des orteils II et III. Il présente par ailleurs une hypotonie axiale, un retard psychomoteur, un retard important de langage et des épisodes assez fréquents de bronchiolite. L'examen échographique transfontanellaire retrouve une atrophie cortico-sous-corticale. Matériels et méthodes : Caryotype standard en bandes R, G, et C. Cytogénétique moléculaire : sonde de peinture chromosomique WCP 9 et sonde alpha satellite du chromosome 9 ont été utilisées pour l'analyse en FISH. Résultat : Le caryotype retrouve un marqueur surnuméraire en mosaïque (16 cellules sur 25). La formule chromosomique est 47,XY,+idic(9p)(pter->q13 : :q13->pter)[16]/46,XY[9] La FISH confirme que ce marqueur, étant un isochromosome 9p, est retrouvé dans 60 % des cellules. Le caryotype des parents est normal. Conclusion : Nous rapportons le cas d'un enfant de 3 ans qui présente un retard psychomoteur, une dysmorphie faciale, une atrophie cortico-sous-corticale associés à une tétrasomie 9p en mosaïque *de novo*. Nous comparerons le phénotype de l'enfant à celui des cas déjà publiés présentant une tétrasomie 9p en mosaïque.

Mots-clés : anomalies multiples, tétrasomie 9p, FISH.

■P125 / 560. DÉLÉTION INTERSTITIELLE DU CHROMOSOME 2Q31-Q33 ASSOCIÉE À DES SIGNES DE DYSPLASIE ECTODERMIQUE

L. Rifai (1, 2), M. Port Lis (3), I. Bailleul-Forrestier (4), A. Aboura (5), A.-C. Tabet (5), C. Dupont (5), N. Hervy (5) B. Benzacken (5), A. Verloes (2, 6)

(1) Département de Génétique Médicale, Institut National d'Hygiène, Rabat, Maroc ; (2) Unité de Génétique Clinique, AP-HP Hôpital Robert-Debré, Paris, France ; (3) Service de Stomatologie, AP-HP Hôpital Robert-Debré, Paris, France ; (4) Département de Pédiatrie, CHU Pointe-à-Pitre-Abyrne, Guadeloupe, France ; (5) Unité de Cytogénétique, AP-HP Hôpital Robert-Debré, Paris, France ; (6) INSERM U676, AP-HP Hôpital Robert-Debré, Paris, France

Nous rapportons le cas d'une patiente avec une délétion interstitielle du bras long du chromosome 2. Elle a présenté un retard de croissance intra-utérin et postnatal. Elle a un retard mental sévère. Le tableau clinique associe une microcéphalie, une dysmorphie faciale, une fente labio-palatine, une camptodactylie bilatérale, un pied bot varus équin gauche. Elle a présenté également des cheveux cassants, fins et éparés, de croissance très lente, une oligodontie concernant principalement les prémolaires, une dysplasie des couronnes des molaires et une anomalie majeure des bases osseuses des dents. Par ailleurs, la transpiration est normale et il n'y a pas de dysplasie unguéale. Ces signes dermatologiques sont en faveur d'un diagnostic de dysplasie ectodermique. Nous présentons une cartographie précise de la délétion en utilisant des techniques de FISH et de CGH-array à 4890 BAC (IntegraGen, Evry), et comparons nos résultats aux cas précédemment décrits. Notre patiente confirme l'existence d'un syndrome microdélétionnel reconnaissable de la région 2q32, rapporté initialement par Van Buggenhout *et al.* (Eur J Med Genet. 2005;48 :276-89). Ceci indique la présence vraisemblable d'un locus de dysplasie ectodermique dans la région 2q 31q33. Nous recommandons de rechercher la délétion 2q32 en cytogénétique classique et/ou moléculaire chez les patients ayant un retard mental sévère avec dysplasie ectodermique associée à des anomalies dentaires et des cheveux.

Mots-clés : dysplasie ectodermique, délétion 2q32, CGH-array.

■P126 / 564. ÉTUDE CYTOGÉNÉTIQUE D'UNE DÉLÉTION 11Q TERMINALE ET CORRÉLATION GÉNOTYPE-PHÉNOTYPE

P. Mabboux (1), S. Brisset (1), C. Oheix (1), M.L. Maurin (1), P. Folliot (1), P. Labrune (2), S. Serero (3), G. Tachdjian (1)

(1) Service d'Histologie Embryologie Cytogénétique, INSERM U782, Université Paris XI, Hôpital Antoine Béchère, APHP, Clamart ; (2) Service de Pédiatrie et Génétique, Hôpital Antoine Béchère, APHP, Clamart ; (3) Département de Cytogénétique, laboratoire BCM, Evreux, France

La délétion terminale du bras long du chromosome 11 correspond au syndrome de Jacobsen. Le point de cassure est généralement observé en 11q23.3 et il n'existe pas de délétion intercalaire. Nous rapportons l'observation d'un enfant de 8 mois adressée en consultation de génétique pour hypotonie, dysmorphie faciale, syndactylie des 4^e et 5^e orteils, thrombocytopénie transitoire et sténose du pylore. La grossesse a été marquée par un risque d'anomalie chromosomique évalué à 1/128 selon les marqueurs biologiques du deuxième trimestre. Le caryotype fœtal sur amniocytes cultivés a été interprété comme *a priori* normal 46,XX. L'échographie fœtale a montré, au terme de 26 SA, une biométrie normale avec une artère ombilicale unique et une pyélectasie. L'enfant est né au terme de 38 SA avec un poids de 2 330 g, un PC de 33,5 cm, et une taille de 45 cm. Devant l'association hypotonie, dysmorphie et thrombocytopénie, un caryotype (standard et haute résolution) a été refait en postnatal mettant en évidence une délétion 11q. Une étude cytogénétique en hybridation *in situ* a été réalisée en utilisant des sondes chromosomiques (BACs) localisées le long du bras long du chromosome 11, indiquant un point de cassure situé entre la sonde RP11-109E10 (11q24.1) et la sonde RP11-744N12 (11q24.3). La taille de la délétion est comprise entre 6 et 12 Mb. Les données de cette observation sont comparées aux délétions 11q décrites dans la littérature.

Mots-clés : délétion terminale 11q, syndrome de Jacobsen, corrélation génotype-phénotype.

■P127 / 567. TRISOMIE 11P ET MONOSOMIE 5P PAR TRANSLOCATION DÉSÉQUILBRÉE (5 ; 11) D'ORIGINE PATERNELLE CHEZ UN FŒTUS PRÉSENTANT UN PHÉNOTYPE DE BECKWITH-WIEDEMANN

A. Aboura, A.-C. Tabet, T. Yaden, M. Gérard-Blanquet, S. Drunat, I. Pasquier, J.-F. Oury, B. Benzacken, A. Verloes, A.-L. Delezoide, F. Guimiot



Centre pluridisciplinaire de diagnostic prénatal (Services de Cytogénétique, Biochimie génétique, Génétique clinique, Fœtopathologie et Gynécologie-Obstétrique), Hôpital Robert-Debré, Paris, France

Une amniocentèse est pratiquée chez une femme âgée de 31 ans, primipare, primigeste à 22 SA pour signes d'appel échographiques du 2^e trimestre : dilatation ventriculaire bilatérale, cervelet et corps calleux hypoplasiques, interposition constante de la langue et écartement du gros orteil bilatéral. Le caryotype fœtal montre une formule chromosomique déséquilibrée : excès de matériel chromosomique sur le bras court d'un chromosome 5. Les techniques de cytogénétique moléculaire montrent une trisomie 11p partielle et monosomie 5p terminale. La formule chromosomique est la suivante : 46,XY, der (5) t(5;11) (p15.3;p12).ish der (5) (WCP5+, WCP11+, tel 11p+, tel 11p+, IGF2+, WT1+, sonde du Cri du Chat+). Afin de préciser la région délétée au niveau de la portion terminale 5p, une étude par CGH-array est réalisée (puce 5 000 clones Integragen, Evry). Celle-ci montre que la taille de la délétion est d'environ 350 kb à partir de la région télomérique (délétion du BAC RP11-23A9 et conservation du BAC RP11-23G10). La formule chromosomique est : arr cgh 5p15.33(RP11-23A9)x1,11p13-pter(RP11 – 17F9->RP11-23G9)x3. Cette région contient 4 gènes, *CDSD127* (Coiled-Coil domain containing 127), *PDCD6* (programmed cell death 6), *SDHA* (succinate dehydrogenase complex, subunit A) et *KIAA1909* (hypothetical protein LOC153478 containing RhoGEF and PH domains). L'étude de l'origine parentale, par amplification génique *in vitro* (PCR) des marqueurs microsatellites, montre une duplication 11p13-pter d'origine paternelle. L'examen fœtopathologique retrouve une macrosomie, une macroglossie, une dilatation pyélorétérale gauche ainsi qu'une dilatation ventriculaire bilatérale modérée, une sténose de l'aqueduc de Sylvius et une hypoplasie des noyaux du pons. L'ensemble des données fœtopathologiques, de biologie et de cytogénétique moléculaires, montrant une duplication du gène *IGF2*, confirme le diagnostic de syndrome de Beckwith-Wiedemann (BWS). Néanmoins les anomalies cérébrales ne sont habituellement pas décrites dans le syndrome BWS et pourraient être en rapport avec la délétion d'un ou plusieurs gènes de la région télomérique du chromosome 5.

Mots-clés : syndrome de Beckwith-Wiedemann, CGH-array, hypoplasie des noyaux du pons.

■P128 / 575. DE NOVO TRANSLOCATION T (7;16) (P22.1;P11.2) N. Bayou (1), R. M'rad (1, 2)*, A. Belhaj (3), L. Ben Jemaa (1, 2), H. Daoud (4) S. Briault (4), M. B. Helayem (3), H. Chaabouni (1, 2) (1) Faculté de Médecine de Tunis, Laboratoire de Génétique Humaine, 15 rue Djebel Lakhdhar La Rabta, 1007 Tunis, Tunisie ; (2) Hôpital Charles Nicole, Service des Maladies Congénitales et Héritaires, Boulevard 9 Avril, 1007 Tunis, Tunisie ; (3) Hôpital Razi, Service de Pédiopsychiatrie, La Manouba, Tunisia ; (4) Faculté de Médecine de Tours, unité INSERM U619, 2bis, bd Tonnelé 37000 Tours, France

The High incidence of de novo chromosomal aberrations in a population of persons with autism suggests a causal relationship between certain chromosomal aberrations and the occurrence of isolated idiopathic autism. We report on the clinical and cytogenetic findings in a male patient with autism, no physical abnormalities and a *de novo* balanced (7,16) (p22.1;p16.2) translocation. G-banded chromosomes and fluorescent *in situ* hybridization (FISH) were used to examine the patient's karyotype as well as his parent's. FISH with specific RP11-BAC clones mapping near 7p22.1 and 16p11.2 were used to refine the location of the breakpoints. This is, in the best of our knowledge, the first report of an individual with autism and this specific chromosomal aberration.

Mots-clés : autism, *de novo* translocation, chromosome 7.

■P129 / 612. ANALYSE DES ANOMALIES ADDITIONNELLES DE 16 LIGNÉES DE LYMPHOME DE BURKITT PAR CYTOGÉNOMIQUE AVEC ACGH 244K

S. Toujani (1), P. Dessen (2), N. Itzhar (1), C. Tétaud (3), C. Richon (2), P. Léopoldie (4), S. Forget (4), J. Bosq (4), G. Danglot (1), J. Wiels (3), A. Bernheim (1, 4) (1) FRE 2939 CNRS et Université Paris XI ; (2) Unité de Génomique Fonctionnelle ; (3) UMR8126 CNRS et Université Paris XI ; (4) Pathologie Moléculaire, Institut de Cancérologie Gustave-Roussy, 94805 Villejuif, France

Les anomalies chromosomiques additionnelles aux translocations spécifiques de MYC dans les lymphomes de Burkitt (BL) sont détectées dans 70 % des cas. Leurs bases génétiques restent souvent mal connues. Elles constituent un facteur de mauvais pronostic. Ces altérations sont dans la plupart des cas déséquilibrées et se prêtent donc bien à une analyse fine par l'hybridation génomique comparative sur micro array (aCGH) de haute

résolution. Nous avons étudié 16 lignées de BL par aCGH pan-génomique de 244000 oligonucléotides Agilent en dye swap conjointement au caryotype et à la FISH. La résolution réelle obtenue a été d'environ 50 kb en moyenne. Des altérations de nombre de copies (CNA) ont été observées dans 15/16 lignées. Les gains ont intéressé 1q (9/16), 7q (6/16), 13q (6/16), 3q et 15q (4/16), suivi des régions 2p, 10q, 16q, 17q, 18q et 19q (3/16). Les régions minimales dupliquées pour 1q étaient 1q21.1q21.2 <142,56-146,66Mb> incluant le gène *BCL9* surexprimé dans les LAL de type B, 1q25.2q25.3<176,59-180,03Mb> et 1q44 <240,24-241,351Mb>. Les pertes ont été observées dans les régions suivantes : 3p (7/16), 4q (4/16), 6q (3/16), 16q (3/16), 18q (3/16), 9p (2/16), 13q (2/16) et 17p (2/16). Sur le 3p la région minimum était de 0,36 Mb en 3p14.2<60,28-60,64Mb> et entraînait la perte du 5^e exon du gène *FHIT*, gène suppresseur de tumeur dans de nombreux cancers. Une autre région fragile *WVOX* en 16q23 est aussi le siège de petites délétions, hors tout CNV connu et semble-t-il intronique. Sur 9p, la région minimum était de 0,65 Mb en 9p21.3p13.2<21,89-22,45Mb> et impliquant le gène *CDKN2A/p16*, autre gène suppresseur de tumeur. *P53* était aussi perdue dans BL41 et Ramos. Par le caryotype, la t(8;14) a été retrouvée dans 10 lignées (BL31, BL41, BL70, BLLAL, BLMER, NAMALWA, P3HR1, RAMOS, SALINA, SERAPHINA), une t(2;8) dans LY91 et une t(8;22) dans BL2, BL104, LY47, OKU, BL84. Dans cette dernière, la duplication d'un der(8)t(8;22)(q24;q11) a permis de localiser, par aCGH, le point de cassure de cette translocation récurrente avec une grande précision à 333 Kb télomérique de *MYC* (à environ 12-20 Kb près) confirmant les données de la biologie moléculaire. Les autres translocations équilibrées sont restées indétectables par l'aCGH haute résolution, sans même des petites délétions au point de cassure. Des remaniements complexes avec une discordance apparente entre caryotype et microarray ont été résolus par FISH, de même que certaines anomalies présentes dans une fraction des cellules. De nombreux locus polymorphes (CNV) mendéliens intéressent plusieurs régions chromosomiques ont été observés dans ces lignées. Des CNV acquis de tailles variées, détectés dans les gènes des IG, ont été retrouvés dans les 16 lignées (qui sont monoclonales). Le locus *IGH* (14q32) et le locus *IGLK* (2p11) étaient remaniés dans toutes les lignées, et *IGHL* (22q11) était remanié dans 9 lignées qui comprenaient les cinq t(8;22). Cette observation est cohérente avec le processus de maturation des Ig : remaniement d'IgH et d'IgK suivi, en cas d'échec de ce dernier d'un remaniement d'IgL. Les résultats de l'aCGH joints à ceux du caryotype et de la FISH démontrent la complémentarité entre les trois techniques dont l'ensemble permet d'avancer dans le décryptage des mécanismes de l'oncogénèse.

Mots-clés : lymphome de Burkitt, anomalies chromosomiques additionnelles, CGH array pan-génomique de 244 K, locus polymorphes, cartographie génique fine, gènes.

■P130 / 616. VARIABILITE PHÉNOTYPIQUE DES DÉLÉTIONS INTERSTITIELLES DU BRAS COURT DU CHROMOSOME 10

S. Whalen (1), C. Baumann (2), A. Aboura (3), J.-M. Levaillant (4), N. Chevalier (4), L. Druart (5), I. Giurgea (1)

(1) Dpt de génétique et INSERM U841 Equipe 11, Hôpital Henri Mondor, Créteil, France ; (2) Dpt de génétique médicale, Hôpital Robert-Debré, Paris, France ; (3) Dpt de cytogénétique, Hôpital Robert-Debré, Paris, France ; (4) Service de gynécologie et obstétrique, Hôpital privé Armand Brillard, Nogent-sur Marne, France ; (5) Dpt de cytogénétique, Laboratoire LCL, Paris, France

Introduction : La monosomie 10p partielle ou complète est une anomalie chromosomique rare, avec seulement une cinquantaine de cas rapportés à ce jour. Un phénotype proche de celui du syndrome de Di-George a été décrit chez certains patients avec des délétions 10p13-p14 définissant ainsi un deuxième locus de cette pathologie (DGS2). Cependant, le spectre phénotypique des patients avec des remaniements chromosomiques de cette région est très large. Ils peuvent présenter un retard psychomoteur et de croissance, des cardiopathies variées, une hypoparathyroïdie, un déficit en lymphocytes T, une surdité de perception ou des anomalies uro-génitales. Les signes dysmorphiques sont également divers. Devant l'absence de corrélation entre la taille et la localisation des délétions et le phénotype, deux régions différentes ont été décrites en 10p13-14 : HDRI (hypoparathyroidism, deafness, renal dysplasia) et DGS2 (cardiac defect, T cell deficiency), permettant des corrélations génotype-phénotype plus satisfaisantes, bien qu'encore imprécises. Afin de mieux définir le spectre phénotypique des patients avec une délétion interstitielle 10p, nous rapportons deux nouveaux cas pour lesquels nous allons caractériser les bornes de la délétion par une approche de biologie moléculaire. Patients : Le premier patient est un garçon âgé de 1 an, issu d'un couple non apparenté d'origine russe, sans antécédents familiaux. Le diagnostic de monosomie

10p12-p13 *de novo*, a été réalisé en anténatal devant la découverte d'une dilatation des ventricules cérébraux et d'une CIV. Il est né avec des mensurations normales et a développé une microcéphalie postnatale. Il présente une surdité, une CIV pérимembraneuse, un colobome choro-rétinien droit, une cryptorchidie bilatérale, une camptodactylie et une syndactylie 2-3 bilatérale des orteils. Il a une dysmorphie faciale marquée. Le développement psychomoteur est retardé avec une tenue assise instable à 13 mois, une hypotonie axiale et une hypertonie périphérique. L'IRM cérébrale met en évidence une ventriculomégalie, une hypoplasie du corps calleux, une hypoplasie cérébelleuse et une hypoplasie des voies optiques antérieures bilatérales. Le deuxième patient est une fille âgée de 1 an, née de parents algériens non apparentés, sans antécédents familiaux. À la naissance on note un retard de croissance homogène qui persiste en post natal avec une microcéphalie. Elle a une surdité de sévérité moyenne, sans malformation de l'oreille interne et une fuite aortique sans malformation valvulaire à l'échographie cardiaque. Elle présente une dysmorphie faciale et un retard de développement global avec une tenue assise à 11 mois. Conclusion : Nous rapportons deux patients avec une délétion interstitielle 10p (10p12-p13 et 10p12.3-p14), présentant en commun un retard de développement psychomoteur et une surdité. Grâce à une approche moléculaire nous allons caractériser plus finement la taille et la localisation de ces remaniements chromosomiques pour affiner la corrélation génotype-phénotype.

Mots-clés : délétion 10p, retard mental, surdité.

■P131 / 620. UN NOUVEAU CAS DE MICRODÉLÉTION 17Q21.3 CHEZ UNE JEUNE FEMME PORTEUSE D'UN RETARD MENTAL LÉGER

B. De Freminville (1), C. Schluth-Bolard (2), F. Prieur (1), V. Adouard (1), D. Sanlaville (2), R. Touraine (1)

(1) Service de Génétique Clinique Chromosomique et Moléculaire, Centre Hospitalier et Universitaire de St Etienne; (2) Service de Cytogénétique Constitutionnelle, Centre de Biologie et de Pathologie Est, Hospices Civils de Lyon et Université Claude Bernard Lyon 1, Faculté Lyon Nord, Lyon, France

Un microremaniement chromosomique subtélomérique ou interstitiel est retrouvé chez environ 10 % des personnes atteintes de retard mental. La technique multiplex ligation-dépendant probe amplification (MLPA) est utilisée dans notre laboratoire afin de détecter les remaniements subtélomériques ainsi que les principales microdélétions (kit P 245) chez les patients présentant une déficience mentale. Nous rapportons le cas d'une jeune femme née en 1984 et demandeuse d'un diagnostic pour elle-même. On retiendra dans les antécédents des parents l'existence d'un autre enfant, décédé à 7 mois de grossesse (autopsie normale). La patiente a une sœur et un demi-frère en bonne santé. Elle est née à terme (poids : 2 640 g, taille : 48 cm, PC : 35,5 cm). Une légère souffrance néonatale avait été notée. À quelques mois de vie, un caryotype, dont le résultat était normal, avait été demandé en raison d'une dysmorphie faciale associée à une hypotonie. À l'âge de 3 ans, la dysmorphie de l'enfant (traits grossiers) conduisait à demander un avis génétique pour éliminer une maladie de surcharge. Seules des radiographies osseuses avaient alors été effectuées et étaient normales. Elle est revue à 23 ans, à sa demande. Elle présente une petite taille (1 m 50), des traits grossiers, une implantation basse des cheveux, un visage long et hypotonique, de petites fentes palpébrales, un nez tubulaire avec une pointe bulbeuse, une hypoplasie de la partie juxta médiane des ailes du nez (encoche des narines), de grandes oreilles bas implantées, un prognathisme, un palais ogival, une columelle et une mandibule larges, des doigts effilés et la présence de nombreux naevi. Le retard mental est léger : la jeune femme sait lire et écrire, et est autonome dans la vie quotidienne. Elle travaille en CAT. L'IRM cérébrale est normale. Un bilan métabolique et à la recherche d'une anomalie subtélomérique et d'un syndrome X fragile est revenu négatif. L'utilisation du kit MLPA P a permis de mettre en évidence une microdélétion 17q21.3, confirmée par une étude en hybridation in situ avec les sondes spécifiques de la région RP11-769P22 (couvrant le gène *MAPT*) et RP11-597L17 (couvrant le gène *CRHR1*). L'étude familiale est en cours. La recherche d'une inversion de la région 17q21.3, pouvant favoriser l'appariement de ce remaniement, sera recherchée. Nous comparerons notre cas avec ceux déjà décrits dans la littérature sur le plan phénotypique et moléculaire.

Mots-clés : microdélétion, retard mental, multiplex ligation-dépendant probe amplification.

■P132 / 655. DÉLÉTION INTERSTITIELLE 7P12P14 INCLUANT LE GÈNE *GLI3* CHEZ UNE PATIENTE AGÉE DE 18 MOIS

H. Hannechi, S. Mougou, H. Elghezal, O. Mamay, M. Gribaa, A. Saad

Service de Cytogénétique et Biologie de la Reproduction Hôpital Farhat Hached. Sousse Tunisie

Nous rapportons dans ce travail le cas d'un enfant âgée de 18 mois qui s'est présentée pour retard psychomoteur, un retard staturo-pondéral important, une dysmorphie craniofaciale associant une scaphocéphalie avec un front bombant, une microcéphalie, une microphthalmie, une cataracte bilatérale, et une syndactylie au niveau des 4 membres. L'analyse chromosomique en bandes R a révélé une délétion interstitielle dans le bras court du chromosome 7. Le caryotype de cette fille s'écrit : 46,XX, del (7) (p13 p14). L'hybridation in situ fluorescente avec 7 sondes étiquées sur le bras court du chromosome 7 a confirmé la présence d'une délétion interstitielle, (sonde télomérique 7p (vysis) n'est pas déletée) et a montré qu'il s'agit d'une large délétion d'une taille d'au moins 7 Mb avec un point de cassure télomérique situé entre le BAC 56F6 et le BAC RP11-121A8. L'analyse moléculaire avec des marqueurs microstélites a montré qu'il s'agit d'une délétion interstitielle d'origine paternelle. La région déletée emporte le gène *GLI3* qui code pour un facteur de transcription de la famille GLI3-Kruppel et dont la délétion ou la mutation peut engendrer au moins trois syndromes décrits : Le syndrome de Greig ou céphalopolysyndactylie, le syndrome de Pallister-Hall et la polydactylie post-axiale de type A. Dans notre cas, la délétion du gène *GLI3* pourrait expliquer la présence de la syndactylie. Les autres signes trouvés, en l'occurrence le retard psychomoteur et staturo-pondéral importants peuvent être expliqués par l'haloin-suffisance des gènes localisés dans la région impliquée mais aussi par la disomie unimaternelle de la région 7p12p14 soumise à empreinte parentale et dont l'isodisomie d'origine maternelle est responsable du syndrome de Silver Russel.

Mots-clés : del 7p, *GLI3*, Silver Russel.

■P133 / 657. DUPLICATION DUP(2)(Q21Q24) CHEZ UN NOUVEAU-NE PRÉSENTANT UN SYNDROME POLYMALFORMATIF

A.-M. Bodiou (1), A. Goldenberg (1), S. Galène-Gomez (2), A. Rossi (3), P. Chambon (1, 4), F. Laine (5), C. Blondel-Meunier (5), D. Eurin (6), M. Tabu (3), B. Auger (3), N. Di Fiore (3), T. Frebourg (1), P. Saugier-Verber (1), N. Le Meur (3)

(1) Service de Génétique, CHU de Rouen; (2) Service de Néonatalogie, CHU de Rouen; (3) Laboratoire de Cytogénétique, EFS-Normandie, Bois Guillaume; (4) Laboratoire de Cytogénétique, CHU de Rouen; (5) Service de Gynécologie-Obstétrique, Clinique Mathilde, Rouen; (6) Service de Radiologie Pédiatrique, CHU de Rouen

Nous rapportons le diagnostic d'une duplication dup(2)(q21q24) chez un nouveau-né présentant un syndrome polymalformatif. Cet enfant naît à l'issue d'une grossesse marquée par la découverte à 23 SA d'anomalies biométriques dysharmonieuses (périmètre thoracique < 3^e percentile, périmètre abdominal < 3^e percentile, longueur du fémur : 50^e percentile, périmètre crânien : 50^e percentile) associées à un rein pelvien. Le couple n'a pas d'antécédents particuliers. Un caryotype standard à 400 bandes par lot haploïde est réalisé sur le liquide amniotique et ne révèle pas d'anomalie chromosomique. À la naissance, à 37 SA, l'enfant présente une hypotrophie dysharmonieuse inférieure au 3^e percentile pour le poids et la taille, avec un PC conservé au 50^e percentile. Un syndrome malformatif est noté avec dysmorphie faciale franche, thorax étroit et déformation scoliotique sévère sur une hémivertèbre surnuméraire, anomalies mineures des extrémités (plis surnuméraires, malpositions des orteils), malformations génitales (cryptorchidie, hypospadias) et cardiopathie (CIA et CIV). L'examen neurologique met en évidence une hypotonie axiale majeure avec un émoussement des réflexes archaïques, un bon contact visuel. À l'IRM il existe une dilatation ventriculaire modérée passive et des anomalies atypiques des noyaux gris centraux. Devant ce tableau, un caryotype en haute résolution est réalisé (entre 550 et 850 bandes par lot haploïde) révélant une duplication partielle du bras long d'un chromosome 2 : 46, XY, dup(2)(q21q24), confirmée par FISH et QMPSF. Les caryotypes parentaux sont normaux. L'évolution montre qu'il existe une insuffisance respiratoire sévère liée à la déformation thoracique; l'examen neurologique reste très préoccupant, l'enfant est dépendant de sa ventilation artificielle et décède à 1 mois de vie. Si des délétions de la région 2q22 ont été décrites notamment dans le syndrome de Mowat-Wilson, les duplications de cette région sont exceptionnelles puisque seulement 4 cas ont été rapportés dans la littérature. Il s'agit de la première observation pour laquelle une caractérisation moléculaire précise a été réalisée. Compte tenu du grand nombre de gènes impliqués, une corrélation génotype-phénotype est difficile à établir. Le phénotype de l'observation que nous présentons sera discuté en regard des données de la littérature.

Mots-clés : duplication, FISH, QMPSF.



■P134 / 659. ÉTUDE CYTOGÉNÉTIQUE DE 1 000 COUPLES PRÉSENTANT UN ÉCHEC DE LA REPRODUCTION : À PROPOS D'UNE SÉRIE TUNISIENNE

L. Ben Jemaa, H. Jilani, L. Kraoua, M. Chaabouni, F. Maazoul, R. Mrad, H. Chaabouni

Service des maladies congénitales et héréditaires EPS Charles Nicolle Tunis Tunisie

Introduction : Les anomalies du caryotype expliquent 3 à 6 % des avortements spontanés à répétition. La découverte de cette anomalie impose de donner un conseil génétique adéquat. **Matériel et Méthodes :** Nous présentons une série de 1000 couples Tunisiens adressés pour un échec de la reproduction sur une période de 6 ans, il s'agit le plus souvent de fausses couches spontanées à répétition ou d'autres indications : morts nés malformés ou interruptions médicales de grossesses pour malformations fœtales. Les hommes consultant pour stérilité ont été exclus de cette étude. **Résultats :** le taux d'anomalies chromosomiques dans notre série est de 7 %, dans 70 % des cas c'est la femme qui présente l'anomalie (la moitié des anomalies dans ce cas concernait une anomalie des gonosomes). Les translocations représentent 30 % des anomalies chromosomiques retrouvées, les translocations robertsoniennes et les translocations réciproques sont retrouvées à des proportions équivalentes. Cinq cas d'inversion chromosomique ont été retrouvés. Un couple a présenté une double translocation robertsonienne 13-14. **Discussion :** Dans notre série une très grande proportion des couples consulte précocément lors d'un échec de la reproduction puisque les couples ayant 2 ou 3 fausses couches spontanées sont les plus nombreux et le caryotype fait partie intégrante du bilan initial d'exploration des échecs de la reproduction. Les anomalies des gonosomes en mosaïque chez la femme sont les anomalies les plus fréquentes, dans ce cas les fausses couches seraient expliquées par un caryotype 45,X0 chez le fœtus. Le taux d'anomalies chromosomiques dans notre série est plus élevée chez la femme ceci peut être secondaire à la sélection des couples car les hommes présentant une anomalie du spermogramme n'ont pas été inclus dans notre série. À la suite de la découverte d'une anomalie chromosomique, un conseil génétique a été proposé aux couples à risque qui ont pu bénéficier d'un diagnostic anténatal ou même d'un diagnostic préimplantatoire.

Mots-clés : échec de la reproduction, anomalie chromosomique, conseil génétique.

■P135 / 662. DIAGNOSTIC PRÉNATAL D'UNE TRISOMIE PARTIELLE 4Q28->QTER ET D'UNE MONOSOMIE PARTIELLE 4P16->PTER DE NOVO IMPLIQUANT LA RÉGION CRITIQUE DU WOLF HIRSCHHORN

B. Quilichini (1), C. Huissoud (2), C. Abel (2), F. Allias (2), Ch. Bisch (2), M. Gilli (1), C. Ranieri (1), R.C. Rudigoz (2), N. Chelloug (1)

(1) Laboratoire Marcel Mérieux, Département de Génétique, Lyon ; (2) Centre Multidisciplinaire de Diagnostic Anténatal, CHU La Croix Rousse, Lyon

Nous rapportons le cas d'un diagnostic prénatal chromosomique à partir d'une amniocentèse réalisée à 15 SA chez un fœtus présentant à l'échographie de 12 SA une clarté nucale à 3,3 mm. L'échographie de 18 SA a mis en évidence un RCIU apparemment isolé entre le 3^e et le 10^e percentile. Le volume de liquide amniotique est normal et aucune origine vasculaire n'est associée au retard de croissance. Le caryotype fœtal et les techniques complémentaires d'hybridation *in situ* en fluorescence montrent un remaniement chromosomique déséquilibré aboutissant à une monosomie partielle 4p16->pter et une trisomie partielle 4q28->qter. Ce remaniement est survenu *de novo*, les caryotypes constitutionnels des parents ne présentant pas d'anomalie chromosomique. La formule du caryotype fœtal est donc selon l'ISCN 2005 : 46,XX,der(4)(qter->4q28 : :4p16->4qter)dn,ish der(4)(wcp4+, qter+.,pter-,WHCR-). Devant la présence de ce déséquilibre chromosomique et des données échographiques, une interruption médicale de grossesse est souhaitée par le couple et réalisée à 20 SA. Un examen fœtopathologique est réalisé. L'absence de la région critique du syndrome de Wolf-Hirschhorn (WH) en 4p16.3 est très probablement à l'origine du RCIU. Plus de 85 % des cas de WH résultent d'une délétion *de novo* del(4)(p16), le plus souvent d'origine paternelle. Dans moins de 15 % des cas, une translocation déséquilibrée impliquant les bras courts d'un chromosome 4 est à l'origine du phénotype WH. Mais le phénotype résultant est alors une combinaison d'une délétion 4p, incluant la région critique WH et d'une duplication du segment chromosomique impliqué dans la translocation. Le principe est identique lors d'une malségrégation d'une inversion péricentrique d'un chromosome 4 d'origine parentale. Le phénotype lié à la duplication 4q28->qter est donc également discuté dans notre cas. Nous décrivons donc un nouveau cas prénatal d'une trisomie

partielle 4q28->qter et d'une monosomie partielle 4p16->pter *de novo* impliquant la région critique du Wolf Hirschhorn.

Mots-clés : diagnostic prénatal, duplication 4q, syndrome de Wolf Hirschhorn.

■P136 / 677. DUPLICATION INVERSÉE 1Q32Q43 DE NOVO : UN NOUVEAU CAS DE TRISOMIE PARTIELLE 1Q

S. Chantot-Bastarud (1, 4), K. Krabchi (1), E. Pipiras (2), A. Guët (3), A. Afenjar (3), K. McElreavey (4), B. Benzacken (2), JP. Siffroi (1)

(1) AP-HP, Hôpital Tenon, Service d'Histologie, Biologie de la Reproduction et Cytogénétique, Université Pierre-et-Marie-Curie, Paris 6, EA 1533, Paris, F75020, France ; (2) AP-HP, Hôpital Jean-Verdier, Service d'Histologie, Embryologie et Cytogénétique, UFR-SMBH, Bondy, France ; (3) AP-HP, Hôpital Trousseau, Service de Neuropédiatrie, Université Pierre-et-Marie-Curie, Paris 6, France ; (4) Unité de Reproduction, Fertilité et Développement, Département de Biologie du Développement, Institut Pasteur, Paris, France

Les duplications partielles du bras long du chromosome 1 ont rarement été décrites. Elles peuvent être la conséquence d'une translocation déséquilibrée *de novo* ou résulter d'une malségrégation d'une anomalie parentale équilibrée. La participation d'un autre chromosome dans le déséquilibre génomique entrave alors la description du phénotype associé à la trisomie 1q. La caractérisation précise de trisomie partielle 1q pure est donc particulièrement utile à l'établissement d'une corrélation phénotype-génotype pour ce seul déséquilibre chromosomique. Nous décrivons le phénotype d'un enfant de 10 mois adressé en consultation de neuro-pédiatrie en raison d'un retard des acquisitions et d'une dysmorphie faciale. La réalisation du caryotype sanguin en bandes G et en bandes R a permis d'établir la formule chromosomique 46,XY,dup(1)(q43q32) confirmée en FISH avec une sonde de peinture chromosomique du 1 : le chromosome remanié apparaît alors peint en totalité avec cette sonde. La sonde télomérique du bras long du chromosome 1 reste en place à l'extrémité du bras long du chromosome 1 remanié et n'est pas dupliquée. L'utilisation de sondes spécifiques, étiquées des bandes 1q32 à 1q43 et marquées avec des fluorochromes différents (Spectrum Orange® ou Spectrum Green®) a permis de confirmer le caractère inversé de cette duplication et d'en définir les points de cassure. Une revue de la littérature décrit les similitudes et les différences avec les rares autres cas de trisomie partielle pure de cette région chromosomique.

Mots-clés : trisomie 1q, duplication inversée, FISH.

■P137 / 685. OBSERVATION NÉONATALE D'UNE MICRODÉLÉTION 3PTER : PHÉNOTYPE CLINIQUE, DIAGNOSTIC DIFFÉRENTIEL AVEC LE SYNDROME DE SMITH-LEMLI-OPITZ ET IMPLICATIONS POUR LE DIAGNOSTIC PRÉNATAL

D. Badila-Timbolschi (1, 2), E. Flori (3), F. Girard-Lemaire (3), N. Carelle-Calmels (3), R. Favre (4), D. Astruc (2), P. Desprez (2), A. Livolsi (5), P. Helms (5), V. Laugel (5), E. Ginglinger (6), C. Wolf (7), H. Dollfus (1), B. Doray (1)

(1) Service de Génétique Médicale, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg ; (2) Service de Pédiatrie II, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg ; (3) Service de Cytogénétique, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg ; (4) Service de Gynécologie, Obstétrique, CMCO-SIHCUS Schiltigheim ; (5) Service de Pédiatrie I, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg ; (6) Laboratoire de Génétique, Centre Hospitalier Général Mulhouse ; (7) Laboratoire de Spectrométrie de Masse, INSERM U538, Faculté de Médecine Saint-Antoine, Paris

Il s'agit de la grossesse d'un couple non apparenté, sans antécédent particulier. La grossesse est marquée par la découverte échographique, à 26 semaines d'aménorrhée, chez un fœtus dont la biométrie est dans les limites de la normale (25^e percentile), d'un hydrothorax bilatéral et d'un canal atrio-ventriculaire. L'évolution est marquée par la disparition de l'épanchement pleural à 29 SA, la confirmation du canal atrio-ventriculaire compliqué d'un léger épanchement péricardique et un fléchissement de la biométrie au 10^e percentile. Le caryotype fœtal sur cellules amniotiques est considéré comme normal 46,XY. À la naissance à terme, l'enfant présente une hypotrophie harmonieuse (poids : 2 100 g, taille : 43 cm et périmètre crânien : 30 cm). L'examen crânio-facial met en évidence des cheveux blonds, une rétraction bi-temporale, des fentes palpébrales étroites, un ptosis, une racine du nez large, des plis infra-orbitaires marqués, un nez court avec des narines antéversés et un microrétrognathisme. L'examen des membres révèle une polydactylie post-axiale des mains et du pied gauche, ainsi qu'une duplication de l'hallux gauche. Il existe une fossette sacrée et l'examen ano-génital visualise une cryptorchidie bilatérale, un prépuce court et un anus antéposé. Sur le plan neurologique, l'enfant présente une hypotonie axiale, une absence de contact et des troubles

alimentaires sévères nécessitant un gavage. Le bilan cardiologique confirme la présence d'un canal atrio-ventriculaire complet, mal toléré. L'évolution est défavorable et l'enfant décède dans un contexte de défaillance cardiaque dans les suites opératoires de la chirurgie cardiaque. En raison de l'association d'un retard de croissance intra-utérin harmonieux, d'un syndrome dysmorphique évocateur et d'un syndrome malformatif associant polydactylie, malformations cardiaque et génitale, un syndrome de Smith-Lemli-Opitz est suspecté en première intention mais l'analyse par spectrométrie de masse ne révèle pas d'accumulation du déhydrocholestérol. Le caryotype en haute résolution met en évidence un remaniement distal du bras court du chromosome 3. L'hybridation *in situ* réalisée avec le kit ToTelVysion met en évidence une délétion de la région subtélomérique d'un chromosome 3 et la présence de la région subtélomérique du bras court du chromosome 7 sur le bras court du 3 (délétion 3pter, trisomie 7pter). Il s'agit d'un remaniement *de novo*. Depuis la première description en 1978, une trentaine de patients porteurs d'une délétion distale du bras court du chromosome 3 en 3p25-pter a été rapportée. Le phénotype, cliniquement reconnaissable, associe un retard de développement psychomoteur, un retard de croissance pré et postnatal, une microbrachycéphalie, un télécanthus ou un hypertélorisme, un ptosis, un blépharophimosis, des narines antéversées, un philtrum long et un microrétrognathisme. Une malformation cardiaque, typiquement un canal atrio-ventriculaire, est présente dans environ un tiers des cas. Une surdité neuro-sensorielle est retrouvée chez un nombre conséquent de patients. Le diagnostic initialement porté chez notre patient est celui d'un syndrome de Smith-Lemli-Opitz (SLO) qui partage certaines similitudes avec le syndrome 3p-, en particulier le retard de croissance, le syndrome dysmorphique (ptosis, narines antéversées, philtrum long, microrétrognathisme) et la polydactylie post-axiale ; à l'inverse, la syndactylie II-III des orteils, caractéristique du syndrome SLO, ne constitue pas un signe habituel et était absente chez notre patient. Le diagnostic cytogénétique du syndrome 3p- est difficile en prénatal, notamment sur le caryotype en bandes R. Le diagnostic échographique est difficile en raison de la variabilité phénotypique ; néanmoins, la découverte échographique d'un retard de croissance avec microcéphalie, d'une malformation cardiaque et d'une polydactylie doit faire évoquer le diagnostic et réaliser une hybridation de la région 3pter.

Mots-clés : délétion 3pter, syndrome de Smith-Lemli-Opitz, diagnostic prénatal.

■P138 / 686. À PROPOS DE 2 ANOMALIES PURES DE NOVO DU CHROMOSOME 9 : UNE TRISOMIE PARTIELLE 9P ET UNE MONOSOMIE PARTIELLE 9P

M. Chaabouni, L. Ben Jemaa, I. Ouertani, L. Kraoua, I. Chelly, F. Maa-zoul, H. Chaabouni

Service des maladies héréditaires et congénitales, hôpital Charles Nicolle Tunis, Tunisie

La trisomie 9p est une anomalie assez fréquente ; cependant il existe seulement une dizaine de cas où la trisomie est pure et *de novo*. La délétion intercalaire 9p est également une anomalie rare. Nous présentons les observations de 2 patients chez lesquels une duplication 9p partielle et une délétion intercalaire 9p ont été mises en évidence et caractérisées par la technique de FISH. Leurs tableaux cliniques seront comparés. La 1^{re} observation est celle d'un garçon de 5 ans qui présente un retard psychomoteur sévère avec position assise à 18 mois et marche à 3 ans sans retard de croissance, un retard du langage important avec seulement quelques mots simples, une dysmorphie faciale comprenant une obliquité antimongoloïde des fentes palpébrales, yeux enfoncés, un nez épaté, espacement du 1^{er} et 2^e orteil, une hyperlaxité ligamentaire. L'étude du caryotype retrouve un add 9p24. La 2^e observation est une fille de 2 ans et 7 mois présentant un retard psychomoteur sévère avec position assise à 14 mois, la marche n'est pas encore acquise, un retard du langage avec des mots monosyllabiques, une dysmorphie faciale avec une obliquité mongoloïde des fentes palpébrales, un strabisme, un cou court et des doigts longs et fins. Les organes génitaux externes paraissent normaux. Le caryotype en bandes R montre une délétion 9p. Avec les mêmes sondes recouvrant le bras p du chromosome 9 et s'étalant de la région 9p21 à la région 9p24.3, une FISH est réalisée pour les 2 patients. Dans la 1^{re} observation, une duplication touchant la quasitotalité du 9p et incluant la région subtélomérique du 9p est mise en évidence : 46,XY dup (9)(p21 à ptel). Le 2^e caryotype est interprété comme suit : 46,XX del (9)(ptel à p21). La duplication 9p pure est rapportée dans la littérature avec comme notre patient une absence d'anomalies de la croissance mais un retard du langage important. La délétion interstitielle est par contre peu rapportée, la dysmorphie y est discrète comme pour notre patiente. La délétion dans notre cas ne touche pas les gènes *DMRT* ce qui pourrait expliquer l'absence d'anomalies génitales. En comparant les 2 observations, le retard de croissance est absent dans les 2

cas de trisomie et de délétion et le retard du langage est important pour les 2 patients. Une revue des cas de la littérature et une comparaison de ces tableaux cliniques de type et de contre type sera présentée.

Mots-clés : délétion 9p, duplication 9p, pure.

■P139 / 701. SYNDROME DE PEUTZ JEGHERS ET RETARD MENTAL : NOUVEAU SYNDROME MICRODÉLÉTIONNEL INTERCALAIRE DE LA RÉGION 19P13.3

S. Manouvrier-Hanu (1, 6), M.P. Buisine (2, 6), S. Lejeune-Dumoulin (1), J. Andrieux (3, 6), D. Turck (4, 6), B. Delobel (5)

(1) Service de Génétique Clinique, CHRU de Lille, France ; (2) Laboratoire de Biologie Moléculaire, CHRU de Lille, France ; (3) Laboratoire de Génétique, CHRU de Lille, France ; (4) Clinique de Pédiatrie, CHRU de Lille, France ; (5) Centre de Génétique Chromosomique, GHICL de Lille, France ; (6) Université Lille 2, France

À la faveur des progrès techniques d'analyse du génome, le nombre de syndromes microdélétionnels ne cesse d'augmenter, et ces syndromes restent souvent de diagnostic clinique difficile. Nous rapportons l'observation d'un patient âgé de 16 ans adressé en consultation en raison de polypes hamartomateux révélés par une invagination intestinale aiguë survenue à l'âge de 14 ans chez un enfant présentant un retard des acquisitions psychomotrices. Chez ce patient sera identifiée une délétion 19p13.3 emportant le gène *STK11*. PH est le sixième enfant d'une fratrie de sept, né de parents non consanguins. Il n'a aucun antécédent familial. Au plan personnel il est né au terme d'une grossesse normale avec des mensurations à la moyenne. À la naissance on notait un métatarsus varus bilatéral, une petite CIV, une brièveté du frein de la langue. L'évolution se fait vers un retard modéré des acquisitions psychomotrices (à 14 ans QIV 73, QIP 46), une surdité mixte bilatérale d'importance moyenne et l'apparition d'un nystagmus avec hypermétropie. Un bilan malformatif note la présence d'un rein pelvien gauche. L'IRM cérébrale est normale. Lorsque l'enfant est adressé en consultation de génétique à la suite du diagnostic de polypes hamartomateux l'examen clinique met en évidence une discrète dysmorphie avec lèvre inférieure éversée et palais très ogival. Malgré l'absence de toute lésion hyper pigmentée des muqueuses le diagnostic de syndrome de Peutz Jeghers est le plus probable. Compte tenu de l'association avec un retard mental l'hypothèse d'un syndrome micro-délétionnel est évoqué et sera confirmé par la mise en évidence (MLPA) d'une délétion complète du gène *STK11* et l'identification (FISH et CGH-array) d'une délétion intercalaire de la partie distale du bras court du chromosome 19 : 46,XY,ish del(19)(p13.3p13.3)(dj546C11+,RP11-110A24+, RP11-138L23-, RP11-75H6-,RP11-317H11+). À notre connaissance il s'agit de la première description d'une délétion intercalaire de la partie distale du bras court du chromosome 19. La symptomatologie clinique peut néanmoins être comparée à celle observée chez les patients porteurs de délétions 19p subtélomériques (Archer *et al.*, 2005) chez lesquels sont observés retard mental, surdité, dysmorphie faciale discrète cardiopathie à type de sténose pulmonaire ou de CIV/CIA et parfois syndrome de Peutz Jeghers. Par ailleurs une délétion complète de *STK11* n'est pas exceptionnelle puisqu'elle semble rencontrée chez environ 6 % des patients atteints de PJS isolé (Volikos *et al.*, 2006). Cette délétion d'un peu plus de 550 à 595 Kb comporte 27 gènes dont *STK11* et *MIDN* (Midnolin) qui est fortement exprimé dans la cochlée et pourrait être à l'origine de la surdité du patient.

Mots-clés : Peutz-Jeghers, délétion 19p13, *STK11*.

Développement et diagnostic prénatal

■P140 / 56. IDENTIFICATION D'UN MICROREMANIEMENT SUBTÉLOMÉRIQUE CRYPTIQUE DÉSÉQUILIBRÉ PAR MLPA CHEZ UN FŒTUS PRÉSENTANT UNE HYPERCLARTE NUCALE AU PREMIER TRIMESTRE DE GESTATION

L. Gouas (1), T. Roucaute (1), C. Goumy (1), H. Laurichesse (2), B. Riguet (1), C. Grenet (1), A. Buvat (1), L. Veronese (1), A. Tchirkov (1), P. Vago (1)

(1) Univ Clermont 1, UFR Médecine, Histologie Embryologie Cytogénétique, Clermont-Ferrand, F-63001 France ; CHU Clermont-Ferrand, Cytogénétique Médicale, Clermont-Ferrand, F-63003 France ; (2) Service de gynécologie obstétrique, Unité de Médecine Maternofœtale, CHU Clermont-Ferrand, Hôtel Dieu, Clermont-Ferrand, F-63003 France

Introduction : La présence d'une hyperclarté nuchale (HN) chez le fœtus au premier trimestre de grossesse est souvent associée à un risque élevé d'anéuploïdie fœtale (trisomie 13, 18, 21 ou monosomie gonosomique 45,X0). Néanmoins, dans 70 à 80 % des cas, aucune anomalie chromosomique n'est détectée au caryotype standard. Afin d'améliorer la résolution



du diagnostic prénatal chromosomique, nous avons criblé par MLPA les régions subtélomériques de 26 fœtus présentant une HN à l'échographie du 1^{er} trimestre de gestation et pour lesquels aucune anomalie n'a été détectée au caryotype standard. Méthode : Un diagnostic chromosomique prénatal reposant sur l'AneuVysion et le caryotype standard a été réalisé à partir d'un prélèvement de villosités chorales (n = 18) ou de liquide amniotique (n = 8) chez 26 fœtus présentant une clarté nucale > 3 mm à l'échographie du premier trimestre de gestation. Aucune anomalie chromosomique n'ayant été mise en évidence par cette première approche, une exploration des régions subtélomériques a été ensuite réalisée par MLPA (Kits P036C et P070, MRC-Holland). Résultats : L'âge maternel moyen au moment de l'examen était de 30 ± 4,6 ans et le prélèvement a été réalisé en moyenne à 12,8 ± 0,6 SA pour la ponction de villosités chorales et à 16 ± 1 SA pour la ponction de liquide amniotique. L'épaisseur moyenne de la clarté nucale était de 3,73 ± 1,22 mm. Parmi les 26 fœtus, 20 (76,9 %) présentaient une HN comprise entre 3 et 3,5 mm et 3 (11,5 %) une HN > 5 mm. Une interruption médicale de grossesse a été proposée à 2 patientes et un fœtus est mort in utero à 30 SA. Pour 23 (88,5 %) fœtus, aucun remaniement subtélomérique déséquilibré n'a été mis en évidence. En revanche, pour 1 fœtus (HN = 5,3 mm) une monosomie de la région 18qter (ratio = 0,51 et 0,60 avec les kits P036C et P070, respectivement) et une trisomie de la région 5pter (ratio = 1,57 et 1,46) a été identifiée. Par ailleurs, les résultats de la MLPA tous subtélomères n'étaient pas concluant pour 2 fœtus. Conclusion : Ces résultats préliminaires montrent que la MLPA tous subtélomères permet d'identifier des remaniements chromosomiques cryptiques chez des fœtus présentant une HN au premier trimestre de gestation. Dans cette étude, 1 fœtus sur 3 ayant une HN > 5 mm présente un remaniement subtélomérique cryptique. Ceci suggère l'intérêt de compléter les explorations chromosomiques par MLPA tous subtélomères chez ces fœtus si aucune anomalie n'est mise en évidence au caryotype standard.

Mots-clés : hyperclarté nucale, MLPA tous subtélomères, diagnostic prénatal.

Développement, diagnostic prénatal

■P141 / 67. DIAGNOSTIC PRÉIMPLANTATOIRE DE LA POLYKYSTOSE RÉNALE RÉCESSIVE AUTOSOMIQUE

N. Gigarel (1), N. Frydman (2), P. Buret (1), V. Kerbrat (3), G. Tachdjian (2), J.-P. Bonnefont (1), J. Bengoa (1), C. Antigac (1), R. Frydman (3), A. Munnich (1), J. Steffann (1)

(1) Service de Génétique Médicale, Hôpital Necker-Enfants Malades, 75015 Paris ; (2) Service de Biologie et Génétique de la Reproduction, Hôpital Antoine Béchère, 92141 Clamart ; (3) Service de gynécologie obstétrique, Hôpital Antoine Béchère, 92141 Clamart

La polykystose rénale récessive autosomique (ARPKD), qui touche un enfant pour 30 000, est une des maladies héréditaires rénales les plus fréquentes. Le diagnostic est souvent fait tardivement pendant la grossesse par la découverte de gros reins hyperéchogènes, ou à la naissance. En raison du mauvais pronostic de cette affection, les couples à risque sont souvent demandeurs de diagnostic prénatal ou préimplantatoire. Si l'identification du gène *PKHD1* en 2002 a permis la réalisation de diagnostic combinant l'étude directe et indirecte, la plupart des centres de diagnostic prénatal proposent un diagnostic indirect seul, en raison principalement de la taille importante du gène et de l'absence de mutations récurrentes. Le diagnostic préimplantatoire (DPI) représente une alternative au diagnostic prénatal (DPN). Le DPI permet l'analyse génétique d'un embryon obtenu par fécondation *in vitro* et est réalisé sur une cellule (blastomère) prélevée au troisième jour de développement. Seuls les embryons indemnes sont transférés, évitant ainsi le traumatisme physique et psychique que représente l'interruption médicale de grossesse d'un fœtus déclaré atteint après un DPN. La difficulté principale du DPI moléculaire provient du peu de matériel biologique à disposition, qui nécessite l'amplification des différentes régions d'intérêt en une seule PCR multiplex. Chaque test PCR est donc optimisé de façon à obtenir le niveau de sensibilité requis. Le risque d'erreur est important (estimé à 9 % d'après le Consortium Européen de DPI) et est la conséquence de contaminations ou de phénomènes d'« allèle drop-out » (ADO) secondaire à l'amplification aléatoire d'un seul des deux allèles présents dans la cellule. Afin de proposer un DPI à de nombreux couples demandeurs et ce, quelles que soient les mutations causales, nous avons choisi de développer un test diagnostic sur cellule unique, basé sur une étude de liaison. Six marqueurs polymorphes intragéniques (D6S243 et D6S1714) et flanking le gène *PKHD1* (D6S272, D6S436, KIAA0057 et D6S1662) sont amplifiés simultanément en utilisant le kit « QIAGEN multiplex PCR ». La fiabilité de ce test a été évaluée sur 50 lymphocytes

isolés, montrant un taux d'amplification excellent (100 %) et un taux d'ADO faible (inférieur à 8 %). Nous avons réalisé 5 DPI pour 3 couples demandeurs. Au total 23 embryons, soit 46 blastomères, ont été analysés. Quarante blastomères (87 %) ont été amplifiés avec succès. Des embryons sains ont été obtenus pour chaque cycle de DPI avec transfert de 1 à 2 embryons par patiente. Ces tentatives ont abouti à la naissance d'un enfant sain pour un premier couple, et à une fausse couche précoce pour un second couple. Ce test standardisé est applicable à de nombreux couples demandeurs d'un DPI pour ARPKD. La co-amplification de plusieurs marqueurs augmente la fiabilité du diagnostic en permettant de détecter les événements de recombinaison, les contaminations et les phénomènes d'ADO.

Mots-clés : polykystose rénale récessive, diagnostic préimplantatoire, étude indirecte.

■P142 / 92. APHALLIE ET AGÉNÉSIE PULMONAIRE

M. Gerard-Blanluet (1), V. Lambert (2), S. Khung (3), M. Jaquemont (1), C. Baumann (1), A.L. Delezoide (3) And A.Verloes (1)

(1) Service de Génétique Médicale, Hôpital Robert-Debré, Paris, France ; (2) Échographie Fœtale, Centre Hospitalier de l'Ouest Guyanais, St Laurent du Maroni, Guyane ; (3) Service de Biologie du développement, fœtopathologie, Hôpital Robert-Debré, Paris, France

L'aphallie, ou absence congénitale de pénis, aussi appelée agénésie pénienne, est une malformation rare dont la fréquence estimée est de 1/30 millions de naissances. Imperforation anale et dysplasie rénale sont fréquemment associées. Cette absence de pénis peut également faire partie d'un cadre plus vaste des malformations complexes périnéales comme la sirénomélie, l'extrophie vésicale, ou la séquence malformative du septum urogénital (Skoog and Belman, 1989 ; Evans *et al.*, 1999). Cette malformation a déjà été décrite associée au diabète maternel. (Gripp *et al.*, 1999). Nous rapportons le cas d'un enfant ayant une aphallie dans le cadre d'une malformation anorectale associée à une agénésie pulmonaire unilatérale. Le fœtus est le septième enfant de parents non consanguins. La grossesse a été mal suivie, et c'est à 32 semaines estimées qu'un anamnios a fait découvrir un aspect kystique des loges rénales, motivant une IMG à 35 SA devant l'absence de fonction rénale. L'examen fœtopathologique retrouve une dysplasie rénale sévère avec kystes, une imperforation anale, une aphallie avec développement normal du scrotum et des testicules, et une agénésie pulmonaire droite. Une hypertrophie myocardique est présente, fréquemment retrouvée dans les insuffisances rénales terminales fœtales avec anamnios. La radiologie montre une hémivertèbre thoracique, 12 côtes à droite et 14 côtes à gauche. L'analyse histologique ne retrouve pas de tissu érectile dans la région pubienne. Le caryotype est 46,XY normal. Il n'existe pas de diabète maternel. L'aphallie et les malformations urogénitales associées (imperforation anale, dysplasie rénale) seraient liés à un défaut de détermination de la membrane cloacale, très précoce durant le développement embryonnaire ; la membrane anale se rompt autour de la fin de la septième semaine de développement. L'association à une agénésie pulmonaire n'a jamais été rapportée à notre connaissance dans les cas publiés d'aphallie. L'agénésie pulmonaire a déjà été décrite dans les associations VACTERL et « syndrome oculo-auriculo-vertébral ». Il n'existe pas de cas familiaux rapportés d'aphallie, et le seul mécanisme causal décrit est l'association aux dysrégulations glycémiennes des diabètes maternels dans les dysgénésies caudales, et les malformations proches. La présence d'une agénésie pulmonaire droite, avec désorganisation de la cage thoracique (14 côtes à gauche, hémivertèbre thoracique) fait entrer l'aphallie avec imperforation anale et dysplasie rénale dans le grand cadre des défauts de la blastogénèse dont le VACTERL.

Mots-clés : aphallie, VACTERL, agénésie pulmonaire.

■P143 / 102. SYNDROME DE MÖBIUS CHEZ UN NOUVEAU-NÉ APRES ÉCHEC D'INTERRUPTION VOLONTAIRE DE GROSSESSE (IVG) PAR MISOPROSTOL

D. Amram (1), M.-A. Bos-Thompson (2), J.-M. Rauzier (3), D. Hillaire-Buys (2)

(1) Unité de Génétique Clinique CHIC de Créteil ; (2) Service de Pharmacologie Médicale et Toxicologie-CHU de Montpellier ; (3) Service de Pédiatrie Néonatale-CHU Caremeau-Nîmes

Nous rapportons un cas de syndrome de Möbius chez un nouveau-né survenu après échec d'IVG par mifepristone et misoprostol. Observation : À 7 semaines d'aménorrhée (SA) une femme de 28 ans suit un protocole d'IVG par Mifegyne (mifépristone) plus Cytotec (misoprostol). Un mois après malgré une hémorragie importante l'échographie montre la poursuite de la grossesse. Elle accouche à 35 SA d'un garçon de 2 280 g présentant un microrétrognathisme, une paralysie faciale gauche une hypotonie axiale faisant porter le diagnostic de syndrome de Möbius. Discussion : Le

syndrome de Möbius correspond à une paralysie des nerfs facial (VII) et abducens (VI) responsable d'un visage amimique. Le glossopharyngien et l'hypoglosse peuvent également être atteints causant une rhinolalie et une limitation de la mobilité de la langue. D'autres anomalies sont parfois associées de la machoire et des membres. Le syndrome de Möbius est une maladie rare il serait dû soit à une anomalie du développement métamérique des noyaux des nerfs crâniens VII et VI, soit un problème de vascularisation des noyaux de ces mêmes nerfs. Le syndrome de Möbius peut être causé par un agent tératogène comme le misoprostol analogue de synthèse de la prostaglandine utilisé dans le protocole d'IVG médicamenteuse. Le mifepristone seul ne semble pas être impliqué dans ce mécanisme. Les malformations observées chez les enfants nés de mère ayant pris du misoprostol s'expliquent par des phénomènes vasculaires, d'ischémie secondaire aux contractions utérines déclenchées par le misoprostol. Yip *et al.* ont mis en évidence une réduction du flux sanguin de l'artère utérine après une dose orale de 200 microgrammes de misoprostol entre 7 et 15 SG. D'autres auteurs suggèrent que le syndrome de Möbius serait dû à un phénomène de flexion survenant au niveau de la région où se situent les nerfs crâniens VI et VII. Ceci provoquerait une altération de la perfusion de la région, une hémorragie ainsi que la mort des cellules nerveuses. Conclusion : Cette observation démontre les conséquences de l'utilisation du misoprostol au cours du premier trimestre de la grossesse en particulier le risque du syndrome de Möbius. Si la grossesse se poursuit il est indispensable de mettre en place un suivi échographique minutieux et régulier tout au long de la grossesse axé sur les organes cibles du misoprostol (membres, moelle épinière, os et articulations) et d'envisager un examen médical attentif à la naissance de l'enfant, ainsi qu'un suivi à long terme.

Mots-clés : misoprostol, möbius syndrome, grossesse de 5-8 semaines d'aménorrhée.

■P144/113. LA MUTATION P.Y375C DU GÈNE *FGFR2* EST-ELLE SPECIFIQUE DU SYNDROME DE BEARE-STEVENSON CUTIS GYRATA CHEZ LE FŒTUS ?

E. Alanio (1), C. Leroy (2), J.P. Bory (3), P. Hornoy (3), C. Collet (4), D. Gaillard (2)

(1) Laboratoire Pol Bouin, CHU Reims ; (2) Service de Génétique, CHU Reims ; (3) Service de gynécologie, CHU Reims ; (4) Service de Biochimie, CHU Lariboisière, Paris

Le syndrome de Beare-Stevenson cutis gyrata comprend des anomalies cranio-faciales, en particulier une craniosténose, avec parfois un crâne en trèfle, des anomalies auriculaires, un cutis gyrata, un acanthosis nigricans, des anomalies ano-génitales. La mutation p.Y375C du gène *FGFR2* serait spécifique du syndrome et à notre connaissance, seulement 10 cas avec une étude génique ont été publiés. Nous rapportons une observation fœtale. Il s'agit d'une première grossesse spontanée d'un couple non apparenté, chacun des parents étant âgé de 38 ans, sans antécédents familiaux, sans prise médicamenteuse ou toxique. L'échographie à 13 semaines d'aménorrhée (SA) n'avait pas montré d'anomalie, mais le fœtus a été adressé à 24 SA pour anomalie crânienne au deuxième trimestre prenant l'aspect d'un crâne en trèfle, avec un front proéminent, une fosse postérieure de très petite taille, des ventricules latéraux dilatés, sans anomalie des extrémités, à caryotype normal, 46,XY. Une interruption médicale de grossesse a été programmée à 29 SA. Le fœtus était eutrophique, avec un périmètre crânien de 26,5 cm (+1 DS), une synostose lambdoïde et sagittale postérieure avec une fontanelle antérieure très large, un hypertélorisme, un faciès aplati, des oreilles basses en rotation postérieure avec les lobes épais et irréguliers, une hypertrophie gingivale et un cou très court et large. Les téguments n'étaient pas particulièrement épais ni pigmentés. Il existait un pli palmaire unique gauche et des plis assez marqués sur la plante des pieds. Les doigts de taille normale, comme les orteils assez longs, présentaient une hypoplasie unguéale. La radiographie montrait des os longs courts (-1 DS), un rapprochement anormal des corps vertébraux C5-C6 et 11 paires de côtes. Il n'existait pas de malformation des organes génitaux, ni des viscères, mais la trachée était anormalement ferme. Les anneaux cartilagineux étaient partiellement fusionnés, formant parfois une gaine continue. Les anomalies du crâne et de la trachée évoquaient un syndrome de Pfeiffer, sans syndactylie. Le séquençage de l'exon 7 de *FGFR1* et des exons du gène *FGFR2*, pouvant être impliqués dans ce syndrome était normal, mais la mutation p.Y375C a été identifiée dans l'exon 11 de *FGFR2*. Cette mutation n'a pas été retrouvée chez les parents et correspond donc à une mutation *de novo*, avec un pronostic favorable pour une nouvelle grossesse. Des difficultés d'intubation sont rapportées dans le syndrome de Beare-Stevenson, mais les anomalies trachéales que nous rapportons sont plutôt décrites dans le syndrome de Pfeiffer, beaucoup plus fréquent et mieux connu en fœtopathologie. Le fœtus présentait quelques

plis cutanés semblant plutôt liés à un panicule adipeux bien développé, sans véritable cutis gyrata. Cette anomalie cutanée se développe peut-être en fin de grossesse. La réponse viendra sans doute des prochaines publications.

Mots-clés : *FGFR2*, crâne en trèfle, trachée.

■P145 / 154. UNE NOUVELLE MUTATION DANS *FGFR3* FAISANT APPARAÎTRE UN RESIDU CYSTEINE DANS LA BOUCLE PSEUDO-IMMUNOGLOBULINE III (P.SER348CYS) ASSOCIÉE À UNE ACHONDROPLASIE DIAGNOSTIQUÉE EN UTERO

M. Valduga (1), P. Bach-Segura (2), V. Roth (1), J. Vigneron (3), P. Jonveaux (1) et C. Philippe (1)

(1) Laboratoire de Génétique, CHRU Brabois, Vandœuvre les Nancy ; (2) Service de radiologie et échographie, Maternité Régionale, Nancy, France ; (3) UF de Génétique Clinique, Service de néonatalogie, Maternité Régionale, Nancy, France

L'achondroplasie (ACH – MIM 100800) qui touche un enfant sur 15 000, est la plus fréquente chondrodysplasie. L'ACH est une pathologie autosomique dominante résultant de mutations activatrices dans le gène du récepteur 3 des facteurs de croissance fibroblastiques (*FGFR3*) qui est un régulateur négatif de la croissance osseuse. Au moins 98 % des patients achondroplasies portent une mutation faux-sens (p.Gly380Arg) dans le domaine transmembranaire du récepteur. De rares mutations en dehors du domaine transmembranaire faisant apparaître des résidus cystéines dans la région extracellulaire du récepteur *FGFR3* ont été décrites chez des sujets atteints d'achondroplasie ou de formes sévères d'hypochondroplasie (Heuertz *et al.*, Eur J Hum Genet 2006, 14 :1240-1247). Nous décrivons une nouvelle mutation dans le gène *FGFR3* mise en évidence chez un fœtus à 34 SA présentant une cassure de la croissance staturale dépistée à l'échographie du 3^e trimestre. La restriction de la croissance fémorale est estimée à 70 % de la médiane contrastant avec la biométrie céphalique au 90^e percentile (rapport DBP/LF = 1,8 pour une limite supérieure à 1,4). La micromélie est généralisée à prédominance rhizomélique. Sur le plan morphologique sont suspectées une platyspondylie et une anomalie de modelage des métaphyses fémorales supérieures. Cet aspect est confirmé par l'exploration tomodensitométrique qui permet également de visualiser un aspect trapu des ailes iliaques avec éperon médian, un canal lombaire étroit ainsi qu'une étroitesse du foramen occipital secondaire à la minéralisation prématurée des sutures de la base du crâne. Le diagnostic échographique d'achondroplasie est porté sur la base de ces constatations biométriques et morphologiques, il sera confirmé par l'étude moléculaire du gène *FGFR3* mise en œuvre après l'interruption médicale de grossesse demandée par les parents. L'analyse moléculaire de l'ADN fœtal débute par la recherche des mutations p.Gly380Arg et p.Gly375Cys par séquençage de l'exon 10 du gène *FGFR3*. Devant l'absence de ces deux mutations faux-sens, nous décidons de séquencer l'exon 7 de *FGFR3* à la recherche de la mutation p.Gly346Glu déjà décrite par Prinos et collaborateurs (Pediatr Res 1994 ;37 :151). Le fœtus n'est pas porteur de cette mutation, en revanche une substitution à l'état hétérozygote est repérée dans l'exon 7 (c.1043C>G) entraînant l'apparition d'un résidu cystéine en position 348 (p.Ser348Cys). L'analyse de l'ADN génomique des parents montre qu'il s'agit d'une variation de séquence *de novo* chez des parents jeunes ; à notre connaissance cette mutation délétère n'a jamais été décrite associée une chondrodysplasie. Cette nouvelle mutation faux-sens touche un aa conservé au sein de la famille des protéines FGFR mais également dans la protéine *FGFR3* au cours de l'évolution. Il est probable que l'apparition d'un nouveau résidu cystéine en position 348 dans la partie extracellulaire du récepteur *FGFR3* permette la formation d'un pont disulfure entre deux récepteurs mutants, l'activation constitutive du dimère de protéines mutantes expliquant l'ACH chez le fœtus. Notre cas illustre l'importance d'un criblage complet du gène *FGFR3* pour des patient(e)s achondroplasies lorsque les mutations récurrentes sont absentes. La mise en évidence de la mutation délétère chez le cas probant nous a permis de donner un Conseil Génétique éclairé à ce couple et de proposer un diagnostic prénatal pour les grossesses ultérieures.

Mots-clés : achondroplasie, diagnostic anténatal, nouvelle mutation.

■P146 / 205. CARACTERISATION MOLÉCULAIRE D'UNE DÉLÉTION 13Q INTERSTITIELLE EN MOSAÏQUE DÉCOUVERTE EN ANTENATAL

C. Schluth-Bolard (1-2), D. Sanlaville (1-2), A. Labalme (1), M-N. Bonnet-Dupeyron (3), M. Till (1), P. Gaucherand (4), A. Buenerd (5), P. Edery (1-2), G. Nadeau (3)

(1) Hospices Civils de Lyon, Service de Cytogénétique Constitutionnelle ; (2) Faculté de Médecine Lyon Nord, Université Claude Bernard, Lyon 1 ; (3) Service de Cytogénétique, Centre Hospitalier de Valence ; (4) Hospices



Civils de Lyon, Centre Pluridisciplinaire de Diagnostic Prénatal, Hôpital Edouard Herriot ; (5) Hospices Civils de Lyon, Laboratoire d'Anatomie Pathologique, Groupement Hospitalier Est

Introduction : Les délétions partielles du chromosome 13 sont des anomalies rares mais bien caractérisées sur le plan phénotypique et dont très peu de cas en mosaïque ont été rapportés. Cas clinique : Une augmentation de la clarté nucale (CN : 4 mm/LCC : 66 mm) est dépistée à l'échographie de 12 SA chez une femme de 36 ans, troisième geste. Le caryotype sur liquide amniotique met en évidence une délétion interstitielle du chromosome 13 : 46,XX,del(13)(q32q33) *de novo*. L'échographie à 23 SA révèle une cardiopathie complexe (ventricule droit à double issue, hypoplasie de l'artère pulmonaire, CIV), des pieds bots bilatéraux et une suspicion d'holoprosencéphalie. Devant le pronostic péjoratif, la grossesse est interrompue à 25 SA. L'examen fœtopathologique confirme, chez un fœtus de sexe féminin avec une biométrie conforme à 25 SA, la cardiopathie (ventricule droit à double issue, hypoplasie de l'artère pulmonaire) et les pieds bots varus équin. Il existe par ailleurs une anomalie du retour veineux (persistance de la veine cave supérieure gauche et de la veine ombilicale droite), une dysmorphie faciale, des anomalies vertébrales (agénésie L2-L3, malformation L4), une hydromyélie, une agénésie septale et un corps calleux fin et démyélinisé. Examens complémentaires : Le caryotype réalisé sur des prélèvements post-mortem confirme la présence d'une délétion interstitielle del(13)(q32q33) homogène sur les cultures de liquide amniotique et de fibroblastes cutanés alors que le caryotype sur sang fœtal est normal (46,XX). La délétion a ensuite été bornée de façon précise en CGH micro-array 244K (Agilent®) à partir d'ADN extrait de fibroblastes cutanés. Cette délétion emporte 8,4 Mb entre les bandes 13q32.3 et 13q33.3. Une étude en FISH réalisée avec 3 BACs localisés dans cet intervalle (RP11-632B24, RP11-217F17, RP11-1013D7) ne retrouve aucune délétion sur le sang fœtal. Discussion : Le syndrome 13q- est caractérisé par un retard de croissance, une dysmorphie faciale, des malformations cérébrales (holoprosencéphalie, défaut de fermeture du tube neural), oculaires, cardiaques, génito-urinaires, squelettiques et un retard mental. Des études antérieures de corrélations génotype-phénotype ont permis d'associer la perte de la bande 13q32 au phénotype le plus sévère. Dans le cas présent, la délétion même partielle et en mosaïque de la bande 13q32 est responsable d'un tableau malformatif sévère, sans toutefois de retard de croissance à 25 SA. Les gènes *ZIC2* (responsable d'holoprosencéphalie) et *ZIC5* (un candidat pour les anomalies de fermeture du tube neural), sont emportés par la délétion. Cette observation corrobore ainsi les précédentes corrélations génotype-phénotype. Elle illustre également l'apport de la CGH micro-array dans la caractérisation d'anomalies, même en mosaïque.

Mots-clés : CGH array, délétion 13q, mosaïque.

■P147 / 221. DIAGNOSTIC PRÉ-IMPLANTATOIRE DE L'AMYOTROPHIE SPINALE

A. Girardet (1), C. Fernandez (1), C. Coubes (2), T. Anahory (3), S. Hamamah (3), L. Reyftmann (4), M. Claustres (1)
(1) Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHU de Montpellier et INSERMU827 ; (2) Service de Génétique Médicale, CHU de Montpellier ; (3) Laboratoire de Biologie de la Reproduction, CHU de Montpellier ; (4) Service de Gynécologie Obstétrique-CHU de Montpellier

L'amyotrophie spinale (SMA) est une maladie neuromusculaire de transmission autosomique récessive, touchant environ 1 enfant sur 10 000. Cette maladie est caractérisée par la dégénérescence des motoneurons alpha de la corne antérieure de la moelle épinière entraînant une faiblesse et une atrophie musculaires. La SMA est classée en 3 principaux types selon l'âge d'apparition des 1^{ers} symptômes et l'évolution de la maladie : le type I (forme infantile sévère ou maladie de Werdnig-Hoffmann), le type II (forme intermédiaire) et le type III (forme juvénile ou maladie de Kugelberg-Welander). Ces 3 formes sont liées à des altérations du gène *SMN1* localisé en 5q11.2-13.3, l'exon 7 du gène *SMN1* étant délété à l'état homozygote chez environ 95 % des patients. Le diagnostic de SMA est donc traditionnellement basé sur la mise en évidence de cette délétion homozygote via une digestion enzymatique permettant de différencier le gène *SMN1* de son homologue centromérique *SMN2*, dont la délétion homozygote n'est pas pathogène. En raison de sa fréquence élevée et de sa gravité, la SMA représente une demande très fréquente de diagnostic pré-implantatoire (DPI). De ce fait, nous avons développé des protocoles de PCR unicellulaire permettant de détecter la délétion homozygote des exons 7 et 8 du gène *SMN1* et nous avons amélioré les protocoles décrits jusqu'à présent en analysant également des marqueurs microsatellites extragéniques situés de part et d'autre du gène *SMN1*. Cette stratégie permet de réaliser d'une part un diagnostic génétique indirect, et d'autre part de détecter la présence éventuelle de contaminations par de l'ADN exogène. Cette stratégie de DPI peut être appliquée à toutes les familles présentant

la délétion homozygote « classique » de *SMN1*, mais également aux familles où l'un des membres du couple est porteur d'une mutation ponctuelle dans *SMN1*, identifiée chez environ 6 % des individus atteints. Dans le centre de DPI de Montpellier, 30 cycles de DPI pour risque de SMA ont été débutés chez 12 couples : 22 ont abouti à la biopsie d'au moins 3 embryons et 8 ont été annulés pour mauvaise réponse à la stimulation ovarienne ou absence d'embryons biopsiables à J3. Deux grossesses ont permis la naissance de 2 enfants en bonne santé, deux grossesses (dont une gémellaire) sont actuellement en cours et deux grossesses se sont soldées par une fausse-couche spontanée précoce.

Mots-clés : SMA, DPI, diagnostic direct et indirect.

■P148 / 227. DIAGNOSTIC PRÉNATAL D'ÉPIDERMOLYSE BULLEUSE JONCTIONNELLE AVEC ATRÉSIE PYLORIQUE : À PROPOS D'UN CAS

H. Moirot (1, 2), P. Chambon (1, 2), D. Eurin (3), A. Charlesworth (4), G. Meneguzzi (4), J-P. Lacour (4), A. Diguët (5), F. Muller (6), C. Rougeille (2), G. Joly-Hélas (1, 2), P. Saugier-Verber (2), F. Roussel (7), B. Macé (1), T. Frebourg (2)

(1) Laboratoire de Cytogénétique, CHU de Rouen ; (2) Service de Génétique, CHU de Rouen ; (3) Service de Radiologie Pédiatrique, CHU de Rouen ; (4) Inserm U634, Faculté de Médecine de Nice et Centre de Référence des Epidermolyses Bulleuses ; (5) Service de Gynécologie-Obstétrique, CHU de Rouen ; (6) Laboratoire de Biochimie Hormonologie, Hôpital Robert-Debré, AP-HP Paris ; (7) Laboratoire d'Anatomie Pathologique, CHU de Rouen

Les épidermolyses bulleuses jonctionnelles avec atrésie du pylore (EBJ-AP) sont des entités rares de transmission récessive autosomique résultant de mutations des gènes *ITGA6* ou *ITGB4* codant respectivement pour la sous-unité alpha 6 et beta 4 de l'intégrine, protéine d'adhésion cellulaire. Nous rapportons un cas de diagnostic prénatal d'EBJ-AP chez une première geste âgée de 29 ans d'origine algérienne apparentée à son conjoint. À l'échographie fœtale de 12 semaines d'aménorrhée (SA), la nuque est mesurée à 4,7 mm d'épaisseur. Le caryotype réalisé sur la culture des cellules amniotiques prélevées à 16 SA révèle une inversion péricentrique du chromosome Y : 46,inv(Y)(p11.2q11.2) pat. L'échographie fœtale de 22 SA est normale. À 33 SA, apparaît un hydramnios aigu avec dilatation gastrique et l'échographie révèle des échos de tractus fibreux semblant solidaires de la surface fœtale, ce qui fait évoquer le diagnostic d'EBJ-AP. La croissance fœtale est normale. Dans le liquide amniotique, le taux des gamma-glutamyl-transpeptidases est élevé (5,6 MoM) ainsi que celui des protéines (8,7 g/l) et de l'alpha fœto-protéine (AFP) (8,6 MoM). Dans le sérum maternel, le taux d'AFP est normal (0,86 MoM) et les bêta hCG sont élevées (2,73 MoM). À 36 SA, la réapparition de l'hydramnios nécessite une ponction évacuatrice qui contient de nombreux lambeaux épithéliaux. Le couple accepte la réalisation d'un immunodiagnostic sur prélèvement de villosités chorales qui met en évidence un déficit en intégrine alpha6beta4. Le couple désire poursuivre la grossesse. À 42 SA, l'enfant est extrait par césarienne : il est eutrophique et ne présente pas d'anomalie cutanée. L'aspiration du contenu gastrique montre la présence de matériel blanchâtre abondant. La cure chirurgicale de l'atrésie du pylore est réalisée à J1. À J2 apparaissent des petites vésicules aux points de piqûres : talon et bras, à J4 d'autres apparaissent dans plis inguinaux puis une bulle de 1 cm se forme au talon. L'étude en génétique moléculaire identifie la mutation c.4632-4633delCA dans l'exon 35 du gène *ITGB4* (p.Arg1545Serfsx26) à l'état homozygote chez l'enfant. Le père et la mère sont porteurs hétérozygotes de cette mutation. Dans notre observation, le diagnostic d'EBJ-AP a été évoqué au deuxième trimestre de la grossesse à l'échographie fœtale devant l'association d'un hydramnios avec une atrésie du pylore et cette observation illustre l'intérêt de l'immunodiagnostic sur la biopsie de villosités chorales pour confirmer le diagnostic au cours de la grossesse.

Mots-clés : épidermolyse intégrine, diagnostic prénatal.

■P149 / 248. BILAN DE 353 AUGMENTATIONS DE LA CLARTE NUCALE DU 1^{ER} TRIMESTRE DE GROSSESSE

G. Lopez, F. Prieur, V. Adouard, B. de Fréminville, R.L. Touraine
Service de génétique, CHU de Saint-Étienne, France

Nous avons analysé le devenir de 353 fœtus porteurs d'une augmentation de nuque au 1^{er} trimestre de grossesse. Les patientes ont été vues dans le service de génétique du CHU de Saint Étienne entre 2000 et 2005. 324 soit 91,7 % ont bénéficié d'un caryotype et une anomalie chromosomique a été diagnostiquée chez 81 fœtus (25 %). Nous avons classé ces 353 patientes en 7 groupes à risque selon la mesure de nuque et la LCC. Le

groupe A comprend 76 fœtus ayant un risque augmenté au maximum par 4 fois. Nous avons pu établir un diagnostic pour 6 de ces fœtus (5 T21 et 1 T18) soit dans 7.9 % des cas. Le groupe B comprend 39 fœtus ayant un risque augmenté entre 4 et 8 fois. Quatre T21 ont été diagnostiquées (10.25 %). Le groupe C comprend 73 fœtus ayant un risque augmenté entre 8 et 16 fois. Un diagnostic a été posé pour 8 fœtus (10.9 %) avec 1 syndrome de Turner, 1 tétrasomie 9p, 1 ostéogénèse imparfaite, 1 syndrome de Prader Willi et 4 T21. Le groupe D comprend 36 fœtus ayant un risque augmenté entre 16 à 25 fois. On a pu poser un diagnostic pour 6 fœtus (16.7 %) avec 1 syndrome polymalformatif, 1 T13 et 4 T21. Le groupe E comprend 19 fœtus ayant un risque augmenté entre 25 et 39 fois. 3 T21 ont été diagnostiquées (15.8 %). Le groupe F comprend 18 fœtus ayant un risque augmenté entre 39 et 62 fois. Quatre fœtus (22.2 %) étaient porteurs de T21. Le groupe G comprend 40 fœtus ayant un risque augmenté entre 62 et 110 fois. Un diagnostic a pu être établi pour 16 fœtus (40 %) avec 8 T21, 3 T13, 2 T18, 1 triploïdie, 1 triple X, 1 T21 associée avec une T13 partielle. Le groupe H comprend 52 fœtus ayant un risque augmenté au minimum par 110 fois. Un diagnostic a été posé chez 34 fœtus (65.4 %) avec 16 T21, 6 T18, 5 syndromes de Turner, 2 T13, 1 syndrome 3C, 1 triploïdie, 1 syndrome d'Ivemark, 1 T10 partielle, 1 syndrome des pterygium multiples. Nous avons également noté que les groupes G et H sont représentés par des femmes jeunes (37 % ont entre 26 et 30 ans et 24 % ont entre 17 et 25 ans). Pour les patientes âgées de 17 à 40 ans, le taux d'anomalies chromosomiques dépend surtout de l'épaisseur de la clarté nucale. Par contre, pour les patientes de plus de 40 ans ayant eu une nuque augmentée durant leur grossesse, on a identifié une anomalie chromosomique dans 80 % des cas. Cette étude a bien confirmé la normalité du caryotype fœtal pour 75 % des clartés nucales augmentées du 1^{er} trimestre de grossesse. Enfin, nous avons repris contact par téléphone avec les 33 patientes qui appartenaient au groupe G ou H et dont l'issue de grossesse était la naissance de leur enfant. Ceux-ci sont actuellement âgés de 14 mois à 7 ans. 3 familles n'ont pas pu être contactées. 26 enfants n'ont pas de problèmes (89.6 % des familles contactées). Un enfant (7 ans) redouble son CP. Il aurait une malformation au niveau de la main. Un enfant (3 ans) présente depuis sa naissance un retard de croissance sans retard psychomoteur. Un enfant (5 ans et demi) a présenté un retard de langage qui a nécessité un suivi orthophonique. Il redouble la grande section. Un enfant (6 ans) aurait parlé tard, il rentre actuellement au CP. Cette étude montre que malgré une clarté nucale très importante (groupes G et H) au 1^{er} trimestre de grossesse, il y a une évolution très favorable dans 89.6 % des cas lorsque le caryotype est normal.

Mots-clés : clarté nucale, diagnostic prénatal, devenir.

■P150 / 282. DIAGNOSTIC PRÉNATAL D'UN SYNDROME DE ROBERTS SANS IMAGE CYTOGÉNÉTIQUE CARACTÉRISTIQUE

C. de La Rochebrochard (1), J. Lucas (2), S. Blesson (3), P. Poulain (4), G. Le Bouar (4), L. Pasquier (1), C. Henry (2), J. Milon (4), C. Quelin (1), L. Lœuillet (5), A. Gelot (6), A. Guichet (3), B. Laudier (4), H. Richard (7), G. Haddad (3), G. Guanti (8), S. Odent (1)

(1) Service de Génétique, CHU Rennes ; (2) Laboratoire de Cytogénétique, CHU Rennes ; (3) Service de Génétique, CHU Tours ; (4) Département de Gynécologie-Obstétrique, CHU Rennes ; (5) Service d'Anatomopathologie, CHU Rennes ; (6) Service d'Anatomopathologie, CHU Trousseau ; (7) Département de Gynécologie-Obstétrique, Hôpital de Fougères ; (8) Laboratoire de Biomédecine

Le syndrome de Roberts (RBS), maladie récessive autosomique rare, est caractérisé par une tétraphocomélie, un retard de croissance intra-utérin profond, une dysmorphie craniofaciale, une microcéphalie et un retard mental. Les cellules RBS présentent une répulsion de l'hétérochromatine (HR) ou une séparation prématurée des centromères (PCS). Des mutations dans le gène *ESCO2* ont été récemment identifiées chez les patients RBS. Nous rapportons l'observation d'un couple non consanguin adressé pour leur deuxième grossesse. Lors de la première grossesse, à l'échographie systématique de 22 SA, avait été mise en évidence une tétraphocomélie sévère avec microcéphalie et retard de croissance sévère. RBS a été suspecté et confirmé par les examens fœtopathologique et cytogénétique. Le fœtus présentait une séquence Pierre Robin et une tétraphocomélie. Le caryotype fœtal en bandes R avait mis en évidence une PCS sur les fibroblastes du cordon. Lors de la deuxième grossesse, le caryotype fœtal sur villosités choriales était normal (pas de PCS sur 70 cellules examinées). À 21 SA, une agénésie radiale bilatérale a fait évoquer une récurrence. L'examen fœtopathologique a confirmé le retard de croissance modéré, les anomalies craniofaciales et l'agénésie radiale et des pouces bilatérale. Les membres inférieurs et l'examen neuropathologique étaient normaux. Les explorations cytogénétiques sur 5 tissus n'ont montré de PCS que sur 14

cellules (poumon et cordon) sur 213 analysées. Le criblage du gène *ESCO2* est négatif. Cette observation souligne la difficulté diagnostique du RBS du fait de la variabilité d'expression cytogénétique. Le diagnostic clinique est très évocateur d'un RBS. L'hypothèse d'une hétérogénéité génétique est soulevée.

Mots-clés : diagnostic prénatal, cytogénétique, hétérogénéité génétique.

■P151 / 303. BILAN D'ACTIVITÉ DU DIAGNOSTIC PRÉIMPLANTATOIRE DE LA MALADIE DE HUNTINGTON À STRASBOURG

C. Moutou (1), N. Gardes (1), J.-C. Nicod (1), N. Becker (1), M.-P. Bailly (2), I. Galland (1), P. Gosset (1), C. Wittemer (1), C. Rongières (2), S. Viville (1)

(1) Service de Biologie de la Reproduction, CHRU de Strasbourg ; (2) Service de Gynécologie Obstétrique, CMCO Schiltigheim, CHRU de Strasbourg

La maladie de Huntington est une affection neurodégénérative héréditaire autosomique dominante due à une expansion d'un triplet CAG dans le premier exon du gène *IT15* localisé en 4p16. Le diagnostic préimplantatoire (DPI) de cette pathologie est basé soit sur la recherche de la mutation pour les personnes présentant une expansion, soit sur un diagnostic d'exclusion pour les personnes à risque ne souhaitant pas réaliser de test présymptomatique. Nous présentons ici les données de 90 couples adressés pour DPI ainsi que les résultats des 109 cycles réalisés à Strasbourg. Entre février 2000 et juillet 2007, 90 demandes de DPI pour maladie de Huntington ont été étudiées : 44 cas avec mutation identifiée (groupe 1) et 46 cas sans test présymptomatique (groupe 2). Ceci représente l'indication majoritaire dans notre centre. Ces couples sont jeunes, avec une moyenne d'âge des femmes de 29.3 ± 4.3 ans (contre 31.4 ± 4.4 ans pour l'ensemble des autres demandes pour maladie monogénique), souvent sans enfant (83 % des couples), et le DPI est pour eux la seule solution acceptable pour avoir des enfants indemnes de la pathologie. Le groupe 1 et le groupe 2 sont comparables sur le plan de l'âge de la femme au moment de l'inclusion, du sexe du membre porteur ou à risque. On note cependant des différences significatives entre les deux groupes lorsqu'on compare l'âge moyen des hommes, le nombre de grossesses initiées avant la demande de DPI et le nombre d'interruptions médicales de grossesse. Nous avons développé 16 protocoles : détection des CAG initialement puis PCR multiplex combinant les CAG avec des microsatellites de la région et PCR multiplex de microsatellites pour les tests d'exclusion. De plus, nous avons décrit un nouveau marqueur hautement informatif dans l'intron 1 du gène *IT15*. Parmi les 90 demandes, 87 ont été acceptées et 3 refusées d'emblée. Treize dossiers ont été clos avant la première tentative du fait des patients ou par le centre. Nous avons reçu des prélèvements pour 53 couples pour lesquels les analyses préliminaires ont montré que la prise en charge en DPI était possible. Enfin, pour 17 couples, aucun prélèvement ne nous est parvenu. Cent neuf stimulations ovariennes ont été réalisées chez 45 femmes (63 pour 24 femmes du groupe 1 et 46 pour 21 femmes du groupe 2). Le nombre moyen de cycles par couple est de 2.1 (de 1 à 7). Quatre cycles ont été réalisés pour obtenir une deuxième grossesse suite à un succès du DPI. Une ponction ovocytaire a été possible dans 87 cycles avec en moyenne 12.9 ovocytes ponctionnés et 10.4 injectés. Une biopsie embryonnaire a été réalisée dans 83 cycles avec en moyenne 5.2 embryons par biopsie. Au total, 156 embryons ont été diagnostiqués indemnes ou sans risque et 105 ont été transférés au cours de 60 transferts. Nous avons obtenu 22 grossesses initiées (bêta-HCG positif), 16 grossesses évolutives pour 12 couples (12 uniques, 4 gémeaux), 18 enfants sont nés (14 accouchements) et 2 grossesses sont en cours. Il n'y a eu aucune vérification pré- ou post-natale des résultats du DPI. Les résultats sont meilleurs dans le groupe 2, tant sur le plan des données embryologiques que sur les résultats en terme de grossesses (32 % par transfert et 24 % par ponction contre 22 % et 14 % dans le groupe 1). Ceci s'explique probablement par l'âge moins élevé chez les femmes du groupe 2 au moment de la tentative. Au niveau des couples, lorsqu'il y a un transfert, chaque couple a une probabilité de 55 % d'initier une grossesse et de 41 % d'avoir une grossesse clinique évolutive. Ces résultats montrent que le DPI est une bonne option pour les couples à risque de transmettre une maladie de Huntington. Ceci est particulièrement vrai lorsque la personne à risque ne souhaite pas avoir recours au test présymptomatique. Dans ce cas, le DPI d'exclusion est une solution nettement plus acceptable que le diagnostic prénatal d'exclusion qui n'est désormais quasiment plus réalisé en France.

Mots-clés : diagnostic préimplantatoire, DPI, Huntington.

■P152 / 305. DIAGNOSTIC PRÉNATAL DES SYNDROMES DRÉPANOCYTAIRES MAJEURS : EXPÉRIENCE TUNISIENNE

T. Messaoud (1), F. Ouali (1), B. Dakhlaoui (1), A. Bibi (1), F. Zouari (2), S. Fattoum (1)



- (1) Laboratoire de Biochimie Clinique de l'Hôpital d'Enfants de Tunis ;
(2) Centre de Maternité de Tunis Service de Gynécologie Obstétrique « C »

Les hémoglobinopathies sont des maladies héréditaires du globule rouge, se traduisant par une anémie hémolytique chronique associée à diverses complications spécifiques. En Tunisie, ces maladies sont fréquentes surtout dans les régions du nord ouest et posent un vrai problème de santé publique. Le développement technologique en matière de diagnostic génotypique a permis de mettre au point, différentes techniques de biologie moléculaire applicables au diagnostic anténatal de ces affections constituant actuellement la meilleure action préventive. Dans le présent travail, nous rapportons la stratégie utilisée dans notre service pour le diagnostic anténatal de ces pathologies. Un dossier clinique complet est établi pour chaque famille comportant obligatoirement : un interrogatoire et une électrophorèse de l'hémoglobine. Un prélèvement pour ADN est effectué pour l'étude moléculaire. Le diagnostic anténatal a été réalisé sur trophoblaste dans 17 cas et sur liquide amniotique dans 25 cas. Les méthodologies utilisées reposent sur l'application génique *in vitro* (PCR) suivie par une digestion enzymatique et une réaction de réserve Dot Blot complétée au besoin par le séquençage direct de l'ADN. Les résultats obtenus sur une période de 3 ans d'expérience (2004-2006) ont concerné 42 cas de syndromes drépanocytaires majeurs et ont montré : (i) 10 cas d'homozygoties ayant indiqué une interruption thérapeutique de la grossesse. Cette interruption a été acceptée dans la majorité des cas. (ii) 19 cas d'hétérozygoties pour le trait drépanocytaire contrôlés à la naissance. (iii) 13 cas normaux sur le plan génotypique. Par ailleurs, l'étude des marqueurs microsatellites chez le fœtus hétérozygote et ses parents concourt à déterminer s'il y a une contamination maternelle. Cette recherche a été faite systématiquement pour toutes nos familles avant même d'attendre les résultats de la culture, de délai plus long. Le puissant développement technologique réalisé ces dernières années en matière de diagnostic génotypique, permet actuellement de prévenir cette affection par le biais du diagnostic anténatal, réalisable dans notre laboratoire depuis 1994, et d'entreprendre dans les régions à haut risque des programmes de prévention spécifiques.

Mots-clés : syndromes drépanocytaires, moléculaire, diagnostic prénatal.

■P153 / 313. DIAGNOSTIC ÉCHOGRAPHIQUE D'UNE RÉCIDIVE D'ATÉLOSTÉOGENÈSE DE TYPE II À 12 S.A. : APPORT DE L'ÉCHOGRAPHIE 3D

O. Boute (1), L. Devisme (2), P. Vaast (3), L. Bonafé (4), A. Dieux-coeslier (1), M.C. Copin (2), S. Manouvrier (1)

(1) Service de Génétique clinique Hôpital Jeanne De Flandre-CHRU de Lille ; (2) Service d'anatomie et cytologie pathologiques, CHRU de Lille ; (3) Service de médecine fœtale Hôpital Jeanne De Flandre, CHRU de Lille ; (4) Laboratoire de pédiatrie moléculaire, centre hospitalier universitaire vaudois, hôpital de l'enfance de Lausanne

L'atélостогенèse de type II (OMIM 256050) est une chondrodysplasie létale caractérisée par une micromélie sévère, des vertèbres hypoplasiques, des pieds bots, des pouces et des orteils en abduction marquée. Cette pathologie récessive autosomique est liée à des mutations homozygotes du gène *SLC26A2* (diastrophic dysplasia sulfate transporter DTDST). Ce gène est également impliqué dans l'achondrogenèse I B, chondrodysplasie létale et dans deux autres chondrodysplasies de moindre gravité : la dysplasie diastrophique (OMIM 222600) et la dysplasie épiphysaire multiple 4, récessive autosomique (OMIM 226900). Nous rapportons l'observation d'un couple non consanguin confronté lors de sa première grossesse à une interruption médicale de grossesse à 24 SA. d'un fœtus féminin présentant un nanisme micromélie sévère. Les données cliniques, radiographiques et histopathologiques ont permis de diagnostiquer en post-natal une atélостогенèse de type II. Le fœtus était hétérozygote composite pour deux mutations déjà rapportées du gène *SLC26A2* (R178X et R279W). À la grossesse suivante, l'échographie 2D réalisée à 12 SA avant le prélèvement de trophoblaste pour diagnostic moléculaire retrouve une augmentation de la clarté nucale à 5 mm, une micromélie globale, des pieds varus avec un écart important entre le premier et le deuxième orteil et un aspect de pouce « d'auto-stoppeur ». Les anomalies notamment des mains et des pieds seront confirmées et précisées par une échographie 3D. Le diagnostic de récidive d'atélостогенèse de type II est posé par l'échographie. Le diagnostic prénatal moléculaire n'est pas réalisé et une interruption de la grossesse a lieu à 14 S.A. Les données cliniques, radiographiques, histologiques et moléculaire confirment le diagnostic. Le diagnostic à 12 SA d'un cas d'atélостогенèse de type II lors d'une échographie de routine a été rapporté par Fernandez-Aguilar et collaborateurs en 2005. Le fœtus présentait les mêmes signes échographiques que notre observation : clarté nucale augmentée, micromélie globale malposition des pieds, abduction marquée des pouces et des premiers orteils. Le diagnostic d'atélостогенèse de type II a été confirmé par l'aspect des membres et des extrémités,

par l'analyse du cartilage et l'étude du gène *DTDST* (*SLC26A2*). Le fœtus portait les mêmes mutations que notre cas rapporté. Notre observation montre l'apport de l'échographie 3D pour ce diagnostic et permet une corrélation avec les données cliniques et autopsiques. L'observation de Fernandez-Aguilar et collaborateurs et la notre montrent qu'il est possible d'évoquer le diagnostic d'atélостогенèse de type II dès 12 SA notamment en raison de l'aspect caractéristique des mains et des pieds. Ceci permet d'orienter les analyses histologiques et moléculaire post-natales. D'autre part le diagnostic échographique précoce peut être une alternative au diagnostic prénatal moléculaire.

Mots-clés : atélостогенèse type II, échographie 3D, diagnostic prénatal.

■P154 / 325. DYSOSTOSE SPONDYLOCOSTALE FŒTALE DUE À UNE MUTATION HOMOZYGOTE DU GÈNE *DLL3*

C. Leblcq (1, 2), C. Tysoe (3), L. Tecco (4), S. Ben Youssef (4), F. Ziereisen (5), S. Eliard (3), P. Turnpenny (3) et Y. Sznajder (1, 2)

(1) Unité de Génétique Clinique, Hôpital Universitaire des Enfants Reine Fabiola, ULB, Bruxelles, Belgique ; (2) Centre de Génétique, ULB, Bruxelles, Belgique ; (3) Royal Devon and Exeter, NHS Foundation Trust, Exeter, United Kingdom ; (4) Département de Gynécologie et Médecine Périnatale, Hôpital Brugmann, ULB ; (5) Service de Radiologie, Hôpital Universitaire des Enfants Reine Fabiola, ULB ; (6) Service de Neurologie Pédiatrique, Hôpital Universitaire des Enfants Reine Fabiola 5 Laboratoire de Cytogénétique Centre de Génétique, ULB

Nous rapportons l'histoire d'une femme enceinte d'origine syrienne, mère d'une première fille bien portante, pour laquelle l'échographie fœtale anatomique à 20 semaines de grossesse a révélé un retard de croissance intra-utérin et des anomalies costo-vertébrales multiples. L'enquête squelettique fœtale permet la mise en évidence d'une atteinte des corps vertébraux sur l'entièreté de la colonne (fusions et hémivertèbres) associée à des atteintes costales. Aucune anomalie anatomique interne, des membres et/ou cérébrale ou médullaire n'était objectivée. Le diagnostic de dysostose spondylo-costale était retenu. Le séquençage direct du gène *DLL3* en 19q13 a permis d'identifier la présence à l'état homozygote de la mutation R221X (c.661C>T – p.Arg221X) dans l'exon 6 produisant un codon stop prématuré en position 221. En complétant l'arbre généalogique, il apparaît que ce couple consanguin (cousins germains) a quatre nièces d'une sœur du père vivant en Syrie ayant un tableau post natal de dysostose spondylo-costale dont une est décédée dans la première année de vie et un fils d'une autre sœur est également atteint. Jarcho et Levin en 1938 ont décrit la première famille d'une sœur et d'un frère atteints ; le diagnostic de syndrome de Klippel Feil était cependant retenu. (1) Mortier *et al.* rassemblaient 141 patients et répertoriaient 3 entités distinctes sur base du phénotype et des radiographies : le syndrome de Jarcho-Levin, léthal, d'hérédité autosomique récessive (thorax de crabe) ; la dysostose spondylo-costale, de forme autosomique dominante, bénigne et la dysostose spondylo thoracique, d'hérédité autosomique récessive et très proche cliniquement la deuxième forme. En 1999 par cartographie par homozygotie, un locus SCOD1 était isolé au départ d'une large famille consanguine et grâce à l'homologue murin (mutant « pudgy »), un gène candidat de la voie de signalisation Notch était identifié : le gène *delta-like 3*. (3) Une hétéroénéité génétique existe dans cette dysostose puisque le gène *MESP2* agissant dans la même voie de signalisation peut être associé à des formes phénotypiquement moins sévères. La présente histoire souligne l'élégance du diagnostic par imagerie anté-natale, par la mise en évidence des signes radiologiques pathognomoniques autorisant une recherche moléculaire ciblée et permettant un diagnostic précis. Un conseil génétique est désormais disponible.

Références

1. Jarcho S. et Levin PM. *Bull J Hopkins hospital* 1938 ; 62 : 216-226.
2. Mortier G., Lachman RS., Bocian M., Rimoin DL. *Am J Med Genet* 1996 ; 61 : 310-339.
3. Turnpenny P., Bulman MP., Frayling TM., Abu-Nasra T., Garrett C., Hattersley AT., Ellard S. *Am J Hum Genet* 1999 ; 65 : 175-182.

Mots-clés : dysostose spondylo costale, gène *dll3*, prénatal.

■P155 / 340. ÉTUDE PHARMACODYNAMIQUE DE L'ABSORPTION D'ACIDE FOLIQUE CHEZ DES FEMMES AYANT DES RÉCIDIVES DE GROSSESSES AVEC MALFORMATION DU TUBE NEURAL (SPINA BIFIDA OU ANENCÉPHALIE)

H. Journel (1, 2, 3), B. Le Marec (2, 4), V. David (2, 5), P. Parent (2, 6), J. Zittoun (7), S. Odent (2, 4)

(1) Génétique Médicale, CH Vannes ; (2) Centre de Référence des Anomalies du Développement de l'Ouest ; (3) Centre de Référence Spina Bifida, CHU Rennes ; (4) Service de Génétique Médicale, CHU Rennes ;

(5) Service Biochimie, CHU Rennes ; (6) Service de Génétique Médicale, CHU Brest ; (7) Service d'Hématologie biologique, CHU Creteil

Un fichier breton des Malformations du tube neural (MTN) a été constitué rétrospectivement entre 1982 et 1992. L'hypothèse de départ était de rechercher par une étude pharmacodynamique de l'absorption d'acide folique comparée avec celle de l'absorption d'acide folinique, une modification du comportement de l'une de ces formes de folates. Cela pouvait être un argument pour démontrer de manière objective la nature métabolique, non essentiellement carentielle de l'origine de (la plupart des ???) MTN. Nous avons repéré en 1988 un groupe de mères à haut-risques de récurrence que nous appellerons patientes : les mères ayant eu au moins deux enfants atteints de MTN. Des témoins ont été sollicités et appariés pour l'âge et la gestité. L'analyse pharmacodynamique répondait au protocole suivant : Premier prélèvement le matin à jeun (T0), puis absorption randomisée d'acide folique (Spéciafoline, Specia, comprimés dosés à 5 mg), ou folinique (Lederfoline, Lederlé, comprimés dosés à 5 mg). L'ordre d'inclusion des patientes et des témoins se faisait selon l'ordre chronologique de passage dans l'étude. Les prélèvements suivants étaient effectués à 30' (T1), 60' (T2), 90' (T3), 120' (T4), 180' (T5), 6 h (T6), 10 h (T7) et 24 h (T8). À T0 commençait un recueil d'urines sur vessie vidée, jusqu'à T6 (6 premières heures). Les repas du midi et du soir comportaient les mêmes recommandations que la semaine précédant l'épreuve. À T0 et T24 étaient prélevés 20 ml de sang sur tube sec pour centrifugation, 5 ml sur tube hépariné pour hémolyse et numération-formule sanguine. Aux autres temps étaient prélevés 10 ml sur tube sec. Ces prélèvements étaient immédiatement centrifugés à 4 000 tr/min pendant 10 minutes en évitant toute trace d'hémolyse, puis recueillis sur tube enrichi en vitamine C et congelés immédiatement à -24 °C. Aux T0 et T24 un hémolyat était réalisé à partir du sang prélevé sur tube EDTA avec mélange de 0,5 ml de sang total pour 4,5 ml d'eau distillé, décantation pendant 2 heures puis recueil sur vitamine C et congélation à -24 °C. Seuls les hématocrites aux T0 et T24 étaient analysés sur place. Tous les autres prélèvements étaient adressés congelés au laboratoire de mesure. Résultat : Les AUC des patientes sont significativement plus basses que leur témoins appariés, quelque soit le produit utilisé, et que ce soient les formes totales ou les formes méthylées. La différence la plus marquée concerne les AUC des Folate sériques totaux (FST) obtenues après ingestion d'acide folique (SPF) avec un rapport de concentration cas / témoin de 1/2. La confirmation des écarts observés dans les dosages statiques ne s'accompagne pas des mêmes pourcentages de méthylation : avec la SPF le rapport AUC-totaux/AUC-méthylés est de 42.86 % pour les patientes contre 52.82 % pour les témoins. Cette différence n'est pas significative en raison de l'effectif. L'écart diminue pour l'acide folinique avec 80.12 % pour les patientes contre 85.25 % pour les témoins, la différence n'étant plus significative. Les Cmax diffèrent dans le même sens que les AUC avec des écarts tout aussi significatifs pour les mêmes comparaisons. La comparaison inter-produit montre des AUC toujours significativement supérieures avec l'acide folinique vs acide folique. Les Cmax des formes méthylées sont significativement plus élevées sous acide folinique que sous acide folique. Conclusions : On peut relire ces tests 15 ans après en notant qu'ils n'étaient pas en faveur d'une origine seulement carentielle et qu'ils sont compatibles avec un défaut du passage trans-membranaire dont nous citerons les étiologies et mécanismes possibles.

Mots-clés : malformations, tube neural, acide folique, prévention.

■P156 / 341. MALFORMATIONS DES EXTRÉMITÉS ET TÉRATOGÉNÉCITÉ DU VALPROATE : EXPÉRIENCE MULTICENTRIQUE FRANCOPHONE

H. Journal (1, 2, 3), P. Parent (2, 4), A. Toutain (2, 5), B. Gilbert (2, 6), M. Gonzales (7), A. Bottani (8), D. Lacombe (9), D. Bonneau (2, 10), S. Manouvrier (11), V. Drouin (12), P. Edery (13), S. Odent (2, 14)

(1) Génétique Médicale, CH Vannes ; (2) Centre de Référence des Anomalies du Développement de l'Ouest ; (3) Centre de Référence Spina Bifida, CHU Rennes ; (4) Service de Génétique Médicale, CHU Brest ; (5) Génétique Médicale, CHU Tours ; (6) Génétique Médicale, CHU Poitiers ; (7) Unité de Fœtopathologie, CHU Trousseau Paris ; (8) Génétique Médicale, Genève ; (9) Génétique Médicale, CHU Bordeaux ; (10) Génétique Médicale, CHU Angers ; (11) Génétique Médicale, CHU Lille ; (12) Génétique Médicale, CHU Rouen ; (13) Génétique Médicale, CHU Lyon ; (14) Génétique Médicale, CHU Rennes

Les embryo-fœtopathies liées au Valproate (FVS) touchent les enfants de mères épileptiques qui sont traitées par Valproate (VPA) seul ou en association pendant la grossesse. Les Malformations des Extrémités survenant dans les embryo-fœtopathies liées au Valproate sont beaucoup plus rares que les malformations du tube neural type spina bifida (3/100), que les dysmorphies faciales (probablement > 50/100) et que les retards mentaux

ou troubles du comportements (10-50 %). Elles arrivent cependant à constituer une constellation de malformations qui touchent principalement les membres supérieurs. Nous analysons 16 observations marquantes des membres et des extrémités issues des dossiers de plusieurs centres français maladies rares et d'autres centres francophones de génétique. Nous n'avons pas retenu comme malformation l'existence d'une hyperlaxité des poignets et des mains qui est une pathologie quasi-constante de ces enfants. Nous décrivons des hypoplasies préaxiales ou postaxiales (Agénésie partielle du cubitus, Aplasie radiale bilatérale, Aplasie radiale et triphalangie, mains hypoplasiques), des excès de structures avec des polydactylies postaxiales, ou des polydactylies préaxiales. Ces malformations restent rares. Exceptionnellement des mains fendues et des phocomélie ont été observées. Les implantations basses des pouces, les digitalisations des pouces ou leur atteinte fonctionnelle ne sont par contre pas rares, et peuvent passer inaperçues à la naissance. Enfin les hypoplasies des dernières phalanges ou des ongles peuvent se voir. Les atteintes des membres inférieurs semblent plus exceptionnelles, avec des pieds valgus, très rarement des pieds bots varus, des polydactylies des orteils. La tératogénicité du VPA n'est actuellement pas totalement déterminée. Des analogies avec la thalidomide, seul autre tératogène à avoir donné des malformations majeures des extrémités, sont proposées.

Mots-clés : malformations, extrémités, fœtopathie au valproate, tératogénicité.

■P157 / 366. MISE EN ÉVIDENCE D'UNE DÉLÉTION 1Q21.1 APRES IMG POUR APLASIE RADIALE ISOLÉE : DIAGNOSTIC DE SYNDROME TAR ET IMPLICATIONS POUR LE CONSEIL GÉNÉTIQUE

S. Manouvrier-Hanu (1, 9), J. Andrieux (2, 3), P. Saugier-Verber (4), F. Escande (5), L. Devisme (6), S. Bisiau (7), C. Chaffiotte (8, 9) O. Boute-Bénéjean (1), A. Dieux-Coeslier (1), J.P. Kerckaert (3, 9), M. Holder-Espinasse (1, 9)

(1) Service de Génétique clinique CHU de Lille ; (2) Laboratoire de Génétique CHU de Lille ; (3) Plateforme de Génomique Université Lille 2 ; (4) Département de Génétique Centre CHU de Rouen ; (5) Laboratoire de Biologie moléculaire CHU de Lille ; (6) Laboratoire d'Anatomopathologie et fœtopathologie CHU de Lille ; (7) Laboratoire d'Anatomopathologie Hôpital Valenciennes ; (8) Service de Radiologie Mère-Enfants CHU de Lille ; (9) Université Lille 2

Le syndrome TAR (Thrombocytopenia-Absent Radius) a été récemment rattaché à une délétion 1q21.1 par Klopocki *et al.* Cette délétion a été retrouvée par les auteurs chez 100 % des patients testés, mais aussi dans 75 % des cas chez un parent asymptomatique. Cette découverte a changé l'approche diagnostique et le conseil génétique dans cette affection, réputée autosomique récessive qui reconnaît plus probablement un mode de transmission digénique. Nous voudrions l'illustrer à partir des observations de deux fœtus (non apparentés) dont les grossesses avaient été interrompues (à respectivement 22 et 15 SA) en raison d'une agénésie radiale bilatérale apparemment isolée. Dans les deux cas la présence de pouces hypoplasiques a fait évoquer le diagnostic de syndrome TAR, qui a pu être confirmé par la mise en évidence d'une délétion 1q21.1 par CGH-array chez le premier fœtus et QMPSF chez les deux. Dans les deux cas l'anomalie était survenue *de novo* ce qui permettait un conseil génétique rassurant. Ces observations amènent plusieurs commentaires : 1) L'un des fœtus présentait un hygroma kystique, qui doit probablement être intégré dans la symptomatologie du syndrome TAR car déjà décrit deux fois antérieurement. 2) Le diagnostic de syndrome TAR doit être évoqué devant la découverte anténatale d'une agénésie radiale isolée chez un fœtus, surtout si l'échographie a pu mettre en évidence la présence de pouces même hypoplasiques. La recherche de la délétion 1q21.1 est un moyen simple et rapide de confirmer ou non cette hypothèse. 3) L'identification de la délétion 1q21.1 modifie le conseil génétique (parents rassurés en cas de survenue *de novo*, risque de récurrence encore difficile à chiffrer en cas de délétion d'origine parentale) Enfin la complexité du mode de transmission du syndrome TAR sera évoquée à la lumière des découvertes les plus récentes.

Mots-clés : TAR, syndrome délétion 1q21.1, aplasie radiale.

■P158 / 397. TROIS NOUVEAUX CAS FŒTAUX DE SYNDROME DE WALKER-WARBURG LIÉS À FKRP ET LARGE

A. Eude-Caye (1), C. Bouchet (1), S. Vuillaumier-Barrot (1), L. Devisme (2), O. Boute (3), P. Loget (4), C. Fallet-Bianco (5), B. Gilbert-Dussardier (6) M. Dubreuil (1), H. Chelli (1), M. Chelbi (1), C. Lebizec (1), M. Gonzales (7), F. Encha-Razavi (8), G. Durand (1), N. Seta (1)

(1) AP-HP, Biochimie Métabolique et cellulaire, Hôpital Bichat-Claude Bernard, Paris ; (2) Anatomie pathologique ; (3) Génétique clinique, Centre Hospitalier Régional et Universitaire (CHR-U), Lille ; (4) Anatomie



pathologique, Centre Hospitalier, Le Mans ; (5) Anatomie pathologique, Centre hospitalier Sainte-Anne, Paris ; (6) Génétique Médicale, CHU de Poitiers ; (7) AP-HP, Hôpital Armand-Trousseau, Génétique et Embryologie Médicale, Paris ; (8) AP-HP, Hôpital Necker, Embryologie, Paris

Introduction : Le Syndrome de Walker-Warburg (WWS) est une maladie génétique rare et sévère, associant une dystrophie musculaire et des anomalies oculaires et cérébrales. Il appartient au groupe des alpha-dystroglycanopathies. Les formes fœtales se caractérisent par une lissencéphalie de type II (LIS II). Le WWS est lié à la présence de mutations sur les gènes codant pour les glycosyltransférases intervenant dans la synthèse de O-mannosylation de l'alpha-dystroglycan. Les gènes les plus fréquemment impliqués sont *POMT1*, *POMGnT1* et *POMT2*. À notre connaissance, seuls deux cas de WWS, liés respectivement à des mutations de *FKRP* et de *LARGE*, ont été décrits à ce jour (Beltran-Valero de Barnabé *et al.*, 2004, van Reeuwijk *et al.*, 2007). Nous avons identifié trois fœtus issus de trois familles françaises non consanguines présentant une LIS II liée respectivement aux gènes *FKRP* (1 cas) et *LARGE* (2 cas). Patients et méthodes : Les trois fœtus sont issus d'IMG pratiquées pour une hydrocéphalie majeure constatée à l'échographie du deuxième trimestre. L'examen fœtopathologique du premier fœtus a montré une dilatation triventriculaire, une agénésie vermienne et une dysmorphie crânio-faciale, celui du deuxième une hydrocéphalie quadrivericulaire sévère avec hypoplasie cérébelleuse et le troisième, réciproque au sein d'une même famille, une hydrocéphalie majeure et une lissencéphalie sans dysplasie rétinienne ni encéphalocèle. Après l'examen histologique du cerveau fœtal, le diagnostic de LIS II, avec suspicion de WWS, a été posé dans les trois cas. Les gènes *POMT1*, *POMGnT1*, *POMT2*, *FCMD*, *FKRP* et *LARGE* ont été séquencés sur ADN génomique. Le gène *LARGE* a également été étudié au niveau ARN. Résultats : Le séquençage des gènes *POMT1*, *POMGnT1*, *POMT2* et *FCMD* n'a mis en évidence aucune mutation chez ces trois fœtus. Le séquençage du gène *FKRP* réalisé pour le premier fœtus a révélé la mutation c.940A>C, p.Thr314Pro (exon 4) à l'état homozygote. Le séquençage de l'exon 4 a été réalisé chez les parents, qui sont tous deux porteurs de cette mutation à l'état hétérozygote. p.Thr314Pro n'a pas été retrouvée parmi 107 témoins sains, et le logiciel de prédiction Polyphen considère le variant obtenu comme probablement délétère. La mutation se situe dans une zone très conservée du gène, codant pour le site catalytique de l'enzyme. Le cas précédemment décrit de WWS lié à *FKRP* était dû à la mutation c.953G>A (p.Cys318Tyr), située dans la même région. Le séquençage des exons et jonctions intron-exon du gène *LARGE* n'a mis en évidence aucune anomalie. L'étude de l'ARN a, par contre, révélé la présence de transcrits aberrants dans les deux autres cas. Pour le deuxième fœtus, il s'agit d'une perte complète de l'exon 7 sur un des deux allèles. L'absence de mutation observée au niveau génomique lors du séquençage classique, que ce soit dans le site d'épissage, ou dans les 50 paires de bases en amont et en aval de l'exon 7, laisse supposer qu'une mutation intronique profonde est à l'origine du saut de cet exon. Pour le dernier fœtus une perte des exons 9 et 10 a été retrouvée, similaire à la mutation décrite par van Reeuwijk liée à une délétion intragénique de 63.1 Kb. Dans notre cas, la délétion n'a pas été bornée mais une PCR quantitative au niveau de l'exon 9 réalisée chez les deux fœtus et les parents a montré la présence d'une délétion à l'état hétérozygote. Pour les deux cas *LARGE*, la deuxième mutation reste à identifier. Conclusion : Ces trois cas liés à *FKRP* et *LARGE* suggèrent que ces gènes doivent aussi être étudiés dans les cas de WWS lorsque aucune mutation n'a été identifiée sur les gènes *POMT1*, *POMGnT1* et *POMT2*, en particulier chez les fœtus avec une lissencéphalie de type II sans atteinte multisystémique notamment oculaire. La très grande taille du gène *LARGE* le prédispose à être le siège de réarrangements génomiques complexes, non détectables par un séquençage génomique classique, et doit donc être étudié préférentiellement au niveau ARN.

Mots-clés : syndrome de Walker-Warburg, *LARGE*, *FKRP*.

■P159 / 412. SIGNATURE NEUROPATHOLOGIQUE DES SYNDROMES DE JOUBERT & MECKEL : UN CONTINUUM MALFORMATIF TOUCHANT LE TRONC CÉRÉBRAL ET LE CERVELET

F. Encha-Razavi (1, 2, 3), A. Aguilar (4), B. Bessières (3), M. Bonnières (1), M. Bucourt (3), M.C. Dauge (3), P. Dechelotte (3), L. Devisme (3), A.L. Delezoide (3), C. Fallet (3), B. Folliquet (3), M. Gonzalès (3), C. Jeanne-Pasquier (3), N. Laurent (3), Ph. Loget (3), P. Marcorelles (3), J. Martinovic (1, 3), M.C. Osterheld (3), J. Roume (3), M. Sinico (3), J. Tantau (3), T. Attié-Bitach (1, 2), M. Vekemans (1, 2)

(1) Unité de génétique du développement embryon-fœtal, Hôpital Necker-Enfants Malades ; (2) INSERM U 781 ; (3) Société Française de Fœtopathologie (SOFETO) ; (4) INSERM U 711, PSL

Le syndrome de Joubert (JS) est une entité pédiatrique récessive autosomique (RA), caractérisée essentiellement par un tableau neurologique cérébelleux. Il s'associe de façon inconstante à des anomalies rénales (néphronophtise), oculaires et plus rarement avec une polydactylie. Ce spectre d'anomalies « cérébro-réno-digitales » est présent dans un autre syndrome RA, le syndrome de Meckel (MKS). MKS est une entité létale, où l'atteinte rénale (lésions multikystiques cortico-médullaires) est constamment associée à une fibroadénomatose biliaire. Parallèlement à cette diversité phénotypique, JS et MKS présentent une hétérogénéité génétique. Classiquement le JS est corrélé avec 3 gènes, *AH11*, *NPHP1* et *CEP290* et le MKS avec 2 gènes, *MKS1* et *MKS3*, parmi 3 loci identifiés. La découverte récente de mutations du gène *MKS3* chez des patients atteints de JS et inversement la présence de mutations du gène *CEP290* chez des fœtus atteints de MKS et aussi l'identification de mutations d'un nouveau gène *RPGRIP1L* à la fois dans le MKS et le JS ont bouleversé notre compréhension de ces maladies « cérébro-réno-digitales ». Ces affections, par leurs continuum clinico-pathologique et analogie génétique, révèlent l'expression variable d'une même maladie. Le diagnostic du JS est morphologique et repose sur l'identification à l'IRM, d'une « agénésie du vermis et des anomalies du tronc cérébral », mimant l'aspect d'une « dent molaire ». Le diagnostic du MKS est fœtopathologique et repose sur l'identification de la triade des anomalies rein/foie/NTD, avec ou sans polydactylie. Les anomalies cérébrales du MKS sont inconstantes, de type anomalies de fermeture du tube neural touchant le pôle céphalique (ménigo-encéphalocèle occipitale simple ou double), souvent rapporté en association avec un phénotype de « Dandy Walker ». Nous avons entrepris l'analyse neuropathologique rétrospective d'une série de fœtus porteurs de mutations de *MKS1*, *MKS3*, *CEP290* et de *RPGRIP1L* atteints de malformations cérébrales étiquetées encéphalocèle occipitale, « Dandy-Walker », agénésie « isolée » du vermis et anencéphalie. Chez les fœtus porteurs de mutations de *CEP290* et de *MKS3*, notre analyse a montré des anomalies du tronc cérébral et du cervelet rappelant le phénotype de la « dent molaire ». Le vermis est constamment touché par une hypoplasie majeure. Le tronc cérébral est remanié sur toute sa longueur par une organisation chaotique des noyaux et des voies longues. Les fœtus porteurs de mutations *MKS1* ont constamment une encéphalocèle occipitale. Leur étude neuropathologique n'est pas informative en raison de leur jeune âge et mauvaise conservation. Le phénotype lié aux mutations *RPGRIP1L* est très sévère et consiste en une ménigo-encéphalocèle sévère du vertex, résultant en un phénotype d'anencéphalie. Notre travail a permis de décrire le phénotype fœtal de la « dent molaire » et de le distinguer de celui de la malformation de Dandy Walker (DWM). Le diagnostic de DWM doit désormais être réservé aux hypoplasies du vermis, associées à une dilatation kystique du V4, sans anomalies du tronc cérébral. Les gènes de JS et de MKS codent les protéines de la cilio-génèse. Le modèle murin de *nphp6* a aussi une hypoplasie du vermis et une raréfaction des cellules de la couche des grains externes (EGL). NPHP6 serait un interlocuteur de SHH qui induit les divisions cellulaires de EGL. Une étude histopathologique fine de l'EGL devrait permettre une meilleure compréhension de la pathogénie de la dent molaire.

Mots-clés : syndromes de Meckel et Joubert, Dandy Walker, dent molaire.

■P160 / 447. ÉTUDE ÉPIDÉMIOLOGIQUE ET GÉNÉTIQUE ET ÉVALUATION DU DIAGNOSTIC PRÉNATAL DES MALFORMATIONS DIAPHRAGMATIQUES EN ALSACE : ANALYSE DE 65 CAS ENTRE 1995 ET 2004

B. Doray (1, 2), B. Dott (2), R. Favre (3), I. Nisand (4), F. Becmeur (5), D. Astruc (6), B. Gasser (7), V. Lindner (8), E. Flori (9), F. Girard-Lemaire (9), H. Dollfus (1, 2)

(1) Laboratoire de Génétique Médicale EA INSERM 3949, Faculté de Médecine, Strasbourg ; (2) Service de Génétique Médicale, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg ; (3) Service de Gynécologie-Obstétrique CMCO-SIHUS Schiltigheim ; (4) Département de Gynécologie-Obstétrique, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg ; (5) Service de Chirurgie Pédiatrique, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg ; (6) Service de Pédiatrie II, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg ; (7) Service d'Anatomie Pathologique, Centre Hospitalier Général Mulhouse ; (8) Service d'Anatomie Pathologique, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg ; (9) Service de Cyto-génétique, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg

Objectifs : Analyser les données cliniques et épidémiologiques des malformations diaphragmatiques dans le département du Bas-Rhin et évaluer l'efficacité et l'impact du diagnostic prénatal. Méthodes : 65 anomalies diaphragmatiques sont collectées et analysées parmi les 127 626 enfants et fœtus malformés recensés par le Registre de Malformations Congénitales d'Alsace sur une période de 10 ans (1995-2004). Résultats : La prévalence globale des anomalies diaphragmatiques est de 0.5 pour 1 000 naissances. Ces malformations se répartissent en 56 cas de hernies

diaphragmatiques (86 %) et 9 cas d'événtrations diaphragmatiques (14 %) ; la prévalence des hernies diaphragmatiques est de 0.44 et celle des événements de 0.07 pour 1000. Le sexe ratio global est de 1.03. Le type anatomique est analysé ; les hernies diaphragmatiques sont plus fréquemment postérieures gauches (36/56, 64 %) et postérieures droites (7/56, 12.5 %) tandis qu'il existe une prépondérance d'événtrations diaphragmatiques droites (8/9, 89 %). Parmi les hernies diaphragmatiques, 21 (37.5 %) sont isolées et 35 (62.5 %) associées à une ou plusieurs autres malformations congénitales ; les événements sont isolés dans 55.6 % des cas (5/9), associées dans 44.4 % de cas (4/9). Dix hernies (18 %) et une événement (11 %) diaphragmatiques sont associées à une anomalie chromosomique ; l'anomalie chromosomique la plus fréquente est la trisomie 18 (6/11, 54.5 %). Un cas de syndrome de Fryns est rapporté. Le diagnostic prénatal échographique des anomalies diaphragmatiques est évalué. Parmi les 56 hernies diaphragmatiques, 29 sont diagnostiquées en anténatal (52 %) ; une seule événement (11 %) est repérée en anténatal et le diagnostic initialement porté est celui d'une hernie diaphragmatique. Le terme moyen de diagnostic échographique est de 25 semaines d'aménorrhée. Parmi les 30 cas diagnostiqués *in utero*, le caractère isolé ou associé est correctement apprécié par l'échographie dans 23 cas (76.7 %). Le devenir de la grossesse est analysé, en fonction du type anatomique de l'anomalie et de son caractère isolé ou associé. Tous types confondus, une interruption médicale de grossesse est réalisée dans 11 cas (parmi les 30 cas diagnostiqués *in utero*, soit 37 %) ; 3 décès *in utero* sont rapportés. L'évolution postnatale est marquée par un décès au premier jour de vie dans 5 cas, au cours de la première semaine dans 6 cas, au cours de la première année dans 2 cas ; l'évolution est favorable pour 38 cas sur les 65 diagnostiqués au total, soit 58 %. Conclusion : Cette étude, dont les résultats sont comparés aux données de la littérature, démontre une prévalence globale élevée des anomalies du diaphragme de 0.5 pour 1 000 (0.44 pour 1 000 pour les hernies diaphragmatiques). La prévalence des événements est de 0.07 pour 1000, probablement sous-évaluée compte tenu du mode de révélation parfois tardif de cette malformation. Parmi les hernies diaphragmatiques, 21 (37.5 %) sont isolées et 35 (62.5 %) associées à une ou plusieurs autres malformations congénitales ; les événements sont isolés dans 55.6 % des cas (5/9), associées dans 44.4 % de cas (4/9). Le diagnostic prénatal échographique reste difficile avec un taux moyen de détection des anomalies du diaphragme dans 46 % des cas.

Mots-clés : malformations diaphragmatiques, épidémiologie, diagnostic prénatal.

■P161 / 448. UN NOUVEAU TYPE DE LISSENCEPHALIE ASSOCIÉ À DES MUTATIONS DU GÈNE *TUBA1A*. DESCRIPTION DU PHÉNOTYPE NEUROPATHOLOGIQUE CHEZ 4 FŒTUS

C. Fallet-Bianco (1), F. François (2), L. Lœuillet (3), K. Poirier (2), Ph. Loget (4), F. Chapon (5), N. Bahi-Buisson (2, 6), L. Pasquier (7), Y. Saillour (2), C. Beldjord (8), C. Daumas-Duport (1), J. Chelly (2)
(1) Service de Neuropathologie-Centre Hospitalier Sainte-Anne, Paris ; (2) Institut Cochin-Université Paris-Descartes CNRS (UMR 8104) INSERM (U567) Paris ; (3) Service d'Anatomie Pathologique CHR Poissy ; (4) Service d'Anatomie Pathologique, CHU Rennes ; (5) Service d'Anatomie Pathologique CHU Caen ; (6) Service de Neuropédiatrie, CHU Necker-Enfants Malades, Paris ; (7) L. Pasquier Service de Génétique Médicale CHU Rennes ; (8) Laboratoire de Biochimie Génétique CHU Cochin-Port-Royal Paris

En 2007, Keays et al. identifient des souris mutantes induites, pour le gène *TUBA1A* codant pour la tubuline alpha 1, qui se caractérisent par des troubles du comportement à type d'hyperactivité et des anomalies de la cytoarchitecture du néocortex et de l'hippocampe. Compte tenu de l'aspect neuropathologique de ces mutants *TUBA1A*, proche de celui des souris mutées pour *dcx*, et des interactions existant entre *DCX* et microtubules, une implication possible de l'équivalent humain de ce gène de la tubuline alpha 1 a été suspectée dans les dysgénésies corticales, chez l'homme. Cette hypothèse a été confirmée par la mise en évidence de mutations de ce gène chez des enfants présentant un retard mental associé à des anomalies du développement du cortex avec un large spectre de sévérité. Plus récemment, des mutations de ce gène ont été identifiées chez 4 fœtus après un diagnostic prénatal de dysgénésie corticale sévère. Patients : ces 4 fœtus de sexe masculin ont été examinés après interruption médicale de grossesse respectivement à 23, 25, 26 et 35 semaines. Un examen fœtopathologique complet incluant un examen neuropathologique a été réalisé pour chacun d'eux. Les données neuropathologiques morphologiques et immunocytochimiques ont été comparées à celles de sujets témoins du même âge. Il n'a été retrouvé de mutation des gènes *Lis 1*, *DCX* et *ARX* chez aucun sujet. Résultats : dans 3 cas, il n'existait aucune anomalie viscérale ou squelettique, dans le 4^e cas était constatée une hypoplasie des organes

génitaux. L'étude neuropathologique de ces 4 cas, nous a permis de constater que les mutations de *TUBA1A* sont associées à un large spectre phénotypique cérébral au sein duquel 5 anomalies sont retrouvées de façon constante, affectant le développement du néocortex, de l'hippocampe, du corps calleux, du cervelet et du tronc cérébral. Plus inconstamment, ont été observées des anomalies des noyaux gris centraux, des zones germinatives et une agénésie olfactive. Ces anomalies suggèrent que le mécanisme pathogénique en cause associe à une perturbation de la migration, un trouble de la différenciation neuronale et de la guidance axonale. Ce phénotype est différent de celui qui est associé aux mutations de *LIS1*, *DCX* et *ARX*. Il est, par contre, en accord avec le patron d'expression de la tubuline alpha 1 étudié chez la souris qui montre, chez l'embryon, une forte expression dans l'ensemble des structures cérébrales, qui, en fin de gestation n'est plus observée que dans le néocortex, l'hippocampe, le cervelet, le tronc cérébral et les structures olfactives. Chez les enfants porteurs de mutation de *TUBA1A*, le spectre phénotypique est encore plus large, avec des degrés différents de sévérité, particulièrement en ce qui concerne les anomalies de la gyration, qui vont d'hétérotopies laminaires à une agyrie complète. Les cas fœtaux que nous avons étudiés se situent à l'extrémité la plus sévère de ce spectre suggérant que les cas dépistés en échographie prénatale, particulièrement ceux dépistés au 2^e trimestre, constituent les formes les plus sévères de lissencephalie *TUBA1A*. Conclusion : Cette étude nous a permis de définir le phénotype neuropathologique fœtal associé aux mutations de *TUBA1A*. Elle démontre l'importance de l'étude neuropathologique de tous les cas de lissencephalies dans le but de comprendre et préciser le mécanisme pathogénique et d'établir des corrélations génotype-phénotype qui ne peuvent actuellement être réalisées chez les sujets mutés pour *TUBA1A*, compte tenu du nombre encore restreint de cas qui ont bénéficié d'une étude neuropathologique complète.

Mots-clés : lissencephalie, gène *TUBA1A*, tubuline alpha 1.

■P162 / 450. DIAGNOSTIC MOLÉCULAIRE DE LA SCLÉROSE TUBÉREUSE DE BOURNEVILLE APRÈS DÉCOUVERTE À L'ÉCHOGRAPHIE PRÉNATALE DE TUMEURS CARDIAQUES : BILAN DE L'ÉTUDE RÉALISÉE SUR 51 FŒTUS

M.C. Malinge (1), J. Le Marcou (1), S. Triau (2), M. Gonzales (3), A. Guichet (1), B. Vary (1), S. Péculier (1), H. Dollfus (4), D. Gaillard (5), A. David (6), A. Toutain (7), C. Coubes (8), F. Fellmann (9), V. Drouin-Garreau (10), M. Gérard (11), C. Bauman (12), S. Odent (13), R. Saura (14), B. Delobel (15), A. Hovnanian (16), D. Bonneau (1)
(1) Département de Biochimie-Génétique, CHU Angers ; (2) UF de Fœtopathologie, Fédération de pathologie cellulaire et tissulaire, CHU Angers ; (3) Laboratoire d'embryologie pathologique et de cytogénétique, Hôpital Saint-Antoine Paris ; (4) Service de Génétique médicale, CHU Strasbourg ; (5) Service de Génétique et de Biologie de la reproduction, CHU Reims ; (6) Service de Génétique médicale, CHU Nantes ; (7) Service de Génétique, CHU Tours ; (8) Service de Génétique médicale, CHU Montpellier ; (9) Service de Génétique médicale, CHU Lausanne ; (10) Service de Génétique, CHU Rouen ; (11) Unité de Médecine Génétique-CHU Créteil ; (12) Unité de Génétique clinique-Hôpital R. Debré Paris ; (13) Service de Génétique médicale, CHU Rennes ; (14) Service de Génétique médicale, CHU Bordeaux ; (15) Centre de Génétique chromosomique, CHU Lille ; (16) Service de Génétique médicale, CHU Toulouse

Introduction : La sclérose tubéreuse de Bourneville (STB) est une maladie autosomique dominante, pouvant toucher différents organes (cerveau, peau, cœur, rein, poumon...). L'échographie prénatale permet de détecter des tumeurs cardiaques dès 20 SA qui sont les formes les plus précoces de la maladie. Les rhabdomyomes cardiaques représentent 70 à 80 % de l'ensemble des tumeurs cardiaques sont associées à la STB dans 33 à 70 % des cas selon la littérature. Le plus souvent, les rhabdomyomes cardiaques n'ont pas de conséquence sur la fonction cardiaque ; cependant, dans certains cas, ils peuvent être à l'origine de troubles hémodynamiques engageant le pronostic vital. Le risque majeur de la STB est du à la présence de lésions cérébrales responsables de retard du développement, d'épilepsie et de troubles du comportement. Suite à la mise en évidence de rhabdomyomes cardiaques, une IRM cérébrale fœtale doit être proposée afin de rechercher la présence de tubers corticaux ou de nodules sous épendymaires. Le but de cette étude est de déterminer la prévalence des mutations dans les gènes *TSC1* et *TSC2* responsables de la STB en fonction des signes observés en prénatal (échographie cardiaque et IRM cérébrale) pour les 51 fœtus recrutés. Matériel et méthodes : L'étude porte sur une cohorte de 51 fœtus recrutés sur signes d'appel échographiques (tumeurs cardiaques) à partir de 15 centres français de DPN. Le terme de la grossesse lors de la découverte des rhabdomyomes cardiaques varie de 21 SA à 36 SA. Lorsque la grossesse a été interrompue, le fœtus a été examiné par un fœto-pathologiste. L'analyse moléculaire a été réalisée à partir de



prélèvements de liquide amniotique, sang fœtal ou tissus fœtaux. La recherche et l'identification des mutations ont été effectuées par DHPLC puis séquençage des exons à tracé modifié pour les gènes *TSC1* et *TSC2*. Si aucune mutation n'a été détectée par ces techniques, une recherche de grandes délétions a été réalisée par la technique MLPA (MRC Holland). Résultats et discussion : Dans cette cohorte de 51 fœtus, le diagnostic de STB a été porté dans 49 cas (47 examens fœtopathologiques et histologiques, 2 suivis de grossesse). La mutation causale a été identifiée chez 37 fœtus sur 49 (75.5 %). Les mutations touchent le gène *TSC2* pour 34/37 fœtus (91.9 %) et sont réparties en : 9 faux sens, 6 non sens, 5 insertions, 11 délétions, 4 jonctions exon-intron, 1 délétion de grande taille. Les mutations touchent *TSC1* pour 3/37 fœtus (8.1 %) et sont réparties en : 1 non sens, 1 délétion, 1 jonction exon-intron. Les tumeurs cardiaques étaient multiples chez 42/51 fœtus (82.4 %) et uniques dans 9/51 cas (17.6 %). Des anomalies du rythme cardiaque ont été observées chez 3/51 fœtus (5.9 %) et 2 des cas fœtus présentaient un anasarque. Nous avons les résultats de l'IRM cérébrale pour 40 fœtus parmi 49 fœtus dépistés. Parmi ces 40 cas, 24 fœtus (60 %) présentaient des lésions cérébrales (tubers corticaux et/ou des nodules sous épendymaires) et 16 fœtus (40 %) ne montraient aucune lésion. Pour 20/49 fœtus (40.7 %), des tumeurs cardiaques multiples à l'échographie prénatale et des lésions cérébrales à l'IRM fœtal ont été détectées. L'étude moléculaire a permis de confirmer le diagnostic pour 18/20 fœtus soit dans 90 % des cas. Pour 11/49 fœtus (22.5 %), des tumeurs cardiaques multiples ont été observées à l'échographie prénatale et aucune lésion cérébrale à l'IRM fœtale. L'étude moléculaire a permis de confirmer le diagnostic pour 7/11 fœtus soit dans 63.6 % des cas. Pour 11/49 fœtus (22.5 %), des tumeurs cardiaques multiples ont été observées à l'échographie prénatale mais nous n'avons pas les résultats de l'IRM. L'étude moléculaire a permis de confirmer le diagnostic pour 7/11 fœtus soit dans 63.6 % des cas. Pour 4/49 fœtus (8.2 %), nous avons association d'une tumeur cardiaque unique à l'échographie prénatale et présence de lésions cérébrales à l'IRM fœtale. L'étude moléculaire a permis de confirmer le diagnostic pour 2/4 fœtus

Mots-clés : sclérose tubéreuse de Bourneville, tumeurs cardiaques fœtales, gènes *TSC1* et *TSC2*.

■P163 / 452. ÉTUDE ÉPIDÉMIOLOGIQUE ET GÉNÉTIQUE ET ÉVALUATION DU DIAGNOSTIC PRÉNATAL DES FENTES ORO-FACIALES EN ALSACE : ANALYSE DE 266 DOSSIERS ENTRE 1995 ET 2004

B. Doray (1, 2), B. Dott (2), R. Rinkenbach (1), R. Favre (3), I. Nisand (4), F. Becmeur (5), I. Kaufmann (5), D. Astruc (6), B. Gasser (7), V. Lindner (8), E. Flori (9), F. Girard-Lemaire (9), H. Dollfus (1, 2)

(1) Laboratoire de Génétique Médicale EA INSERM 3949, Faculté de Médecine, Strasbourg ; (2) Service de Génétique Médicale, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg ; (3) Service de Gynécologie-Obstétrique CMCO-SIHCUS Schiltigheim ; (4) Département de Gynécologie-Obstétrique, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg ; (5) Service de Chirurgie Pédiatrique, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg ; (6) Service de Pédiatrie II, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg ; (7) Service d'Anatomie Pathologique, Centre Hospitalier Général Mulhouse ; (8) Service d'Anatomie Pathologique, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg ; (9) Service de Cyto-génétique, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg

Objectifs : Analyser les données cliniques et épidémiologiques des fentes oro-faciales dans le département du Bas-Rhin et évaluer l'efficacité et l'impact du diagnostic prénatal. Méthodes : 266 dossiers de fentes oro-faciales sont collectés et analysés parmi les 127 626 enfants et fœtus malformés recensés par le Registre de Malformations Congénitales d'Alsace sur une période de 10 ans (1995-2004). Résultats : La prévalence globale des fentes oro-faciales est de 2.08 pour 1000 ; la prévalence des fentes labiales et labio-palatines (FL/P) est de 1.35 pour 1000, celle des fentes palatines (FP) de 0.73 per 1000. Le sexe ratio est de 1.94 pour les FL/P, de 0.86 pour les FP. Globalement, 141 (53 %) fentes sont isolées et 125 (47 %) sont associées à une ou plusieurs autres malformations congénitales. Cette répartition diffère significativement avec le type anatomique : 36 % des FL/P sont associées contrastant avec 67 % de FP associées. Le caractère isolé ou associé des séquences de Pierre Robin est également étudié. 35 anomalies chromosomiques (13 % de l'ensemble des fentes, 28 % des fentes associées), 17 syndromes géniques et 3 syndromes polymalformatifs non étiquetés sont identifiés. Le terme moyen du diagnostic échographique est de 24 semaines d'aménorrhée. Le pourcentage global de détection échographique est de 32 %, avec des valeurs extrêmes entre 15 % en 1995 et 52 % en 1999. Le pourcentage de détection des FL/P (48 %) est significativement plus élevé que celui des FP (2 %). Le taux de concordance entre les diagnostics anatomiques prénataux et postnataux est rapporté. Sur le plan chromosomique, 102 caryotypes sont réalisés en

prénatal ; 1 anomalie chromosomique (une trisomie 18) est identifiée parmi les 37 caryotypes réalisés pour fente isolée (2.7 %), 10 anomalies chromosomiques parmi 24 caryotypes réalisés pour fente associée (29.4 %), 17 anomalies parmi 36 caryotypes pour syndrome malformatif (comportant une fente faciale non vue en échographie et diagnostiquée uniquement en post-natal) (47.2 %). Les issues de grossesse sont rapportées. Conclusion : Cette étude, dont les résultats sont comparés aux données de la littérature, démontre une prévalence globale des fentes oro-faciales élevée, de 2.08 pour 1 000 naissances vivantes ; les FL/P sont deux fois plus fréquentes que les FP. Le pourcentage de formes associées parmi les FL/P est d'environ 1/3 tandis qu'il est d'environ 2/3 pour les FP, traduisant des mécanismes physiopathologiques différents. Le diagnostic prénatal échographique reste difficile avec un taux moyen de détection des FL/P de 48 % et seulement de 2 % pour les FP. En prénatal, si le risque d'anomalie chromosomique peut être considéré comme faible (inférieur à 3 %) dans le cas de forme échographique *a priori* isolée, il devient supérieur à 40 % dans le cas d'une forme associée.

Mots-clés : fentes oro-faciales, épidémiologie, diagnostic prénatal.

■P164 / 466. MUTATIONS EN MOSAÏQUE ET DIAGNOSTIC PRÉNATAL

C. Dehainault, D. Michaux, S. Pagès-Berhouet, V. Caux-Moncoutier, A. Laugé, C. Dubois d'Enghien, A. De Pauw, B. Buecher, D. Stoppa-Lyonnet, M. Gauthier-Villars, C. Houdayer
Institut Curie, Paris, France

Introduction : Les mutations en mosaïque sont de plus en plus fréquemment rapportées et leur importance en génétique clinique est maintenant établie, particulièrement pour les pathologies avec un taux de néomutations élevées comme l'hémophilie, la myopathie de Duchenne, la neurofibromatose de type 1 ou 2, la polypose adénomateuse familiale ou encore le rétinoblastome. Le pourcentage de mosaïque pour les mutations *de novo* a été évalué dans différentes pathologies (rétinoblastome, hémophilie A, polypose adénomateuse familiale par exemple) et avoisinerait 11 %. Ce pourcentage important est à prendre en compte dans le cadre des études génotype-phénotype, mais également en diagnostic prénatal (DPN) où la présence de mutations en mosaïque peut amener à des difficultés d'interprétation. Patients et Méthodes : Nous rapportons ici une famille pour laquelle trois DPN consécutifs ont été réalisés pour la descendance d'un patient atteint d'un rétinoblastome bilatéral chez lequel une mutation délétère du gène *RB1* a été identifiée (p.Gln176X). Les trois DPN ont été réalisés par techniques directe et indirecte. Les études directes permettent l'identification de la mutation paternelle au niveau des villosités chorales et sont réalisées par séquençage direct. Les études indirectes visent à identifier et suivre la ségrégation de l'haplotype morbide (et aussi à rechercher une éventuelle contamination fœto-maternelle). Huit marqueurs microsatellites au locus *RB1* et sa région flanquante sont ainsi étudiés au niveau de l'ADN des parents et de l'ADN des villosités chorales. Résultats : Les deux premiers fœtus étaient porteurs de la mutation en étude directe, ce qui a permis l'identification de l'haplotype morbide paternelle. En revanche, le troisième fœtus, s'il portait l'haplotype morbide en étude indirecte, ne portait pas la mutation en étude directe et ce sur deux manipulations indépendantes. Reprenant l'analyse de la séquence chez le père réalisée à partir de leucocytes extraits de sang circulant, on constatait que le rapport de hauteur des pics entre la base sauvage et la base mutée était proche de 70/30 et ce dans les deux sens de lecture, montrant une mosaïque somatique. En revanche, l'analyse de la séquence chez les deux premiers fœtus montrait bien le rapport 50/50 attendu pour un hétérozygote. Discussion : Nous avons donc conclu en l'existence d'une mosaïque somatique et germinale chez le père, ce qui explique que la mutation soit présente ou non pour le même haplotype. À la naissance de l'enfant, nous avons refait l'analyse directe qui s'est révélée, comme prévu, négative. Cette observation souligne donc les difficultés d'interprétation des mutations en mosaïque en diagnostic génétique. De plus, il est important de prendre en compte cette information en cas de diagnostic préimplantatoire car la détection de la mutation par méthode indirecte pourrait alors entraîner la non-implantation des embryons sains.

Mots-clés : diagnostic prénatal, mutation, mosaïque.

■P165 / 487. BASES MOLÉCULAIRES DU SYNDROME DE SMITH LEMLI OPITZ (SLO) : RELATIONS AVEC LA SÉVÉRITÉ DU SYNDROME MALFORMATIF DANS 75 CAS

F. Chevy (1), C. Wolf (1), C. Bernard (2), L. Muller (2), B. Hermelin (2), P. Benlian (2)

(1) Laboratoire de Spectrométrie de Masse, Service de Biochimie, INSERM UMRS 538, Faculté de Médecine Pierre-et-Marie-Curie ; (2) Laboratoire

Introduction : Le syndrome de Smith Lemli Opitz (SLO) est un syndrome polymalformatif sévère d'origine métabolique qui compte parmi les maladies récessives les plus fréquentes en Europe (1/20 000 naissances). Un bloc enzymatique (DHCR7) sur l'étape terminale de biosynthèse du cholestérol est responsable d'une baisse de production de cholestérol (CHOL) et d'une accumulation de précurseurs du cholestérol (isomères 7-DHC et 8-DHC) qui perturbent les étapes très précoces de la morphogénèse embryonnaire et fœtale. Malgré la grande variabilité clinique du SLO qui va du décès in-utero à des retards mentaux et de croissance, associés à des malformations discrètes des organes génitaux externes et des extrémités, une relation est établie entre sévérité du déficit enzymatique et sévérité du syndrome. Celle-ci peut être évaluée en pratique par l'augmentation importante du rapport DHC/CHOL dans le sang, le liquide amniotique ou les tissus fœtaux, et par l'identification de mutations abolissant ou non l'expression génique de *DHCR7*. La fréquence du SLO a été rapportée à une prévalence très élevée de quelques mutations causales fondatrices ou ayant diffusé par pression sélective. Une mutation d'épissage de l'intron 8 (IVS8, c.964-1G>C) est particulièrement fréquente avec un gradient croissant d'Est en Ouest et du Sud au Nord de l'Europe. La fréquence et la nature des mutations causales de SLO ne sont pas précisément connues en France. Objectifs : Identifier le spectre moléculaire des mutations de *DHCR7* causales de SLO en France. Sujets et Méthodes : Cas index qui présentaient en anté- ou post-natal au moins trois des éléments suivants : retard de croissance, une microcéphalie, malformations des extrémités (syndactylie, polydactylie), de la face (bec de lièvre, micrognathie), retard psychomoteur, malformations cérébrales (holoprosencéphalie), cardiaques ou des organes génitaux. Les profils de stérols ont été analysés par spectrométrie de masse (GC-MS), après extraction à partir de prélèvements sériques, amniotiques, ou tissulaires de fœtus ou d'enfants suspects de SLO. Séquençage de la région codante du gène *DHCR7* sur produits de PCR de l'ADN génomique extrait des mêmes tissus. Les logiciels SeqScape v2.5 (Applied Biosystems, France) ont été utilisés pour la détection de variants et GenSearch v3.34 (Phenomenon, Belgium) pour l'aide à l'interprétation fonctionnelle et l'identification des haplotypes associés. Résultats : Sur 115 cas de SLO, 70 % avaient été diagnostiqués en anténatal sur un retard de croissance ou la détection de malformations fœtales entre 20 et 30 SA. Soixante quinze cas étaient porteurs de mutations du gène *DHCR7*, dont 51 étaient doubles hétérozygotes (DHZ), 19 homozygotes (HMZ) et 4 hétérozygotes (HTZ). Parmi les 40 mutations différentes identifiées, la mutation IVS8 était présente chez 16 HMZ (84 %), 35 DHZ (67 %) et les 4 HTZ. Les autres mutations fondatrices Européennes (T93M; W151X; S169L; R242H; V326L; G410S) étaient présentes dans plus de deux familles non apparentées. Les DHZ étaient porteurs d'au moins un allèle nul (IVS8 ou Non Sens) dans 85 % des cas. La cholestérolémie des fœtus et des enfants SLO mutés était variable mais en moyenne abaissée (0,70±0,50 g/L) et le rapport (7-DHC+8-DHC)/CHOL était constamment augmenté dans le sang ou le liquide amniotique (1,7±0,2 et 1,1±0,8 en moyenne respectivement). La majorité (88 %) des homozygotes (et 100 % des HMZ IVS8) avaient un SLO manifeste en anténatal contre 45 % des DHZ ($p < 10^{-6}$). Le score de sévérité clinique du SLO était plus élevé chez les HMZ que chez les DHZ ($p = 0,004$). Enfin il existait un excès de retard de croissance, de MFIU, de malformations des organes génitaux et cardiaques chez les porteurs de la mutation IVS8. Conclusion : La contribution de la mutation IVS8 ou de celles qui abolissent la fonction de *DHCR7* à la majorité des formes sévères de SLO est confirmée dans la population française qui présente néanmoins un spectre varié de mutations.

Mots-clés : syndromes malformatifs, déficit de biosynthèse du cholestérol, stérols.

■P166 / 558. EXPRESSION FŒTALE DU SYNDROME DE MATTHEW-WOOD : DU PHÉNOTYPE AU GÈNE

J. Martinovic-Bourriel (1, *), S. Zrelli (1), B. Grattagliano-Bessières (3), C. Golzio (4, 5), C. Bernabé-Dupont (2), V. Malan (1, 4), M. Bonnière (1), C. Esculpavit (4), C. Fallet-Bianco (3), V. Mirlesse (3), J. Le Bidois (3), MC. Aubry (2), N. Morichon (1, 4), H. Etchevers (1, 4), T. Attié-Bitach (1, 4, 5), A. Benachi (2, 4), M. Vekemans (1, 4, 5), F. Encha-Razavi (1, 4)

(1) Assistance Publique, Hôpitaux de Paris ; Hôpital Necker-Enfants Malades, Département de Génétique, Unité de Pathologie Embryo-fœtale ; (2) Assistance Publique, Hôpitaux de Paris ; Hôpital Necker-Enfants Malades, Service de Gynécologie et Obstétrique ; (3) Institut de Puériculture, Service de Pathologie Fœtale ; (4) Université Paris-Descartes ; Hôpital Necker-Enfants Malades ; (5) INSERM U781, Hôpital Necker-Enfants Malades

La hernie de la coupole diaphragmatique (HCD) est un défaut sévère du développement du diaphragme primordial. Elle touche 1/2 500 nouveau-nés et représente environ 8 % de toutes les malformations congénitales. La mortalité liée à la HCD varie entre 32-62 %. La majorité des HCD (>95 %) est due à une formation incomplète de la portion postero-latérale du diaphragme, au niveau du foramen de Bochdalek. Il en résulte une ascension des viscères abdominaux dans l'hémithorax, entravant le développement et la croissance pulmonaires. L'hypoplasie et l'hypertension pulmonaires concomitantes contribuent aux mortalités et morbidités élevées des HCD. HCD peut être isolée ou s'associer à d'autres malformations. L'association d'HCD/hypoplasie pulmonaire avec une microphthalmie/anophthalmie est décrite dans les syndromes de Fryns, Fraser, Goldenhar, Goltz-Gorlin et le syndrome de Matthew-Wood (MIM 601186). Nous présentons les données post-mortem macro- et microscopiques chez 3 fœtus porteurs d'une anomalie diaphragmatique, d'une hypoplasie/agénésie pulmonaire, d'une microphthalmie bilatérale et d'autres malformations viscérales, ensemble évocateur d'un syndrome de Matthew-Wood. Vue la consanguinité chez 2/3 de nos patients, une hérédité autosomique récessive a été suggérée. Récemment, des mutations du gène *STRA6* codant pour une protéine membranaire et dont la transcription est régulée directement par le niveau de l'acide rétinolique, ont été rapportées chez les patients présentant une association d'anomalies diaphragmatiques, pulmonaires et oculaires. L'étude moléculaire a permis de confirmer la présence des mutations homozygotes ou hétérozygotes composites du gène *STRA6* chez l'ensemble de nos fœtus, démontrant une grande variabilité du spectre malformatif lié aux mutations de ce gène, désormais regroupé sous l'acronyme MCOPS9.

Mots-clés : hernie diaphragmatique, microphthalmie, gène du développement.

■P167 / 559. DIAGNOSTIC DES ANEUPLOÏDIES PAR BIOLOGIE MOLÉCULAIRE. ÉVALUATION DES RECOMMANDATIONS ÉMISES PAR LE NATIONAL SCREENING COMMITTEE" BRITANNIQUE SUR LE DÉPISTAGE DE LA TRISOMIE 21

A.L. Faure (1, 2), F. Bilan (1, 2), S. Patri (1, 2), D. Couet (3), A.M. Delvaux (1), F. Pierre (4), M. Marechaud (5), B. Gilbert-Dussardier (6), A. Kitzis (1, 2)

(1) Laboratoire de Génétique Cellulaire et Moléculaire, CHU de Poitiers ; (2) UMR CNRS 6187, Université de Poitiers ; (3) Laboratoire de Cytogénétique, CHU de Poitiers ; (4) Service de Gynécologie, Obstétrique, CHU de Poitiers ; (5) Service de Gynécologie, Obstétrique, Centre pluridisciplinaire de Diagnostic Prénatal, CHU de Poitiers ; (6) Service de Génétique Médicale, CHU de Poitiers

La trisomie 21 est la plus fréquente des anomalies chromosomiques et représente la principale cause génétique de retard mental en France. Aujourd'hui, les pratiques de dépistage de la trisomie 21 chez la femme enceinte reposent principalement sur la mesure de la clarté nucale au premier trimestre de grossesse et le dosage de marqueurs sériques maternels (double ou triple test) au cours du second trimestre. Ce test aboutissant à un score évaluant le risque de trisomie 21 génère un nombre élevé d'amniocentèses (11 à 15 % des femmes enceintes) ainsi que de nombreux faux-positifs. Pour chaque amniocentèse, une étude du caryotype fœtal est réalisée, technique longue et coûteuse demandant, selon les centres, entre deux semaines et un mois de délais avant le rendu du résultat, ce qui génère stress et anxiété chez la femme enceinte. Nous avons mené au CHU de POITIERS une étude préliminaire du diagnostic des aneuploïdies les plus fréquentes par biologie moléculaire. Nous avons utilisé un kit MLPA (MRC Holland) qui détecte les aneuploïdies 13, 18, 21, X et Y en amplifiant des sondes spécifiques de ces chromosomes ainsi que des PCR multiplexes fluorescentes amplifiant des régions microsatellites du chromosome 21. Conjointement avec le laboratoire de cytogénétique du CHU de Poitiers, nous avons testé la capacité de ces deux méthodes moléculaires à détecter ces anomalies chromosomiques sur 400 liquides amniotiques ou villosités choriales, prélevés chez des femmes enceintes présentant un risque élevé d'anomalies chromosomiques. Nous avons mis en évidence quatre trisomies 21, une trisomie 13, une monosomie 13 (qui est en fait une délétion 13q en mosaïque vue en cytogénétique), une trisomie 18, deux triploïdies, une trisomie X ainsi qu'un syndrome de Klinefelter. Dans notre étude, 100 % des principales aneuploïdies ont été diagnostiquées en 48 heures par biologie moléculaire, sans résultat faussement négatif ou positif. L'unique anomalie grave non détectée par notre méthode concerne une mosaïque 46, XX[22]/47,XX,+12p[3] (syndrome de Pallister-Killian). La patiente avait été prélevée devant des signes d'appel biologiques (risque de 1/215). Cependant en suivant les nouvelles recommandations de l'HAS concernant le dépistage de la trisomie 21 et en appliquant le calcul du risque intégré, cette patiente présenterait alors un risque de 1/1282 ce qui



ne constitue plus une indication pour un diagnostic anténatal. Par ailleurs, lors de l'échographie du second trimestre le fœtus de cette patiente présentait des anomalies morphologiques qui auraient conduit à la réalisation d'un caryotype fœtal. Les recommandations émises par le National Screening Committee Britannique sont les suivantes : (1) étudier exclusivement par biologie moléculaire les liquides amniotiques ou villosités chorales prélevés chez les femmes présentant seulement un signe d'appel biologique quelque soit l'âge maternel et avec une mesure de la clarté nucale inférieure au 95^e percentile si la qualité méthodologique est suffisante (score de Hermann supérieur ou égal à 6). Les résultats doivent être alors communiqués dans un délai de trois jours ouvrables. (2) pour tout autre signe d'appel (clarté nucale supérieure au 95^e centile, antécédents familiaux d'anomalies chromosomiques, signes d'appel échographiques), le NSCB préconise de réaliser conjointement une étude de l'ADN par biologie moléculaire et une culture cellulaire pour analyse des chromosomes à l'aide d'un caryotype fœtal, à la recherche d'anomalies de nombre et de structure. En conclusion, notre étude préliminaire menée par biologie moléculaire montre des perspectives intéressantes pour le diagnostic prénatal rapide des aneuploïdies fréquentes. En y intégrant les recommandations émises par le NSCB, il nous paraît important d'évaluer en France de telles propositions en développant maintenant une étude multi-centrique de type PHRC.

Mots-clés : trisomie 21, biologie moléculaire, diagnostic rapide des principales aneuploïdies.

■P168 / 565. ÉTUDE PAR CGH-ARRAY, À PARTIR DE TISSUS CONGELÉ ET PARAFFINÉ, D'UNE TRISOMIE PARTIELLE 2P14-P16 PURE DE NOVO

F. Guimiot (1), S. Khung-Savatoski (1), E. Gauthier (2), B. Benzacken (3), A. Verloes (4), M. Nouchy (5), A.-L. Delezoide (1), A. Aboura (3)
(1) Service de Biologie du Développement, Hôpital Robert-Debré AP-HP, Université Paris 7 Denis Diderot ; (2) Laboratoire de cytogénétique, hôpital Américain, Paris ; (3) Laboratoire de cytogénétique, hôpital Robert-Debré AP-HP, Paris ; (4) Service de Génétique Clinique, Hôpital Robert-Debré AP-HP, Paris ; (5) Laboratoire Pasteur-Cerba, Paris

Introduction : le syndrome de trisomie 2p a été décrit pour la première fois par Francke et Jones en 1976. Les trisomies 2p partielles pures sont rares : la plupart des cas décrits dans la littérature concernent une translocation déséquilibrée associant la trisomie partielle 2p à une monosomie partielle de l'autre chromosome. Les seules trisomies 2p partielles pures décrites intéressent le plus souvent la région 2p21-2p23 (Aviram-Goldring AJMG 2000), elles sont associées avec un phénotype neurologique sévère. Nous rapportons ici la plus petite duplication 2p14-p16, décrite à ce jour, chez un fœtus qui présente une discrète dysmorphie faciale sans anomalie viscérale. Méthodes : une amniocentèse est pratiquée à 24 SA pour HT21 élevé (1/50), chez une patiente primigeste de 32 ans sans antécédent particulier. Les caryotypes des parents sont également réalisés. Des investigations complémentaires par FISH (WCP, BAC) et CGH-array sur tissu congelé et sur tissu paraffiné ont été réalisées afin de caractériser cette anomalie. Pour la CGH-array, 2 types de puces ont été utilisées : Intergen VII, 5000 BAC (Evry France) et CytoChip v2, 4500 BAC (Blue-Gnome, Cambridge UK). La résolution moyenne des 2 puces est de 0,6 Mb. Résultats : Le caryotype fœtal montre un excédent de matériel sur le bras court du chromosome 2 (2p+). Ce dérivé du chromosome 2 est entièrement peint par la WCP 2. Afin de caractériser ce matériel excédentaire (insertion ou duplication), deux études par CGH-array ont été réalisées, à la fois sur de l'ADN extrait de tissu congelé et de tissu paraffiné. Ces 2 études retrouvent un gain de la région p14-p16 du chromosome 2. Une confirmation par FISH BAC est en cours sur lames de tissu paraffiné. L'examen fœtopathologique retrouve une discrète dysmorphie faciale (racine du nez large, télécanthus) et un iléus méconial. Conclusion : Nous rapportons ici, à notre connaissance, la seule et la plus petite duplication *de novo* du bras court du chromosome 2 conduisant à une trisomie partielle pure 2p14-p16, chez un fœtus qui présente une discrète dysmorphie faciale sans anomalie viscérale. Nous montrons également qu'une analyse par CGH-array peut-être effectuée à partir de l'ADN extrait de tissus paraffinés.

Mots-clés : CGH-array, tissu paraffiné, trisomie 2p.

■P169 / 585. QUELLE MÉTHODE DE DIAGNOSTIC RAPIDE DES ANEUPLOÏDIES FAUT-IL UTILISER AU COURS DU DIAGNOSTIC PRÉNATAL DU 1^{ER} TRIMESTRE ?

V. Buben (1), M. Fiore (1), H. Dessuant (2), L. Druart (2), L. Taine (1), R. Saura (1)
(1) Service de génétique médicale maternité CHU Bordeaux ; (2) Laboratoire LCL Paris

Introduction : Les dernières recommandations de l'HAS incitent à envisager le diagnostic prénatal précoce du 1^{er} trimestre par un calcul de risque combiné incluant les facteurs sériques maternels, la clarté nucale, la longueur crânio-caudale et l'âge maternel. Ceci va générer de plus en plus de diagnostic prénatal par choriocentèse. Le but est d'obtenir, entre autres, un résultat rapide afin de permettre une interruption médicale de grossesse précoce avant 14 SA par curetage en cas d'anomalie chromosomique. Quelle technique de cytogénétique utiliser ? L'analyse dite directe ou bien une méthode rapide de détection des principales aneuploïdies (13 ; 18 ; 21, X) (Nous utilisons la FISH interphasique) ? Matériel et Méthode – De janvier 2006 à septembre 2007, nous avons réalisé 151 prénataux utilisant l'analyse par FISH interphasique après prélèvement de villosités chorales pour une clarté nucale augmentée ou une autre anomalie échographique. Le résultat des principales aneuploïdies est rendu à la patiente et au médecin en 2 jours, suivi du caryotype complet après culture entre 6 et 10 jours. L'analyse directe n'est habituellement pas réalisée sauf dans des cas exceptionnels. Résultats – Nous avons détecté 37 anomalies (soit 24,5 %) toujours confirmées et suivies dans tous les cas d'une interruption médicale de grossesse demandée par les couples et toujours confirmées par la culture faite *a posteriori*. Aucun faux négatif ou faux positif n'a été à déplorer. Nous avons retrouvé au caryotype 4 anomalies (2,6 %) impliquant d'autres chromosomes non détectées par FISH dont 3 ont généré une interruption médicale de grossesse dans un 2^e temps. Discussion – Le but de l'utilisation de la FISH interphasique est d'avoir un résultat fiable pour les plus fréquentes des aneuploïdies retrouvées dans le cadre des anomalies échographiques du 1^{er} trimestre afin de permettre une interruption médicale de grossesse par aspiration. Il est intéressant de noter que, dans notre étude, il n'y a eu aucun faux positif ou négatif, ce qui n'est pas le cas de l'analyse dite directe partir des villosités chorales, dont le risque de faux positif est de 2 % et de faux négatif de 1/3000, en l'absence de signes échographiques et plus important encore en cas d'anomalie échographique. L'examen de cellules appartenant à l'axe mésenchymateux de la villosité permet d'obtenir un résultat d'une grande fiabilité, identique à celle des amniocentèses. Conclusion – L'analyse de la FISH interphasique nous semble d'un grand intérêt en raison de sa grande fiabilité – contrairement à l'analyse directe qui à mon avis devrait être abandonnée. Il est important néanmoins de prévenir les patientes que cette analyse rapide ne concerne que quelques chromosomes et que d'autres anomalies rares peuvent être découvertes au caryotype final.

Mots-clés : FISH, dpn du 1^{er} trimestre, villosités chorales.

■P170 / 592. TENTATIVE DE DIAGNOSTIC PRÉNATAL DIFFÉRÉ CHEZ DES COUPLES À FAIBLE POTENTIEL DE GROSSESSE : À PROPOS DE 221 CAS

M. Fiore (1), V. Buben (1), F. Vandenbosch (2), L. Taine (1), J. Horowitz (2), R. Saura (1)
(1) Service génétique médicale maternité CHU Bordeaux ; (2) Service de Gynéco-obstétrique, Maternité hôpital Pellegrin

Introduction : Certains couples, à faible potentiel de grossesse, devant bénéficier d'un diagnostic prénatal, à faible risque d'avoir un enfant atteint d'aberration chromosomique, ne souhaitent déplorer ni une fausse couche, ni un enfant trisomique. Afin de répondre à ces deux critères, nous proposons de différer le diagnostic prénatal au 3^e trimestre, ce qui n'est pas sans poser certains problèmes. Les différentes publications s'accordent à dire que 15 % des fœtus trisomiques ne sont pas dépistés par les investigations autres que le caryotype fœtal. Aussi, nous préférons proposer un diagnostic prénatal de recherche d'aberration chromosomique au 3^e trimestre qui nous permet d'avoir une certitude avec peu de risque iatrogène. Matériel et Méthode – Depuis janvier 2003, 221 de ces couples ont été vus en consultation par R. SAURA, avant un diagnostic prénatal. Il s'agissait de couples à faible risque d'anomalie chromosomique, soit en raison d'un HT21 positif, soit un âge maternel, soit un antécédent. Dans tous les cas, l'échographie du 1^{er} trimestre était normale. Ces couples présentaient soit une infertilité sans AMP, soit une infertilité avec AMP, soit une peur de fausse couche (avec souvent des antécédents de fausses couches), soit une première grossesse tardive. Les couples sont informés des procédures en donnant pour chacune d'entre elles les avantages et les inconvénients. Une anomalie échographique contre-indique un diagnostic prénatal différé, de même qu'une angoisse du couple qui peut changer d'avis à tout moment. Pour les patientes de plus de 38 ans, la réalisation des facteurs sériques maternels était plutôt déconseillée en raison de leur résultat aléatoire et des conséquences psychologiques sur le couple. Les patientes ont été classées en 4 groupes en fonction de leur choix : groupe 1 : patientes qui ont souhaité ne pas attendre – groupe 2 : patientes qui avaient choisi de différer et n'ont pas attendu – groupe 3 : patientes qui ont attendu et ont bénéficié du diagnostic prénatal du 3^e trimestre – groupe 4 : patientes qui n'ont pas

pratiqué de diagnostic prénatal. Les patientes du 3^e groupe sont revues avant le jour du diagnostic prénatal afin d'évaluer le vécu de leur attente. Un résultat par FISH interphasique est donné 2 jours après, complété du caryotype fœtal ultérieurement. Résultat – Groupe 1 : 130 patientes – Nous avons dépisté une trisomie 21, réalisé 2 autres interruptions médicales de grossesse pour d'autres raisons et déploré 2 fausses couches après ponction. – Groupe 2 : 16 patientes – Aucune anomalie, ni complication obstétricale notable. – Groupe 3 : 49 patientes – Il faut noter que 2 patientes ont fait une fausse couche avant ponction et que dans la majorité des cas, l'attente a été relativement bien vécue. Les amniocentèses ont été réalisées entre 28 et 33 SA. Aucune trisomie n'a été à déplorer. 6 menaces d'accouchement prématuré ont été à déplorer sans conséquence pour les bébés. Groupe 4 : 26 patientes – Absence d'aneuploidie. Discussion – Cette procédure est loin d'être évidente pour les médecins et les patientes. Le diagnostic prénatal différé est une alternative au diagnostic prénatal précoce et dans les 2 cas le choix est difficile en raison, d'une part de l'attente pour le couple qui peut être difficile compte tenu des incertitudes du résultat, d'un risque d'accouchement avant d'avoir un résultat de caryotype et de la possibilité d'une interruption médicale de grossesse au 3^e trimestre (qui n'est envisageable que dans les pays où la loi autorise les IMG au 3^e trimestre). Une amniocentèse tardive peut générer un accouchement prématuré. Les avantages de cette procédure sont de permettre à des couples à faible potentiel de grossesse d'être sûrs que l'enfant ne sera pas trisomique sans perdre leur bébé. Conclusion – Cette procédure ne doit être proposée qu'aux couples à faible risque d'enfant trisomique. Pour certains couples dont le risque de perte fœtale excluait la possibilité d'avoir un enfant, cette procédure leur donne la possibilité d'avoir un diagnostic fiable, sans prendre de risque iatrogène

Mots-clés : diagnostic prénatal différé, infertilité, trisomie 21.

■P171 / 597. EXPRESSION ANTÉNATALE DU SYNDROME DE BARAITSER-WINTER

G. Morin (1, 2), R. Goubet (1), C. Jeanpetit (1), M. Mathieu (1), B. Delaby (2), S. Lanta (2), Ph. Naepels (2), A. Verloes (3), J. Gondry (2)
(1) *Unité de Génétique Clinique, Département de Pédiatrie, CHU d'Amiens*; (2) *Centre de Diagnostic Prénatal, CHU d'Amiens*; (3) *Service de Génétique Clinique, Hôpital Robert-Debré, Paris*

Introduction : Le syndrome de Baraitser-Winter a été pour la première fois rapporté par les auteurs dont il porte le nom en 1988, chez un frère et une sœur ainsi que chez une fille non apparentée aux deux premiers. Ces trois patients avaient en commun un colobome irien, un hypertélorisme, un ptosis, un retard mental, une racine du nez large, un épicanthus prononcé. Dans deux observations similaires, une inversion péricentrique du chromosome 2 fut rapportée, héritée dans les deux cas d'une mère asymptomatique. En 1995, Ramer rassembla 3 patients supplémentaires, relevant l'existence d'une trigonocéphalie, d'anomalies de la gyration et d'un retard de croissance. La possibilité d'une transmission autosomique récessive fut évoquée. Nous rapportons le cas d'un jeune garçon présentant ce phénotype suite à une grossesse marquée par la présence d'un hygroma colli à caryotype normal, d'une hyperéchogénicité intestinale et d'une dilatation pyélique unilatérale. **Observation :** Lors de la seconde grossesse d'un couple non consanguin, l'échographie révéla la présence d'un volumineux hygroma colli de 8 mm persistant à 11,4 mm à 18 SA. L'amniocentèse permit de retrouver un caryotype 46, XY sans particularité. À 21 SA, l'hygroma persistait à 12 mm avec une dilatation modérée du rein gauche à 9 mm et une discrète hyperéchogénicité intestinale qui devait devenir franche à 25 SA. La recherche des mutations les plus fréquentes du gène *CFTR* fut réalisée chez les deux parents et s'avéra négative. Au fur et à mesure de la grossesse, la taille de l'hygroma s'accroissait pour atteindre 22 mm, et la dilatation rénale gauche s'aggrava à 18 mm avec perte de la différenciation corticomédullaire. L'accouchement survint spontanément par voie basse à 38 SA. Le poids de naissance était de 3 620 g, la taille de 50 cm et le PC de 35 cm. La présence d'un excès de peau au niveau du cou, d'oreilles implantées bas aux lobes épais, d'une racine du nez aplatie, d'un hypertélorisme fit évoquer la possibilité d'un syndrome de Noonan. La recherche de mutation sur le gène *PTPN11* fut négative. L'anomalie rénale fut définie comme une bifidité rénale bilatérale. Une néphrectomie rénale gauche polaire supérieure fut réalisée. Le diagnostic de syndrome de Baraitser-Winter fut porté cliniquement lorsque l'enfant fut revu à l'âge de 4 ans sur des arguments morphologiques. Cependant le bilan réalisé montra l'absence de colobome et de pachygyrie. **Discussion :** Le syndrome de Baraitser-Winter est une entité exceptionnelle dont seulement 10 cas ont été publiés. En 2003, Verloes et coll. rapportèrent 8 cas supplémentaires indiquant des similitudes cliniques avec le syndrome de Fryns-Aftimos, mais soulignant également le chevauchement clinique existant avec le syndrome de Noonan. À notre connaissance aucun cas de

syndrome de Baraitser-Winter n'a été rapporté avec une expression anténatale. L'existence chez notre patient d'un hygroma colli associé à des anomalies rénales renforce, y compris dans le phénotype anténatal, les similitudes existant avec le syndrome de Noonan. Le gène impliqué dans le syndrome de Baraitser-Winter n'est pas connu. Seule existe une piste de sa localisation éventuelle du fait de cette inversion péricentrique du chromosome 2 rapportée chez deux des patients de la littérature. Les similitudes indiquées avec le syndrome de Noonan pourraient orienter les recherches vers un gène proche de la voie RAS. Le mode de transmission a été supposé autosomique récessif devant la présence de la pathologie chez un frère et une sœur. Cependant la possibilité d'une transmission autosomique dominante avec dans ce cas familial la survenue d'une mosaïque germinale n'est pas exclue.

Mots-clés : Baraitser-Winter, hygroma colli, hyperéchogénicité intestinale.

■P172 / 610. DIAGNOSTIC RÉTROSPECTIF D'UN RECOMBINANT DU CHROMOSOME 3 D'UNE INVERSION PÉRICENTRIQUE MATERNELLE SEMI-CRYPTIQUE CHEZ UN FŒTUS POLYMALFORME GRÂCE À L'ÉTABLISSEMENT DES CARYOTYPES PARENTAUX

S. Bouquillion (1), G. Cordonnier (1), B. Duban (1), L. Devisme (2) B. Guionnet (3), B. Delobel (1), J. B. Savary (4), S. Manouvrier (5)
(1) *Centre de Génétique Chromosomique, Hôpital St Vincent de Paul, GHICL, Lille*; (2) *Unité de Fœtopathologie, Laboratoire d'anatomopathologie, CHRU de Lille*; (3) *Service de Gynéco-Obstétrique, CH de Valenciennes*; (4) *Laboratoire de Génétique médicale, Hôpital Jeanne de Flandre, CHRU de Lille*; (5) *Service de Génétique Clinique, Hôpital Jeanne de Flandre, CHRU de Lille*

Nous présentons le diagnostic rétrospectif, d'une aneuploidie de recombinaison avec trisomie 3qter/monosomie 3pter, après IMG tardive pour syndrome polymalformatif. L'anomalie est issue d'une inversion péricentrique semi-cryptique maternelle. Le caryotype fœtal initial était considéré comme normal. Le diagnostic a été fait secondairement, grâce aux caryotypes parentaux en haute résolution puis à la FISH sur le caryotype fœtal. Nous discutons de la difficulté de mettre en évidence ce type d'anomalie, des possibilités de détection et des stratégies envisageables en diagnostic prénatal. Il s'agit d'une première grossesse d'un couple non apparenté. Les antécédents familiaux sont marqués du côté de Mr. D. par une IMG tardive chez sa mère (G5P4) pour syndrome polymalformatif dont certains éléments étaient communs aux constatations actuelles (sexe masculin, mobilité fœtale réduite, dysmorphie, fente palatine, fossette sacrée, croissance normale et caryotype après cordocentèse normal). Le début de la grossesse de Mme D. se déroule sans particularité. L'apparition tardive de signes d'appel échographiques associant ceux déjà décrits à une malformation cardiaque (CIV haute, artère sous-clavière rétro-œsophagienne) conduit à une IMG. Le bilan sur sang fœtal est négatif : caryotype et analyses moléculaires de la myotonie de Steinert et de l'amyotrophie spinale infantile. Une étude fœtopathologique retrouve une cryptorchidie, une agénésie de la queue du pancréas et des signes évocateurs d'un isomérisme (polysplénie, anomalie de la lobulation pulmonaire et la cardiopathie). En l'absence de diagnostic précis et en fonction de l'antécédent familial, une anomalie chromosomique cryptique héritée est évoquée. Les caryotypes parentaux en haute résolution (RBG) sont demandés à cet effet. Ils mettent en évidence, de façon inattendue chez la mère (puisque les ATCD familiaux étaient observés du côté paternel), une inversion péricentrique de grande taille d'un chromosome 3 : 46,XX,inv(3)(p26q27). Les fragments distaux à l'inversion sont très petits et de taille équivalente sans modification de l'indice centromérique. Ceci, et la subtilité de la variation du profil des bandes, rend l'inversion difficile à déceler. Le résultat est confirmé par FISH. Rétrospectivement, le caryotype fœtal (GTG) est réévalué : une anomalie du chromosome 3 n'est pas discernable. Par contre, une FISH avec sondes subtelomériques 3p/3q, montre une aneuploidie de recombinaison : trisomie 3qter et monosomie 3pter – 46,XY,rec(3)dup(3q)inv(3)(p26q27)mat –. Ce cas illustre une fois de plus les limites du caryotype conventionnel et notamment en fonction des techniques employées. Les caryotypes parentaux sont intéressants notamment en haute résolution pour le diagnostic « indirect » d'anomalie déséquilibrée chez le propositus. Ici, comme pour les translocations réciproques semi-cryptiques, l'anomalie équilibrée est plus facile à distinguer que celle qui est déséquilibrée. Néanmoins, grâce au développement des approches moléculaires, d'autres stratégies diagnostiques peuvent être envisagées en prénatal dans ce contexte. Une analyse pantélomérique ou une étude par puce pangénomique sur prélèvement fœtal aboutiraient au même résultat. L'avantage en cas de diagnostic rétrospectif pour ces 2 techniques est leur disponibilité en post-mortem après extraction d'ADN quand du tissu fœtal est disponible. Globalement, la puce pangénomique est plus intéressante,



malgré ses limites dans l'interprétation des polymorphismes, du fait de sa capacité à déceler des anomalies cryptiques segmentaires. Cette démarche est équivalente au bilan chromosomique approfondi d'un retard mental syndromique inexpliqué. Si cette stratégie est limitée du fait du coût et de la disponibilité de ces nouvelles techniques, dont l'évaluation reste à déterminer, elle nous semble correspondre actuellement à un idéal vers lequel il faut tendre dans le cadre des troubles du développement inexpliqué en postnatal comme en prénatal.

Mots-clés : inversion péricentrique, délétion 3pter, trisomie 3qter.

■P173 / 632. RISQUE ÉLEVÉ DE FAUX NÉGATIF DU DIRECT SUR VILLOSITÉS CHORIALES SUR L'INDICATION SIGNES D'APPEL ÉCHOGRAPHIQUE. EXPÉRIENCE DU CHU DE CAEN
N. Leporrier (1), M. Herlicoviez (2), P. Balouet (3), J. Alliet (1), N. Gruchy (1)

(1) Département génétique et reproduction-CHU Caen ; (2) Service de gynécologie obstétrique, CHU Caen ; (3) Centre hospitalier de Saint Lô
1 643 prélèvements villositaires sont parvenus au laboratoire pour analyse cytogénétique, entre 1985 et 2007. À partir de 1994, plusieurs études ont montré la nécessité d'effectuer simultanément un examen en direct (D) et une culture (C) pour interpréter les mosaïques et les discordances fœto-placentaires. Il existe des faux positifs et des faux négatifs. Nous nous sommes intéressés aux faux négatifs, qui à l'ère du dépistage de « population » pour la trisomie 21, au premier trimestre de la grossesse, sur les recommandations de « HAS », risquent de poser problème à ceux qui, sur villosités choriales ne feraient pas un direct et une culture (D+C). Parmi les 1643 cas, 704 ont eu un résultat cytogénétique à la fois en direct et après culture (de villosités ou de liquide amniotique). Il n'y a pas de faux négatifs parmi ceux qui n'ont pas eu de culture (939 cas du début de l'étude), toutes les issues sont connues sans naissance d'enfant avec anomalie chromosomique. Nous avons observé 11 faux négatifs du direct (anomalie seulement présente sur la culture), soit 0,7 %, ce qui est bien supérieur aux données de la littérature (1p1000). Ils sont tous recrutés sur signe d'appel échographique, dont 7 pour clarté nucale excessive au premier trimestre, 3 pour malformations cardiaques et 1 pour retard de croissance intra-utérin. Parmi les clartés nucales, nous avons 3 trisomies 18, 2 trisomies 13, un turner en mosaïque avec anomalie de structure de l'X et une anomalie de structure déséquilibrée d'un chromosome 8. Parmi les anomalies cardiaques, il y a une trisomie 18, une trisomie 21 et une trisomie 15 en mosaïque, le retard de croissance intra utérin est lié à une trisomie 18. Ces résultats corroborent ceux déjà évoqués par van den Berg *et al.* en 2006 qui constatent sur une revue de la littérature, que l'indication du caryotype fœtal la plus impliquée dans la survenue des faux négatifs sont les malformations échographiques ou l'hyperclarté nucale > 3,5 mm. Sur cette base, il semble raisonnable de préconiser, après un dépistage de la trisomie 21 au premier trimestre incluant la mesure de la nuque, plutôt une amniocentèse dès la 15^e semaine plutôt qu'une biopsie de trophoblaste à 13 ou 14 semaines.

Mots-clés : villosités choriales, faux négatif, examens direct/culture.

■P174 / 637. DIAGNOSTIC PRÉNATAL DE MUCOVISCIDOSE : BILAN DE 18 ANNÉES D'EXPÉRIENCE EN BRETAGNE

V. Scotet (1), I. Duguépéroux (1), MP. Audrézet (1, 2), M. Blayau (3), P. Boisseau (4), H. Journal (5), P. Parent (6), C. Férec (1, 2)
(1) Inserm U613, Brest ; (2) Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHU de Brest ; (3) Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHU de Rennes ; (4) Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHU de Nantes ; (5) Unité de Génétique Médicale, CH Bretagne Atlantique, Vannes ; (6) Service de Pédiatrie et de Génétique Médicale, CHU de Brest

Introduction : Avec une incidence de 1/3500, la mucoviscidose est l'une des maladies génétiques autosomales récessives les plus fréquentes dans les populations caucasiennes. La sévérité de cette maladie et l'absence d'un traitement curatif ont justifié le développement, dans les années 1980, d'un test de diagnostic prénatal afin d'éviter la naissance d'autres enfants atteints dans les familles. L'objectif de cette étude était de rapporter l'expérience de la Bretagne dans ce domaine (région où la mucoviscidose est particulièrement fréquente). Méthode : Nous avons recensé, via les laboratoires de génétique de la région, l'ensemble des diagnostics prénatals de mucoviscidose réalisés entre le 01/01/1989 et le 31/12/2006 chez les femmes domiciliées en Bretagne. Nous avons pu décrire le contexte dans lequel les couples à risque de 1/4 ont été identifiés et rapporter la proportion de fœtus atteints et d'interruptions médicales de grossesses (IMG) consécutives. Enfin, nous avons cherché à évaluer l'impact du diagnostic prénatal sur l'incidence de la mucoviscidose dans notre région. Résultats : Sur la période 1989-2006, nous avons recensé 268 diagnostics prénatals

de mucoviscidose réalisés chez des couples à risque de 1/4. La plupart de ces examens a été effectuée chez des couples ayant déjà un ou plusieurs enfants atteints de mucoviscidose (n = 195 – 72,8 %). Près d'un cinquième des diagnostics a été réalisé chez des couples à risque de 1/4 repérés par le dépistage en cascade mené dans les familles (n = 48 – 17,9 %). Le dépistage en cascade a en effet permis de repérer 25 nouveaux couples à risque dans les familles d'enfants atteints de mucoviscidose (n = 20), mais aussi dans les familles d'enfants hétérozygotes identifiés par le dépistage néonatal (n = 5). Les autres diagnostics prénatals ont principalement été réalisés dans des couples dont le risque de 1/4 a été mis en évidence suite à la détection d'un intestin hyperéchogène lors d'une grossesse précédente (n = 22 – 8,2 %). Au total, sur la période de 18 ans, le diagnostic prénatal a identifié 73 fœtus atteints de mucoviscidose et la grande majorité de ces grossesses a été interrompue (n = 70 – 95,9 %). Au delà de ces 268 diagnostics prénatals, 22 autres diagnostics ont été réalisés directement après la détection d'un intestin hyperéchogène. Dans ce cas, le diagnostic prénatal a confirmé le diagnostic de mucoviscidose et 18 de ces 22 couples ont choisi d'interrompre la grossesse (81,8 %). L'inclusion dans le calcul d'incidence de l'ensemble des IMG réalisées sur la période (n = 88) conduit à une modification d'incidence de 28,8 % sur la période d'étude. Conclusion : Cette étude rapporte 18 années d'expérience en matière de diagnostic prénatal de mucoviscidose et révèle les vraies décisions des couples concernant l'interruption de grossesse après un diagnostic prénatal positif. Bien que l'espérance de vie des patients se soit considérablement améliorée au cours des dernières années, dans notre région la grande majorité des couples choisit d'interrompre la grossesse lorsque le diagnostic se révèle positif.

Mots-clés : mucoviscidose, diagnostic prénatal, dépistage en cascade.

■P175 / 651. DIAGNOSTIC PRÉNATAL D'UNE ANOMALIE CHROMOSOMIQUE COMPLEXE EN MOSAÏQUE ASSOCIANT UNE MONOSOMIE 5P ET UNE TRISOMIE 17Q

M.L. Maurin (1), S. Brisset (1), A.E. Mas (2), A. L'Hermine Coulomb (2), O. Picone (3), J.M. Levailant (3), F. Petit (4), P. Mabboux (1), S. Fouché (1), R. Frydman (3) G. Tachdjian (1)
(1) Service d'Histologie Embryologie Cytogénétique, INSERM U782, Université Paris XI, Hôpital Antoine Bécélère, APHP, Clamart ; (2) Service d'anatomie pathologique et fœtopathologie, Hôpital Antoine Bécélère, APHP, Clamart ; (3) Unité de Diagnostic Antenatal, Service Gynécologie Obstétrique, Hôpital Antoine Bécélère, APHP, Clamart ; (4) Service de biochimie et biochimie génétique, Hôpital Antoine Bécélère, APHP, Clamart

Les anomalies chromosomiques de structure en mosaïque sont des événements rares. Nous rapportons ici le diagnostic prénatal d'un mosaïcisme complexe associant une monosomie 5p et une trisomie 17q. Une femme âgée de 31 ans a été adressée à notre centre de diagnostic antenatal à 23 semaines d'aménorrhée et 2 jours pour une agénésie du corps calleux, associée à une hexadactylie, un fémur court et une cardiopathie complexe. Le caryotype fœtal pratiqué sur amniocytes cultivés a révélé une translocation *de novo* déséquilibrée en mosaïque entre le bras court d'un chromosome 5 et le bras long d'un chromosome 17. La majorité des cellules (17/20) présentait une délétion 5p terminale, incluant le locus du syndrome du Cri du Chat, associée à une trisomie 17q. Un autre contingent cellulaire minoritaire (3/20) présentant une monosomie 5 p terminale isolée. Après conseil génétique, le couple a demandé une interruption médicale de grossesse avec examen fœtopathologique. L'examen fœtopathologique a révélé une dysmorphie craniofaciale, des anomalies des extrémités ainsi que des malformations viscérales et cérébrales. L'étude cytogénétique conventionnelle et moléculaire, réalisée sur culture lymphocytaire, confirme l'anomalie observée sur amniocytes mais avec une répartition différente des deux clones cellulaires en mosaïque. Les anomalies phénotypiques et cytogénétiques sont discutées et corrélées aux observations rapportées dans la littérature de fœtus porteurs de délétion 5 p terminale ou de trisomie 17q.

Mots-clés : mosaïque, cri du chat, prénatal.

Génétique Clinique

■P176 / 20. MALFORMATIONS ASSOCIÉES CHEZ LES PATIENTS AYANT UNE MALFORMATION DE LA PAROI ABDOMINALE

C. Stoll (1), B. Dott (1), Y. Alembik (1), M.P. Roth (1)
(1) Laboratoire de Génétique Médicale, Faculté de Médecine de Strasbourg

Gastroschisis et omphalocele sont les malformations les plus communes de la paroi abdominale (MPA). L'étiologie de ces deux malformations différentes n'est pas claire et leur pathogénie est controversée. Un risque élevé de malformations associées, d'anomalies chromosomiques et de mort néonatale est rapporté chez les fœtus avec omphalocèle. Les malformations associées au gastroschisis sont peu fréquentes. Toutefois, les types de malformations associées aux MPA varient selon les différentes études ainsi que la fréquence des malformations associées, allant de 27 % à 69 % pour l'omphalocele et de 5 % à 36 % pour le gastroschisis. Parmi 334.262 naissances consécutives, de 1979 à 2003, nous rapportons 86 patients avec omphalocèle (prévalence totale de 2.57 pour 10.000), dont 64 (74.4 %) ont des malformations associées. Ces patients sont divisés en groupes (i) avec anomalies chromosomiques (25 patients, 29 %), syndromes non chromosomiques reconnus incluant Goltz, Beckwith-Wiedeman, Marshall-Smith, Meckel-Gruber, – palato-digital type II, CHARGE, et fœtus de mère sous valproate ; (ii) séquences, incluant extrophie cloacale, extrophie vésicale, ectopia cordis, pentalogie de Cantrell, et OEIS ; (iii) et patients avec malformations multiples non syndromiques (MMNS) (26 patients, 30.2 %). Les malformations du système musculo-squelettique (23.5 %), du système urogénital (20.4 %), du système cardiovasculaire (15.1 %), et du système nerveux central (9.1 %) sont les malformations autres les plus communes survenant chez les patients avec omphalocèle et MMNS. La prévalence totale du gastroschisis est de 1.85 pour 10.000 avec une augmentation significative de la prévalence totale pendant la période d'étude. La prévalence âge-spécifique maternel est la plus élevée pour le groupe d'âge 15-19 ans. Parmi les 62 patients avec gastroschisis, 12 (19.4 %) ont des malformations associées incluant une anomalie chromosomique, 2 complexes membre-paroi abdominale, une dysplasie squelettique, une amyoplasie congénitale, et 7 MMNS. Le poids, la taille et le périmètre crâniens des enfants avec malformations multiples associées sont inférieurs à ceux des témoins. Le diagnostic prénatal a été fait dans 67 % des cas avec omphalocèle et dans 57 % des cas avec gastroschisis avant 1999, et dans 100 % des cas avec MPA après 1999. En conclusion la prévalence totale des malformations associées qui est proche de trois sur quatre patients avec omphalocèle et de un sur cinq patients avec gastroschisis, indique qu'il est nécessaire d'effectuer un bilan très soigneux chez les patients avec MPA. Une investigation de routine à la recherche d'autres malformations, en particulier de syndromes dysmorphiques et de malformations squelettiques, urogénitales, et cardiaques doit être envisagée. Un conseil génétique est indiqué dans ces cas compliqués.

Mots-clés : omphalocèle, gastroschisis, malformations congénitales.

■P177 / 34. HUMAN GENETIC OF PREMATURE OVARIAN FAILURE: A MENDELIAN AND CANDIDATE GENES APPROACH
S. Caburet (1), P. Laissue (1), R.A. Veitia (1), D. Bacq (2), S. Heath (2), M. Lathrop (2), B. Pepin (3), S. Christin-Maitre (4), P. Bouchard (4), F. Kuten (5), P. Touraine (5), Z. BenNeriah (6), S. Shalev (7), S. Copelli (8), M. Fellous (1)
(1) Cochin Institute, Paris, France ; (2) CNG, Evry, France ; (3) Inra, Jouy en Josas, France ; (4) St-Antoine Hospital, Paris, France ; (5) Pitie Hospital, Paris, France

Premature ovarian failure (POF) is a disease affecting 1 to 3 % of women before the age of 40 years, and 0,1 % of women aged of 30 years. Patients may present a primary or secondary amenorrhea, depending on the age of occurrence. Several arguments are in favour of a genetic aetiology of POF. Unfortunately, in more 90 % of POF patients, the aetiology of the disease is still unknown. For this reason, we have set up an international network gathering clinical and research teams, in order to obtain a better understanding of the genetics and physiopathology of POF. We have collected a large panel of familial and sporadic cases in order to perform two complementary studies : 1) A mapping approach by a genome-wide scanning of familial cases, coupled to a homozygosity mapping for some families with an important consanguinity. We collected 11 families with familial cases of female infertility with POF. In collaboration with the French National Genotyping Center, the genome of affected and healthy members of the 11 families was scanned by genotyping 412 microsatellite markers. 2) A candidate genes approach on sporadic POF cases, by sequencing genes involved in meiosis and follicular maturation and selected on the basis of similar phenotypes in "knock out" mice. Three hundred sporadic POF cases were sequenced for the candidate genes *DMC1*, *MSH4*, *MSH5*, *GDF9*, *BMP15* and *FOXL2* (a forkhead transcription factor known as one of the earliest somatic marker of ovarian development). Evidence for significant linkage was detected on the long arm of human chromosome 7q22-1 with a peak lod-score of 3.85. This region was 62 Mb (between marker D7S502 and D7S530). In order to refine this large region, we reanalyze the 11 families with 30 microsatellites between D7S502 and D7S530. The

region of interest is presently 10 Mb long and contains more than 100 genes. Our families are currently analysed by SNPs genotyping as a complementary method. Genetic mutations were found in *DMC1*, *GDF9* and *BMP15* genes. These variants were not found in control population. We are presently analysing the biological function of such variants. *FOXL2* mutations were confirmed to be present in patients with BPES syndrome, a syndrome associated with POF. For the first time, we have been able to analyse the genetic basis of some familial and sporadic POF. We succeeded in mapping a locus on human chromosome 7q22.1, associated with both a recessive and dominant form of familial POF cases originating from Middle East. We are presently analysing candidate genes in these regions.

Références

1. Laissue P *et al.* Mutations and sequence variants in *GDF9* and *BMP15* in patients with premature ovarian failure. *Eur J Endocrinol* 2006 ; 154 (5) : 739-44.
2. Pannetier M *et al.* Molecular aspects of female and male gonadal development in mammals. *Pediatr Endocrinol Rev* 2004 ; 1 (3) : 274-87.
3. De Baere E *et al.* Premature ovarian failure and forkhead transcription factor *FOXL2*. *Pediatr Endocrinol Rev* 2005 ; 2 (4) : 653-60.

Mots-clés : pof, mutations, gènes.

■P178 / 65. L'HÉTÉROGÉNÉITÉ CLINIQUE DES LAMINOPATHIES : UN PIÈGE POUR LES CLINICIENS

V. Drouin-Garraud (1), L. Guyant-Maréchal (2), A.L. Bedat-Millet (2), F. Anselme (3), A. Savoure (3), A. Laquerrière (4), P. Richard (5), T. Frebourg (1)

(1) Service de Génétique, CHU de Rouen ; (2) Département de Neurologie, CHU de Rouen ; (3) Département de Cardiologie, CHU de Rouen ; (4) Laboratoire d'Anatomie et de Cytologie Pathologique, CHU de Rouen ; (5) Cardiogénétique Moléculaire, La Pitié-Salpêtrière, Paris

Les laminopathies représentent un groupe de maladies hétérogènes résultant de mutations du gène *LMNA*, qui code pour deux protéines d'enveloppe nucléaire la lamine A et la lamine C. Depuis l'identification, en 1999, des mutations de *LMNA* dans la forme autosomique dominante de la dystrophie musculaire d'Emery-Dreifuss (EDMD), les mutations de *LMNA* ont été décrites comme étant associées à de nombreux phénotypes : EDMD à transmission autosomique récessive, dystrophie musculaire des ceintures autosomique récessive (LGMD1B), cardiomyopathie dilatée autosomique dominante (CMD1A), lipodystrophie partielle familiale de Dunnigan, dysplasie acromandibulaire, progeria d'Hutchinson-Gilford ou syndromes de Werner atypiques, dermatopathies restrictives létales et forme récessive de maladie de Charcot-Marie-Tooth (CMT2B). Nous rapportons notre expérience clinique illustrant la variabilité inter et intra-familiale des mutations du gène de la *LMNA*, à propos de 38 patients appartenant à 13 familles dans lesquelles une mutation du gène *LMNA* a été identifiée. Ces patients ont bénéficié d'un examen neurologique avec dosage de CPK et EMG en cas de signes musculaires, d'un bilan cardiologique incluant ECG, échographie cardiaque, holter des 24 heures +/- stimulation ventriculaire droite et d'un bilan métabolique (lipidique, glucidique et hépatique). Quatorze patients de 5 familles présentaient une maladie musculaire associée à une atteinte cardiaque et 2 avaient des signes musculaires dès l'enfance ; 18 patients de 3 familles avaient une maladie cardiaque sévère, isolée et ces 3 familles présentaient une histoire dramatique de transmission autosomique dominante de mort subite. Trois patients avaient une lipodystrophie partielle de Dunnigan avec atteinte cardiaque chez une patiente. Enfin, 3 patients de 2 familles présentaient un phénotype inhabituel associant atteinte cardiaque, dysmorphie faciale modérée et acrogérie. Cette série montre que, dans la pratique, le diagnostic des laminopathies peut être parfois difficile. L'association chez un patient d'une acro-ostéolyse distale à des troubles du rythme supra-ventriculaires même en l'absence de cardiomyopathie dilatée ou l'existence d'un syndrome pseudo-cushingoïde avec hypertriglycéridémies et insulino-résistance doit faire évoquer le diagnostic de laminopathies. L'hétérogénéité clinique souligne l'importance d'une prise en charge multidisciplinaire et d'un suivi clinique et para-clinique régulier. La fréquence des morts subites par arythmie ventriculaire justifie la réalisation d'un diagnostic pré-symptomatique chez les apparentés à risque dans le but de dépister précocement les troubles du rythme chez les patients porteurs de mutation et d'éviter les événements graves par la pose d'un défibrillateur.

Mots-clés : laminopathies, hétérogénéité clinique, mort subite.

■P179 / 71. LE RISQUE AORTIQUE ASSOCIÉ AUX MUTATIONS FBN1 : À PARTIR D'UNE ÉTUDE INTERNATIONALE COMPRENANT 1013 PATIENTS PORTEURS D'UN SYNDROME DE MARFAN OU D'UNE FIBRILLINOPATHIE DE TYPE I

L. Faivre (1), G. Collod-Beroud (2), B.L. Loeys (3), A. Child (4), C. Binquet (5), E. Gautier (5), B. Callewaert (3), E. Arbustini (6), K. Mayer (7),



M. Arslan-Krichner (8), C. Beroud (9), C. Bonithon-Kopp (5), M. Claustres (9), H. Plauchu (10), L. Adès (11), J. De Backer (3), P. Coucke (3), U. Francke (12), A. De Paepe (3), C. Boileau (13), G. Jondeau (14) (1) Centre de Génétique, CHU Dijon, France ; (2) INSERM, U827, Montpellier, France ; (3) Center for Medical Genetics, Ghent University Hospital, Belgium ; (4) Department of Cardiological Sciences, St. George's Hospital, London, UK ; (5) Centre d'investigation clinique, épidémiologie clinique/essais cliniques, CHU Dijon, France ; (6) Molecular Diagnostic Unit, Policlinico San Matteo, Pavia, Italy ; (7) Center for Human Genetics and Laboratory Medicine, Martinsried, Germany ; (8) Institut für Human-genetik, Hannover, Germany ; (9) CHU Montpellier, Laboratoire de Génétique Moléculaire, Hôpital Arnauld de Villeneuve, Montpellier, France ; (10) Service de Génétique, Hôtel Dieu, Lyon, France ; (11) Marfan Research Group, The Children's Hospital at Westmead, Sydney, Australia ; (12) Departments of Genetics and Pediatrics, Stanford University Medical Center, USA ; (13) Laboratoire de Génétique moléculaire, Hôpital Ambroise Paré, Boulogne, France ; (14) Centre de Référence Maladie de Marfan, Hôpital Bichat, Paris, France

À partir du recrutement de 1 013 probands génotypés porteurs d'un syndrome de Marfan ou d'une fibrillinopathie de type I dans le but d'une étude de corrélation phénotype-génotype, nous avons mis à profit les données cliniques à disposition pour mieux décrire le risque aortique associé aux mutations *FBN1*. À 40 ans, 75 % (99.9 %-CI = 71 %-79 %) des patients ont présenté une dilatation de l'aorte ascendante, 26 % (99.9 %-CI = 21 %-33 %) une dissection de l'aorte ascendante et 41 % (99.9 %-CI = 35 %-48 %) ont bénéficié d'une chirurgie aortique. Les hommes ont un risque de présenter une dilatation de l'aorte ascendante plus précoce que les femmes (80 % (99.9 %-CI = 75 %-84 %) à 40 ans contre 70 % (99.9 %-CI = 64 %-76 %) à 40 ans, $p = 0.0036$) et un risque plus élevé d'avoir recours à une chirurgie aortique (46 % (99.9 %-CI = 38 %-55 %) à 40 ans contre 34 % (99.9 %-CI = 26 %-45 %) à 40 ans, $p = 0.0002$). Il n'a pas été démontré de différence significative concernant le risque de dissection aortique en fonction du sexe. L'étude de la cohorte pédiatrique ($n = 320$) a permis de démontrer que les complications aortiques restent exceptionnelles dans l'enfance (5 %). En effet, seuls 3 probands ont présenté une dissection de l'aorte et 14 ont été opérés pour une dilatation chirurgicale de l'aorte ascendante. La comparaison des patients adultes diagnostiqués dans l'enfance comparativement à ceux diagnostiqués à l'âge adulte a montré qu'un diagnostic dans l'enfance était associé à une survenue de complications aortiques plus précoces (81 % (99.9 %-CI = 71 %-90 %) ont une dilatation de l'aorte à 40 ans contre 65 % (99.9 %-CI = 59 %-70 %), $p < 0.0001$, 64 % (99.9 %-CI = 48 %-80 %) ont eu recours à une chirurgie aortique contre 35 % (99.9 %-CI = 28 %-42 %), $p < 0.0001$). La recherche de facteurs prédictifs d'une dilatation aortique a montré que les risques de développer une dilatation aortique étaient plus élevés chez les patients présentant un prolapsus mitral valvulaire (HR = 5.86 ; IC-95 % = 3.08-11.18) ou une ectopie du cristallin (HR = 2.17 ; IC-95 % = 1.55-3.05). La seule caractéristique moléculaire entraînant un sur risque aortique est la présence d'une mutation *FBN1* au sein des exons 24 à 32. En effet, la probabilité de développer une dilatation de l'aorte ascendante à 40 ans est 87 % (99.9 %-CI = 77 %-95 %) chez les patients porteurs d'une mutation dans les exons 24-32 contre 72 % (99.9 %-CI = 67 %-78 %) chez les patients porteurs d'une mutation dans les autres exons ($p < 0.0001$). De plus, ils ont une probabilité d'avoir recours à une chirurgie aortique de 55 % à 40 ans (99.9 %-CI = 35 %-77 %) contre 38 % (99.9 %-CI = 30 %-48 %) chez les patients porteurs d'une mutation dans les autres exons ($p < 0.0001$).

Mots-clés : maladie de Marfan, risque aortique, *FBN1*.

■P180 / 74. UNE NOUVELLE FORME D'ÉPILEPSIE GÉNÉTIQUE : L'ICCA

J. Rochette (1), P. Berquin (2), P. Szepietowsky (3)
(1) Dept. Génétique et INSERM 0351, UPJV-CHU d'Amiens ; (2) Service de Neuropédiatrie, CHU, Amiens ; (3) INSERM UMR 491, Marseille

Introduction : Des convulsions infantiles familiales bénignes et génétiques (CIFB) ont été décrites par Vigevano en 1992. Elles sont transmises selon le mode autosomique dominant. Les premières descriptions rapportent la survenue de crises partielles ou généralisées qui débutent le plus souvent à partir de 3 à 5 mois et peuvent durer jusqu'à l'âge d'un an au terme duquel elles disparaissent sans séquelles. En 1996, nous avons repris les dossiers de quatre familles toutes nées dans le nord de la France et dans lesquelles le diagnostic de CIFB avait été porté préalablement, pour réaliser des enquêtes familiales et observer l'évolution de ces CIFB. Ce travail nous a permis de décrire l'association de CIFB avec l'apparition ultérieure vers l'âge de 5-6 ans en moyenne, de mouvements anormaux de type choréo-athétosiques. Nous avons appelé ICCA, cette nouvelle entité.

Résultats : Nous avons réalisé l'enquête familiale chez 83 membres de ces familles chez lesquels, au terme de l'anamnèse et d'observations répétées nous avons dénombré 16 cas précédemment diagnostiqués avec des CIFBs, 8 avaient eu des CIFBs qui s'accompagnaient plus tard de mouvements anormaux et 4 chez lesquels il existait des mouvements anormaux sans que toutefois le diagnostic de CIFB ait pu être porté avant l'âge d'un an. L'âge à l'enquête familiale était compris entre 6 et 62 ans. Il n'y avait aucune différence dans la présentation des CIFB, suivie ou non de mouvements anormaux et les mouvements anormaux observés n'avaient aucune spécificité familiale. Les mouvements étaient déclenchés soit au repos, par le stress ou à la suite d'un effort physique (marche rapide, course). L'état paroxystique consistait en des mouvements choreoathétosiques ou balistiques avec des postures de type dystoniques correspondant à un tableau de choreoathétose kinesiogénique paroxystique. La fréquence d'apparition de ces mouvements varie de 5 à 30 attaques par jour et décroît avec l'âge. Nous avons montré qu'il existe une présentation variable de la symptomatologie de l'ICCA dans une même famille ce qui pourrait refléter une expressivité variable due à des facteurs modificateurs. À 35 ans, aucun sujet préalablement atteint ne manifestait de mouvements anormaux. Le développement psychomoteur était toujours normal. L'étude de localisation a été faite par saturation du génome à l'aide de marqueurs microsatellites régulièrement espacés et le gène a été localisé sur le chromosome 16 avec un lod score max pour le marqueur D16S3133 de 6.76 à la fraction de recombinaison = 0 avec une pénétrance de 65 %. La région d'intérêt est située au voisinage du centromère dans l'intervalle 16p12-q13. Depuis cette première étude, le même phénotype d'ICCA a été retrouvé dans par d'autres auteurs (Lee *et al.*, 1998) dans une famille d'origine Han ainsi que dans 7 autres familles d'origine française ou argentine. Les nouveaux résultats obtenus ont confirmé la localisation péricentromérique sur le chromosome 16 et ont permis d'exclure pour le syndrome ICCA une liaison au chromosome 19 sur lequel avait été préalablement assigné les CIFB isolées. Nous avons pu également décrire pour la première fois une forme homozygote de CIFB qui présentait une réponse moins bonne aux anti-convulsifs et qui dès l'âge de 2 ans présentait une dyskinésie paroxystique importante. **Discussion :** Aucun gène de la famille des transporteurs ioniques connu n'est localisé dans la région d'intérêt. Un gène responsable de dyskinésie paroxystique de type kinesiogénique a été localisé dans la région 16p13-q12 dans une famille indienne. Des mutations présentes dans plusieurs gènes de la région 16p13-q22 pourraient être responsables de syndromes de gènes contigus rendant difficile l'identification du ou des gènes responsables de l'ICCA. La protéine ICCA pourrait être une sous-unité d'une forme multimérique comme ceci a été décrit pour les gènes *KCNQ2* et *KCNQ3* (convulsions néonatales bénignes).

Mots-clés : épilepsies génétiques, ICCA.

■P181 / 83. LES GRANDS RÉARRANGEMENTS DU GÈNE *OFDI* SONT FRÉQUEMMENT IMPLIQUÉS DANS LE SYNDROME ORO-FACIO-DIGITAL DE TYPE I

N. Gigot (1), P. Saugier-Verber (2), J.R. Teyssier (1), V. Cormier-Daire (3), L. Van Maldergem (4), A. Toutain (5), Y. Alembik (6), E. Bieth (7), V. Layet (8), P. Parent (9), A. David (10), A. Goldenberg (3), G. Mortier (11), D. Héron (12), L. Burglen (13), L. Pasquier (14), M. Rio (3), M. Le Merrer (3), D. Lacombe (15), B. Gilbert (16), M. Mathieu (17), B. Delobel (18), P.S. Jouk (19), B. Loeys (11), S. Lyonnet (3), B. Doray (20), G. Plessis (21), B. Durmaz (22), D. Chauveau (23), A.M. Bouvier (24), F. Huet (25), A. Donzel (1), T. Frebourg (2), L. Faivre (26), C. Thauvin-Robinet (26)

(1) Laboratoire de Génétique Moléculaire, Hôpital du Bocage, CHU Dijon, France ; (2) Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHU Rouen, France ; (3) Département de Génétique, Hôpital Necker-Enfants Malades, APHP Paris, France ; (4) Institut de Pathologie et de Génétique, Lovreval, Belgique ; (5) Service de Génétique, CHU Tours, France ; (6) Service de Génétique Médicale, Hôpital Hauteepierre, CHU Strasbourg, France ; (7) Laboratoire de Génétique, CHU Purpan, Toulouse, France ; (8) Unité de Cytogénétique et Génétique médicale, CH Le Havre, France ; (9) Département de Pédiatrie et de Génétique Médicale, CHU Brest, France ; (10) Service de Génétique médicale, CHU Nantes, France ; (11) Centre de Génétique Médicale, Ghent, Belgique ; (12) Département de Génétique cytogénétique et embryologie, La Pitié-Salpêtrière, Paris, France ; (13) Unité de Génétique Clinique, Service de Neuropédiatrie, Hôpital d'Enfants Armand-Trousseau, APHP Paris, France ; (14) Fédération de Génétique, Hôpital Sud, CHU Rennes, France ; (15) Service de Génétique Médicale, Hôpital Pellegrin-Enfants, CHU Bordeaux, France ; (16) Service de Génétique Médicale, CHU Poitiers, France ; (17) Génétique Clinique, Département de Pédiatrie, CHU Amiens, France ; (18) Centre de génétique chromosomique, GH-ICL, Hôpital Saint Vincent de Paul, Lille ;

(19) *Génétique Clinique, Département de Génétique et de Procréation, CHU Grenoble, France*; (20) *Fédération de Génétique, Hôpital de Haute-pierre CHU Strasbourg, France*; (21) *Département de génétique et Reproduction, CHU Caen, France*; (22) *Département de Génétique Médicale, Ege University, Bornova-Izmir, Turquie*; (23) *Service de Néphrologie et Immunologie Clinique, CHU Rangueil, Toulouse, France*; (24) *Centre d'Investigation Clinique et d'Epidémiologie Clinique, Faculté de Médecine, Dijon, France*; (25) *Service de Pédiatrie 1, Hôpital d'Enfants, CHU Dijon, France*; (26) *Centre de Référence Maladies Rares « Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs », Centre de Génétique, Hôpital d'Enfants, CHU Dijon, France*

Le Oro-Facio-Digital de type 1 ou syndrome de Papillon-Léage-Psaume, appartenant au groupe très hétérogène des syndromes oro-facio-digitaux, se caractérise par un mode de transmission dominant lié à l'X avec létalité chez les garçons. Les signes cliniques incluent des anomalies orales (freins linguiaux, synéchies, langue anormale, hamartomes oraux, anomalies dentaires), faciales (fentes labio-palatines médianes ou latérales) et digitales (brachydactylie, clinodactylie, syndactylie et polydactylie) des mains ou des pieds. Une polykystose rénale, des malformations cérébrales (agénésie du corps calleux, hypoplasie du vermis cérébelleux, hamartome hypothalamique) et un retard mental modéré peuvent être associés. Le taux de détection de mutation du gène *OFD1* par séquençage direct varie de 50 % à 67 % selon les études (Thauvin-Robinet et coll., 2006). Ce faible taux et l'absence de mutation identifiée dans des formes familiales a fait suspecter la présence de grands réarrangements du gène *OFD1*. À partir de l'étude de 33 familles européennes (42 patients), 22 mutations du gène *OFD1* ont été identifiées par séquençage direct soit un taux de détection de 67 %. Une technique de QMPSF a été élaborée afin de rechercher des grands réarrangements du gène *OFD1*. Tous les exons ont pu être modélisés à l'exception des exons 5, 8, 12, 13, 14, 16, et 22. Quatre grandes délétions ont été identifiées, augmentant le taux de détection de mutations de 67 % à 79 %. Il ne semble pas exister de signes cliniques permettant d'orienter vers la recherche de mutation ponctuelle ou de grands réarrangements à partir de cette cohorte. Aucune anomalie moléculaire n'a cependant été identifiée par ces 2 méthodes dans 7/33 cas dont 1 cas familial. Ces résultats peuvent s'expliquer par une hétérogénéité génétique, une mutation du promoteur, la technique de QMPSF qui ne permet pas l'étude de tous les exons du gène et la difficulté de différencier cliniquement les syndromes oro-facio-digitaux de type 1 et 2 dans les cas de novo. L'étude par QMPSF est actuellement complétée par une étude en PCR quantitative pour les exons non modélisés afin de pouvoir détecter l'ensemble des remaniements du gène *OFD1*. Une collaboration italienne va permettre d'augmenter l'échantillon de patients afin de déterminer la fréquence de grands réarrangements du gène *OFD1* et d'analyser plus précisément d'éventuelles différences phénotypiques en fonction de l'anomalie moléculaire.

Mots-clés : syndrome oro-facio-digital, *OFD1*, grands réarrangements.

■P182 / 86. LES NEUROPATHIES AUDITIVES D'ORIGINE GÉNÉTIQUE

S. Marlin (1, 2), L. Van Maldergem (3), N. Loundon (4), L. Jonard (2, 5), N. Leboulanger (4), P. Deltenre (6), J.L. Colette (4), D. Feldmann (2, 5), R. Couderc (2, 5), E.N. Garabedian (2, 4), F. Denoyelle (2, 4)
(1) *Service de génétique, Hôpital Trousseau, APHP*; (2) *Unité INSERM U587*; (3) *Service de génétique, CHIC Créteil*; (4) *Service d'ORL, Hôpital Trousseau, APHP*; (5) *Service de Biochimie et Biologie moléculaire, Hôpital Trousseau, APHP*; (6) *Département de Neurologie, Hôpital Brugmann, Bruxelles*

Le terme de neuropathie auditive est utilisé en cas de troubles de l'audition non intra cochléaires, qu'elle soit d'origine synaptique, nerveuse ou parenchymateuse. Selon la localisation et la cause de l'atteinte, les profils cliniques diffèrent. Son diagnostic repose sur la discordance des tests para-cliniques explorant les voies auditives périphériques et centrales (OEA, PEA...). La prévalence des neuropathies auditives est encore mal établie. Les étiologies des neuropathies auditives sont mal connues, elles peuvent être extrinsèques (en particulier pré ou néonatales) ou génétiques. Les premières neuropathies auditives génétiques décrites correspondent à des formes syndromiques de surdité associant déficit auditif et maladie neurologique diffuse. Très récemment, plusieurs gènes de neuropathies auditives isolées ont été découverts.

Mots-clés : surdité, neuropathie, neuropathie auditive.

■P183 / 90. L'HISTOIRE DE LA POPULATION TUNISIENNE À TRAVERS LA MALADIE DE CRIGLER-NAJJAR DE TYPE 1

F. Petit (1), S. Bézieau (2), M. Hébert (1), V. Gajdos (3), F. Parisot (1), C. Scoul (2), L. Capel (1), V. Stozinic (1), N. Khrouf (4), R. M'Rad (5), A. Koshy (6), A. Mollet-Boudjemline (3), J. Francoual (1), P. Labrune (3)

(1) *Service de biochimie et hormonologie, hôpital Antoine Béchère (AP-HP), 157 rue de la Porte de Trivaux, 92141, Clamart Cedex, France*; (2) *Laboratoire d'étude du polymorphisme de l'ADN EA3823, faculté de médecine, 1 rue Gaston Veil, BP 53508, 44035, Nantes Cedex, France*; (3) *Service de pédiatrie, centre de Référence des maladies héréditaires du métabolisme hépatique, hôpital Antoine Béchère (AP-HP), 157 rue de la Porte de Trivaux, 92141, Clamart Cedex, Université Paris Sud, UFR Kremlin-Bicêtre, France*; (4) *Service de néonatalogie, Centre de Maternité et de Néonatalogie de Tunis, El Jebri, Tunisie*; (5) *Service de maladies congénitales, hôpital Charles Nicolle, Tunis, Tunisie*; (6) *Division of hepatology, Lakeshore Hospital and Research Center Ltd., Maradu, Nettoor PO, Kochi 682304, India*

Introduction. La maladie de Crigler-Najjar de type 1 (MIM #218800) est une affection rare du métabolisme de la bilirubine liée à un déficit complet de l'activité de l'enzyme hépatique conjuguant la bilirubine, l'UDP-glucuronosyltransférase 1A1 ou UGT1A1. Une mutation (c.1070A>G dans l'exon 3 du gène *UGT1A1* a été retrouvée de manière récurrente dans notre laboratoire, exclusivement dans la population tunisienne. Cette observation nous avait alors amené à suggérer la présence d'un effet fondateur. En 2004, cette même mutation a été retrouvée dans deux familles de Bédouins du Koweït, remettant alors en question l'hypothèse de l'effet fondateur. **Matériels et méthodes** : Pour déterminer l'origine de cette anomalie de séquence, neuf marqueurs génétiques ont été étudiés chez 21 patients tunisiens et les deux patients koweïtiens présentant un syndrome de Crigler-Najjar de type 1. **Résultats** : Chez les patients tunisiens, l'analyse des haplotypes nous a permis de confirmer l'hypothèse de l'effet fondateur et de dater l'introduction de la mutation dans la population tunisienne à environ 32 générations. La même analyse chez les patients koweïtiens a permis de révéler que ces patients présentaient l'haplotype ancestral. **Discussion – Conclusion** : Outre l'existence d'un effet fondateur pour la maladie de Crigler-Najjar dans la population tunisienne, cette étude permet de confirmer, sur le plan moléculaire, le métissage des populations des bédouins nomades du Moyen Orient avec la population autochtone présente en Tunisie il y a environ 800 ans. La mutation c.1070A>G a été introduite en Tunisie après des mouvements de population de l'est vers l'ouest et s'est maintenue, probablement du fait de mariages dans des communautés isolées.

Mots-clés : maladie de Crigler-Najjar de type 1, effet fondateur, étude de population.

■P184 / 111. IMAGERIE ANATOMIQUE DANS L'AUTISME NON SYNDROMIQUE : ÉTUDE RÉTROSPECTIVE SUR 140 IRMS

N. Boddaert (1, 2), N. Chabane (3), I. Meresse (2), A. Philippe (4), L. Robel (5), M. Bourgeois (5), M. Mouren, M-C (3), C. Barthelemy (6), M. Rio (4), A. Munnich (4), F. Brunelle (1, 2), M. Zilbovicius (2)

(1) *Service de Radiologie pédiatrique, Hôpital Necker-Enfants Malades, AP-HP, Paris V, Paris France*; (2) *U797 Imagerie et psychiatrie, INSERM-CEA, service Hospitalier Frédéric Joliot, CEA, Orsay, France*; (3) *Service de Pédiopsychiatrie, Hôpital Robert-Debré, AP-HP, Paris, France*; (4) *Département de Génétique, Hôpital Necker-Enfants Malades et INSERM U-781, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France*; (5) *Service de Pédiopsychiatrie, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France*; (6) *Service de Pédiopsychiatrie, INSERM 619, Tours, France*

Introduction : Actuellement, il n'existe aucun consensus sur la réalisation ou non d'une IRM dans l'autisme. Afin de rechercher la fréquence des anomalies cérébrales retrouvées chez des sujets autistes non-syndromiques, nous avons réalisé une étude rétrospective en IRM anatomique. **Matériel et Méthodes** : 140 patients autistes non syndromiques (3.2. à 22.1 ans ; moyenne : 7.7 ans ; écart-type : 4 ; 112 garçons) ont été inclus. Tous les patients ont eu un diagnostic DSM IV et ADI-R. Les patients présentant des maladies infectieuses, métaboliques, génétiques ou présentant des symptômes neurologiques ont été exclus. Deux neuroradiologues ont visualisé indépendamment les IRMs (GE 1.5-T Signa, 3-D T1-FSPGR, T2, FLAIR). Seules les anomalies majeures à l'IRM ont été retenues. **Résultats** : 40 % des IRM étaient anormales (56/140) ; 47 % des IRM étaient normales (66/140) et 12 % n'étaient pas entièrement interprétables (18/140). Trois types d'anomalies ont été retrouvés : 1/ anomalies temporales : n = 33 ; 2/ anomalies de la substance blanche : n = 38 ; 3/ espaces de Virchow-Robin dilatés n = 16. Chez 34/56 patients, nous avons trouvé une association d'au moins 2 types d'anomalies. **Discussion** : Ces résultats montrent la forte fréquence des anomalies IRM dans un grand groupe de patients considérés comme « a priori » avoir un autisme non-syndromique. Ces résultats indiquent la nécessité de réaliser une IRM dans l'autisme.

Mots-clés : autisme, IRM, enfants.



■P185 / 120. LE SYNDROME CHARGE : LES DIFFICULTÉS DU CONSEIL GÉNÉTIQUE ET LA PLACE DE L'EXPLORATION DU GÈNE *CHD7* : UNE OBSERVATION TUNISIENNE

M. Chaabouni (1), T. Rebai (1) ; N.B. Abdelmoula (1)
Laboratoire d'Histologie, Faculté de Médecine de Sfax, Tunisie

Décrit pour la première fois en 1979, le syndrome CHARGE (OMIM #214800) est une entité malformative très rare signifiant colobome, malformations cardiaques, atrésie des choanes, retard de croissance et/ou de développement, hypoplasie génitale, anomalies des oreilles et/ou surdité. Des mutations responsables du syndrome CHARGE sont détectées dans le gène *CHD7* chez plus de 75 % des patients testés. Nous rapportons l'observation d'un petit garçon tunisien originaire de Sfax, issu d'un couple consanguin, et chez qui le diagnostic de syndrome CHARGE a été porté devant l'association d'une atrésie des choanes pour laquelle il a été opéré en période néonatale, d'un colobome droit et d'une paralysie du nerf facial. Il présente aussi une ectopie testiculaire bilatérale, un micropénis, des anomalies des pavillons des oreilles et un retard de croissance (poids 9 500 g et taille 81 cm à l'âge de 3 ans) avec des troubles sévères de l'alimentation. Une exploration morphologique avisée n'a pas montré d'autres anomalies telle que une malformation cardiaque ou une surdité. L'examen des parents a révélé un morphotype particulier chez le père avec notamment une malformation des pavillons des oreilles. Devant la crainte d'une autre naissance présentant le même syndrome, les parents de ce garçon, demandeurs d'un diagnostic précis et d'un conseil génétique éclairé, ont été vus dans notre consultation. Une exploration génétique avec étude cytogénétique conventionnelle et recherche de la microdélétion du chromosome 22 en 22q11 par hybridation *in situ* fluorescente a été pratiquée. Aucune anomalie n'a été alors détectée. L'analyse du gène *CHD7* par séquençage direct de tous les exons du gène est en cours à la date de la soumission de ce résumé. Nous discutons, à travers cette observation ainsi que les résultats de l'exploration moléculaire, les difficultés du conseil génétique à donner à ce couple. En effet, la plupart des individus atteints d'un syndrome CHARGE sont le résultat d'une mutation de novo du gène *CHD7* et ce dans uniquement 75 % des cas. De plus, un diagnostic anténatal n'est possible que si un des parents a cette mutation ce qui signifie une exploration des parents en second lieu.

Mots-clés : syndrome CHARGE, gène *CHD7*, conseil génétique.

■P186 / 147. DÉCOUVERTE FORTUITE D'UNE MOSAÏQUE 45,X/47,XX,+18 CHEZ UNE FILLETTE ASYMPTOMATIQUE : QUEL CONSEIL GÉNÉTIQUE ?

C. Schluth-Bolard (1, 2), D. Sanlaville (1, 2), M. Till (1), P. Edery (1, 2)
(1) Hospices Civils de Lyon, Service de Cytogénétique Constitutionnelle ;
(2) Faculté de Médecine, Université Claude Bernard, Lyon 1

Une fillette de 12 mois porteuse d'une masse rétrocervicale a été adressée en consultation de génétique dans le cadre d'une suspicion de lipomatose familiale. Les antécédents familiaux sont en effet marqués par la présence de lipomes chez sa mère, sa grand-mère et son arrière-grand-mère maternelles. La patiente est née à terme avec une artère ombilicale unique. Sa croissance staturo-pondérale et son développement psychomoteur sont normaux. Quelques particularités faciales sont relevées (hypertélorisme, pointe du nez large, philtrum court, lèvres fines, oreilles dysplasiques). La masse rétrocervicale s'est avérée être un angiome sous-cutané. Un caryotype sanguin a mis en évidence une trisomie 18 apparemment homogène alors que le caryotype sur fibroblastes cutanés a retrouvé une population monosomique X et une population trisomique 18. Une hybridation *in situ* en fluorescence sur noyaux interphasiques a permis d'évaluer la proportion des différentes populations cellulaires sur lymphocytes : 3 % de cellules 45,X, 92 % de cellules 47,XX,+18 et 5 % de cellules diploïdes normales 46,XX ; et sur fibroblastes cutanés : 85 % de cellules 45,X et 15 % de cellules 47,XX,+18 sans population normale décelée. La mosaïque 45,X/47,XX,+18 est un syndrome rare avec seulement six cas rapportés à notre connaissance. Son expression phénotypique est très variable. Le retard mental n'est pas constant. Dans tous les cas, des signes de syndrome de Turner sont retrouvés (petite taille, pterygium coli, insuffisance ovarienne) alors que des signes évocateurs de trisomie 18 sont plus rares. L'âge maternel est augmenté (35,6 ans). La population trisomique 18 tend à être majoritaire dans les lymphocytes alors que la population monosomique X est plus représentée dans les fibroblastes cutanés. Différentes hypothèses mécanistiques peuvent être envisagées : chimère, non disjonction méiotique suivie par deux événements mitotiques, simultanés ou successifs, ou deux événements post-zygotiques indépendants. Dans le cas présent, le conseil génétique est délicat. Devant la constance des signes turnériens, il convient de surveiller la croissance et la fonction ovarienne chez l'enfant.

Mots-clés : mosaïque, trisomie 18, monosomie X.

■P187 / 158. HYPERCALPROTECTINÉMIE-HYPERZINCÉMIE : DIAGNOSTIC D'UN NOUVEAU SYNDROME AUTOINFLAMMATOIRE HÉRÉDITAIRE

B. Isidor (1), N. Corradini (2), S. Poignant (3), G. Picherot (3), C. Thomas (2), A. David (1)

(1) Service de Génétique Médicale, CHU de Nantes ; (2) Service d'hématologie pédiatrique, CHU de Nantes ; (3) Service de Pédiatrie, CHU de Nantes

Introduction : La seule pathologie du métabolisme du Zinc identifiée à ce jour est l'acrodermatite entéropathique liée à des mutations du gène *SLC39A4* responsables d'un défaut d'absorption digestive du Zinc. L'hyperzincémie familiale a déjà également été décrite mais sans signes associés. L'association de l'hyperzincémie à une inflammation chronique a été rapportée sous la forme du syndrome Hypercalprotectinémie-Hyperzincémie. Ce syndrome de description récente se caractérise par l'association d'un retard de croissance, une hépatosplénomégalie, des arthralgies, et une altération de l'état général, et sur le plan biologique par une anémie et un syndrome inflammatoire biologique permanent. La plupart des cas sont sporadiques mais des formes familiales ont également été décrites. Nous rapportons ici le cas d'un enfant atteint de ce syndrome avec une présentation particulièrement sévère. **Matériel et méthodes** : Ce patient est le premier enfant d'une fratrie de trois issu de l'union d'un couple en bonne santé sans lien de parenté connu. La grossesse s'est déroulée sans problème. L'examen réalisé à la naissance a retrouvé des hémorragies sous unguéales au niveau des doigts qui ont disparu spontanément. À l'âge de 3 mois, il est hospitalisé pour un épisode de fièvre sans foyer infectieux identifié. Le bilan retrouve alors un syndrome inflammatoire biologique majeur associé à une anémie sévère et une neutropénie périphérique. L'évolution sera marquée par un retard de croissance, une altération de l'état général, une amyotrophie progressive et sur le plan biologique par une persistance du syndrome inflammatoire biologique (CRP > 100 mg/l) et de l'anémie. Les examens réalisés ont permis d'éliminer une cause infectieuse, néoplasique, autoimmune ainsi que les autres syndromes inflammatoires héréditaires connus (étude moléculaire du gène *CIAS1* négative pour le syndrome CINCA). À l'âge de 4 ans, un dosage dans le plasma du Zinc et de la calprotectine par ELISA a montré des taux à respectivement 9872 µg/l (N<1300 µg/l) et 2 300 000 ng/ml (N<420ng/ml) permettant de confirmer le diagnostic. **Discussion** : La calprotectine (complexe S100A8/S100A9) est une protéine liant le calcium appartenant à la classes des alpha 2 globulines. Elle représente environ 60 % du pool total de protéines présentes dans le cytoplasme des polynucléaires neutrophiles. Cette protéine a un rôle dans l'inflammation, antibactérien, probablement par le biais de l'adhésion leucocytaire, ainsi que dans l'apoptose par l'intermédiaire du Zinc. À ce jour, seulement 9 cas de patients atteints de syndrome d'Hypercalprotectinémie-Hyperzincémie ont été rapportés. Tous présentaient des symptômes semblables à ceux observés dans cette observation associés à des taux très élevés de Zinc et calprotectine. Ce syndrome rare constitue néanmoins un nouveau diagnostic différentiel des syndromes autoinflammatoires héréditaires. Son diagnostic relève d'une particulière importance puisqu'un traitement immunosuppresseur a montré son efficacité. La physiopathologie reste encore mal comprise, l'hypothèse actuelle est un défaut de catabolisme de la calprotectine, responsable de l'accumulation du Zinc. Parmi les cas rapportés au moins deux se présentent sous la forme de cas familiaux avec une transmission d'allure autosomique dominante. La normalité du bilan du Zinc chez les parents dans cette famille pourrait alors faire évoquer une néomutation affectant ce patient. **Conclusion** : Le diagnostic de ce premier patient Français met en évidence l'intérêt du dosage du Zinc et de la calprotectine en cas de syndrome inflammatoire chronique associé à des anomalies hématologiques. L'identification de nouveaux patients permettra une meilleure connaissance du rôle respectif du Zinc et de la calprotectine dans le déclenchement de cette pathologie et peut-être d'identifier les bases moléculaires de ce nouveau syndrome.

Mots-clés : zinc, calprotectine, inflammation.

■P188 / 160. DÉPISTAGE DE LA MALADIE DE FABRY DANS UNE COHORTE DE PATIENTS PRÉSENTANT UNE CARDIOMYOPATHIE HYPERTROPHIQUE

A.I. Martin-Mista (1), A.A. Hagège (2), T. Damy (3), C. Etchecopar (4), P. Charron (5), A. Millaire (6), O. Dubourg (7), K. Benistan (1), Y. Herrera-Guzman (1), L. Gouya (8), C. Boileau (8), A. Bouzamondo (9), E. Caudron (10), P. Prognon (10), D.P. Germain (1, 8, 11)

(1) Centre de référence de la maladie de Fabry et des maladies héréditaires du tissu conjonctif. Unité de génétique médicale. Hôpital Raymond Poincaré, Garches ; (2) Service de cardiologie, HEGP, Paris (3) Service de cardiologie, CHU Créteil ; (4) Service de cardiologie, CHU Limoges ;

(5) Service de cardiologie, Hôpital Pitié-Salpêtrière (6) Service de cardiologie, CHU Lille ; (7) Service de cardiologie, Hôpital Ambroise Paré ; (8) Laboratoire de biochimie et biologie moléculaire, Hôpital Ambroise Paré, Boulogne ; (9) Société Française de Cardiologie (10) Laboratoire de chimie analytique, Faculté de Pharmacie, Châtenay-Malabry ; (11) Université Versailles St Quentin en Yvelines

La maladie de Fabry (MF, OMIM #301500) est une maladie de surcharge lysosomale, de transmission génétique liée au chromosome X, due à un déficit enzymatique en alpha-galactosidase A. À l'âge adulte, le tableau clinique comporte une insuffisance rénale, une cardiomyopathie hypertrophique avec troubles du rythme et de la conduction cardiaque et des accidents vasculaires cérébraux. Plusieurs études, visant à dépister la maladie dans différentes populations de patients hémodialysés, porteurs d'une cardiomyopathie hypertrophique ou présentant un accident vasculaire cérébral cryptogénique ont été publiées ces dernières années. Ces études, pour la plupart monocentriques et basées sur un dosage leucocytaire de l'activité alpha-galactosidase A, ont donné des résultats variables en terme de prévalence de la MF dans ces cohortes de patients. Objectif : étudier l'incidence de la maladie de Fabry chez des patients adultes consultant pour une cardiomyopathie hypertrophique. Objectifs secondaires : confirmer la validité d'un test de dépistage miniaturisé par dosage de l'alpha-galactosidase A à partir du recueil de quelques gouttes de sang sur un papier buvard. Patients et méthodes : Une étude prospective, multicentrique, avec bénéfice individuel direct, a débuté dans 25 centres universitaires sous la promotion de la Société Française de Cardiologie (Etude Focus). Un prélèvement de quelques gouttes de sang est effectué sur papier buvard chez tout patient porteur d'une cardiomyopathie pour dosage de l'activité alpha-galactosidase A sur sang séché. En cas de positivité du test de dépistage, un dosage de l'activité alpha-galactosidase leucocytaire et/ou un génotypage du gène GLA sont effectués pour confirmation. L'inclusion de 400 patients est prévue en 24 mois d'étude. Résultats : Une étude pilote de notre laboratoire portant sur 51 sujets (27 patients atteints de maladie de Fabry et 24 contrôles) a montré une sensibilité et une spécificité de 100 % du test sur buvard chez l'homme hémizygote (n = 15) et une sensibilité de 75 % chez la femme hétérozygote (9/12). Les conditions expérimentales ont été encore améliorées et une innovation technique mise au point afin de limiter le risque d'interférences liées à la matrice biologique (quenching de la fluorescence). Une analyse intermédiaire réalisée après 9 mois de l'étude Focus a montré que 6 des 180 buvards reçus et analysés avaient une activité alpha-galactosidase inférieure à 40 % des valeurs normales, dont 3 avec des valeurs d'activité enzymatique résiduelle élevées, proches du seuil de 40 %. Le diagnostic de maladie de Fabry fut confirmé pour les 3 échantillons ayant des valeurs enzymatiques nettement abaissées lors du dépistage sur buvard soit, à ce stade des inclusions, une prévalence de la MF de 1,66 % dans cette cohorte de patients. Si l'on abaisse le seuil de détection à 20 % des valeurs normales, la sensibilité du test est de 100 % sur la série effectuée. Discussion : Cette étude multicentrique permettra d'évaluer l'incidence de la maladie de Fabry dans une population d'hommes et de femmes âgés de plus de 18 ans porteurs d'une cardiomyopathie. Les inclusions se poursuivent avec un objectif de 400 patients. Dépister la maladie de Fabry chez ces patients permettra de leur proposer de bénéficier d'un traitement spécifique de leur cardiopathie par enzymothérapie substitutive, diminuant par ailleurs leur risque de développer les complications cérébrovasculaires ou néphrologiques de la maladie.

Mots-clés : dépistage, maladie de Fabry, thérapie enzymatique substitutive.

■P189 / 189. HÉTÉROGÉNÉITÉ ALLÉLIQUE DE LA GLYCOGENOSE DE TYPE III : ÉTUDE DE 21 PATIENTS FRANÇAIS

M. Hébert (1), F. Petit (1), A. Nadaj (3), L. Capel (1), F. Parisot (1), A. Mollet-Boudjemline (2), P. Laforêt (3), P. Labrune (2)

(1) Service de biochimie et hormonologie, hôpital Antoine Béchère (AP-HP), 157 rue de la Porte de Trivaux, 92141, Clamart Cedex, France ; (2) Service de pédiatrie, centre de Référence des maladies héréditaires du métabolisme hépatique, hôpital Antoine Béchère (AP-HP), 157 rue de la Porte de Trivaux, 92141, Clamart Cedex, Université Paris Sud, UFR Kremlin Bicêtre, France ; (3) Institut de Myologie, Centre de Référence, Hôpital de la Pitié-Salpêtrière (AP-HP), 47 boulevard de l'Hôpital, 75651, Paris cedex 13, Université Paris VI France

Introduction : La glycogénose de type III (GSDIII, MIM #23240) est la conséquence d'une dysfonction de l'enzyme débranchante (ou amylo-1,6-glucosidase, AGL) qui catalyse les dernières étapes de la dégradation du glycogène. Le déficit de cette enzyme entraîne l'accumulation de glycogène de structure anormale dans le foie et/ou le muscle. À ce jour, soixante-treize altérations génétiques du gène AGL ont été associées à une glycogénose de type III. Matériels et méthodes : La présente étude rapporte la caractérisation

moléculaire de 21 patients français atteints de GSDIII. Nous avons analysé les 33 exons codants du gène par SSCP (single strand conformation polymorphism) et réalisé un séquençage lorsqu'un profil électrophorétique anormal était observé. Nous nous sommes également intéressés aux conséquences de l'association d'anomalies de séquence morbides avec le polymorphisme c.3199C>T. Résultats : 42 allèles pathologiques incluant 11 nouvelles altérations de séquence ont été identifiés dans notre population : 4 substitutions, 3 insertions, 3 délétions et 1 insertion/délétion. La majorité de ces altérations entraîne la synthèse d'une protéine tronquée. Une mutation entraîne le remplacement d'un acide-aminé sans troncation de la protéine. Enfin deux mutations introniques sont responsables d'une modification de l'épissage. Le polymorphisme c.3199C>T a été observé chez trois patients présentant une atteinte fonctionnelle sévère (deux à l'état homozygote et un à l'état hétérozygote). Discussion – Conclusion : Cette étude confirme l'hétérogénéité allélique qui caractérise le spectre de mutations de l'enzyme débranchante, avec notamment 11 nouvelles mutations. Comme dans les études précédentes, nous avons retrouvé certaines mutations de manière prédominante dans un groupe ethnique particulier, probablement du fait d'effets fondateurs. En outre, la variabilité de l'intensité des symptômes pour une même mutation suggère l'importance du fond génétique de chaque individu sur le lien génotype-phénotype de la maladie. Cette constatation se trouve illustrée ici dans l'implication probable du polymorphisme c.3199C>T dans l'expression phénotypique.

Mots-clés : glycogénose de type III, gène AGL, nouvelles mutations.

■P190 / 193. SYNDROME DE TORTUOSITÉ ARTERIELLE (STA) ET MUTATION DU GÈNE *SLC2A10* (*GLUT10*)

C. Leblicq (1), A. Willaert (2), Ch. Lermieux (3), Fl. Otte (4), P. Coucke (2) and Y. Sznajder (1, 5)

(1) Unité de Génétique Clinique, Hôpital Universitaire des Enfants Reine Fabiola, ULB, Bruxelles, Belgique ; (2) Center for Human Genetics, Université de Gand, B9000 Gand Belgique ; (3) Service de Chirurgie digestive, Hôpital Universitaire des Enfants Reine Fabiola, ULB, Bruxelles, Belgique ; (4) Service des soins intensifs, Hôpital Universitaire des Enfants Reine Fabiola, ULB, Bruxelles, Belgique ; (5) Centre de Génétique, ULB, Bruxelles, Belgique

Introduction : Le syndrome de Tortuosité artérielle est une maladie mendélienne autosomique récessive touchant des patients porteurs de deux mutations « perte de fonction » au sein du gène *SLC2A10* (*GLUT10*) situé en 20q13 – OMIM 208 050). (1, 2) Le phénotype se caractérise par des élongations, des sténoses et/ou des anévrismes des artères de larges et moyens calibres en association avec une peau trop extensible ou trop élastique, la survenue de hernies du tractus digestif et une atteinte analogue articulaire. Un décès prématuré par rupture vasculaire ponctue le décours de cette affection. Description clinique : Nous rapportons l'histoire naturelle d'une fille de 4 ans ; première enfant de parents marocains consanguins. Après une grossesse et un accouchement sans anomalie, une hypotonie axiale était notée à 2 mois de vie. Suite à une détresse respiratoire, une hernie hiatale, requérant une chirurgie, a été diagnostiquée. Un dysmorphisme caractérisé par un aspect « en bajoue », des veines proéminentes et une hyperélasticité tant cutanée que ligamentaire ont orienté le diagnostic vers les affections du tissu de soutien. Les mises au point cardiaque, rénale, ophtalmologique étaient normales. Une biopsie de peau en microscopie optique et électronique a révélé une nette diminution des fibres élastiques compatible avec le diagnostic phénotypique de « cutis laxa ». À l'âge de deux ans, elle a été opérée d'une hernie inguinale bilatérale. À 3 ans, elle a présenté une infection respiratoire sévère qui n'a pu être traitée que par une technique d'assistance extra-corporelle. Au cours de cette manœuvre, les vaisseaux carotidiens sont apparus anormalement tortueux. Le diagnostic de syndrome de Tortuosité artérielle était évoqué. Un séquençage complet du gène *SLC2A10* (codant pour un transporteur du glucose nommé GLUT10) a permis d'identifier une mutation non sens à l'état homozygote (p. W170X ; c.- 510A-G). Cette mutation provoque la survenue d'un codon « stop » prématurément et a été rapportée dans les deux familles consanguines princeps ayant un STA2. Le séquençage du gène montre que cette substitution est absente au départ de 200 chromosomes contrôle. Le diagnostic génotypique permet de fournir un conseil génétique précis, de garantir un suivi vasculaire rapproché car une morbidité et un risque de décès par accident vasculaire est associé au STA.

Références

1. Coucke P. *et al.* Homozygosity mapping of a gene for arterial tortuosity syndrome to chromosome 20q13. *J Med Genet* 2003 ; 40 : 747-751.
2. Coucke P. *et al.* Mutations in the facilitative glucose transporter (*GLUT10*) alter angiogenesis and cause arterial tortuosity syndrome. *Nat genet* 2006 ; 38 (4) : 452-457.

Mots-clés : syndrome de tortuosité artérielle, *SLC2A10*, transporteur du glucose.



■P191 / 194. DYSPLASIE ÉPIPHYSAIRE MULTIPLE SYNDROMIQUE : UN PATIENT PORTEUR D'UNE ANEUPLOÏDIE 49,XXXXY

Y. Sznajer (1, 2), C. Leblcq (1), F. Zierysen (3), T. Sekhara (4), and M. Urbina (5)

(1) Unité de Génétique Clinique, Hôpital Universitaire des Enfants Reine Fabiola, ULB, Bruxelles, Belgique ; (2) Centre de Génétique, ULB, Bruxelles, Belgique ; (3) Service de Radiologie, Hôpital Universitaire des Enfants Reine Fabiola, ULB ; (4) Service de Neurologie Pédiatrique, Hôpital Universitaire des Enfants Reine Fabiola ; (5) Laboratoire de Cytogénétique Centre de Génétique, ULB

Introduction : Nous rapportons l'histoire d'un garçon de 10 ans référé en consultation de génétique pour retard mental modéré, hypogonadisme, retard de croissance et malformations osseuses. Ce garçon est le premier enfant de parents non consanguins en bonne santé. Après une grossesse normale, l'accouchement eut lieu à terme et le poids de naissance était de 2700 grammes (Percentile 10-25), le périmètre crânien n'est pas rapporté. Un retard psychomoteur était manifeste dès les premières semaines de vie du fait de l'absence d'interaction et de sourire spontané. La position assise était acquise à l'âge de 10 mois, la marche à 14 mois. Son langage était limité à quelques mots, son caractère marqué par une agressivité spontanée. À 10 ans, il est au Percentile 10 pour le poids et la taille mais présente une microcéphalie (PC : - 5 Déviations Standard). Sa posturalité est caractérisée par une scoliose thoraco lombaire, un déplacement externe des articulations radio-cubitales entravant la prono supination. Le bilan squelettique identifie une synostose radio cubitale et une dysplasie épiphysaire multiple. L'analyse en cytogénétique conventionnelle met en évidence dans toutes les mitoses une formule chromosomique 49,XXXXY (lymphocytes - 35 mitoses analysées, niveau résolution : 550). Les patients porteurs de cette aneuploïdie sont décrits depuis 1960. L'incidence est estimée à 1/85 000 naissances de garçons (1) Le phénotype associe une triade non spécifique : retard mental, synostose radio-cubitale et hypogonadisme. Les descriptions phénotypique et radiologique de même que la revue de la littérature sont détaillées.

Référence

1. Fraccaro M. *et al.* A child with 49 chromosomes. *Lancet* 1960 : 899-920.

Mots-clés : aneuploïdie, 49,XXXXY, dysplasie squelettique.

■P192 / 210. DESCRIPTION CLINIQUE, CYTOGÉNÉTIQUE ET MOLÉCULAIRE DE PATIENTS ATTEINTS DE SYNDROMES MICRODÉLÉTIONNELS ET MICRODUPLICATIONNELS RARES

A. Goldenberg (1), V. Drouin-Garraud (1), A-M Bodiou (1), N. Drouot (1), O. Boespflug-Tanguy (2), M. Chevrier (1), C. Francannet (2), H. Moiriot (3), G. Joly-Hélas (3), P. Chambon (3), N. Le Meur (4), A. Rossi (4), T. Frebourg (1, 5), P. Saugier-Verber (1, 5)

(1) Service de Génétique, CHU de Rouen ; (2) Service de Génétique, CHU de Clermont-Ferrand ; (3) Laboratoire de Cytogénétique, CHU de Rouen ; (4) Laboratoire de Cytogénétique, Établissement Français du Sang, Bois-Guillaume ; (5) Inserm U614, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Institut Hospitalo-Universitaire de Recherche Biomédicale de Rouen

L'utilisation de la CGH-array pour le criblage tout génome a permis la description de nouveaux syndromes microdélétionnels et microduplicationnels dont certains sont récurrents et résultent de recombinaisons homologues non alléliques entre séquences répétées (LCR). Dans le cadre d'une démarche étiologique chez les patients atteints de retard mental (RM) idiopathique et de manière à faciliter la détection de ces microdélétions et microduplications, nous avons utilisé une QMPSF (Quantitative Multiplex PCR of Short fluorescent Fragments) explorant simultanément 14 locus candidats impliqués dans le retard mental et connus pour être les cibles de réarrangements génomiques. Depuis septembre 2006, nous avons étudié de façon prospective 284 patients atteints de RM, adressés en consultation de génétique et avons détecté 11 remaniements chromosomiques (4 %) : une délétion 3q29, une délétion 4p16 (forme atypique de syndrome de Wolf-Hirschhorn), une triplification 12q24, une délétion 17p11.2 (syndrome de Smith-Magenis), trois duplications 17p11.2 (syndrome de Potocki-Lupski), une délétion 17q21, deux délétions isolées du gène *PRODH* en 22q11 et une délétion 22qter. Nous détaillons la présentation clinique, cytogénétique et moléculaire de 4 remaniements chromosomiques : la délétion 3q29, la triplification 12q24, la duplication 17p11.2 et la délétion 17q21. Nous insistons sur le phénotype relativement homogène et sur certains signes dysmorphiques récurrents chez les patients présentant des délétions 3q29 et 17q21, et sur le caractère très malformatif de la triplification 12q24. En revanche, le caractère non spécifique du tableau clinique de la duplication 17p11.2 souligne l'importance d'une méthode de criblage haut débit

pour la détection de ce remaniement chez ces patients atteints de RM idiopathique. Nous présentons la cartographie de ces remaniements. Enfin, ce travail illustre l'intérêt de la QMPSF dont la flexibilité permet l'addition d'amplicons pour l'exploration de nouvelles régions chromosomiques issues des données publiées, permettant ainsi l'adaptation régulière de l'outil diagnostique.

Mots-clés : retard mental, QMPSF, microdélétions-microduplications.

■P193 / 232. MICROTIE AVEC ATRÉSIE DU CONDUIT AUDITIF EXTERNE : À PROPOS D'UNE OBSERVATION FAMILIALE

S. Chafai Elalaoui, N. Aboussair, I. Cherkaoui Jaoud, A. Sefiani
Département de Génétique Médicale, Institut National d'Hygiène, Rabat, Maroc

La microtie, associée ou non à une atrésie du conduit auditif externe (CAE), est une malformation relativement fréquente. Cette anomalie est expliquée par l'origine embryologique commune de l'oreille externe et moyenne, qui dérivent toutes les deux des premiers et deuxième arcs branchiaux. La microtie est souvent associée à des anomalies crâniennes et rénales entrant dans le cadre de syndromes plus complexes. Les microties isolées sont très souvent sporadiques, les formes familiales sont rares avec plusieurs modes de transmission rapportés (autosomique dominant, autosomique récessif). Nous rapportons l'observation d'une microtie familiale, chez un garçon (issu d'un mariage non consanguin), son père et sa tante paternelle. Le garçon a une microtie bilatérale avec atrésie du CAE, alors que son père et sa tante paternelle ont une microtie unilatérale. Les grands parents paternels, non consanguins, ne présentent pas d'anomalies apparentes de l'oreille. Cette observation suggère une transmission autosomique dominante avec expression variable. La non atteinte des grands parents pourrait être expliquée par une pénétrance incomplète ou un mosaïcisme gonadique. Ce mode de transmission a été suggéré par Guizar-Vaquez *et al.* en 1978, Zankl et Zang en 1979, et par Ortavik *et al.* en 1990. L'ensemble du bilan complémentaire a permis d'exclure une microtie syndromique. Le bilan audiométrique chez le garçon a montré une surdité de perception plus sévère à droite. L'intérêt de cette observation est d'attirer l'attention sur le mode de transmission autosomique dominant avec expression variable et la possibilité d'une pénétrance incomplète et de mosaïcisme gonadique qui compliquerait le conseil génétique dans les formes sporadiques des microties associées ou non à une atrésie du conduit auditif externe.

Mots-clés : microtie, autosomique dominant, expression variable.

■P194 / 240. HARTSFIELD HOLOPROSENCEPHALY-ECTRODACTYLY SYNDROME IN FIVE MALE PATIENTS : FURTHER DELINEATION AND REVIEW

C. Vilain (1), G. Mortier (2), G. Van Vliet (3), C. Heinrichs (4), D. da Silva (5), A. Verloes (6), C. Baumann (6)

(1) Service de Génétique Médicale, ULB, Hôpital Erasme, Brussels, Belgium ; (2) Department of Medical Genetics, Ghent University Hospital, Ghent, Belgium ; (3) Service d'Endocrinologie Hôpital Sainte-Justine Université de Montréal, Montréal, Québec, Canada ; (4) Service de Pédiatrie, ULB, Hôpital des Enfants Reine Fabiola, Brussels, Belgium ; (5) Department of Physiology, Faculty of Medicine, University of Kelaniya, Ragama, Sri Lanka ; (6) Unité de Génétique Clinique, Hôpital Robert-Debré, Paris, France

We report on five male subjects with a triad of signs compatible with Hartsfield syndrome, the hallmarks of which are ectrodactyly, holoprosencephaly, and mental retardation. Only 6 patients with this distinctive association have been reported over the past 20 years, all of them being males. Of the patients described here, some have unreported findings such as vermian hypoplasia in one, or prolonged survival into adulthood in two. Two patients developed central diabetes insipidus. All were mentally retarded. No anomaly was found at the cytogenetic level, including 1 Mb BAC array CGH in one. No anomaly was found in several genes known to be responsible for holoprosencephaly or ectrodactyly. The cause of Hartsfield syndrome is unknown. X-linked inheritance is possible although no intrafamilial recurrence has been described to date. Observations reported here almost double the number of cases. They underscore the usefulness of fetal brain imaging in the differential diagnosis of syndromal clefting diagnosed in utero, particularly when EEC is suspected.

Mots-clés : hartsfield, holoprosencéphalie, ectrodactylie.

■P195 / 260. COMMENT INTERROGER GENATLAS SUR LES ANOMALIES CHROMOSOMIQUES ?

C. Turleau (1), M.L. Chauvet (1), K. Tanin (1), S. Dumesnil (1), N. Poizot (1), J. Frézal (1), C. Mugnier (2), M. Le Merrer (1)

(1) INSERM U781, CHU Necker-Enfants Malades, Paris ; (2) DSI Université Paris Descartes

GENATLAS (<http://genatlas.org>) est une base de données généraliste dont l'originalité est d'intégrer les données cliniques et biologiques concernant les maladies génétiques. GENATLAS repose sur une architecture informatique conçue à partir du système Oracle et du langage PHP. Elle permet une mise à jour en temps réel et une interrogation facile de trois bases intriquées : gènes (> 20 000 entrées), phénotypes (>3 500 entrées) et références (~ 60 000 références). Au cours des deux dernières années à côté des maladies chromosomiques classiques, les nouveaux syndromes liés aux microdélétions / microduplications récurrentes (désordres génomiques), aux anomalies télomériques, et aux déséquilibres cryptiques identifiés par CGH-array ont été largement introduits. Selon le principe de Genatlas, les sommaires des journaux pertinents sont régulièrement suivis et les articles significatifs introduits dans la base dès leur parution. Chaque maladie est désignée par un symbole composé d'une abréviation simple correspondant au type de déséquilibre (DEL : délétion, DUP : trisomie partielle, TRI : trisomie complète, UPD : disomie uniparentale, etc.), du numéro du chromosome concerné, du symbole p ou q, et d'un complément sur la localisation. Par exemple DEL9Q34 désigne la délétion subtélomérique du bras long du 9. L'entrée des 2 premiers items (déséquilibre + chr) dans la case « symbol » permet d'accéder à la liste des phénotypes pertinents répertoriés dans Genatlas, puis à la fiche « phénotype » correspondant à chacun. À partir de cette fiche un lien permet d'accéder aux articles et à leur résumé dans PubMed. L'accès rapide à la bibliographie correspondant à chaque déséquilibre répertorié est un atout important par rapport à la recherche classique sur PubMed. D'autres modes d'interrogation sont également possibles. Genatlas est un moyen simple et rapide d'accéder aux informations essentielles en matière de génétique, et maintenant de cytogénétique. Notre prochain objectif est de permettre une interrogation croisée entre Genatlas, Orphanet et Cemara.

Mots-clés : anomalies chromosomiques, banques de données, phénotypes.

■P196 / 261. LE SYNDROME DE WILLIAMS-BEUREN CHEZ L'ADULTE : ÉTUDE DES TROUBLES DE L'HUMEUR ET DES TROUBLES ANXIEUX CHEZ 20 PATIENTS

A. Capel (1, 2), A. Lacroix (3), D. Cohen (4), D. Bonneau (2, 5), A. David (2, 6), A. Goldenberg (7), H. Journel (2, 8), D. Martin (2, 9), M. Mathieu (10), F. Amram (10), S. Odent (2, 11), P. Parent (2, 12), B. Gilbert-Dussardier (1, 2)

(1) Génétique Médicale, CHU Poitiers ; (2) Centre de Référence des Anomalies du Développement de l'Ouest ; (3) UMR CNRS 6215, Faculté de Psychologie, Poitiers ; (4) Service Pédiopsychiatrie, CHU La Pitié-Salpêtrière, Paris ; (5) Génétique Médicale, Angers ; (6) Génétique Médicale, CHU Nantes ; (7) Génétique Médicale, CHU Rouen ; (8) Génétique Médicale, CH Vannes ; (9) Génétique Médicale, CH Le Mans ; (10) Génétique Médicale, CHU Amiens ; (11) Génétique Médicale, CHU Rennes ; (12) Service de Génétique Médicale, CHU Brest

Introduction : Le Syndrome de Williams-Beuren (SWB) est une anomalie génétique du développement due à une microdélétion chromosomique 7q11.23 responsable principalement d'une cardiopathie et d'un retard mental. Les études en psychologie portant sur ce syndrome se sont surtout intéressées au langage des personnes souffrant de ce syndrome, qui est très souvent remarquable au regard de leur retard mental, et à leur hypersociabilité. Ces personnes sont décrites comme avenantes, charmantes, joyeuses. Cependant cette perception est superficielle. Les parents rapportent, eux, divers troubles du comportement chez leur enfant, en particulier une anxiété marquée. Ces observations ont depuis été vérifiées par le biais de plusieurs études. Aujourd'hui, les parents de patients SWB font part d'oscillations de l'humeur et parfois de dépression chez leur enfant ayant atteint l'âge adulte. Très peu d'études se sont intéressées aux troubles de l'humeur chez les adultes SWB. Nous avons, à la demande d'une association de parents, réalisé une étude examinant spécifiquement ces troubles. **Matériel et méthodes.** Cette étude a concerné 20 adultes, âgés de 19 à 39 ans (M : 25,6 ans), sex ratio de 1 : 1, souffrant du SWB confirmé par la présence d'une microdélétion 7q11.23 mise en évidence par FISH (Fluorescent *In Situ* Hybridization). Nous les avons rencontrés dans le cadre d'un entretien psychologique. Cet entretien s'est déroulé en deux temps. Nous avons d'abord fait passer aux patients le MINI, un outil de diagnostic clinique qui examine les principaux troubles psychiatriques de l'axe I du DSM-IV, en particulier des troubles anxieux et les troubles de l'humeur. Lorsqu'un épisode dépressif majeur actuel était diagnostiqué chez un patient, la gravité de celui-ci a été évaluée à l'aide de la MADRS, une échelle de gravité de la dépression. Puis dans un second temps nous avons évalué le degré d'adaptation sociale des patients à l'aide de la SAS, Social Adjustment Scale (Weissman, 1974). Enfin, nous avons demandé aux

parents des patients de remplir un questionnaire explorant l'autonomie de leur enfant. **Résultats :** Nous avons diagnostiqué 40 % d'adultes SWB présentant ou ayant présenté par le passé un épisode dépressif majeur et 65 % d'adultes SWB concernés par des troubles anxieux le jour de l'entretien, en particulier par l'anxiété généralisée (45 %). Nous n'avons pas observé de corrélation significative entre la sévérité des épisodes dépressifs et l'adaptation sociale, ni entre la sévérité des épisodes dépressifs et le niveau d'autonomie. Ainsi, certains patients ont un bon niveau d'adaptation sociale et/ou d'autonomie alors qu'ils sont très déprimés et d'autres présentent un mauvais niveau d'adaptation sociale et/ou d'autonomie alors qu'ils sont peu déprimés. **Discussion :** Le chiffre de 40 % de patients ayant présenté un épisode dépressif majeur est très supérieur au chiffre de 11 % rapporté dans la population générale, même si l'on ne peut conclure sur le caractère significatif de ce résultat en raison de la faiblesse de notre échantillon. Cependant, malgré l'absence de population témoin, ces premiers résultats confortent l'impression des parents. Il n'est pas possible à partir de cette étude de dire que ces troubles sont spécifiques du SWB. Pour cela, il faudra la prolonger en comparant ces résultats à ceux d'une autre population d'adultes atteints de retard mental, trisomie 21 par exemple. Ils incitent néanmoins à souligner l'importance d'investiguer davantage les troubles de l'humeur chez les adultes atteints du SWB, pour une meilleure prise en charge et une meilleure prévention par, entre autres, la prise en charge des troubles anxieux de l'enfant atteint de SWB. Travail soutenu par l'association « Autour du Williams »

Mots-clés : Williams-Beuren, troubles de l'humeur, troubles anxieux.

■P197 / 264. LE SYNDROME DE PERRAULT : 4 NOUVEAUX CAS, REVUE DE LA LITTÉRATURE, EXCLUSION DE GÈNES CANDIDATS

S. Marlin (1, 2), D. Lacombe (3), L. Jonard (2, 4), N. Leboulanger (5), D. Bonneau (6), C. Goizet (3), T. Billelte de Villemeur (7), S. Cabrol (8), M. Houang (8), L. Moatti (5), D. Feldmann (2, 4), F. Denoyelle (2, 5)

(1) Service de Génétique, Hôpital Trousseau, APHP, Paris ; (2) Unité INSERM U587 ; (3) Service de Génétique, Hôpital Pellegrin, Bordeaux ; (4) Service de Biochimie et Biologie Moléculaire, Hôpital Trousseau, APHP, Paris ; (5) Service d'ORL, Hôpital Trousseau, APH

Nous présentons deux cas sporadiques et deux cas familiaux de syndrome de Perrault : surdité neurosensorielle associée à une dysgénésie ovarienne. Chez une de ces patientes des signes neurologiques, en particulier une ataxie, sont également retrouvés. Grâce à une revue de la littérature des cas publiés de syndrome de Perrault, nous tentons d'évaluer la fréquence des signes neurologiques dans le syndrome de Perrault. Enfin, des études moléculaires nous permettent d'exclure l'implication de plusieurs gènes impliqués dans des surdités, des dysgénésies ovariennes ou des ataxies.

Mots-clés : Perrault, surdité, dysgénésie ovarienne.

■P198 / 274. UN NOUVEAU SYNDROME CARACTÉRISÉ PAR UN RETARD STATURAL AVEC RETARD MAJEUR D'OSSIFICATION, UN RETARD PSYCHOMOTEUR, UNE DYSMORPHIE FACIALE, ET UN DÉFICIT IMMUNITAIRE CHEZ 3 GARÇONS

C. Jung (1), A. Deville (2), N. Boddaert (3), A. Munnich (1), M. Le Merrer (1), V. Cormier-Daire (1)

(1) Département de Génétique et INSERM U781, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris ; (2) Service de Pédiatrie, Fondation Lenval, Nice ; (3) Service de Radiologie Pédiatrique, Hôpital Necker, Paris

Nous rapportons chez deux frères et un troisième garçon non apparenté un nouveau syndrome caractérisé par un retard psychomoteur, une microcéphalie, une dysmorphie faciale (implantation basse des cheveux, philtrum long et effacé, nez court aux narines antérieures, ptosis) un retard de croissance ante et post natal à -5DS avec micromélie, brièveté des extrémités et très gros retard d'ossification épiphysaire. Ces trois enfants ont un colobome rétinien et un déficit immunitaire humoral en sous-classes d'immunoglobuline G nécessitant un traitement substitutif par immunoglobulines polyvalentes humaines. Leur histoire néonatale a été marquée par un lymphodème des extrémités et une cholestase transitoire. L'un d'entre eux a une colite inflammatoire non classée, qui s'associe à des poussées d'arthrite inflammatoire et d'érythème noueux. Deux ont une aphtose récidivante et le troisième enfant est décédé d'un néphroblastome à l'âge de 9 ans. La récurrence dans une fratrie est en faveur d'un mode d'hérédité autosomique récessif mais un mode d'hérédité récessif lié à l'X peut aussi être discuté devant l'atteinte exclusive de garçons. L'ensemble des explorations réalisées à ce jour (bilan métabolique extensif, bilan endocrinien et d'auto-immunité, caryotype haute résolution, étude en CGH array chez un patient) s'est avéré normal. Cette association est distincte des chondrodysplasies avec retard majeur d'âge osseux telle que l'opsismodysplasie ou des



dysplasies immuno-osseuses type Schimke en raison de son caractère syndromique et de son évolutivité. Elle ne rentre dans aucun cadre nosologique connu. Nous proposons que cette association unique observée chez trois garçons corresponde à un nouveau syndrome.

Mots-clés : retard psychomoteur, retard statural, déficit immunitaire.

■P199 / 286. CARACTERISATION MOLÉCULAIRE D'UNE DÉLÉTION INTERSTITIELLE 2Q36.3 CHEZ UNE JEUNE FILLE PRÉSENTANT UN SYNDROME POLYMALFORMATIF AVEC DE GROS REINS KYSTIQUES

M. Doco-Fenzy (1), E. Landais (1), J. Andrieux (2), B. Delemer (3), V. Sulmont (4), J.P. Melin (5), D. Ploton (6), J. Motte (4) et D. Gaillard (1) (1) Service de génétique, CHRU, IFR53, UFR de médecine, Reims ; (2) Laboratoires de Génétique Médicale, Hôpital Jeanne de Flandre, CHRU de Lille ; (3) Service d'endocrinologie, CHRU de Reims ; (4) Service de pédiatrie A, AMH, CHRU, UFR de médecine, Reims ; (5) Service de néphrologie, CHRU, Reims ; (6) Laboratoire de Biologie cellulaire, CHRU, IFR53, UFR de médecine, Reims

Introduction : Les délétions distales du bras q du chromosome 2 sont fréquemment rapportées dans la littérature, en revanche les micro-délétions interstitielles sont très rares. Nous rapportons le premier cas de délétion du segment 2q36.2q36.3. **Observation clinique :** Il s'agit d'une jeune fille, 3^e enfant d'un couple non consanguin née à 41 semaines de gestation, avec un PN de 2 780 g, une TN de 47 cm et un PC de 32 cm. La position assise a été acquise à l'âge de 11 mois et la marche à l'âge de 22 mois. À l'âge de 10 ans elle présentait un retard mental sévère, une hyperkinésie avec un retard de langage, des stéréotypies verbales, une écholalie, et des phobies. Elle présentait une dysmorphie faciale avec : une plagiocéphalie, un visage rond, un cou court, une implantation basse des cheveux sur le front, des yeux enfoncés dans les orbites, une grande bouche aux lèvres fines, des fentes palpébrales étroites, un nez retroussé avec une pointe bulbueuse. Sur les courbes de croissance sa taille restait dans la moyenne et son poids autour de +1DS. La puberté a démarré à 12 ans et s'accompagne d'un hirsutisme, d'une hyperandrogénie avec des dosages de testostérone et de 17 céstéroïdes élevés. L'hypertrophie des petites lèvres et du capuchon clitoridien observés ont conduit à une nymphoplastie. C'est à l'âge de 15 ans que des gros reins comportant plusieurs kystes ont été détectés avec une fonction rénale normale : créatininémie : 44 $\mu\text{mol/l}$, clairance < 140 ml/mn, et un bilan parental normal. Aucun autre kyste abdominal n'a été repéré. Elle présentait également une coxa vara bilatérale, des jambes de longueur différente, des rotules dysplasiques, un genu-valgum bilatéral et des genoux douloureux pour lesquels une épiphysiodèse a été réalisée. Une analyse en microscopie électronique a été réalisée au niveau cutané et a montré des altérations de la lame basale. **Méthode :** Un caryotype en bandes R de résolution 850 bandes a été réalisé suivant les techniques conventionnelles. Les sondes pour la FISH ont été fabriquées à partir de clones fournis par le Sanger Institute (N.Carter). L'ADN du patient a été extrait et a bénéficié d'une étude en CGH-array de type oligonucléotidiques 44K (Human Genome CGH Microarray 44B Kit, Agilent Technologies[®] (tm), Santa Clara, Ca). Les données ont été analysées avec CGH-analys[™] et les remaniements chromosomiques ont été identifiés en utilisant le Z-score. **Résultats :** Le caryotype a montré une micro-délétion interstitielle de la bande 2q36.3. La taille de cette délétion a été évaluée par la technique de CGH-Array. La délétion emporte un segment situé en 2q36.2q36.3 et sa taille a été estimée entre 5.424.919pb et 5.797.765pb avec une résolution de 373 kb. Les résultats ont été confirmés par la technique de FISH à l'aide BACs/PACs. Le segment délété emporte 12 gènes dont *CUL3*, *DOCK10*, *IRS1*, *RHBDD1*, *COL4A4*, *COL4A3*, *HRB*, *SLC19A3*, *CCL20*, *SKIP*, *DNER*, *TRIP12*. **Conclusion :** Nous rapportons le cas d'une patiente présentant un syndrome polymalformatif avec un retard mental associé à une délétion du chromosome 2 en 2q36.2q36.3. Les gènes connus dans cette région n'ont pas encore été décrits comme associés à l'ensemble des symptômes présentés par cette jeune fille mais l'altération de la lame basale observée en microscopie électronique sur les coupes de la peau apporte un éclairage physiopathologique à cette observation.

Mots-clés : délétion, chromosome 2, reins kystiques.

■P200 / 295. ASPECTS ÉCHOGRAPHIQUES DES LÉSIONS ARTÉRIELLES AU COURS DU SYNDROME D'EHRLERS-DANLOS VASCULAIRE

N. Denarié (1, 2), J. Perdu (1, 3, 4), A. Remenieras (3), D. Molière (1), K. Lahlou-Laforêt (1, 5), A.P. Gimenez-Roqueplo (3, 4), J.N. Fiessinger (1, 2), X. Jeunemaitre (1, 3, 4)

(1) Centre National de Référence des Maladies Vasculaires Rares, HEGP ; (2) Service de Médecine Vasculaire, HEGP ; (3) Département de

Génétique, HEGP ; (4) INSERM U772, Collège de France ; (5) Service de psychiatrie et de psychologie de liaison, HEGP

Introduction : Le syndrome d'Ehlers-Danlos vasculaire (OMIM 130050) est une affection héréditaire de transmission autosomique dominante liée à des mutations du gène *COL3A1* codant pour la chaîne pro-alpha du collagène III. Le collagène III est un composant essentiel de la matrice extra-cellulaire des artères, du côlon sigmoïde, de l'utérus et à un moindre degré de la peau et des articulations. Son déficit explique la fragilité artérielle particulière rencontrée chez ces patients. **Patients et méthodes :** Nous présentons ici les types lésionnels et les aspects topographiques des lésions artérielles de 50 patients atteints de syndrome d'Ehlers-Danlos vasculaire moléculairement prouvé, examinés en échographie-doppler (N. Denarié) au niveau des troncs supra-aortiques, de l'aorte et des membres inférieurs. Sur le plan clinique, lors de l'examen initial, la moitié des patients présentait un tableau acrogérique associant trois critères majeurs (peau fine, visage de madone, tendance ecchymotique) et un critère mineur (acrogeria) selon la classification Villefranche-sur-Mer. Quarante pourcents présentaient un tableau vasculaire pur et 16 % un tableau digestif pur (péritonite stercorale par rupture spontanée du côlon sigmoïde). Cinquante-huit pourcents présentaient au moins une complication artérielle. Quarante-six pourcents des patients inauguraient leur maladie par une complication artérielle à un âge moyen de 19,5 ans. Sur le plan moléculaire, 92 % des mutations étaient situées dans la triple hélice, 68 % étaient de type faux-sens et 58 % étaient situées sur des glycines. Soixante-quatorze pourcents des mutations étaient originales. **Résultats :** 1 Type lésionnel. Les types lésionnels artériels se distribuaient comme suit : dissection 46 %, anévrisme 42 %, rupture 30 %, faux-anévrisme 8 %. 2 Topographie des lésions. Les axes iliaques comptaient pour 40 %, les artères rénales pour 20 %, les carotides internes pour 16 %, l'artère splénique pour 14 % de même que l'aorte. Les axes jambiers n'étaient atteints que dans 6 % des cas. D'autres atteintes étaient notées dans 38 % des cas (vertébrales, sous-clavières, coronaires, tronc coeliaque, artères hépatiques et mésentériques). L'atteinte était multiple chez 42 % des patients. Dix-huit pourcents des lésions étaient iatrogènes. Bon nombre de lésions étaient découvertes fortuitement, tout particulièrement des anévrysmes disséquants des branches aortiques dans leur segment de moyen calibre dont l'évolution était plus volontiers ectasiant avec le temps au niveau des artères digestives. Ce travail présente l'icographie typique rencontrée au cours du syndrome d'Ehlers-Danlos vasculaire, tant par ses aspects lésionnels que par la topographie de l'atteinte artérielle, en échographie couleur et énergie ainsi qu'en doppler. **Perspectives :** La mise en évidence de lésions artérielles, multiples, asymptomatiques, des iliaques et des branches de l'aorte à destinée digestive, et plus spécifiquement des anévrysmes disséquants, non seulement apporte des arguments venant en complément des critères cliniques pour engager à proposer un test génétique mais souligne la nécessité de mettre en œuvre rapidement des mesures préventives visant à minimiser le traumatisme pariétal chez ces patients (évitement des ponctions artérielles et contrôle drastique des variations de pression artérielle). Ainsi l'échographie-doppler, tout comme le scanner thoracoabdominopelvien, apporte à la fois une aide diagnostique, la possibilité d'un bilan lésionnel exhaustif, d'un suivi évolutif mais également des arguments forts pour instaurer une prise en charge thérapeutique rapide et adaptée à la physiopathologie artérielle de cette pathologie avant même la confirmation moléculaire.

Mots-clés : syndrome d'Ehlers-Danlos vasculaire, échographie doppler, anévrysmes disséquants des branches de moyen calibre de l'aorte.

■P201 / 304. ÉVALUATION DE L'IMPACT CLINIQUE ET BIOLOGIQUE DE L'ESPACEMENT DES PERFUSSIONS D'ENZYME RECOMBINANTE CHEZ UN PATIENT ATTEINT DE MALADIE DE GAUCHER

K. Benistan (1, 2), C. Perronne (2, 3), J. Bailly (2, 3), F. Bouchand (2, 4), C. Boucly (5), P. Forgeot d'Arc (1, 2), D. Pozzi (4), J. Roussi (6), M. Villart (2, 4), D.P. Germain (1, 2)

(1) Unité de Génétique Médicale, Hôpital Raymond Poincaré, Garches ; (2) Centre de référence de la maladie de Fabry et des maladies héréditaires du tissu conjonctif, Hôpital Raymond Poincaré, Garches ; (3) Département de Médecine Aiguë Spécialisée, Hôpital Raymond Poincaré, Garches ; (4) Pharmacie, Hôpital Raymond Poincaré, Garches ; (5) Laboratoire de Biochimie, Hôpital Raymond Poincaré, Garches ; (6) Laboratoire d'hématologie, Hôpital Raymond Poincaré, Garches, France

La maladie de Gaucher (OMIM #230800) est une maladie lysosomale, de transmission autosomique récessive, due au déficit enzymatique en bétaglucosidase acide, entraînant une accumulation de glucosylceramide dans les phagocytes mononucléés. La surcharge métabolique est responsable d'une maladie multi-systémique avec hépatosplénomégalie, anémie, thrombopénie, douleurs et lésions osseuses. La maladie de Gaucher est, avec la maladie de

Fabry, la mucopolysaccharidose de type I (maladie de Hurler-Scheie), la mucopolysaccharidose de type II (maladie de Hunter), la mucopolysaccharidose de type VI (maladie de Maroteaux-Lamy) et la glycogénose de type II (maladie de Pompe), l'une des 6 maladies lysosomales désormais accessibles à un traitement spécifique par enzymothérapie recombinante. Les différentes thérapies enzymatiques substitutives représentent un progrès thérapeutique mais doivent faire l'objet d'une évaluation rigoureuse de leur efficacité, des bénéfices cliniques au long cours et des doses optimales. Dans le cas de la maladie de Gaucher, si l'individualisation des posologies est recommandée par les conférences de consensus, très peu de données sont disponibles dans la littérature sur la fréquence optimale d'administration de l'enzyme, alors même que le coût et l'observance du traitement ainsi que la qualité de vie des malades sont des éléments essentiels à considérer dans le cadre d'une thérapie substitutive prescrite à vie. Objectif : Evaluer les effets cliniques et biologiques de l'allongement à 3 semaines de l'intervalle entre 2 perfusions d'imiglucérase. Méthodes : Une enzymothérapie substitutive par imiglucérase fut instaurée à la posologie classiquement recommandée (60 UI/kg tous les 15 jours) pendant 1 an chez un homme de 41 ans atteint de maladie de Gaucher symptomatique : douleurs osseuses, hépatomégalie avec flèche hépatique médioclaviculaire à 22 cm en échographie (valeur normale : 11 cm), splénomégalie avec flèche splénique mesurée à 25 cm (valeur normale < 10 cm), thrombopénie (98 G/L), leucopénie (3,2 G/L), augmentation de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (ECA) : 100 mU/ml (valeurs normales : 20 à 40 mU/mL), augmentation de la ferritinémie 665 mg/L : (valeurs normales : 20-280 mg/L). La posologie fut diminuée à 40 UI/ 15 jours pendant 1 an avant que l'intervalle entre 2 perfusions ne soit allongé, sans changement de posologie (60 UI/kg chaque 3 semaines), pendant 3 ans. Résultats : Après 1 an de traitement à 60 UI/kg/15 jours, une amélioration clinique (flèche hépatique : 16,5 cm, flèche splénique : 18 cm) et biologique (plaquettes : 153 G/L, leucocytes : 4,1 G/L ; ECA : 51,9 mU/ml, ferritinémie : 409 mg/L) fut documentée. Après diminution de la posologie (40 UI/kg/15 jours) pendant un an, l'amélioration des paramètres cliniques (foie : 14,4 cm, rate : 17 cm), et paracliniques (plaquettes : 185 G/L, leucocytes : 4,9 G/L ; ECA : 37,9 mU/ml, ferritinémie : 369 mg/L) s'est poursuivie. À l'issue de 3 ans d'administration de l'enzyme avec un intervalle entre 2 perfusions allongé de 15 à 21 jours (60UI/kg/21 jours), un nouveau bilan montra une stabilisation des paramètres d'imagerie (foie : 14,5 cm, rate : 17 cm) et la poursuite de l'amélioration des paramètres biologiques (plaquettes : 192 G/L, ECA : 29,6 mU/ml, ferritinémie : 320 mg/L). Discussion : L'allongement à 3 semaines du délai entre 2 perfusions d'imiglucérase n'a pas montré de régression des bénéfices cliniques précédemment obtenus. Les volumes hépatiques et spléniques sont restés stables tandis que l'amélioration des paramètres hématologiques s'est complétée, sans toutefois atteindre les valeurs normales. Le patient rapporte une amélioration de sa qualité de vie du fait d'une réduction de 26 à 17 du nombre de perfusions annuelles et de ses séjours hospitaliers, contribuant de ce fait à une réduction des coûts. Ces données préliminaires sont en faveur de la mise en place d'un essai clinique contrôlé pour un plus grand nombre de patients.

Mots-clés : lysosome, thérapie enzymatique substitutive, maladie de Gaucher.

■P202 / 311. ÉTUDE DE L'ONCOGÈNE N-MYC DANS LE SYNDROME DE FEINGOLD ET DES PHÉNOTYPES APPARENTES

A. Nougayrede (1), J. Amiel (1, 2), C. Golzio (1), A. Goldenberg (3), H. Etchevers (1), A. Verloes (4), A. Munnich (1, 2), S. Lyonnet (1, 2), L. De Pontual (1)
(1) INSERM U-781 ; (2) Département de génétique, Université Paris-Descartes, Faculté de Médecine ; AP-HP, Hôpital Necker-Enfant Malades, Paris, France ; (3) Service de génétique, Hôpital Charles Nicolle, Rouen ; (4) Service de génétique, Hôpital Robert-Debré, Paris

Le syndrome de Feingold a été décrit en 1975 chez 3 patients sur 2 générations présentant une microcéphalie sans retard mental associé, des anomalies des extrémités et une atrophie duodénale. Le gène responsable a été localisé en 2p24 grâce à une grande famille comptant 11 individus atteints sur 3 générations. Le gène *N-MYC*, candidat par sa localisation, a été identifié comme le gène majeur du syndrome de Feingold avec une mutation hétérozygote chez 15 des 23 familles testées. Nous avons collecté une série de 10 cas sporadiques suspects de syndrome de Feingold. Nous avons étudié l'ensemble de la séquence codante du gène *N-MYC* et les jonctions introns-exons et avons identifié une mutation tronquante (1293 delC) et une mutation faux sens du domaine basique (R393H). Le phénotype de ces 2 patients sera présenté. Outre la triade caractéristique, une asplénie dans un cas (1293 delC) et une hypoplasie rénale dans un cas (R393H). Une asplénie n'a jamais été rapportée dans le syndrome de Feingold jusqu'à présent. Très récemment un autre patient avec hypoplasie rénale bilatérale ayant évolué vers une insuffisance rénale terminale a été rapporté. Nous recommandons donc des explorations et un suivi néphrologique pour ces

patients. Par ailleurs, nous avons étudié l'ensemble de la séquence codante du gène *N-MYC* et les jonctions introns-exons chez 10 patients ayant une atrophie de l'œsophage isolée et 8 patients ayant un syndrome de VACTER et identifié aucune mutation chez ces patients. Une perte de fonction de *N-MYC* par haploinsuffisance est le mécanisme le plus probable compte tenu des microdélétions et mutations tronquantes en N-terminal du domaine bHLH. La mutation R393H modifie un acide aminé basique du domaine basique qui est très conservé au sein de la famille des protéines à bHLH. L'hypothèse d'un effet dominant négatif est envisageable pour cette mutation par altération de la liaison à l'ADN malgré une capacité de dimérisation de la protéine mutée conservée. Le taux de détection de mutation de *N-MYC* étant d'environ 50 %, on peut envisager l'existence de phénotypes, une hétérogénéité génétique ou des mutations échappant aux techniques de séquençage (délétion intra-génique, mutations de séquences régulatrices de *N-MYC*). L'étude de l'expression de *N-MYC* au cours du développement embryonnaire humain est en cours. Il est intéressant de noter que les données d'expression chez la souris ne rendent pas compte de certains traits du syndrome de Feingold telles que les atrophies digestives. De plus, *N-MYC* est un exemple supplémentaire de gène de développement impliqué dans la tumorigénèse avec une amplification de *N-MYC* rapportée comme péjorative dans le neuroblastome, le rétinoblastome et le carcinome pulmonaire à petites cellules. L'étude des mécanismes à l'origine du spectre malformatif observé dans le syndrome de Feingold peut contribuer à éclairer le rôle de *N-MYC* dans la tumorigénèse.

Mots-clés : Feingold, *N-MYC*, expression embryonnaire.

■P203 / 321. SPECTRE CLINIQUE ASSOCIÉ AUX MOSAÏQUES DE MÉTHYLATION AU LOCUS ANGELMAN

M. Rio (1), B. Aral (1), A. Kaminska (2), A. Munnich (1), S. Odent (3), J.P. Bonnefont (1), J. Amiel (1)
(1) Service de Génétique Médicale, CHU Necker, Paris ; (2) Service de Neuropédiatrie, CHU Necker, Paris ; (3) Service de Génétique Médicale, CHU Rennes

Le syndrome d'Angelman est une pathologie neurodéveloppementale caractérisée par un retard mental, une absence de langage, une démarche ataxique, des convulsions, un EEG caractéristique, une microcéphalie, des rires immotivés, et une dysmorphie. Il résulte de la perte de fonction de l'allèle maternel du gène *UBE3A*, par délétion, disomie uniparentale ou mutation du centre d'empreinte ou de la séquence codante du gène *UBE3A*. Plus récemment, une anomalie de méthylation de la région 15q11-q13 en mosaïque a été décrite chez des patients présentant une constellation de signes cliniques appartenant à la fois au syndrome d'Angelman et au syndrome de Prader-Willi. Le diagnostic repose sur l'observation d'une faible bande maternelle associée à une bande paternelle normale lors de la méthyl-PCR spécifique au locus SNRPN. Nous rapportons 4 patientes non apparentées présentant un retard mental lié à une anomalie de méthylation 15q11-q13 en mosaïque. La patiente 1, âgée de 16 ans, a un retard global des acquisitions prédominant sur le langage avec une marche acquise à 3 ans et des premiers mots vers 5-6 ans. S'y associe une obésité apparue avant un an avec une taille normale (BMI 40), et un périmètre crânien sur +2 DS. Son caractère est anxieux et timide. Elle présente des troubles du sommeil. Aucun électroencéphalogramme n'a été réalisé. La patiente 2 a un retard des acquisitions prédominant sur le langage avec une marche acquise à 17 mois et l'absence de phrases construites à 16 ans. Néanmoins, la compréhension est meilleure et permet une certaine autonomie dans la vie courante. Elle est émotive et anxieuse. Elle n'a jamais convulsé mais il existe des anomalies électroencéphalographiques. Ses mensurations sont sur -2 DS pour le périmètre crânien, la moyenne pour la taille et +1DS pour le poids sous régime strict avec une répartition tronculaire des graisses. La patiente 3, âgée de 4 ans, a un retard global des acquisitions avec une marche acquise à 21 mois, une absence complète de langage mais une communication non verbale possible et une compréhension conservée. Il existe des troubles du sommeil. Le poids est sur +2DS pour une taille sur -1,5 DS et un périmètre crânien sur +2 DS. Elle a un très bon appétit, est difficile à rassasier et présente des conduites de chapardage. Il n'y a pas de crises convulsives mais il existe des anomalies électroencéphalographiques. La patiente 4, âgée de 5 ans, a un retard global (marche à 22 mois et retard de langage). Les courbes de croissance sont sur +3 DS pour le poids, et +2DS pour la taille et le périmètre crânien. Il existe des troubles du sommeil. Elle n'a jamais convulsé. L'analyse phénotypique de ces 4 patientes associée à une revue de la littérature permet de mieux définir le spectre clinique associé aux mosaïques de méthylation 15q11-q13. Il faut souligner la spécificité des troubles du comportement et du langage, les troubles du sommeil et le surpoids précoce. Ces 4 patientes ne présentent pas la dysmorphie décrite dans le syndrome d'Angelman mais partagent des traits morphologiques qui constituent une



aide au diagnostic. Enfin, les EEG des patientes 2 et 3 montrent des bouffées et des courtes séquences d'ondes lentes delta amples, favorisées par l'hyperpnée. Ces mêmes anomalies sont décrites dans le syndrome d'Angelman mais frappent par leur caractère discontinu. À ce jour aucune délétion en mosaïque n'a été rapportée. Les mécanismes moléculaires de cette anomalie de méthylation en mosaïque ne sont pas élucidés.

Mots-clés : Angelman, mosaïque, retard mental.

■P204 / 326. ORPHANET AU CARREFOUR DES BASES DE DONNÉES GÉNÉTIQUES

V. Lanneau (1), I. Caron (1), A. Rath (1), S. Aymé (1)
(1) Orphanet, Inserm SC11

Il existe actuellement une variété de bases de données de gènes disponibles à la consultation sur Internet, qui répondent à des objectifs divers : le recensement de renseignements pertinents sur la cartographie des gènes, leur nomenclature officielle ou encore la collection des données taxonomiques et textuelles. Cependant, la liaison entre les maladies rares d'origine génétique et les informations sur les gènes causants est difficile à obtenir de façon exhaustive et systématique. L'objectif d'Orphanet, la base de référence européenne de maladies rares, est de centraliser les informations concernant les gènes en cause dans ces maladies. Pour cela, des liaisons sont établies entre la base des maladies Orphanet et les différentes bases de données (Genetests, Swissprot, GeneAtlas, HGNC et OMIM), de façon à ce que ces dernières puissent être consultées par le biais des phénotypes dont la description est donnée sur Orphanet. 1 250 phénotypes ont ainsi été liés à ce jour à ces bases. Ces liaisons seront exploitables dans la version 4 d'Orphanet. Elles permettront d'avoir une information complète sur le phénotype et le génotype des maladies rares d'origine génétique qui pourra être consultée par nom de maladie comme par nom ou symbole du gène, en exploitant toute la synonymie de l'une et de l'autre. Cet outil devient donc un véritable carrefour de bases de données médicales et scientifiques autour des maladies rares génétiques.

Mots-clés : maladies rares, bases de données, gènes.

■P205 / 327. LES CLASSIFICATIONS CLINIQUES DES MALADIES RARES : LEUR INTÉRÊT POUR L'ÉPIDÉMIOLOGIE ET LA RECHERCHE CLINIQUE

A. Rath (1), P. Landais (2), M. Le Merrer (3), A. Verloes (4), C. Turleau (3), S. Aymé (1)
(1) Orphanet, Inserm SC11 ; (2) Laboratoire de Biostatistique et d'Informatique Médicale de l'Hôpital Necker, Paris ; (3) GeneAtlas, Université Paris V René-Descartes, Paris ; (4) FECLAD, Centre de référence des anomalies du développement et syndromes malformatifs, Hôpital Robert-Debré, Paris

L'organisation récente de la prise en charge des maladies rares (MR) en France à travers la création des centres de référence (CR) permet l'orientation rationnelle des malades atteints de MR, vers des centres spécialisés dans un groupe de maladies. La liste précise des maladies rares appartenant à chacun de ces groupes doit donc être établie. Ceci nécessite la construction de classifications de MR en groupes cohérents d'un point de vue clinique. Dans cette optique, le Laboratoire de Biostatistique et d'Informatique Médicale de l'Hôpital Necker (LBIM), Orphanet et GenAtlas ont entrepris de croiser leurs bases de données afin de permettre de centraliser les données relatives aux patients suivis dans des CR dans une base unique (CEMARA, développée par le LBIM) en vue de leur exploitation épidémiologique. Le pivot de cette base est constitué par la classification exhaustive des MR d'un point de vue clinique, entreprise par Orphanet avec le concours des experts pour chaque groupe de maladies y compris les anomalies chromosomiques. Ainsi est constituée une nomenclature commune qui permet aux médecins des CR d'indexer leurs patients selon des diagnostics organisés par catégories, et d'associer ces diagnostics à des gènes à travers la liaison à GenAtlas. Une telle organisation triangulaire interactive permettra de tirer des conclusions épidémiologiques sur des groupes de MR, sur la base de leur phénotype ou de leur génotype, en fonction par exemple de leur distribution géographique. Cette synergie entre les bases de données est de nature à jouer aussi un rôle facilitateur pour la recherche clinique.

Mots-clés : base de données, maladies rares, génotype.

■P206 / 335. GLUTATHION-S TRANSFÉRASES (GST) ACTIVITÉ- GÉNOTYPE LIES À LA PRÉCOCITÉ ET LA CHRONICITÉ DE L'INFECTION À P. AERUGINOSA CHEZ DES ENFANTS ATTEINTS DE MUCOVISCIDOSE

M.-N. Feuillet-Fieux (1), T. Nguyen Khoa (1), M.-A. Lorient (2, 3), M. Kelly (1), P. de Villartay (4), I. Sermet (4), P. Verrier (2), J.-P. Bonnefont (5), P. Beaune (2, 3), G. Lenoir (4), B. Lacour (1)

(1) Biochimie A, Hôpital Necker-Enfants Malades Paris ; (2) Biochimie, Hôpital Européen Georges Pompidou Paris ; (3) INSERM U775, Université René-Descartes Paris ; (4) Pédiatrie Générale ; (5) Génétique Médicale, Hôpital Necker-Enfants Malades Paris

Objectif : Évaluer l'intérêt de l'activité totale et du génotype des Glutathion-S Transférases (GSTP1, M1, T1) ainsi que celui des différents marqueurs antioxydants tels que le glutathion (GSH), les vitamines A, E et C en tant que facteurs pronostics de précocité et de sévérité de l'infection pulmonaire à *P. aeruginosa* (P.A) dans la mucoviscidose (CF). Patients et Méthodes : Trente six enfants atteints de CF (18 filles, 18 garçons) et 9 contrôles sains (3 filles, 6 garçons) d'âge médian similaire 10 ans, ont été étudiés. Les enfants CF ont été classés selon leur état clinique et la présence de P.A au moment du prélèvement ($n = 12$), 12 autres enfants, non infectés au prélèvement, ont eu au moins une primo-infection éradiquée, et 12 sont « vierges » de P.A. L'activité GST a été mesurée, dans le sang total, par conjugaison avec le substrat 1-chloro-2,4-dinitrobenzène et le co-substrat glutathion réduit, absorbance suivie par spectrophotométrie à 340 nm ; le génotype GST a été déterminé par analyse PCR multiplex ; le taux de glutathion érythrocytaire a été mesuré par chromatographie liquide et exprimé selon le rapport oxydé (GSSG) et réduit (GSH) ; la concentration plasmatique des vitamines A, E et C a été mesurée par chromatographie liquide. Résultats : Parmi les 24 enfants CF, non vierges de P.A, 14 (6 filles, 8 garçons) l'ont été avant 5 ans, 10 au-delà de 5 ans. L'activité totale GST des contrôles sains et des enfants CF n'est pas différente. L'activité GST est 1) significativement corrélée à l'état clinique, plus élevée chez les enfants présentant un bon état, très abaissée dans les états sévères ; 2) significativement diminuée en présence d'infection à P.A. Le taux de GSH érythrocytaire, au contraire, est diminué en l'absence d'infection au prélèvement, semblable à celui des contrôles sains en présence d'infection alors que, le rapport GSSG/GSH et la concentration des vitamines A, E et C (résultat d'une forte complémentation) restent inchangés. Dans le génotype GST, la forme non mutée GSTP1 AA est majoritaire chez les enfants « vierges » de P.A (9 sur 12) et ne représente plus qu'un tiers chez les enfants infectés au prélèvement (4 sur 12) et la moitié chez les non vierges de P.A (11 sur 24). Chez les enfants infectés à P.A au prélèvement, les polymorphismes GSTP1 AG et GSTP1 GG (respectivement 5 et 3 sur 12), sont plus fréquents que chez les enfants vierges de ce germe (respectivement 2 et 1 sur 12). L'allèle nul GSTM1 0/0 est majoritaire chez les porteurs du variant GSTP1 AG, et minoritaire chez les porteurs P1 GG alors que, dans le groupe P1 AA, on retrouve la fréquence caucasienne (50 %). Conclusion : Le taux d'activité totale GST, bien qu'étant le reflet de l'état clinique et de la présence d'infection à P.A, subit trop d'interférences avec les thérapies (dont antibiotiques). De ce fait, l'activité ne peut être considérée ni utilisée comme un facteur pronostic de la maladie. Les polymorphismes GSTP1 AG et GG et l'allèle nul GSTM1 0/0 pourraient être associés à un plus grand risque d'infection pulmonaire sévère. Il serait nécessaire d'évaluer, à une plus grande échelle, l'intérêt pronostic du génotype GST et – non de l'activité –, chez les nouveau-nés dépistés, le plus souvent asymptomatiques, et vierges de P.A, puis de suivre leur évolution. Etude soutenue par « l'Association Mucoviscidose ABCF ».

Mots-clés : mucoviscidose, glutathion-S transférases, stress oxydant.

■P207 / 338. MARQUEUR SURNUMÉRAIRE DÉRIVE DU CHROMOSOME 8 ASSOCIÉ À UNE AGÉNÉSIE DU CORPS CALLEUX

N. Aouchiche (1), K. Krabchi (2, 3), S. Drunat (3), M.L. Moutard (4), M. Hully (4), A.C. Tabet (3), B. Benzaken (3), C. Dupont (3, 5), L. Burglen (3), A. Aboura (3)

(1) Faculté Agro-vétérinaire et Biologique Université Saad Dahlab, Blida, Algérie ; (2) Service of Medical Genetics, Department of Pediatrics, University of Sherbrooke, Fleurimont hospital, CHUS, 3001, 12th North avenue, # 1428, Sherbrooke, QC, Canada, J1H 5N4 ; (3) Service de génétique et de cytogénétique, Hôpital Robert-Debré, France ; (4) Service de génétique et de cytogénétique, Hôpital Trousseau, France ; (5) Service de génétique et de cytogénétique, Hôpital Jean-Verdier, France

Nous rapportons le cas d'un enfant de 9 mois présentant une agénésie du corps calleux (ACC), une communication interventriculaire (CIV), un retard de croissance, une hypotonie axiale, une dysmorphie faciale modérée, des plis capitonés aux mains et des difficultés alimentaires. L'analyse cytogénétique préliminaire a montré un caryotype normal 46,XX. L'analyse des réarrangements chromosomiques de la région sub-télomérique par Multiplex ligation dépendant amplification Probe (MLPA) a mis en évidence un gain de la région sub-télomérique du bras court du chromosome 8. En augmentant l'analyse des mitoses sur 20 cellules, un marqueur chromosomique surnuméraire a été retrouvé sur 2/20 cellules ; l'Hybridation in Situ sur 100 cellules avec les sondes alpha satellite, sub-télomérique, et peinture du chromosome 8, a confirmé que ce marqueur

dérivait du chromosome 8. Cette tétrasomie du bras court du chromosome 8 est associée aux phénotypes décrits plus haut. Nous soulignons l'intérêt de réaliser une étude cytogénétique avec recherche d'une trisomie 8 ou d'une tétrasomie 8p en mosaïque par hybridation in situ, devant tout fœtus ou nouveau-né présentant une ACC.

Mots-clés : tétrasomie 8p, marqueur chromosomique, agénésie du corps calleux, cardiopathie, MLPA, FISH.

■P208 / 342. INVESTIGATION DE L'ASSOCIATION DES POLYMORPHISMES GÉNÉTIQUES CBS 844INS68 ET TC II G776C AVEC LA FAUSSE COUCHE À RÉPÉTITION. ÉTUDE CAS-TÉMOIN DANS UNE POPULATION ROUMAINE

A.P. Trifa (1), R.A. Popp (2), M. Militaru (2), I.V. Pop (2), T. Crisan (1)
(1) *Faculté de Médecine, Université de Médecine et Pharmacie "Iuliu Hatieganu" Cluj-Napoca, Roumanie ; (2) Département de Génétique Médicale, Université de Médecine et Pharmacie "Iuliu Hatieganu" Cluj-Napoca, Roumanie*

Introduction : Il est bien connu qu'environ 10-15 % des couples rencontrent des troubles de reproduction. La fausse couche à répétition représente un problème médical, social et psychologique important et assez fréquent, mais, dans plus de moitié des cas, les causes y restent obscures. L'homocystéine, substance toxique à plusieurs niveaux, pourrait représenter un facteur de risque dans l'apparition de la fausse-couche à répétition, spécialement quand les 2 voies de sa métabolisation, la transsulfuration et la reméthylation, sont perturbées. **Matériel et Méthodes :** Dans une étude cas-témoin, nous avons essayé de trouver une association entre les polymorphismes des gènes CBS, qui codent pour la cystathionine bêta-synthase, enzyme-clé dans la transsulfuration de l'homocystéine et TC II, qui code pour la transcobalamine II, transporteur de la vitamine B12, cofacteur dans la reméthylation de l'homocystéine, entre un groupe de femmes atteintes d'au moins 2 fausses-couches à répétition et un groupe contrôle, comprenant des femmes avec au moins une grossesse menée à terme, sans événement négatif et une histoire négative pour la fausse couche à répétition. Nous avons étudié les 2 polymorphismes utilisant des techniques de génétique moléculaire, c'est-à-dire PCR pour CBS 844ins68, et PCR-RFLP pour TC II G776C. Nous avons comparé les fréquences des génotypes entre les cas et les témoins par l'intermédiaire du test du chi-carré. **Résultats :** La fréquence du polymorphisme CBS 844ins68 a été plus élevée dans le groupe des cas, c'est-à-dire ce polymorphisme représente un facteur de risque pour la fausse-couche à répétition, dans la population étudiée. Quant au polymorphisme TCII G776C, celui-ci a été trouvé moins associé avec cette pathologie. **Discussions :** D'habitude, l'excès de l'homocystéine s'associe à un déficit en folate. Il est possible donc de moduler l'effet des polymorphismes génétiques corrélés avec l'hyperhomocystéinémie, par l'administration périconceptionnelle de folate, pour réduire le risque de terminer la grossesse par une fausse couche. **Conclusion :** Les polymorphismes des gènes codant pour des facteurs impliqués directement ou indirectement dans le métabolisme de l'homocystéine, parmi lesquels CBS et TC II, pourraient représenter des facteurs de risque pour la fausse-couche à répétition.

Mots-clés : fausse-couche à répétition, polymorphismes génétiques, homocystéine.

■P209 / 344. VARIABILITÉ DE L'INACTIVATION DE L'X CHEZ 4 SŒURS HÉTÉROZYGOTES POUR UNE MUTATION D'ATRX ET EXPRESSION CLINIQUE AVEC MALFORMATION DES MAINS DANS UN CAS FÉMININ

C. Beneteau (1), C. Bonnet (1), C. Philippe (2), Ph. Jonveaux (2), L. Faivre-Olivier (3), N. Levy (4), C. Lacoste (4), C. Badens (4), B. Leheup (1)
(1) *Service de Médecine Infantile et de Génétique Clinique, CHU de Nancy et Faculté de Médecine Nancy-Université Henri Poincaré ; (2) Laboratoire de Génétique CHU de Nancy et Faculté de Médecine Nancy-Université Henri Poincaré ; (3) Centre de Génétique CHU de Dijon ; (4) Laboratoire de Génétique Moléculaire Hôpital d'Enfants de la Timone Marseille*

Deux cas féminins de syndrome alpha thalassémie et retard mental ont été rapportés dans la littérature dont un cas avec un tableau de retard mental non spécifique. Nous rapportons ici une observation familiale avec un cas féminin et 2 cas masculins. Le 1^{er} garçon, né en 2001, présente un tableau de retard de marche et de retard de langage (marche acquise à 2 ans, premiers mots à 2 ans 6 mois). Il présente quelques particularités morphologiques faciales avec un philtrum relativement épais, une columelle basse et une hypoplasie relative des ailes du nez. Le périmètre crânien est dans les limites de la normale. Ce tableau morphologique avait fait évoquer un syndrome alpha thalassémie et retard mental. Une mutation du gène *ATRX*

a pu être mise en évidence (p.2085 Arg>His) liée à une mutation hétérozygote dans l'exon 28 (G>A). La mère de ce jeune homme, née en 1977, est hétérozygote pour la mutation, ne présente aucun signe cognitif et présente un profil d'inactivation de l'X complètement dévié 100-0. Les 3 sœurs de cette jeune femme ont pu être étudiées. Deux d'entre elles présentent une absence complète de signes cliniques, en particulier cognitifs, et sont toutes les 2 porteuses de la mutation avec profil d'inactivation totalement biaisé 100-0. La 4^e sœur de cette fratrie, née en 1972, a un fils né en 1998, vu en consultation en mars 2005 dans le cadre d'un retard de développement du langage avec acquisition de la marche à 18 mois et tableau malformatif marqué par une hexadactylie pré-axiale gauche et quelques particularités morphologiques faciales non spécifiques associées à une microcéphalie. En fonction des antécédents familiaux, la recherche de mutation *ATRX* a permis de confirmer une hétérozygotie pour cette mutation faux sens. La mère de ce jeune garçon a présenté un développement intellectuel moins satisfaisant que celui de ses trois sœurs sans qualification professionnelle. Elle présente quelques particularités morphologiques faciales avec une hypoplasie des narines, un palais étroit, une hexadactylie pré-axiale de la main droite opérée à l'âge de 10 ans. La recherche de la mutation familiale a démontré qu'elle était porteuse de cette mutation et qu'elle présente un profil d'inactivation partiellement biaisé 83-17. Cette observation permet de décrire une variabilité d'expression féminine au sein d'une fratrie de 4 sœurs qui semble corrélée avec le degré d'inactivation du chromosome X. La polydactylie préaxiale rapportée dans cette observation n'est pas classique dans le cadre des mutations d'*ATRX*.

Mots-clés : *ATRX*, retard mental, inactivation de l'X.

■P210 / 348. SYNDROME ASSAS

A. Benmansour (1), A. Verloes (2)
(1) *Pédiatre, Oran, Algérie ; (2) Département de Génétique, APHP-Hôpital Robert DEBRE, Paris, France*

Le syndrome pseudo-aminoptérine (aussi dénommé syndrome ASSAS : aminopterin syndrome sine aminopterin) est une entité clinique exceptionnelle, dont les bases génétiques ne sont pas connues. Il associe un RCIU, un retard mental, une dysmorphie faciale caractéristique (face triangulaire, large front, grandes fontanelles, hypertélorisme vrai marqué, blépharophthalmos, widow's peak, dysplasie des pavillons), des anomalies des extrémités (brachy-/syndactylie, limitations articulaires), une microcéphalie, un retard statural postnatal et un retard mental. Le phénotype rappelle l'embryopathie au méthotrexate, jadis utilisé comme abortifient. Nous rapportons une observation de syndrome ASSAS chez un garçon né en Algérie de parents non consanguins. Pas d'exposition toxique en cours de grossesse. Accouchement normal à terme. PN : 1 900 g, taille : 48 cm, PC : 28 cm. À 9 ans : taille : - 4 DS, PC : -2 DS. Dysmorphie marquée, typique du syndrome, avec un blépharophthalmos très sévère (fentes palpébrales : 7 mm) sans microphthalmie, camptodactylie, brachydactylie prédominant du côté cubital aux mains, hallux très courts, absence des phalanges distales des orteils, limitation sévère de la pronosupination, genu valgum bilatéral subluxé, cryptorchidie. Développement psychomoteur : marche à 2 ans, retard modéré à sévère, absence de langage. Le caryotype et le screening télomérique sont normaux. Une étude en CHG array 40K est toujours en cours au moment de la soumission. Nous discuterons cette observation en la comparant aux rares observations antérieures de la littérature, et aux syndromes cliniquement proches : Crane-Heise et acrocephalosyndactylie type Hermann-Opitz.

Mots-clés : blépharophthalmos, pseudoaminoptérine, retard mental.

■P211 / 353. MYASTHÉNIE CONGÉNITALE : À PROPOS D'UNE OBSERVATION

C. Vincent-Delorme (1) ; P. Richard (2) D. Sternberg (2) ; S. Lucidarme (3) ; S. Manouvrier (4) ; B. Theret (3)
(1) *UF de génétique CH Arras. Service de Génétique clinique CHRU Lille. Centre de référence maladies rares pour les syndromes malformatifs et anomalies du développement Nord de France ; (2) AP-HP, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, UF Cardiogénétique et Myogénétique, Service de Biochimie Métabolique, Paris, France ; (3) Service de médecine néonatale CH Arras ; (4) Service de Génétique clinique CHRU Lille. Centre de référence maladies rares pour les syndromes malformatifs et anomalies du développement Nord de France*

Nous rapportons l'observation d'un nouveau-né présentant une hypotonie sévère avec détresse respiratoire révélatrice d'une myasthénie congénitale. Il s'agit de la première enfant d'un couple jeune et non apparenté, originaire du Nord Pas de Calais. La grossesse s'était déroulée sans événement particulier. L'enfant est né eutrophique à terme, par césarienne, pour siège. Elle présentait une malposition des pieds, sans arthrogrypose. Les



antécédents familiaux n'étaient pas évocateurs. Les principales causes d'hypotonie néonatale : Prader Willi, Steinert, SMA étaient rapidement écartées. L'électrophysiologie et la biopsie neuromusculaire n'étaient pas contributives à l'établissement d'un diagnostic en dehors de la mise en évidence d'un déficit en complexe IV, de la chaîne respiratoire. Un test thérapeutique à la prostigmine était réalisé, permettant une amélioration spectaculaire de l'état clinique. La recherche d'anticorps anti-récepteurs à l'acétylcholine était négative chez l'enfant et ses parents. Les EMG parentaux n'objectivaient pas de bloc neuro-musculaire. Un second EMG (sous Mestinon) était réalisé chez le nourrisson, ne révélant pas de pattern significatif. Malgré l'absence d'arthrogrypose et l'existence d'un déficit mitochondrial éventuel, en raison de la réponse spectaculaire aux anticholinestérasiqes, le diagnostic de myasthénie congénitale devenait très probable. Une étude du gène de la Rapsyne permettait de confirmer avec certitude cette hypothèse. L'enfant est hétérozygote composite N88K/ T102I ; la ségrégation indépendante des deux mutations était vérifiée à partir d'échantillons parentaux. Au sein des maladies neuromusculaires à révélation néonatale, les myasthénies congénitales sont des affections rares. Il est probable qu'elles demeurent sous diagnostiquées et nous insistons sur l'intérêt d'un test thérapeutique à la prostigmine, auquel les formes présynaptiques ne répondent cependant pas. Il s'agit de pathologies hétérogènes sur le plan génétique avec, toutefois, des critères distinctifs, notamment électrophysiologiques, selon les formes. Par argument de fréquence, l'implication de la rapsyne (en dehors de patterns électromyographiques évocateurs d'une anomalie d'un canal ionique) doit être suspectée. La myasthénie congénitale par déficit en rapsyne est une pathologie récessive autosomique, avec un risque de récurrence de 25 % pour la fratrie du cas index. La caractérisation des mutations causales permet la réalisation ultérieure d'un DPN, selon les souhaits du couple.

Mots-clés : myasthénie congénitale, rapsyne récessif autosomique.

■P212 / 357. CUTIS LAXA AUTOSOMIQUE RÉCESSIF DE TYPE II : À PROPOS D'UNE PATIENTE PRÉSENTANT UNE ANOMALIE GLOBALE DE LA O ET DE LA N-GLYCOSYLATION DES PROTÉINES

V. Drouin-Garraud (1), A. Bruneel (2), F. Habarou (2), Morelle W (3), F. Foulquier (4), N. Seta (2), X. Balguerie (5), T. Frebourg (1)
(1) Service de Génétique, CHU de Rouen ; (2) Laboratoire de Biochimie Métabolique & cellulaire, Hôpital Bichat, Paris ; (3) USTL, CNRS UMR 8576, Villeneuve d'Ascq ; (4) Université de Leuven, Belgique ; (5) Département de Dermatologie, CHU de Rouen

Le syndrome de cutis laxa est une affection rare se caractérisant par une peau apparaissant flasque avec formation de plis surtout au niveau du tronc et des extrémités, associée à une diminution de l'élasticité de la peau. À l'histologie, il existe une anomalie de structure des fibres élastiques et une diminution de l'élastine. Deux types de cutis laxa à transmission autosomique récessive ont été décrits. Le type I est caractérisé par l'association d'un cutis laxa généralisé, de hernies, de diverticules digestifs et d'un emphysème pulmonaire. Des mutations dans le gène de la fibuline 5 ont été identifiées chez quelques patients. Le type II, associé au cutis laxa des fontanelles antérieures larges, une microcéphalie avec retard mental et un retard de croissance. Morava et coll. (Eur J Hum Genet. 2005) ont mis en évidence des anomalies de la N et de la O-glycosylation des protéines (CDG-IIx) chez 3 patients présentant un syndrome de cutis laxa de type II. Nous rapportons l'observation d'une patiente présentant un cutis laxa de type II associé à un CDG IIx. A. est née à 37 SA, de parents non apparentés, et a présenté un retard de croissance intra-utérin et une microcéphalie (1970 g, 43 cm, 27,5 cm) associés à une CIV, une hypotonie axiale et des fontanelles très larges. Elle a développé un retard des acquisitions : marche acquise à 18 mois, retard de langage et scolarité en institut médico-éducatif. La fontanelle antérieure est restée perméable jusqu'à l'âge de 8 ans. Elle est vue en consultation de génétique à 12 ans. Elle présente alors une microcéphalie avec un PC à -4 DS, une taille à -1,5 DS et un poids à -2 DS. La peau est lâche avec des plis au niveau abdominal et une impression d'excès de peau au niveau des pieds, les joues sont tombantes. Il existe une hyperlaxité ligamentaire. La voix est nasonnée et aiguë, les lèvres sont charnues, le palais est ogival, elle a un strabisme convergent. Les orteils sont courts avec une syndactylie 2-3. Les bilans complémentaires effectués chez cette patiente (caryotype standard et haute résolution, échographie cardiaque, bilan d'hémostase, bilan hépatique et ferrique) sont normaux. Le diagnostic de syndrome de cutis laxa autosomique récessif de type II (ARCL II) est évoqué chez cette patiente. Une évaluation métabolique des N et O-glycosylation des protéines par électrophorèse bi-dimensionnelle et spectrométrie de masse révèle effectivement un déficit modéré de la sialylation des O et N-glycanes et de la galactosylation des N-glycanes confirmant ainsi le diagnostic de CDG de

type II. L'étude des sous unités du Conserved Oligomeric Golgi complex (COG) ne montre pas d'anomalies. Le séquençage de la sous-unité A2 de la « v-type H⁺-ATPase », très récemment décrite comme mutée chez des patients associant ARCL II et CDG-IIx (Kornak *et al*, sous presse) est en cours.

Mots-clés : cutis laxa, glycosylation, CDG.

■P213 / 358. DISOMIE UNIPARENTALE MATERNELLE DU CHROMOSOME 20

C. Vincent-Delorme (1) ; E. Pipiras (2) ; S. Drunat (3) ; C. Dupont (2) ; A. Delahaye (2) ; I. Guilhoto (4) ; S. Manouvrier (5) ; B. Benzacken (2)
(1) UF de génétique CH Arras. Service de Génétique clinique CHRU Lille. Centre de référence maladies rares pour les syndromes malformatifs et anomalies du développement Nord de France ; (2) UF de Cytogénétique Service HEC-BDR Hôpital Jean-Verdier AP-HP ; (3) UF de Biologie moléculaire Département de génétique Hôpital Robert-Debré AP-HP ; (4) Service de Médecine Néonatale CH Arras ; (5) Service de Génétique clinique CHRU Lille. Centre de référence maladies rares pour les syndromes malformatifs et anomalies du développement Nord de France

Nous rapportons l'observation d'un nourrisson, présentant de sévères troubles de l'alimentation responsables d'un important retard de croissance staturo-pondéral post-natal nécessitant la mise en place d'une gastrostomie d'alimentation. Il s'agit du second enfant d'une fratrie de 2, né eutrophique à terme, par voie basse spontanée en présentation céphalique. La grossesse qui lui a donné naissance a été marquée par la découverte, à l'occasion de la réalisation d'un caryotype fœtal pour clarté nucale augmentée, d'un marqueur surnuméraire homogène pour lequel les explorations complémentaires proposées n'ont pas été souhaitées par les parents. La surveillance échographique anténatale décelait une discrète pyélectasie bilatérale, stable, surveillée mensuellement, que l'exploration, à la naissance, rapportera à des valves de l'urètre postérieur. Le bilan malformatif complémentaire sera négatif. Les études cytogénétiques postnatales pratiquées ont permis de montrer que le marqueur excédentaire était essentiellement constitué du centromère du chromosome 20. L'association d'une absence de succion déglutition et de cette particularité cytogénétique nous ont conduits à rechercher une disomie uniparentale, maternelle du chromosome 20. Le tableau clinique de cet enfant, bien que présentant les principales caractéristiques de la délétion paternelle 20q13.2-q13.3, nous paraît beaucoup moins sévère, notamment sur le plan psychomoteur. Actuellement âgé de 3 ans, il demeure toujours très hypotrophe (poids et taille à -5DS) malgré la prise en charge nutritionnelle, avec un PC toutefois conservé (-0,5DS). La marche latérale avec appui ainsi que les activités constructives sont acquises. Le langage est encore pauvre. Cette observation souligne toutes les difficultés d'interprétation liées à la découverte d'un marqueur excédentaire, incitant à la plus grande prudence, et à la recherche de disomie pour les marqueurs dérivés de chromosomes soumis à empreinte.

Mots-clés : disomie uniparentale maternelle, chromosome 20, troubles succion déglutition.

■P214 / 363. LES COMPLICATIONS OSSEUSES SONT À NE PAS MÉCONNAÎTRE DANS L'ÉVOLUTION DES NEUROPATHIES HÉRÉDITAIRES SENSITIVES ET AUTONOMIQUES AVEC ACROOSTEOLYSE (TYPE 2)

N. Mejean (1), P. Soichot (2), M. Giroud (2), M. Le Merrer (3), G. Beaujat (3), G. Rouleau (4), S. Martellacci (5), A. Masurel-Paulet (1), C. Thauvin (1), L. Faivre (1)

(1) Centre de Génétique, Hôpital d'enfants, CHU de Dijon ; (2) Service de Neurologie, Hôpital général, CHU de Dijon ; (3) Centre de référence des maladies osseuses constitutionnelles, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris ; (4) Centre for Research in Neuroscience, Mc Gill University, Montréal ; (5) Service de Radiologie, Hôpital du Bocage, CHU de Dijon

La neuropathie héréditaire sensitive et autonome de type 2 est une maladie rare, transmise sous le mode autosomique récessif. Elle s'exprime par des troubles sensitifs dans leurs différents modes, dès la petite enfance, touchant initialement la distalité. Des ulcérations et infections aboutissent à l'amputation des extrémités (doigts, orteils). Une dysautonomie est plus inconstante. La localisation du gène HSN2 de la maladie est récente, située sur le chromosome 12 (12p13.33). Nous rapportons le cas d'une jeune fille âgée actuellement de 18 ans, de présentation peu décrite avec complication osseuse amputant significativement le pronostic fonctionnel. Le diagnostic de NHSa de type 2 a été porté à l'âge de 6 ans sur un faisceau d'arguments cliniques, électromyographiques et anatomopathologiques. En effet, il était noté dès l'âge de 3 ans, d'importants troubles de la marche, secondaires à une ataxie sensitive et un affaissement des arches plantaires. L'examen

clinique retrouvait une aréflexie des membres inférieurs, une nette diminution de la sensibilité thermique et du tact épicritique et plus tardivement l'apparition d'une acroostéolyse des mains et des orteils. L'EMG traduisait la présence d'une polyneuropathie axonale à nette prédominance sensitive. La disparition complète des fibres nerveuses myélinisées contrastant avec la relative conservation des fibres non myélinisées était bien visualisée à l'analyse du fragment de biopsie nerveuse. L'évolution était tout d'abord habituelle, marquée par l'extension en proximalité des déficits sensitifs, l'apparition d'une hypersudation des mains, aréflexie étendue aux membres supérieurs, troubles trophiques des mains, flossum des genoux. À l'âge de 17 ans, un traumatisme mineur était par contre responsable de conséquences ostéo-articulaires majeures avec rupture partielle du LCA, lésion du LLI, atteinte du ménisque externe qui sera réséqué lors du bilan arthroscopique. Deux mois après l'épisode, devant la persistance de douleur du genou inhabituelle, l'orthopédiste notait une rupture désormais totale du LCA, une subluxation du genou, une ostéochondropathie sévère avec perte de substance importante du condyle fémoral externe. Aucune amélioration n'a été obtenue malgré l'ostéotomie fémorale de varisation, la plastie de LCA et la plastie du condyle fémoral externe. L'évolution a été par ailleurs péjorative puisque l'importance de la perte osseuse fait envisager un remplacement prothétique du genou, avec un os sous-jacent désormais ostéoporotique, sans anomalie du bilan phosphocalcique notable. Deux autres patients québécois présentent également le même type de symptomatologie, avec arthrodèse du genou et discussion d'une amputation du genou pour l'un d'eux. Les lésions osseuses de cette pathologie ne sont pas classiquement abordées dans la littérature et doivent être prises en compte dans le suivi de ces patients.

Mots-clés : neuropathie sensitive, acroostéolyse, lésions ostéo-articulaires.

■P215 / 375. LES MUTATIONS DU GÈNE *APIS2* SONT ASSOCIÉES À UN RETARD MENTAL SYNDROMIQUE AVEC HYDROCÉPHALIE ET CALCIFICATIONS DES GANGLIONS DE LA BASE

Y. Saillour (1, 2), G. Zanni (1, 2), V. Des Portes (4), D. Heron (5), L. Guibaud (6), M.T. Iba-Zizen (7), J.L. Pedespan (8), K. Poirier (1, 2), C. Julien (1, 2), C. Franconnet (9), D. Bonthron (10), M.E. Porteous (11), J. Chelly (1, 2, 3), T. Bienvenu (1, 2, 3)
(1) Institut Cochin, Université Paris Descartes, CNRS (UMR 8104), Paris, France ; (2) INSERM, U567, Paris, France ; (3) Laboratoire de Biochimie et Génétique Moléculaires, Hôpital Cochin, Paris, France ; (4) Service de neurologie Pédiatrique, Hôpital Debrousse, Lyon, France ; (5) Département de Génétique, GH Pitié-Salpêtrière, Paris, France ; (6) Service de radiologie, Hôpital Debrousse, Lyon, France ; (7) Service de radiologie, Hôpital des Quinze-Vingts, Paris, France ; (8) Service de Neurologie pédiatrique, CHU de Bordeaux, Bordeaux, France ; (9) Cytogénétique Médicale, CHU et Faculté de Médecine, Clermont-Ferrand, France ; (10) University of Edinburgh, Human Genetics Unit, Western General Hospital, Edinburgh, UK ; (11) South east of Scotland genetic Service, Western General Hospital, Crewe Rd, Edinburgh, UK

Le syndrome de Fried, décrit en 1972, est une forme rare de retard mental lié à la région Xp22. Les caractéristiques cliniques sont un retard mental, une dysmorphie faciale, une hydrocéphalie et des calcifications des ganglions de la base. Dans ce travail, nous décrivons une nouvelle grande famille française de retard mental où tous les garçons atteints présentent une symptomatologie clinique similaire à celle décrite par Fried. Une analyse de liaison génétique dans cette famille nous a permis de localiser le gène en Xp22.2 entre les marqueurs DXS7109 et DXS7593 (10,4 Mb) incluant 60 gènes. Vingt deux gènes localisés dans cet intervalle et exprimés dans le cerveau ont été analysés par séquençage direct. Une mutation dans l'intron 3 (c.288+5G>A) du gène *APIS2* a été identifiée dans le cas index de cette famille. Cette mutation ségrège parfaitement dans cette famille avec la maladie. L'analyse par RT-PCR des ARNm extraits de lignées lymphoblastoïdes des garçons atteints montre que cette mutation induit la perte de l'exon 3, aboutissant à la probable synthèse d'une protéine tronquée en position 64. Parallèlement, l'étude de la première famille écosaisie décrite par Fried nous a permis d'identifier une seconde mutation localisée dans l'exon 3 du gène *APIS2* (p.Gln64X). L'analyse radiologique des cerveaux des patients atteints montre la présence de calcifications des ganglions de la base (notamment dans le noyau caudé), similaires à celles préalablement observées par Fried. La présence de cette anomalie radiologique apparaît être un signe essentiel pour la sélection des familles de retard mental susceptibles d'être criblées pour le gène *APIS2*. Références : Strain L, Wright AF, Bonthron DT. Fried syndrome is a distinct X linked mental retardation syndrome mapping to Xp22. J Med Genet. 1997 34(7) :535-40.

Mots-clés : retard mental lié à l'X, *APIS2*, calcifications des ganglions de la base.

■P216 / 378. ALAMUT – LOGICIEL D'AIDE À L'INTERPRÉTATION DE MUTATIONS

A. Blavier, S. Guennou, F. Wolinski
Interactive Biosoftware

Introduction : Les données biomoléculaires accumulées à un rythme croissant sous forme d'annotations génomiques et protéiques constituent aujourd'hui une ressource essentielle pour l'interprétation des nouvelles mutations identifiées, en particulier les faux-sens. Des informations de conservation phylogénétique, de polymorphisme, de structure participent au raisonnement mis en œuvre dans l'analyse de variants non caractérisés, auxquelles s'ajoutent les données engrangées dans les bases locus-spécifiques et dans la littérature. L'exploitation efficace de ces informations constitue un enjeu important pour le diagnostic génétique actuel. **Motivation :** De très nombreuses données moléculaires utiles au diagnostic sont disponibles sur des serveurs publics, mais elles sont disséminées et leurs modalités d'accès et de représentation sont très variables. Il s'ensuit que leur exploitation requiert une connaissance suffisante de leurs particularités et constitue une tâche coûteuse en temps et en manipulations, peu compatible avec l'évolution de la demande et des possibilités du diagnostic moléculaire. Notre objectif a été de créer un système logiciel permettant d'aplanir ces difficultés d'accès. La vocation de ce système étant l'interprétation de mutations, il a été conçu avec deux objectifs supplémentaires : d'une part, l'incorporation de méthodes de calcul prédictives, pour renforcer les capacités d'aide à la décision du système, et d'autre part la prise en compte des normes et pratiques du domaine, en particulier de la nomenclature de l'HGVS. **Description :** En coopération avec le Laboratoire de Génétique Moléculaire du CHU de Rouen, nous avons conçu et réalisé un système logiciel d'intégration et de visualisation de données moléculaires pour l'interprétation de mutations. Son principe central est de rassembler dans un outil cohérent et productif un ensemble d'informations facilement exploitables dans la démarche diagnostique. Ces informations s'appuient sur les grandes bases de données génomiques et post-génomiques publiques. Le système est constitué de deux composants principaux : un logiciel graphique interactif de représentation et de manipulation de données, et un serveur de données intégratif. Ces deux composants communiquent entre eux par le protocole standard HTTP, ce qui permet un déploiement simple du logiciel graphique dans les laboratoires de diagnostic, le serveur étant géré de façon centralisée. Le logiciel est un « navigateur de gènes » incorporant des capacités de prédiction sur les conséquences calculables des mutations, un ensemble de fonctionnalités génériques pour la manipulation de séquences, et une connaissance détaillée de la nomenclature des mutations. **Résultats et discussion :** Le logiciel Alamut a montré sa capacité à accélérer et à améliorer la qualité du processus d'analyse de mutations puisqu'il est maintenant utilisé en routine dans une dizaine de laboratoires de diagnostic en Europe. Son positionnement dans le processus, en aval de l'analyse de séquences, permet de systématiser une phase du diagnostic jusqu'ici encore très peu assistée. Techniquement, Alamut va à contre-pied du « tout Web » qu'offrent la plupart des outils de présentation de données dans le domaine, tels que les navigateurs de génomes. Cependant, Alamut utilise effectivement les technologies du Web, mais avec une architecture et une interactivité qui permet de dépasser les limites des browsers généralistes, qui n'ont pas la capacité de manipuler efficacement des données spécialisées. Sur le plan scientifique, plusieurs méthodes de prédiction de la pathogénicité des mutations faux-sens ont été proposées, telles que PolyPhen, SIFT et Align GVGD. Elles fournissent un résultat qualitatif ou quantitatif, toujours au moins partiellement basé sur la conservation phylogénétique. Alamut, pour sa part, n'est pas un logiciel de scoring des variants mais rassemble des éléments de pathogénicité et les présente à l'utilisateur, qui reste seul à statuer.

Mots-clés : diagnostic, faux-sens, logiciel.

■P217 / 380. SCREENING DU GÈNE *CYP1B1* DANS UNE POPULATION MAROCAINE DE GLAUCOME CONGÉNITAL PRIMITIF

S. Boutayeb (1), H. Shisseh (1), Z. Mellal (2), L. Ressass (2), A. Berraho (2), L. Hilal (1)

(1) Laboratoire de Génétique et Physiologie Neuroendocrinienne, UFR de Génétique et Biologie Moléculaire, Faculté des Sciences, BP 133, Université Ibn Tofail, Kénitra 14000, Maroc ; (2) Département d'Oto-Neuro-Ophthalmologie, Service d'Ophthalmologie B, Hôpital des Spécialités, Rabat, Maroc

Le glaucome congénital primitif (GCP) constitue un groupe hétérogène de maladies oculaires autosomiques récessives, caractérisées par une anomalie du développement de la chambre antérieure de l'œil. Les études de liaison génétique ont montré une hétérogénéité génétique et ont identifié trois loci du GCP. Des mutations du gène *CYP1B1*, localisé en 2p21, sont



à l'origine du GCP dans 85 % de cas familiaux et 25 % de cas sporadiques. Au cours de ce travail, nous avons analysé le gène *CYP1B1* chez 70 familles marocaines de GCP par PCR-digestion pour rechercher deux mutations : la mutation 4339delG qui semble fréquente au Maroc et la mutation G61E fréquente en Arabie Saoudite, et par séquençage direct chez 32 patients parmi ceux qui ne présentent pas ces deux mutations. Ainsi, 22 probands présentent la mutation 4339delG à l'état homozygote chez 18 d'entre eux. Quatre patients sont hétérozygotes composés : 4339delG/G61E, 4339delG/V364M, 4339delG/E173K (2 patients). Trois patients sont homozygotes pour la mutation G61E et un pour la mutation R390S. Un autre patient est hétérozygote pour la mutation R368H, cependant et ne porte pas d'autre mutation dans le second allèle. Les mutations V364M, R368H, R390S, E173K déjà rapportées sont retrouvées pour la première fois au Maroc. La mutation E173K a été très récemment identifiée en Egypte. Nos résultats confirment que la mutation 4339delG est fréquente au Maroc, elle est retrouvée dans 31,5 % des cas (dont 25,7 % à l'état homozygote). Les autres mutations identifiées sont moins fréquentes. Au total nous avons identifié les mutations à l'origine du GCP dans environ 40 % des familles analysées. Les patients (10) non porteurs des mutations 4339delG et G61E restent encore à séquencer. Notre travail suggère que le gène *CYP1B1* est une cause importante de GCP, sera très utile au conseil génétique et permettra un diagnostic précoce de la maladie et prévention de la cécité dans notre pays.

Mots-clés : glaucome congénital primitif, gène *CYP1B1*, conseil génétique.

■P218 / 390. IMPACT PSYCHOLOGIQUE DU TEST GÉNÉTIQUE PRÉDICTIF DANS LES CARDIOMYOPATHIES

M.-L. Babonneau (1), A. Mallet (1), P. Charron (1)
Centre de référence pour les maladies cardiaques héréditaires, Service de génétique, Groupe hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris

Contexte : Les Cardiomyopathies sont des maladies du muscle cardiaque associées à des anomalies structurales et hémodynamiques. L'origine est habituellement génétique avec un mode de transmission essentiellement autosomique dominant et une expression cardiaque volontier retardée. Les personnes « à risque », c'est-à-dire asymptomatiques et dont l'un des apparentés est atteint d'une maladie génétique, peuvent demander à connaître leur statut génétique en réalisant un test prédictif. Ce test génétique prédictif a un impact médical permettant de guider la surveillance cardiologique au sein de la famille. L'impact psychologique de ce test n'a cependant jamais été évalué dans ces maladies. Objectif : Afin d'améliorer la prise en charge globale de ces consultants, une étude prospective sur l'impact psychologique des tests génétiques prédictifs a débuté en mars 2006. Méthode : L'étude est systématiquement proposée aux personnes majeures, a priori phénotypiquement saines, demandeuses d'un test prédictif pour la Cardiomyopathie Hypertrophique (CMH), Dilatée (CMD) ou Ventriculaire Droite Arythmogène (CVDA). Il est nécessaire que la mutation soit préalablement caractérisée au sein de la famille. L'étude est menée en parallèle de la consultation pluridisciplinaire de cardiogénétique, avec 3 entretiens initiaux (cardiologue, conseiller en génétique, psychologue) et un délai de réflexion systématique avant la réalisation du test. À l'aide d'échelles psychométriques, nous avons comparé, avant et après la réalisation du test génétique, les niveaux d'anxiété (Stai Trait, Stai Etat), de dépression (Beck Abrégé), de désespoir (Beck H), d'estime de soi ainsi que l'impact de l'événement (IES), l'évolution de la qualité de vie du consultant (Whoqol 26) et ses motivations à faire le test génétique. Une comparaison pourra également être faite selon les résultats du test génétique (porteurs de la mutation / non-porteurs). Une série d'auto-questionnaires est d'abord distribuée au sortir de la première consultation avec le cardiologue (questionnaire Q1). Puis les mêmes questionnaires sont remplis par les consultants 1 mois (Q2) et 8 mois (Q3) après le rendu de leur résultat (quel qu'il soit). Résultats : Actuellement, 29 personnes ont accepté de participer à notre étude, 19 sont issues de familles de CMH, 6 de familles de CMD et 4 de familles de CVDA. Les résultats préliminaires de cette étude – dont les données concernent actuellement un échantillon restreint – révèlent une tendance à la diminution du niveau d'anxiété réactionnelle à la réalisation du test génétique, quel que soit le résultat du test (porteur ou non porteur). L'analyse des résultats aux autres échelles ne révèle pas de modification avant/après. Conclusion : Nous rapportons la première étude visant à évaluer l'impact du diagnostic prédictif dans les cardiomyopathies. L'inclusion se poursuit mais les résultats préliminaires suggèrent que le test génétique n'accroît pas le niveau d'anxiété avec même une tendance à sa diminution. La poursuite de cette étude prospective sur une plus grande population devrait pouvoir nous aider à évaluer le retentissement psychologique du test génétique prédictif dans les cardiomyopathies.

Mots-clés : diagnostic prédictif, cardiopathie héréditaire, impact psychologique.

M/S hors série n° 1, vol. 24, janvier 2008

■P219 / 395. DE NOUVEAUX GÈNES RESPONSABLES DE LA DYSTROPHIE MUSCULAIRE D'EMERY-DREIFUSS ?

L. Gueneau (1), R. Ben Yaou (1, 2, 3), L. Demay (4), S. Llense (2), M. Trabelsi (2), C. Beugnet (2), N. Deburgrave (2), F. Leturcq (2), J. Chelly (2), P. Richard (4), G. Bonne (1, 4) et Réseau Français « EDMD & autres pathologies de l'enveloppe nucléaire »

(1) Inserm U582, Institut de Myologie, Groupe hospitalier Pitié-Salpêtrière, Université Pierre-et-Marie-Curie-Paris 6, Paris, France ; (2) AP-HP, Groupe hospitalier Cochin, Laboratoire de Génétique Moléculaire, Pavillon Cassini, Paris, France ; (3) Association Institut de myologie (AIM), Groupe hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France ; (4) AP-HP, Groupe hospitalier Pitié-Salpêtrière, UF Myogénétique et Cardiogénétique, service de Biochimie B, Paris, France

Introduction : La Dystrophie Musculaire d'Emery-Dreifuss (EDMD) est une maladie rare, de transmission autosomique ou récessive liée à l'X, associant une atteinte musculaire, des rétractions tendineuses précoces (coudes, tendons d'Achille et rachis) et une cardiomyopathie dilatée associée à des troubles de la conduction et/ou des arythmies fréquemment responsables de mort subite. Des mutations dans 2 gènes, EMD (émerine, Xq28) et LMNA (laminines A/C, 1q21) codant des protéines ubiquitaires de l'enveloppe nucléaire, conduisent à des EDMD. Le gène *LMNA* est par ailleurs impliqué dans 10 autres pathologies, les laminopathies (Broers *et al.* Physiol Rev. 2006). Environ 60 % des patients EDMD ne sont pas porteurs de mutations dans les gènes *LMNA* ou *EMD*, suggérant une hétérogénéité génétique (Bonne *et al.*, NMD 2003). D'autre part, des variants des gènes codant les nesprines 1 et 2 ont été très récemment identifiés chez des patients « EDMD-like » (Zhang *et al.*, 2007 HMG). Notre objectif était d'évaluer, au sein d'un groupe de patients EDMD, la fréquence des mutations des gènes *LMNA* et *EMD*, et caractériser ainsi une cohorte de patients éligibles pour la recherche de nouveaux gènes. Matériel et méthodes : Nous avons revu les données cliniques d'une cohorte de 2200 patients criblés pour les gènes *LMNA* et/ou *EMD* tous phénotypes confondus. Les critères d'inclusion de notre cohorte EDMD sont la coexistence d'une atteinte musculaire huméro-péronéale ou proximale ou diffuse, de rétractions tendineuses précoces des membres et au niveau cardiaque des troubles de conduction et arythmies avec ou sans cardiomyopathie dilatée. Les gènes *LMNA* et *EMD* ont été analysés par DHPLC/séquençage avec pour *EMD* une analyse préalable de l'expression protéique de l'émerine (western-blot (WB) et/ou immuno-fluorescence (IF)). Sur la cohorte de patients non mutés dans les gènes *EMD* et *LMNA*, nous avons sélectionné plusieurs familles informatives pour un génotypage complet en faisant un tour de génome sur puce affymétrie SNP 250K. Résultats : Nous avons identifié 660 patients présentant un EDMD correspondant à nos critères d'inclusions. 176 patients étaient porteurs de mutations *LMNA* et 52 patients porteurs de mutations *EMD* détectées suite à une expression anormale de l'émerine. Aucune mutation de ces 2 gènes n'a été identifiée pour 432 patients EDMD (65 %). Parmi ces derniers, 28 patients (7 %) se sont avérés être mutés dans d'autres gènes, certaines caractéristiques cliniques de l'EDMD (distribution de la faiblesse/atrophie musculaire, rétractions tendineuses) pouvant être rencontrées dans plusieurs autres myopathies (myopathies des ceintures, dystrophies musculaires congénitales, myopathies liées à des anomalies du collagène VI...). L'analyse du gène *EMD* chez 96 patients compatibles avec une forme liée à l'X et pour lesquels le western blot était normal, n'a identifié aucune mutation de ce gène. Nous avons ainsi caractérisé une cohorte de 404 patients éligibles pour la recherche de nouveaux gènes pour l'EDMD. Cette cohorte comprend 39 % de cas isolés, 21 % de cas familiaux et 33 % de cas où la transmission n'est pas complètement documentée. Six familles informatives sont en cours de génotypage. En parallèle, nous allons séquencer différents gènes candidats à expression musculaire ou qui interagissent avec les laminines A/C et/ou l'émerine sur l'ensemble de la cohorte. Conclusion : Notre étude systématique des patients EDMD, révèle la part respective des mutations des gènes *LMNA* (27 %) et *EMD* (8 %), le nombre important de patients orphelins de diagnostic moléculaire (65 %) ainsi que la complexité de diagnostic différentiel due à la multiplicité des pathologies ressemblant cliniquement à l'EDMD incitant à un diagnostic précis et prudent de cette affection. Nous confirmons par ailleurs, que l'analyse protéique de l'émerine (IF $\pm$ WB) reste un outil diagnostique très performant pour détecter des mutations *EMD*, les mutations non nulles dans ce gène restant extrêmement rares.

Mots-clés : dystrophie musculaire d'Emery-Dreifuss, hétérogénéité génétique, épidémiologie.

■P220 / 396. LE SYNDROME D'EHLERS-DANLOS DE TYPE VIII EST UNE ENTITÉ NOSOLOGIQUE À PART ENTÈRE

J. Perdu (1, 2, 3), D. Molière (1), N. Le Potier (2), A.P. Gimenez-Roqueplo (2, 3), J.N. Fiessinger (1, 4), X. Jeunemaitre (1, 2, 3), P. Bouchard (5)

(1) Centre National de Référence des Maladies Vasculaires Rares ; (2) Département de Génétique, HEGP, APHP, Paris ; (3) INSERM U772, Collège de France, Paris ; (4) Service de Médecine Vasculaire, HEGP, APHP, Paris ; (5) Département de Parodontologie, Garancière, Hôtel-Dieu, APHP, Paris

Introduction : Le syndrome d'Ehlers-Danlos de type VIII (OMIM 130080) est une maladie rare (45 cas publiés en 2006) à tel point que son existence est remise en doute dans la classification de Villefranche-sur-mer qui en fait une variété de forme classique avec friabilité parodontale, et dans la littérature où elle est volontiers considérée comme une forme vasculaire atypique. Son mode de transmission est autosomique dominant et le seul travail de cartographie l'a associée à un locus de 7 cm en 12p13. Description clinique : Une patiente de 48 ans nous est adressée pour bilan d'un syndrome d'Ehlers-Danlos de forme vasculaire. Ses antécédents sont marqués par une tendance ecchymotique précoce avec surinfection d'hématomes des membres inférieurs et par la survenue dès l'âge de 12 ans d'une alvéolyse sévère localisée faisant évoquer une parodontite sévère localisée de l'enfant devant la topographie des dents manquantes. L'interrogatoire trouve la notion d'un pied bot à la naissance, d'une rupture ligamentaire de la cheville gauche traitée chirurgicalement à 20 ans et d'une rupture des tendons des ailerons rotuliens gauches à 21 ans. L'examen de l'arbre généalogique ne trouve pas d'argument pour l'atteinte d'un apparenté chez cette fille unique ni d'argument pour une forme vasculaire. L'examen clinique montre une patiente pesant 95 kg et mesurant 156 cm. La peau est d'élasticité, de consistance et de transparence normale. La cicatrisation des plaies est retardée avec élargissement secondaire des cicatrices. Le morphotype ne montre aucun élément acrogérique hormis des lèvres peu ourlées et des yeux discrètement globuleux. La patiente se plaint de douleurs et de saignements au brossage. L'examen endobuccal met en évidence l'absence de 8 dents intéressant les secteurs molaires maxillaires et incisif mandibulaire ainsi qu'une inflammation gingivale marquée associée à la présence de plaque bactérienne modérée. Le sondage parodontal permet d'établir le diagnostic de parodontite chronique généralisée, confirmé radiographiquement par la présence d'une alvéolyse généralisée intéressant 25 à 50 % de la hauteur radiculaire. Les freins labiaux et lingual sont présents, la luette et le palais normaux. L'examen des membres inférieurs montre l'absence de varices mais des hématomes surinfectés à différents stades, les plus évolués prenant la forme de plaques pré-tibiales brunes et atrophiques. Les hématomes ne sont jamais spontanés mais le moindre choc est responsable de plaies à l'emporte-pièce difficilement suturables en raison de la friabilité cutanée. La patiente se dit polyalgique particulièrement au niveau des membres supérieurs sans horaire précis et la pression des masses musculaires déclenche la douleur. Le bilan articulaire montre des douleurs intermittentes des articulations temporo-mandibulaires associée à un bruxisme diurne. Le score de Beighton est à 1/9. Un échodoppler veineux confirme l'absence d'incontinence veineuse. Diagnostic différentiel : L'hypothèse peu probable d'une forme vasculaire est définitivement écartée par l'absence de mutation du cDNA de COL3A1. Les autres causes de parodontopathie juvénile sont également éliminées. Conclusion : Le syndrome d'Ehlers-Danlos de type VIII est une entité rare mais bien démembrée nosologiquement associant une gingivite chronique juvénile agressive entraînant la destruction progressive du parodonte avec perte de l'os alvéolaire et disparition complète de la dentition chez l'adulte dans sa troisième décennie. S'y associe la constitution d'hématomes sur les faces pré-tibiales avec surinfection et retard de cicatrisation. Ces lésions laissent des cicatrices brunâtres atrophiques, rarement papyracées. L'hyperlaxité articulaire est modérée souvent limitée aux doigts. L'hyperextensibilité cutanée est minime, la peau parfois douce. Au plan morphotypique a été décrite une forme marfanoïde et un aspect général prématurément vieilli associé à des contractures douloureuses des membres.

Mots-clés : syndrome d'Ehlers-Danlos de type VIII, parodontite agressive localisée, parodontite chronique généralisée, cicatrices pré-tibiales brunâtres atrophiques.

■P221 / 407. ANALYSE CLINIQUE ET GÉNÉTIQUE AU COURS DU SYNDROME D'EHRLERS DANLOS VASCULAIRE

A. Remenieras (1), H. Plauchu (2), P. Khau Van Kien (3), D. Molière (4), N. Le Pottier (1), AP. Gimenez-Roqueplo (1, 5), JN. Fiessinger (4, 6), X. Jeunemaitre (1, 4, 5), J. Perdu (1, 4, 5)

(1) Département de Génétique, HEGP ; (2) Service de Génétique, Hôtel-Dieu, Lyon ; (3) Service de Génétique, Montpellier ; (4) Centre National de Référence des Maladies Vasculaires Rares, HEGP ; (5) INSERM U772, Collège de France ; (6) Service de Médecine Vasculaire, HEGP

Introduction : Le Syndrome d'Ehlers-Danlos vasculaire (SEDv) (anciennement type IV, OMIM 130050) est une maladie génétique rare de transmission autosomique dominante. Le diagnostic peut être suspecté

cliniquement devant un tableau associant des complications vasculaires, digestives, obstétricales et à un moindre degré cutanées ou articulaires. La classification de Villefranche-sur-mer décrit 6 critères majeurs et 10 critères mineurs. La mise en évidence de lésions artérielles par des méthodes d'imagerie non invasive peut venir étayer une telle suspicion mais seule la mise en évidence d'une mutation du gène COL3A1 codant pour le pro-collagène III pose le diagnostic de certitude de SEDv. Patients et méthodes : À partir d'une cohorte de sujets examinés lors de la consultation mise en place dans le cadre du Centre National de Référence des Maladies Vasculaires Rares de l'HEGP (<http://www.maladiesvasculairesrares.com>), nous avons sélectionné 50 sujets pour lesquels la recherche de mutation était positive. Chacun des patients avait par ailleurs été exploré par un angioscanner thoracoabdominopelvien à la recherche de lésions restées asymptomatiques. Une fiche standardisée a été créée pour recueillir d'une part les critères majeurs et mineurs, et d'autre part le détail des complications. La recherche de mutation génique a été réalisée à partir de différents prélèvements (ADNc extraits à partir de culture de fibroblastes dermiques, ADN génomique). Les phénotype n'était mise en évidence. Par ailleurs, les mutations C terminales n'étaient pas associées à un phénotype plus sévère comme cela avait été suggéré auparavant, pas plus que les mutations situées dans la triple hélice en dehors du domaine protéique central.

Mots-clés : syndrome d'Ehlers-Danlos vasculaire, corrélations génotype/phénotype, imagerie artérielle non-invasive.

■P222 / 418. LES SYNDROMES MARFANOÏDES DE SHPRINTZEN-GOLDBERG ET DE LOEYS-DIETZ : UN REGISTRE DE PATIENTS POUR DES SYNDROMES VOISINS DE PRONOSTIC GRAVE

A. Putoux (1), A. Topa (1), S. Douchin (2), S. Dupuis-Girod (1), D. Gamonides (3), P. Khau Van Kien (4), C. Boileau (5), P.S. Jouk (6), P. Ederly (7), H. Plauchu (1)

(1) Service de Génétique Médicale, CHU de Lyon ; (2) Service de Cardiologie Pédiatrique, CHU de Grenoble ; (3) Service de Radiologie, CHU de Lyon ; (4) Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHU de Montpellier ; (5) Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHU Ambroise Paré-Paris ; (6) Service de Génétique Médicale, CHU de Grenoble ; (7) Centre de Référence Anomalies du Développement, CHU de LYON

Introduction : Les syndromes de Shprintzen-Goldberg (SGS) et de Loey-Dietz (LDS) sont deux syndromes marfanoïdes, encore appelés « Marfans syndromiques », c'est-à-dire associant des signes de maladie de Marfan et des signes spécifiques à chacun : crâniosténose pour les SGS, atteintes vasculaires dans d'autres territoires que l'aorte avec tortuosité artérielle pour les LDS. Ces syndromes peuvent comporter des éléments dysmorphiques (hypertélorisme, luette bifide) et un retard mental. Leur similitude rend parfois très difficile un diagnostic en faveur de l'un ou de l'autre, faisant se poser la question d'une seule et même entité clinique d'expressivité variable. On retrouve le plus souvent dans ces 2 syndromes des mutations dans le gène du TGFβ2R2, gène par ailleurs impliqué dans environ 15 % des Marfan purs. Quelques mutations de FBN1 dans les SGS et de TGFβ2R1 dans le LDS sont également décrites. Une soixantaine de cas de SGS (1^{re} description en 1981) et une cinquantaine de LDS (décrits depuis 2005) sont recensées dans la littérature internationale. Nous avons récemment eu l'occasion de voir dans notre centre 4 enfants ayant des caractéristiques de ces 2 pathologies, ce qui nous laisse supposer que ces syndromes sont largement sous-diagnostiqués. Il est pourtant essentiel de les reconnaître puisque leur pronostic est beaucoup plus péjoratif que les Marfan purs et nécessite une surveillance et une prise en charge plus agressive. En effet, leur caractéristique est la précocité d'apparition de la dilatation aortique et la possibilité de dilatations dans d'autres territoires, dont la gravité est liée à leur évolution imprévisible. Nous présenterons les caractéristiques de ces 4 cas qui illustrent bien la diversité phénotypique et la variabilité des gènes impliqués. Objectifs : L'objectif de notre travail est la réalisation d'un registre national des patients atteints de ces syndromes marfanoïdes par le biais d'une étude prospective épidémiologique et descriptive recensant l'incidence, les critères cliniques, paracliniques et les anomalies moléculaires retrouvées. Matériel et Méthode : Nous avons élaboré une fiche de consultation destinée aux cliniciens, permettant de lister les critères diagnostiques de ces syndromes et de recenser les éléments propres à chaque patient. Cette fiche sera adressée à tous les centres de Génétique de France afin de collecter les données. Perspectives : Les données de cette étude aboutiront dans un deuxième temps à l'élaboration d'un protocole de prise en charge concernant ces Marfan syndromiques en insistant sur les investigations paracliniques et sur la conduite à tenir thérapeutique. Ce protocole couvrira les indications chirurgicales de l'aorte et celles concernant les anomalies vertébrales et orthopédiques des extrémités. Conclusion : Le manque de connaissance et la variabilité clinique



de ces syndromes conduit à une sous-estimation des cas et à une prise en charge insuffisante de ces patients souvent très jeunes et présentant des atteintes vasculaires graves. Le pronostic est pourtant conditionné par une bonne surveillance vasculaire et une prise en charge chirurgicale optimale. Or, il n'existe actuellement aucun consensus et une proportion non négligeable de ces patients décèdent brutalement dans l'enfance sans avoir accédé à une chirurgie. Notre travail devrait permettre, par la mise en place d'un registre national de patients, de définir des consensus afin d'améliorer cette prise en charge.

Mots-clés : syndromes marfanoides, registre de patients, pronostic vasculaire.

■P223 / 421. LE SYNDROME DE MOWAT-WILSON : PREMIÈRE OBSERVATION MAROCAINE AVEC UNE NOUVELLE MUTATION DU GÈNE *ZFH1B*

I. Ratbi (1), S. Chafai Elalaoui (1), F. Dastot-Le Moal (2), M. Goossens (2), I. Cherkaoui Jaouad (1), I. Giurgea (2), A. Sefiani (1)
(1) Département de Génétique Médicale, Institut National d'Hygiène, 27 Avenue Ibn Batouta, Rabat, Maroc ; (2) Service de Biochimie et Génétique, AP-HP et INSERM U841, Équipe 11, Hôpital Henri Mondor, 94010 Créteil, France

Le syndrome de Mowat-Wilson (OMIM#235730) est une anomalie complexe du développement caractérisée par une dysmorphie faciale particulière, un retard psycho-moteur, une épilepsie et une série de signes cliniques variés. Ces anomalies incluent une microcéphalie, une hypotonie, des malformations uro-génitales en particulier un hypospadias, cardiaques, une constipation chronique ou maladie de Hirschsprung, et une agénésie du corps calleux. La majorité des patients rapportés dans la littérature sont d'origine d'Europe du Nord et d'Australie. Le mode de transmission est de type autosomique dominant, et toutes les mutations rapportées sont survenues de novo. Le phénotype est causé par des mutations du gène *ZFH1B* (*SMAD11*) en 2q22. Nous rapportons l'observation d'un patient marocain, âgé de 2 ans et demi, né d'un mariage consanguin, ayant une dysmorphie faciale particulière avec un retard des acquisitions psychomotrices, des crises convulsives, un phénotype comportemental « joyeux » et une agénésie du corps calleux. Devant ce tableau clinique, le syndrome de Mowat-Wilson a été suspecté, et confirmé par l'étude moléculaire du gène *ZFH1B*, qui a mis en évidence une nouvelle mutation hétérozygote de novo c.1165A>T (p.Lys389X) de l'exon 8 chez le propositus. Ce résultat nous a permis de rassurer ce couple sachant que la mère du patient était enceinte de 8 mois. Elle a donné naissance à une fille saine.

Mots-clés : syndrome de Mowat-Wilson, consanguinité, gène *ZFH1B*.

■P224 / 422. DYSPLASIE ÉPIPHYSAIRE ET MÉTAPHYSAIRE ATYPIQUE AVEC AVANCE DE MATURATION OSSEUSE ET DÉFORMATIONS SÈVÈRES DES MEMBRES INFÉRIEURS

A. Dieux-Coëslier (1), L. Zylberberg (2), C. Silve (3), D. Fron (4), S. Manouvrier-Hanu (1), M. Le Merrer (5)
(1) Service de Génétique Clinique, Hôpital Jeanne de Flandre, CHRU de Lille ; (2) CNRS SRE 2696, Paris VII ; (3) INSERM U 426, Hôpital Bichat, Paris ; (4) Service de Chirurgie Pédiatrique et Orthopédie, CHRU de Lille ; (5) Département de Génétique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris

Introduction : Nous présentons l'observation d'un enfant de 8 ans, suivie depuis la période néonatale, présentant une forme particulière de dysplasie épiphysaire, avec atteinte métaphysaire modérée, avance de maturation osseuse, déformations sévères des membres inférieurs et ralentissement de la croissance staturale. Malgré les aspects histologiques particuliers mis en évidence à l'examen du cartilage, le diagnostic exact du type de cette dysplasie épiphysaire sévère demeure inconnu. Observation : Cette petite fille est l'aînée de la fratrie, il n'existe pas de consanguinité parentale, l'histoire familiale est négative. En période néonatale, elle présentait un retard de croissance avec micromélie, de début anténatal. L'évolution était marquée par un retard statural modéré, avec une décélération progressive de la vitesse de croissance (taille à -3 DS actuellement), mais des déformations sévères, asymétriques et récidivantes des membres inférieurs nécessitant une prise en charge chirurgicale. Une limitation de l'extension des coudes, une clinodactylie du 2^e doigt et un palais ogival étaient également notés. Il n'existait pas d'atteinte sensorielle, ni des phanères, le développement psychomoteur était normal. Radiologiquement, les métaphyses apparaissaient évasées et irrégulières, associées à une ossification précoce et irrégulière des épiphyses, devenant hypertrophiques et déformées, surtout aux membres inférieurs. L'avance de maturation osseuse était également marquée au niveau du carpe. Il n'était pas noté d'atteinte rachidienne. Sur le plan biologique, le bilan phospho-calcique était normal.

L'étude du gène *PTH1R*, réalisée en raison de similitudes radiologiques avec la dysplasie de Jansen, ne révélait pas d'anomalie. L'étude histologique du cartilage montrait en microscopie électronique un aspect très inhabituel avec une transdifférentiation des chondrocytes, sécrétant des fibres épaisses correspondant à des fibres de collagène de type I. Conclusion : Cet aspect histologique particulier apparaît corrélé aux données radiologiques (zones d'ossifications précoces et ectopiques dans le cartilage), mais le diagnostic exact du type de cette forme particulière de dysplasie épiphysaire demeure inconnu.

Mots-clés : dysplasie épiphysaire, cartilage, chondrocyte.

■P225 / 439. LE SYNDROME DE MARFAN PÉDIATRIQUE ET LA FAIBLE SENSIBILITÉ DES CRITÈRES DE GHENT DANS L'ENFANCE : À PARTIR D'UNE ÉTUDE INTERNATIONALE DE 320 PROBANTS DE MOINS DE 18 ANS

A. Masurel Paulet (1), G. Collod-Beroud (2), C. Stheneur (3), B. Chevalier (3), B.L. Loeys (4), A. Child (5), C. Binquet (6), E. Gautier (6), B. Callewaert (4), E. Arbustini (7), K. Mayer (8), M. Arslan-Kirchner (9), C. Beroud (10), C. Bonithon-Kopp (6), M. Claustres (10), H. Plauchu (11), L. Adès (12), J. De Backer (4), P. Coucke (4), U. Francke (13), A. De Paepe (4), C. Boileau (14), G. Jondeau (15), L. Faivre (1)
(1) Centre de Génétique, CHU Dijon, France ; (2) INSERM, U827, Montpellier, France ; (3) Service de Pédiatrie, Hôpital Ambroise Paré, APHP, Paris, France ; (4) Center for Medical Genetics, Ghent University Hospital, Belgium ; (5) Department of Cardiological Sciences, St. George's Hospital, London, UK ; (6) Centre d'investigation clinique - épidémiologie clinique/essais cliniques, CHU, Dijon, France ; (7) Molecular Diagnostic Unit, Policlinico San Matteo, Pavia, Italy ; (8) Center for Human Genetics and Laboratory Medicine, Martinsried, Germany ; (9) Institut für Humangenetik, Hannover, Germany ; (10) Laboratoire de Génétique Moléculaire, Hôpital Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France ; (11) Service de Génétique, Hôtel Dieu, Lyon, France ; (12) Marfan Research Group, The Children's Hospital at Westmead, Sydney, Australia ; (13) Departments of Genetics and Pediatrics, Stanford University Medical Center, USA ; (14) Laboratoire de Génétique moléculaire, Hôpital Ambroise Paré, Boulogne, France ; (15) Centre de Référence Maladie de Marfan, Hôpital Bichat, Paris, France

À partir du recrutement de 1013 probants génotypés porteurs d'un syndrome de Marfan ou d'une fibrillinopathie de type I dans le but d'une étude de corrélation phénotype-génotype, nous avons mis à profit les données cliniques à disposition pour 1) mieux décrire le syndrome de Marfan dans l'enfance et 2) évaluer la fréquence de la positivité des critères de Ghent pour le diagnostic de syndrome de Marfan chez l'enfant. En effet, ces critères diagnostiques sont les mêmes chez l'enfant et l'adulte alors qu'il a été démontré que l'apparition des signes spécifiques du syndrome de Marfan sont âge-dépendants. Néanmoins, porter ce diagnostic est important en terme de suivi des patients et de mise en place d'un traitement visant à prévenir la survenue d'une dilatation de l'aorte. Au total, dans notre cohorte, 320 patients étaient âgés de moins de 18 ans au dernier suivi (11 % dans la tranche d'âge 0 - <2 ans, essentiellement représentés par des syndromes de Marfan néonataux, 38 % 2 - <10 ans et 51 % 10 - <18 ans). Parmi ceux-ci, 71 % présentent une dilatation de l'aorte ascendante, 55 % une ectopie du cristallin et 28 % une implication majeure du système squelettique. La fréquence de la majorité des signes cliniques augmentent avec l'âge (implication majeure du système squelettique, vergetures, ectasie durable et présence d'antécédents familiaux), bien que la fréquence des signes cardiaques soit plus importante dans le groupe d'âge 0-2 ans. Seuls 56 % des patients d'âge pédiatrique répondent aux critères de Ghent cliniques, c'est-à-dire sans tenir compte de la présence d'une mutation *FBN1* comme critère majeur, contre 79 % dans la cohorte adulte. Ce pourcentage est d'autant plus faible que le patient est jeune (24 % des 0 - <2 ans remplissent les critères de Ghent cliniques contre 54 % des 2 - <10 ans et 64 % des 10 - <18 ans). Si l'on tient compte de la présence de la mutation de *FBN1*, 85 % des patients de la cohorte pédiatrique totale remplissent les critères de Ghent, soit un apport diagnostique supplémentaire de 29 %. Cet apport diagnostique supplémentaire est d'autant plus important que l'enfant est jeune (65 % dans le groupe 0-<2 ans, 29 % dans le groupe 2 - <10 ans et 21 % dans le groupe 10 - <18 ans). En conclusion, la recherche de mutation *FBN1* apparaît justifiée chez les enfants présentant seulement une atteinte majeure d'un système et une implication mineure d'un autre système dans un but d'éviter une perte de vue et une perte de chance de mise en place d'une thérapeutique préventive précoce.

Mots-clés : syndrome de Marfan, Critères de Ghent, *FBN1*.

■P226 / 441. LES DÉFICITS DE SYNTHÈSE ET DE TRANSPORT DE LA CRÉATINE : DIAGNOSTIC ET TRAITEMENT SUR UNE SÉRIE DE 7 PATIENTS

V. Valayannopoulos (1), N. Boddaert (2), N. Bahi-Buisson (3), A. Philippe (4), A. Chabli (5), G. Salomons (6), C. Jacobs (6), A. Munnich (4), P. de Lonlay (1)

(1) Unité de Métabolisme ; (2) Radiologie Pédiatrique ; (3) Neuropédiatrie ; (4) INSERM U 781 et Service de Génétique ; (5) Biochimie B ; Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris ; (6) Biochimie Métabolique, VU University Medical Center, Amsterdam, Pays-Bas

Les déficits enzymatiques de la biosynthèse (déficits en AGAT et GAMT) et du transport intracérébral de la créatine (gène *SLC6A8*) sont responsables d'un retard des acquisitions psychomotrices prédominant sur le langage, des troubles psychiatriques de type autistique, une épilepsie pharmacorésistante et une dystonie. Le diagnostic est suspecté à la spectroscopie-RMN (SRM) devant un pic de créatine effondré. Le dosage du guanidinoacétate (GUAC), de la créatine et de la créatinine dans les urines et le plasma oriente vers un déficit enzymatique ou vers un défaut du transport intracérébral. Le diagnostic de certitude est enzymologique pour les déficits de synthèse, et par étude fonctionnelle de l'incorporation de la créatine dans les fibroblastes en culture pour les défauts du transport intracérébral. Le diagnostic moléculaire est possible dans tous les cas. Les déficits de synthèse sont transmis sur un mode récessif autosomique alors que le déficit du transport intracérébral est lié au chromosome X. Nous présentons 2 patients issus de la même fratrie, porteurs d'un déficit en GAMT et 5 patients (3 garçons et 2 filles) porteurs d'un déficit de transport de la créatine. Le diagnostic a été fait devant les anomalies biochimiques sus-citées et un pic de créatine effondré à la SRM, sauf pour les 2 filles avec un déficit du transporteur où il était simplement diminué. Les 2 premiers se présentent avec un retard mental sévère avec troubles du comportement et une épilepsie pharmacorésistante. Ils ont été traités par la créatine orale pendant 3 ans avec une efficacité spectaculaire sur l'épilepsie, une normalisation du pic de créatine intracérébral, mais une persistance des troubles du comportement à un degré moindre. Ils reçoivent actuellement un traitement par ornithine à forte dose, dans le but de réduire les taux de GUAC qui est toxique pour le cerveau. Les patients porteurs d'un déficit du transporteur de la créatine se sont présentés avec un retard non spécifique, prédominant sur le langage, et des traits psychiatriques (autistiques ou psychotiques). Un patient avait un tableau myopathique associé. Tous ont été traités par la créatine orale, associée à ses précurseurs L-Arginine et L-Glycine qui traversent la barrière hémato-méningée. Les résultats de 2 ans de traitement chez 2 d'entre eux n'ont pas montré d'amélioration franche, ni clinique ni du pic de créatine intracérébrale. En conclusion, notre expérience avec les déficits de synthèse et de transport de la créatine suggère la réalisation systématique d'une spectro-RMN cérébrale chez tous les patients porteurs de retards mentaux non spécifiques, associés à des traits autistiques ou psychiatriques, une épilepsie et/ou une dystonie. La réponse au traitement est favorable seulement en cas de défaut de synthèse de la créatine.

Mots-clés : déficit en créatine, spectroscopie-RMN, traitement.

■P227 / 442. SYNDROME DE MARINESCO-SJOEGREN AVEC DÉPLÉTION MITOCHONDRIALE

P. Bitoun (1A) ; E. Pipiras (1B) ; B. Benzacken (1B) ; P. Delonlay (2) ; J. Gaudelus (1C)

(1A) Génétique Médicale ; (1B) Embryo Cyto Génétique et BDR ; (1C) Pédiatrie Hôpital Jean-Verdier Bondy ; (2) Service de Maladies Métaboliques, Hôpital Necker, Paris

Les auteurs rapportent l'observation d'un jeune de 14 ans avec des antécédents de cataracte congénitale bilatérale opérée associée à des difficultés scolaires, une dysmorphie faciale et une hypotrophie. Il a un frère et une sœur sains. Une IRM cérébrale vers 10 ans montre une leucodystrophie avec des hétérotopies non nodulaires. Il présente vers 12 ans plusieurs épisodes de pyélonéphrite infectieuse avec reflux vésico rénal. Une dysarthrie apparaît puis vers 13 ans un épisode d'ataxie aiguë avec impotence totale à la marche. L'IRM montre une atrophie cérébelleuse et leucodystrophie touchant aussi le cervelet. Il n'y a pas de rhabdomyolyse et la biopsie musculaire est normale. Un diagnostic de syndrome de Marinesco-Sjoegren est envisagé ; la recherche de mutation du gène *SIL1* est négative. La biopsie hépatique montre un syndrome de déplétion mitochondriale. Discussion : Le syndrome de Marinesco-Sjoegren est une maladie autosomique récessive récemment rattachée à des mutations du gène *SIL1* et serait donc lié à une dysfonction du réticulum endoplasmique et dans de rares cas avec rétention des chylomicrons au gène *SAR1B/SARA2*. Il semble pour notre patient s'agir alors d'une atteinte mitochondriale et une recherche de mutation de la polymérase Gamma 1 responsable de la

réplication de l'ADN mitochondrial (*POLG1*) est en cours. De nombreux patients rapportés avec mutation de *POLG1* présentent une ophtalmoplégie et aucun patient n'ayant à ce jour été rapporté avec cataracte. L'aggravation des symptômes en période pubertaire de croissance rapide doit faire évoquer une carence énergétique et rechercher une étiologie mitochondriale.

Mots-clés : cataracte, cervelet, mitochondrie.

■P228 / 444. EXPLORATION DES TÉLOMÈRES PAR MLPA DANS LES RETARDS MENTAUX ET LES MALFORMATIONS FÉTALES

R. Touraine (1), A. Combes (1), M.F. Gilet (1), B. de Fréminville (1), M. Till (2), D. Sanlaville (2), P. Edery (2), P.S. Jouk (3), F. Prieur (1)

(1) Service de Génétique, CHU de Saint Etienne ; (2) Service de Génétique, Centre de Biologie et Pathologie Est, CHU de Lyon ; (3) Service de Génétique, CHU de Grenoble

Introduction : Les anomalies cryptiques des régions télomériques sont une cause fréquente de retard mental. Dans l'exploration des retards mentaux, une première approche est de suspecter une anomalie spécifique selon les données cliniques, une deuxième approche est de tester systématiquement toutes les régions sous-télomériques. Pour ce faire, l'étude en FISH multitélomères consomme beaucoup de temps et détecte mal les duplications. À la place, nous utilisons depuis plus de deux ans la méthode de MLPA (société MRC-Holland). Matériel et Méthodes : Chaque échantillon d'ADN est testé avec deux kits (P070 et P036B, actuellement P070 et P036C) en parallèle. Nous avons étudié plus de 450 cas dont 40 fœtus. Il s'agit de patients présentant un retard mental, le plus souvent associé à des signes dysmorphiques ou des malformations, mais pas toujours. Les fœtus étudiés sont des fœtus interrompus pour syndrome malformatif ou polymalformatif (anomalies de fermeture du tube neural exclues). Dans tous les cas, le caryotype standard était normal et aucun autre diagnostic syndromique n'était établi. Résultats : Une seule anomalie fœtale est suspectée, une délétion 15q (confirmation cytogénétique non possible par absence de matériel), représentant 2,5 % des fœtus étudiés. Ceci confirme le caractère souvent pauci malformatif de ces anomalies cryptiques. En dehors des fœtus, sur plus de 400 cas de retard mental, cette méthode de MLPA nous a permis d'identifier 19 anomalies certaines et vérifiées par FISH (5 %). En bref, il s'agit de : M1p, M3q, M4q, M4qT15q, M5pT17p, M6pT22q, M6qT8q, M7pT9p, M9p, M9p, M9pT18p, M9pTXq, M9q, M9qT1p, M10q, M10qT15q, M15q, M17p, T17q. Par ailleurs, nous avons détecté un certain nombre de polymorphismes, transmis par un parent asymptomatique. Enfin, certaines « trisomies » isolées, non confirmées en FISH, sont en cours d'exploration complémentaire. Discussion : De façon inattendue, 4 anomalies comportent une monosomie 9p et 3 autres impliquent le 15q. Également, nous avons identifié 2 monosomies 4q et 2 monosomies 10q. Sur 9 anomalies n'impliquant qu'un télomère, il y a 8 délétions et 1 duplication. Sur 9 translocations déséquilibrées : 4 sont de novo, 4 transmises, et 1 d'origine non déterminée. Enfin, 1 cas de monosomie 9p a été transmis par la mère (qui a un RM limite). Un des défauts de cette technique de MLPA est sa sensibilité aux interférences, qui entraîne un nombre assez élevé de repassage pour mauvaise qualité (environ 25 %). Il est important de souligner que certaines anomalies ne furent détectées qu'avec un seul kit : 1 M9p non vue avec P036B, 1 TXq non vue avec P036B, 1 T18p non vue avec P070 et 1 M22q très distale non vue avec P070. L'utilisation en parallèle des deux kits nous paraît donc souhaitable. Enfin, la détection de duplication isolées en MLPA, pose un problème de confirmation et d'interprétation qui nécessite un prélèvement des deux parents. En conclusion, cette méthode de dépistage des anomalies cryptiques sous-télomériques est efficace, rapide et elle est peu onéreuse.

Mots-clés : retard mental, télomères, MLPA.

■P229 / 445. ÉTUDE NEUROCOMPORTEMENTALE ET EN IMAGERIE CÉRÉBRALE

A. Philippe (1), N. Boddaert (2), L. Vaivre-Douret (3, 4), L. Robel (3), L. Danon-Boileau (5), C. Fortin (3), H. Piana (3), V. Malan (1), O. Raoul (1), M.-C. De Blois (1), M. Prieur (1), V. Cormier-Daire (1), S. Lyonnet (1), B. Benzacken (6), D. Heron (7), B. Golse (3), M. Vekemans (1), M. Zilbovicius (2), A. Munnich (1)

(1) INSERM U781 et Département de Génétique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, AP-HP, Paris ; (2) INSERM URM 0205, CEA, Orsay ; (3) INSERM U669 et Service de Pédiopsychiatrie, Hôpital Necker-Enfants Malades, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris AP-HP, Paris ; (4) Université Paris 11, Paris ; Université Paris 5, UMR-S0669, Paris ; Université Paris 10, Nanterre et Service de Gynécologie et Obstétrique, AP-HP, Paris ; (5) CNRS UMR 7114, Paris ; (6) Service d'Histologie Embryologie Cytogénétique et Biologie de la Reproduction, Hôpital Jean-Verdier, Bondy ; (7) Département de



Génétique, Hôpital de la Pitié-Salpêtrière, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris AP-HP Paris

Objectif : La délétion 22q13.3 (MIM 606232) est responsable d'un trouble du développement associant une hypotonie, une atteinte sévère du développement du langage, un comportement autistique et des signes physiques mineurs. Cette délétion reste difficile à diagnostiquer cliniquement à cause du manque de spécificité de ces symptômes. Le but de notre étude était de décrire les manifestations neuro-comportementales et les anomalies à l'IRM cérébrale afin de préciser les caractéristiques de ce syndrome micro-délétionnel. **Méthode :** Nous avons évalué le développement neuromoteur, cognitif, du langage et de la communication, et des compétences sociales chez 8 enfants âgés de 5 à 8 ans, suivis pendant 4 ans et porteurs d'une délétion 22q13.3 variant de 150 Kb à 9 Mb. Une IRM cérébrale et une étude des débits sanguins cérébraux étaient réalisées chez tous ces enfants. **Résultats :** L'évaluation de la symptomatologie autistique réalisée avec l'entretien semi-structuré pour le diagnostic d'autisme (ADI-R) montrait que ces enfants avaient des scores élevés dans les domaines des interactions sociales et de la communication mais qu'aucun n'atteignait le score-seuil pour les comportements répétitifs et les intérêts stéréotypés et donc ne remplissait les critères d'autisme selon le DSM-IV. L'évaluation cognitive réalisée avec le PEP-R montrait un retard modéré ou sévère. Malgré une grande variabilité interindividuelle notamment sur le plan de la sévérité des troubles, nous trouvons que ces enfants partagent un profil développemental commun avec une hypotonie, des troubles du sommeil, une faible réactivité à leur environnement au cours de la 1^{re} et 2^e année, évoluant avec un déficit marqué du langage expressif, une émergence de la réciprocité sociale à partir de 3-5 ans, et des anomalies du traitement de l'information sensorielle et des troubles neuromoteurs. L'IRM cérébrale était normale chez 3 enfants sur 8 qui avaient une délétion inférieure à 270 Kb. Chez les 5 autres enfants, l'IRM cérébrale retrouvait un corps calleux fin (1/5) ou de morphologie atypique (4/5). L'étude des débits sanguins cérébraux montrait un dysfonctionnement localisé du lobe polaire temporal gauche et une hypoperfusion de l'amygdale. **Conclusions :** L'histoire naturelle de la délétion 22q13.3 appartient à la catégorie des troubles envahissant du développement mais semble distincte de l'autisme. Une meilleure connaissance des troubles neurocomportementaux associés à cette délétion devrait améliorer sa reconnaissance clinique.

Mots-clés : délétion 22q13.3, trouble envahissant du développement, trouble neuromoteur.

■P230 / 446. VARIABILITÉ PHÉNOTYPIQUE AU SEIN D'UNE GRANDE FAMILLE AVEC TRANSMISSION D'UNE DUPLICATION DE LA RÉGION 15Q11-Q13

J. Piard (1), C. Beneteau (1), C. Philippe (2), M.-J. Grégoire (2), P. Jonveaux (2), B. Leheup (1)

(1) Service de Médecine Infantile 3 et de Génétique Clinique, CHU de Nancy ; (2) Laboratoire de Génétique CHU de Nancy ; (1-2) EA 4002, Faculté de Médecine Nancy-Université Université Henri Poincaré

La duplication de la région 15q11 a été rapportée dans des observations de tableau autistique. Il s'agit le plus souvent de duplication d'origine maternelle, avec une observation rapportée d'origine paternelle. Il s'agit habituellement aussi de cas isolés. Une observation familiale d'un homme et de ses deux filles porteuses de la duplication a souligné l'expression variable dans cette famille (Veltman MW *et al.* A paternally inherited duplication in the Prader-Willi/Angelman syndrome critical region : a case and family study. J Autism Dev Disord. 2005 ;35 :117-27.). La possibilité de troubles moins sévères limités au domaine visuo-spatial a été récemment rapportée (Cohen D *et al.* Brief report : visual-spatial deficit in a 16-year-old girl with maternally derived duplication of proximal 15q. J Autism Dev Disord. 2007 ;37 :1585-91.) Nous rapportons ici une observation familiale de transmission sur trois générations d'une duplication de la région 15q11-q13 avec expression phénotypique variable chez les 10 sujets porteuses sans tableau typique de troubles autistiques. AJF : aîné d'une fratrie de 3. Difficultés alimentaires précoces. Notion d'hyperréactivité au bruit. Marche acquise à 18 mois avec chutes relativement fréquentes. Scolarité difficile avec 3 redoublements avant l'âge de 9 ans. Discrète hypertonie périphérique sans signes pyramidaux. Il est rapporté comme d'humeur triste avec un profil renfermé. Troubles de la motricité fine. AM : sœur de AJF. 3^e de la fratrie de 3. Premiers pas à 16 mois, discret retard de langage avec une évaluation psychomotrice demandée à l'âge de 4 ans 4 mois pour instabilité, défaut de l'attention, troubles des praxies motrices. Pas de trouble de l'humeur. Scolarisée en CLIS à l'âge de 7 ans 11 mois. AC : mère de AM et AJF. Pas de retard moteur précoce. Scolarité difficile avec 2 redoublements. CAP. Probable trouble des praxies psychomotrices avec échec à l'épreuve du permis de conduire. BCh : sœur de AC. Retard relatif de marche. Retard psychomoteur avec scolarité en

IME. Troubles du comportement avec perte de contact pouvant évoquer des troubles envahissants du développement. BV : sœur de AC, 2 redoublements pendant la scolarité élémentaire et le collège. CAP obtenu. Vie sociale normale. Rapporte des troubles des praxies visio-motrices, en cours d'évaluation. AC, BCh et BV ont 2 sœurs et 2 frères sans duplication, avec insertion sociale normale. BF, mère de BV, BCh et AC : duplication. Pas de particularité comportementale rapportée. Insertion sociale strictement normale. CL : sœur jumelle de ZF : pas de troubles rapportés. DC : fille de CL : absence de qualification scolaire avec abandon de la scolarité en 3^e. A échoué à plusieurs reprises au permis de conduire.. DL : fille de DC, pas d'anomalie précoce du développement. Notion de convulsions vers l'âge de 1 an dans un contexte fébrile. Prise en charge en CMP pour retard non spécifique avec difficultés scolaires. Elle présente une relative timidité avec difficultés d'établissement de relations sociales. DT sœur de DL née en 2005, retard de marche à 20 mois, très grande timidité et difficultés d'établissements de liens sociaux, sans autre signe de trouble envahissant du développement. DC a eu 4 autres enfants de 3 unions différentes dont 2 évalués ne sont pas porteuses de la duplication. Au plan moléculaire la duplication s'étend de D15S11 à 85CA sur 3 Mb. Elle a fait l'objet d'une recombinaison interchromosomique partielle chez AJF et complète chez DL. La transmission de cette duplication est exclusivement maternelle et un seul garçon la présente. Il n'y a pas eu de modification significative de la longueur de la duplication. Cette observation souligne l'implication éventuelle de la duplication 15q11 dans des tableaux relativement discrets de troubles scolaires sans troubles autistiques vrais.

Mots-clés : duplication 15q11-q13, variabilité phénotypique, retard mental.

■P231 / 457. DYSPLASIE FRONTALNALE : À PROPOS DE CINQ OBSERVATIONS

F. Maazoul, M. Chaabouni, I. Ouertani, H. Jilani, L. Ben Jemaa, R. Mrad, H. Chaabouni

Service des maladies congénitales et héréditaires hôpital Charles-Nicolas, Tunis, Tunisie

La dysplasie frontonasale ou syndrome de division médiofaciale est une malformation congénitale rare due à une absence de jonction des deux bourgeons nasaux internes. Elle associe principalement un hypertélorisme, une racine du nez large, une pointe bifide et une fente des os du front. Cette anomalie peut être isolée ou syndromique. Elle est le plus souvent sporadique, des cas familiaux sont décrits suggérant une transmission autosomique récessive, dominante ou liée à l'X.

Notre travail comprend cinq observations. Il s'agit de trois cas non apparentés de dysplasie frontonasale isolée, un cas de dysplasie craniofrontonasale, et un cas de dysostose acrofrontofacionasale type 2.

L'objectif de l'étude est de comparer les signes cliniques de nos observations avec ceux de la littérature et de discuter le cadre nosologique et génétique de cette entité.

Mots-clés : dysplasie fronto-nasale, nosologie, génétique.

■P232 / 465. MCT8 : UN GÈNE CANDIDAT DANS LES RETARDS SÉVÈRES DE DÉVELOPPEMENT MOTEUR AVEC HYPOMYÉLINISATION PRÉCOCE ?

C. Vaur-Barrière (1, 2), M. Deville (3), G. Giraud (1, 2), V. Des Portes (4), O. Boespflug-Tanguy (1, 2, 5), R. Touraine (3)

(1) INSERM, U 384, Faculté de Médecine de Clermont-Ferrand ; (2) Univ Clermont 1 UFR Médecine, Génétique Médicale, Clermont Ferrand ; (3) Service de génétique clinique chromosomique et moléculaire, CHU Saint-Etienne ; (4) Centre de référence des déficiences intellectuelles de causes rares, Service de neurologie pédiatrique, Lyon ; (5) Centre de référence des leucodystrophies, Service de Génétique Médicale, CHU Clermont-Ferrand

Le gène monocarboxylate transporteur 8 (MCT8 ; SLC16A2, MIM 300095) est localisé sur le chromosome X en Xq13.2. Il code pour une protéine de 613 acides aminés comportant 12 domaines transmembranaires. Celle-ci est intégrée dans la membrane des cellules et joue le rôle de transporteur spécifique de l'hormone thyroïdienne (HT) T3, permettant le passage de cette hormone du milieu extracellulaire vers le cytosol de la cellule. MCT8 est fortement exprimé dans le cerveau ainsi que dans le cœur, les muscles squelettiques, le foie, les reins et les poumons. Des mutations de ce gène ont été initialement retrouvées chez des garçons présentant un retard sévère du développement psychomoteur (nystagmus, hypotonie, spasticité, dystonie, retard mental) en l'absence d'anomalie à l'IRM et associé à des concentrations relatives en HT anormales (T4 totale diminuée, TSH borderline et T3 totale élevée). Depuis, d'autres mutations ont été identifiées chez des patients présentant le syndrome d'Allan-Herndon-Dudley (MIM

300523) qui se caractérise par un retard mental lié à l'X associé à une hypotonie précoce puis une spasticité progressive. Récemment, nous avons identifié dans notre cohorte de patients présentant une hypomyélinisation d'origine indéterminée un malade associant initialement un retard sévère du développement psychomoteur, une épilepsie et des signes IRM d'hypomyélinisation diffuse du cerveau jusqu'à l'âge de 3 ans. L'amélioration des images IRM sans amélioration clinique avec retard mental sévère et quadriplégie spastique avec mouvements dystoniques a incité à reprendre le bilan étiologique. Les anomalies du dosage des HT circulantes a incité alors à procéder à l'analyse du gène *MCT8* qui a mis en évidence une mutation non-sens (c.1558C>T) aboutissant à l'expression d'une protéine tronquée (p.Gln520X). L'analyse d'une cohorte de 37 garçons présentant un trouble du développement psychomoteur associé à une hypomyélinisation précoce sans mutation du gène *PLP1* (impliqué dans la maladie de Pelizaeus Merzbacher – PMD, MIM 312080 – et la paraplégie spastique de type 2 – SPG2, MIM 312920) a permis d'identifier une mutation de *MCT8* chez 4 patients provenant de 4 familles distinctes. Ces observations soulignent (1) l'intérêt de rechercher l'implication du gène *MCT8* dans l'étiologie des leucodystrophies hypomyélinisantes précoces d'origine indéterminée, (2) le rôle potentiel d'une dysmyélinisation dans la paraplégie spastique observée dans le syndrome d'Allan-Herndon-Dudley, (3) le rôle de *MCT8* dans la maturation des oligodendrocytes.

Mots-clés : leucodystrophie hypomyélinisante précoce, transport hormone thyroïdienne, *MCT8*.

■P233 / 468. ALPHA-MANNOSIDOSE ET RETARD MENTAL : SAVOIR L'ÉVOQUER CHEZ L'ADULTE

L. Pinson (1, 2), P. Blanchet (1), C. Abadie (1), C. Coubes (1), P. Sarda (1), A. Guichet (2), C. Verny (3), D. Bonneau (2)

(1) Service de Génétique Médicale, CHU de Montpellier ; (2) Service de Génétique Médicale, CHU d'Angers ; (3) Service de Neurologie, CHU d'Angers

L'alpha-mannosidose est une maladie de surcharge lysosomale autosomique récessive très rare, caractérisée par l'accumulation d'oligosaccharides dans de nombreux tissus. La maladie inclut un large spectre clinique allant de la forme infantile sévère à des formes plus modérées de début plus tardif et compatibles avec une survie à l'âge adulte. Nous décrivons quatre adultes âgés de 18 à 38 ans issus de deux couples non consanguins, provenant de deux familles non apparentées et d'origine caucasienne. Le frère et la sœur de la première famille ont en commun un retard mental, ce qui a motivé la consultation. Ils ont tous les deux une hypoplasie malaire, une surdité survenue dans la troisième décennie et des anomalies squelettiques radiologiques. Malgré des performances intellectuelles identiques à l'âge adulte, l'anamnèse rend compte d'un retard psychomoteur plus précoce et sévère chez la fille. À noter qu'aucun des patients n'a de faciès grossier. Dans la deuxième famille, la consultation du cas index est motivée par un retard mental modéré et une symptomatologie rhumatologique. L'examen clinique montre principalement une hypoplasie malaire et un aspect cutané discrètement infiltré. Les radiographies mettent en évidence des lésions focales, notamment vertébrales. L'interrogatoire retrouve la notion d'une surdité précoce chez la patiente et la notion d'un retard mental sévère associé à un syndrome cérébelleux évolutif chez son frère. Ce dernier, qui vit en institution du fait d'un état grabataire, n'a pas pu être examiné. C'est la mise en évidence chez nos patients d'un profil caractéristique des oligosaccharides urinaires qui a permis l'orientation du diagnostic biologique. Le diagnostic d'alpha-mannosidose a été confirmé par le déficit de l'activité de l'alpha-mannosidase dans les leucocytes des patients. Une mutation du gène *MAN2B1* responsable d'alpha-mannosidose a été identifiée dans notre première famille. L'étude du gène va débiter dans la seconde famille. Cette étude illustre la très grande variabilité de l'alpha-mannosidose, tant dans sa présentation clinique que dans son évolution. Du fait de l'hétérogénéité phénotypique de cette maladie de surcharge et de l'absence de critères diagnostiques stricts, cette pathologie est certainement sous diagnostiquée. Une alpha-mannosidose doit notamment être évoquée chez tout adulte qui présente un retard mental et une surdité d'apparition progressive.

Mots-clés : alpha-mannosidose, retard mental, surdité progressive.

■P234 / 472. NOUVEAU SYNDROME GÉNÉTIQUE OCULO-RÉNAL

A. Iron (1), B. Llanas (2), S. Iron (1), P. Barat (2), J. Lunardi (3), D. Lacombe (1)

(1) Service de Génétique Médicale, Groupe Hospitalier Pellegrin, CHU de Bordeaux ; (2) Département de Pédiatrie, Hôpital des Enfants, CHU de Bordeaux ; (3) Service de Biochimie-Génétique, CHU de Grenoble

Les tubulopathies congénitales proximales avec composante génétique regroupent un ensemble hétérogène de troubles de la réabsorption tubulaire. L'anomalie peut être isolée mais le plus souvent elle est associée à d'autres systèmes de transport définissant le syndrome de Toni-Debré-Fanconi (TDF). Nous rapportons l'observation familiale de deux germains (garçon et fille) dont les parents sont originaires d'un même village de l'île de Madère (Portugal). Le phénotype associe une cataracte congénitale bilatérale et une hyperaminoacidurie globale. Ce syndrome oculo-rénal ne comprend pas d'atteinte cérébrale, ni de syndrome TDF à la différence du syndrome de Lowe. Les investigations moléculaires n'ont caractérisé qu'un polymorphisme intronique dans le gène *OCRL1* et les études haplotypiques par microsatellites ont montré que les deux enfants n'avaient pas reçu le même chromosome X maternel. L'activité phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate 5-phosphatase (PIP2 phosphatase) de la protéine OCRL1 mesurée sur les fibroblastes d'une biopsie cutanée chez le garçon (7,1 nanomoles de phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate hydrolysées/min/mg) se situe à la limite inférieure de la normale (7,0 – 11,4). L'histoire familiale et l'origine géographique plaident pour un nouveau syndrome avec transmission autosomique récessive. Le garçon a un phénotype plus sévère que la fille ce qui peut argumenter pour un gène modificateur porté par le chromosome X.

Mots-clés : syndrome oculo-rénal, gène *OCRL1*, PIP2 phosphatase.

■P235 / 477. ATAXIE SPINOCÉRÉBELLEUSE ET HYPOGONADISME HYPOGONADOTROPHIQUE : UN OU PLUSIEURS SYNDROMES ? À PROPOS D'UNE SÉRIE DE 15 PATIENTS

A. Jacquette (1), B. Keren (1), Claude Jardel (2), J. Léger (3), H. Dollfuss (4), Pascale Ribai (1, 5), D. Héron (1), I. Le Ber (1, 5, 6), Nicolas de Roux (7), A. Brice (1, 5, 6), A. Dürr (1, 5)

(1) AP-HP, Hôpital de la Pitié-Salpêtrière, Département de Génétique et Cytogénétique, Paris, France ; (2) INSERM U582, Paris, France ; (3) AP-HP, Hôpital Robert-Debré, Service d'Endocrinologie, Paris, France ; (4) service de génétique médicale, génétique ophtalmique, CHU de Strasbourg, France ; (5) INSERM U679, Paris, France ; (6) AP-HP, Hôpital de la Pitié-Salpêtrière, Fédération des Maladies du Système Nerveux, Paris, France ; (7) INSERM U690, Paris, France

Contexte : La coexistence d'une ataxie spinocérébelleuse et d'un hypogonadisme hypogonadotrophique chez un même patient n'est pas fortuite et a été rapportée depuis de nombreuses années définissant plusieurs associations syndromiques. Ont été successivement décrits : le syndrome de Gordon-Holmes (ataxie spinocérébelleuse survenant habituellement dans la deuxième décennie, parfois progressive, et hypogonadisme central), le syndrome de Boucher-Neuhauser (syndrome de Gordon-Holmes et dystrophie chorioretinienne), ou encore différents cas isolés de patient associant au syndrome de Gordon-Holmes un cortège de signes variés (microcéphalie, retard mental, retard staturo-pondéral, alopecie...) suggérant un probable chevauchement entre les syndromes. L'hérédité décrite dans la plupart des familles présentant l'un de ces syndromes semble répondre à un mode de transmission autosomique récessif, mais aucune base moléculaire n'a pu être mise en évidence, sauf pour un cas isolé de Boucher-Neuhauser où un déficit en complexe I de la chaîne respiratoire associé à une délétion de l'ADN mitochondrial a été mis en évidence. Objectifs : L'objectif de notre étude est de recenser, sur un plus large groupe de patients présentant au moins une ataxie et un hypogonadisme d'origine centrale, les signes qu'ils présentent afin de savoir si l'on peut dégager des groupes syndromiques homogènes, et dans un deuxième temps, tester différentes hypothèses étiologiques. Matériel et Méthodes : Nous rapportons le phénotype clinique de 15 patients présentant l'association d'une ataxie spinocérébelleuse, quel que soit l'âge de début, et d'un hypogonadisme hypogonadotrophique recrutés dans le cadre du réseau SPATAX, ainsi que les résultats des explorations biologiques, notamment hormonales et d'imagerie. Les études moléculaires sont en cours. Résultats : Parmi nos 15 patients, 8 cas sont familiaux, dont 4 avec consanguinité, compatible avec une hérédité récessive autosomique ou récessive liée à l'X. Le sexe ratio est équilibré (0,6 : 9 hommes et 6 femmes). L'âge moyen de début est de 12,4 ans $\pm$ 11 ans (de la naissance à 32 ans) et les signes d'appel sont aussi souvent neurologiques (ataxie, nystagmus isolé), qu'endocrinologiques (retard pubertaire, stérilité). Les signes associés les plus fréquemment retrouvés sont un retard mental, en général léger (10/15), un retard de croissance (7/15), une neuropathie sensitivomotrice (5/15). Une dystrophie chorioretinienne n'est présente que chez 2 patients. Le déficit gonadotrope est le plus souvent isolé (3 patients avec un déficit thyroïdienne associé). Une recherche de CDG syndrome et un caryotype ont été réalisés chez respectivement 6 et 9 patients et sont normaux. Enfin, l'IRM cérébrale retrouve une atrophie cérébelleuse chez 11 patients sur 13, le plus souvent vermineuse ou globale, et des anomalies de la substance blanche chez 2



patients. Discussion : Le tableau clinique présenté par une majorité de ces patients est hétérogène mais évoque en premier lieu une pathologie mitochondriale (11/15) en raison de l'association chez ces patients de plusieurs signes compatibles, globalement homogène au sein des familles (neuropathie, retard de croissance, retard mental, rétinopathie pigmentaire, anomalies de la substance blanche), et ce, même si le bilan métabolique périphérique est normal chez les patients testés. Le regroupement des patients selon les syndromes habituellement décrits nous paraît difficile et leur distinction assez artificielle. Les études moléculaires sont en cours afin d'exclure ou incriminer des délétions mitochondriales.

Mots-clés : ataxie cérébelleuse, hypogonadisme hypogonadotrophique, mitochondrie.

■P236 / 479. LE SYNDROME DE PITT HOPSKINS : DE LA MICRODÉLÉTION 18Q21.1Q21.2 AUX MUTATIONS DU GÈNE *TCF4*. À PROPOS DE 5 NOUVELLES OBSERVATIONS

C. Missirian (1, 2), P. Cacciagli (1), J.C. Lambert (3), B. Chabrol (4), N. Philip (1), P. Sarda (5), L. Villard (2), A. Moncla (1, 2)

(1) Département de génétique médicale, AP-HM Timone Enfants-Marseille ; (2) Unité INSERM 490, Faculté de médecine-Marseille ; (3) Service de génétique, CHU Nice ; (4) Service de Neuropédiatrie AP-HM Timone-Enfants-Marseille ; (5) Service de Génétique, CHU, Montpellier

L'association, retard mental, mouvements respiratoires anormaux, dysmorphie faciale incluant une bouche large avec des lèvres charnues, un nez busqué et des anomalies des extrémités a été initialement décrite par Pitt et Hopskins en 1978. Nous rapportons trois microdélétions de la région 18q21.1q21.2 mises en évidence en haute résolution chromosomique chez des patients adressés pour une suspicion de syndrome d'Angelman qui en réalité présente un phénotype clinique caractéristique du syndrome de Pitt Hopskins comme la jeune patiente rapportée en 1999 par Gustavson qu'il présente comme un syndrome de Rett atypique. L'origine génétique du syndrome de Pitt Hopskins a été très récemment identifiée avec la mise en évidence de mutations dans le gène *TCF4*, localisé dans cette région. À ce jour, 11 patients ont été rapportés dans la littérature. Aucun ne présentait une délétion cytogénétiquement visible. Nous rapportons deux nouveaux patients avec mutation de ce gène. Nous décrivons l'expression clinique chez nos 5 patients en soulignant les signes cliniques non rapportés qui permettent de différencier cette entité des syndromes d'Angelman, de Mowat et Wilson et de Rett. Nous proposerons également une stratégie d'étude moléculaire.

Mots-clés : Pitt Hopskins, microdélétion, myopie.

■P237 / 480. MICRODUPLICATION 22Q11.2 : À PROPOS DE QUATRE FAMILLES

T.P. Lukusa (1), J. Breckpot (1), JP Fryns (1), J. Vermeesch (1), K. Devriendt (1)

(1) Centre for Human Genetics, KU Leuven, Belgique

La microdélétion 22q11.2 est une des lésions chromosomiques les plus fréquentes. Elle est associée avec un tableau particulièrement variable, comprenant des malformations majeures (comme celles du cœur, du palais, glandes parathyroïdiennes, des reins), des troubles d'apprentissage ou retard mental, une dysmorphie faciale. Récemment, la lésion inverse, une duplication de cette région, a été identifiée chez des personnes présentant des signes cliniques similaires. Néanmoins, le fait que la même duplication a été découverte chez des parents normaux suggère une relation complexe entre la duplication et le phénotype. Nous proposons notre expérience sur cette duplication 22q11.2, à propos de quatre familles identifiées dans notre centre, expérience qui confirme le caractère complexe de cette relation.

Mots-clés : duplication, syndrome velocardiofacial, CGH-array.

■P238 / 517. PRÉSENTATION NEUROLOGIQUE SÉVÈRE CHEZ UN ADULTE ATTEINT DU SYNDROME DE WAARDENBURG TYPE IV PAR MUTATION FAUX SENS DE *SOX 10*

A. Jacquette (1), V. Pingault (2), M. Mayer (3), B. Eymard (4), D. Héron (1)

(1) Département de génétique, Groupe hospitalier La Pitié-Salpêtrière, Paris ; (2) Laboratoire de génétique moléculaire, CHU Henri Mondor, Créteil ; (3) Service de Neuropédiatrie, CHU Armand-Trousseau, Paris ; (4) Institut de Myologie, Groupe Hospitalier La Pitié-Salpêtrière, Paris

Le syndrome de Waardenburg de type IV ou Shah-Waardenburg est une neurocristopathie rare associant une maladie de Hirschsprung aux signes habituels du syndrome. Il existe une hétérogénéité génétique avec des formes autosomiques récessives (mutations dans les gènes *EDNRB* et *EDN3*) et autosomiques dominantes (mutations dans les gènes *SOX 10* et

EDN3). La présence de signes neurologiques (nystagmus, ataxie, neuropathie) n'est rapportée que dans les mutations de *SOX 10*, mais ils sont instants et de sévérité variable. Nous rapportons le cas d'un patient adulte, dont le diagnostic de Waardenburg de type IV n'a été porté qu'à l'âge de 20 ans. Le tableau clinique est caractérisé par une atteinte neurologique au premier plan associée à une surdité et à des anomalies de la pigmentation. Il présentait un syndrome de Moebius en période néonatale. L'évolution a été marquée par une ataxie cérébelleuse, une neuropathie démyélinisante sévère responsable de rétractions multiples avec perte de la marche vers 15 ans et des troubles de la déglutition. Par contre, l'atteinte cognitive est modérée et stable. L'imagerie cérébrale retrouve des anomalies linéaires de la substance blanche. Il n'a pas de maladie de Hirschsprung mais une constipation opiniâtre. Cette présentation neurologique prédominante est inhabituelle pour un syndrome de Waardenburg de type IV et explique probablement l'erreur diagnostique pour ce patient, chez lequel une neurofibromatose de type I avait été initialement évoquée, en raison de l'existence de plusieurs dizaines de tâches café au lait. Sur le plan moléculaire, la recherche de mutation dans *SOX 10* a mis en évidence une mutation faux-sens (524 C>G) jamais décrite auparavant, et absente chez les parents. Le caractère délétère de la mutation est conforté par sa nature non conservatrice sur un acide aminé conservé du domaine de liaison à l'ADN et le caractère de novo. Les mutations faux sens sont exceptionnellement décrites dans *SOX 10*. Leur identification est importante pour appréhender les mécanismes moléculaires sous-jacents, en particulier l'hypothèse d'un effet dominant négatif.

Mots-clés : Waardenburg, *SOX 10*, neuropathie.

■P239 / 520. SYNDROME DE COFFIN-LOWRY ET LEUCOPATHIE : ASSOCIATION FORTUITE OU EXTENSION PHÉNOTYPIQUE ?

P. Blanc (1), G. Giraud (2), A. Hanauer (3), JP. Delaunoy (4), C. Francannet (1), O. Boespflug-Tanguy (1, 2)

(1) Service de Génétique Médicale, CHU de Clermont-Ferrand ; (2) INSERM U384, Faculté de Médecine de Clermont-Ferrand ; (3) INSERM U 596, UMR 7104 CNRS/ULP Institut de génétique et de biologie moléculaire et cellulaire, Strasbourg ; (4) Laboratoire de diagnostic génétique, CHU de Strasbourg

Introduction : Le syndrome de Coffin-Lowry (CLS) est un retard mental syndromique se transmettant selon un mode semi-dominant lié à l'X. Des mutations du gène *RSK2* (Xp22.2) sont décelées chez environ 20 % des sujets suspects de CLS. En dépit des manifestations neurologiques associées à ce syndrome (retard mental, épilepsie, drop-attack) très peu de descriptions IRM encéphaliques ont été publiées dans la littérature. Nous décrivons ici une famille dans laquelle les sujets atteints présentent conjointement un phénotype évocateur de CLS et des images IRM de leucopathie non rapportées jusqu'à présent. Méthode : La famille étudiée comprend 10 sujets présentant un phénotype CLS, ou supposé tel, sur 3 générations : 7 femmes (cas index, 3 sœurs, mère, tante maternelle, grand-mère maternelle) et 3 hommes décédés (frères du cas index). Six des 7 femmes atteintes, ainsi qu'une sœur indemne du cas index ont bénéficié d'un examen clinique et d'une IRM encéphalique (dans les trois plans en séquences T1, T2 et Flair) couplée à une spectro-IRM. Parallèlement les 22 exons du gène *RSK2* et leurs régions introniques flanquantes ont été séquencés chez le cas index. Résultats : Les 3 hommes atteints présentaient un retard mental sévère et sont décédés à 6, 19 et 31 ans en institution, sans autres précisions notamment morphologiques, excepté la notion d'une déformation rachidienne et thoracique chez l'un d'entre eux. Sur les 6 femmes atteintes examinées, 4 (cas index, une sœur, mère, tante maternelle) ont un phénotype clinique très évocateur de CLS : déficience mentale modérée, dysmorphie faciale (front haut, nez bulbeux, lèvres charnues, menton proéminent), infiltration molle des mains et des avant-bras, doigts boudinés et fusiformes, épisodes de drop-attack. Les 2 autres patientes (sœurs du cas index) ne présentent pas de déficience mentale, mais ont un phénotype morphologique compatible avec une forme très atténuée de CLS (nez bulbeux, menton proéminent, lipomes des avant-bras). Ces 6 patientes possèdent des lésions encéphaliques sus et sous-tentorielles à l'IRM, tandis que la dernière sœur du cas index, cliniquement indemne, présente une IRM sans particularité. Les anomalies IRM sont variées : iso ou léger hyposignal T1, hypersignal T2 et Flair de la substance blanche, en mottes confluentes (centres ovales, capsules internes et extrêmes, corps calleux, faisceaux pontiques postérieurs et ponto-cérébelleux), hypersignaux T2 et Flair des noyaux gris centraux (pallidum et thalamus), lacunes punctiformes isolées (hémisphériques cérébrales, pontiques), dilatation des ventricules latéraux, hypoplasie calleuse à prédominance postérieure, atrophie corticale à prédominance antérieure. La spectro-IRM est sans particularités. L'intensité de ces images n'est corrélée ni à la déficience mentale ni

à la présence de « drop-attack » et contraste avec la discrétion des signes neurologiques d'atteinte de la substance blanche chez toutes les patientes. Par ailleurs, aucune anomalie métabolique (lysosomale, péroxysomale, mitochondriale) n'a été mise en évidence chez le cas index et l'analyse moléculaire de *RSK2* n'a révélé aucune mutation. Des études fonctionnelles de la protéine *RSK2* sont en cours à partir des fibroblastes cutanés, mais l'étude haplotypique familiale est en faveur d'une exclusion du locus *RSK2*. Cette observation suggère l'existence d'un nouveau locus responsable d'un phénotype CLS ou CLS-like associé à des anomalies IRM de leucopathie d'aspect « vasculaires ».

Mots-clés : syndrome de Coffin-Lowry, leucopathie, IRM.

■P240 / 527. CENTRES DE RÉFÉRENCE MALADIES RARES ET SYSTÈME D'INFORMATION, APPORT DU PROGRAMME CEMARA

G. Baujat (1), L. Le Mignot (2), C. Messiaen (2), A. Verloes (3), M. Gérard (3), C. Bodemer (4), E. Bourdon Lanoy (4), R. Salomon (5), Laurence Heidet (5), A. Rath (6), M. Le Merrer (1), P. Landais (2)

(1) Centre de Référence des Maladies Osseuses Constitutionnelles, Service de Génétique Clinique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France ; (2) Service de Biostatistique et Informatique Médicale, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France ; (3) Centre de Référence Anomalies du Développement et Syndromes malformatifs, Service de Génétique Clinique, Hôpital Robert-Debré, Paris, France ; (4) Centre de Référence Maladies Génétiques à Expression Cutanée, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France ; (5) Maladies Rénales Héritaires de l'Enfant et de l'Adulte, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France ; (6) Orphanet, Inserm SC 11, 102 rue Didot 75014, Paris, France

Les maladies rares concernent 3 à 4 % des naissances, 6 à 8 % de la population soit 30 millions d'européens. La majorité d'entre elles sont génétiques. La méconnaissance de ces pathologies fréquemment handicapantes par les professionnels de santé peut conduire à des erreurs diagnostiques et des carences de soins, préjudiciables pour les patients et leurs familles. Ces pathologies constituent donc un enjeu de santé publique. Plus de 120 centres de références maladies rares (CRMR) ont été labellisés dans le cadre du Plan National Maladies Rares 2005-2008. Ils sont dédiés à l'amélioration du diagnostic et de la prise en charge médico-chirurgicale et socio-éducative de ces affections. Ils doivent également participer à la connaissance épidémiologique de ces maladies rares, en lien avec l'Institut de Veille Sanitaire (InVS). La nécessité de développer une base de donnée spécifique comprenant des informations sur les patients suivis, a conduit 4 CR MR [(1), (3), (4), (5)], labellisés en novembre 2004, au développement d'un partenariat avec le service de Biostatistique et Informatique (SBIM) de l'hôpital Necker-Enfants Malades, et à l'initiation du programme CEMARA (CEntre Maladies Rares). Plus de 20 centres de référence pour des maladies rares, ayant en commun une problématique génétique, ont peu à peu rejoint ce programme. CEMARA est un nouvel ensemble d'approches méthodologiques et technologiques autour de la notion de « Système d'information Multi-Sources ». Les informations minimales obligatoires, saisies pour chaque patient, comprennent d'abord des données épidémiologiques utiles pour la coopération avec l'InVS, telles les données d'identification, le lieu de naissance et le lieu de résidence. L'enregistrement décrit également l'activité par laquelle le patient est vu (type et objectif(s) de la consultation), de façon plus précise que l'enregistrement d'activité effectué par l'informatique hospitalière. De plus CEMARA permet d'inclure l'activité non hospitalière liée au rôle d'expertise du CRMR comme les avis sur dossiers et les consultations avancées dans d'autres sites. Enfin, l'enregistrement des pathologies rencontrées est décliné par la saisie du diagnostic exact, ou, si ce dernier est absent, par la saisie d'une catégorie et de mots-clefs descripteurs. Pour permettre un codage cohérent, ont été mis en place deux thésauris différents (thésaurus des diagnostics et des mots-clefs). Le thésaurus des diagnostics a été élaboré avec Orphanet pour la classification clinique des maladies rares, et avec GenAtlas pour sa classification des étiologies moléculaires. L'ensemble CEMARA-Orphanet-GenAtlas forme donc un trépied patient-pathologie-anomalie génétique, permettant aux professionnels de partager un langage de description commun. Le système CEMARA est un système d'information sécurisé agréé par la CNIL. Il est régi par une charte d'utilisation, garantissant la confidentialité et la protection des informations, notamment entre les différents CR participants. La mise en place d'un contrôle de qualité dédié est un gage de fiabilité de son exploitation. L'accès aux données médicales issues de CEMARA est régulé. Les médecins utilisateurs ont accès aux données nominatives issues de CEMARA pour les seuls patients suivis au sein de leur site. Les données anonymisées sont accessibles selon une procédure requérant l'accord des médecins impliqués par cette demande. Les données anonymisées et agrégées seront

disponibles pour chaque CRMR et pour les autorités de tutelles dans un rapport annuel. Le système CEMARA permet également de développer des projets spécifiques cliniques et thérapeutiques, par pathologies, au sein des centres de référence. CEMARA apparaît donc comme un outil majeur pour les CRMR, permettant de répondre aux besoins conjugués des professionnels de santé et des différentes administrations sanitaires publiques impliquées.

Mots-clés : centre de référence, maladies rares, base de données.

■P241 / 536. ÉTUDE RÉTROSPECTIVE D'UNE COHORTE DE 49 SYNDROMES DE LOWE

G. Baujat (1), R. Salomon (1), V. Satre (2), A. Postel-Vinay (1), I. Desguerre (1), M. Polak (1), L. Robel (1), O. Roche (1), A. Munnich (1), J. Lunardi (2)

(1) Hôpital Necker-Enfants Malades, 149 rue de Sèvres, 75743 Paris Cedex 15, France ; (2) CHU Grenoble, 217X, 38041 Grenoble Cedex, France

Introduction : Le syndrome oculo-cérébro-rénal de Lowe (OCRL, MIM 309000) est une affection rare liée à l'X, caractérisée par l'association d'une cataracte, d'une atteinte tubulaire proximale et d'une atteinte neuromusculaire, signes cardinaux théoriquement constants. Ce syndrome est associé à des anomalies du gène *OCRL1*, situé en Xq25 et codant pour une inositol polyphosphate 5-phosphatase avec domaine RhoGAP. **Objectifs :** L'objectif principal de ce travail était la description de la présentation clinique, biologique et radiologique d'une large cohorte de patients présentant un syndrome de Lowe. L'objectif secondaire était la recherche d'éventuelles corrélations entre le phénotype et le génotype de ces sujets. **Patients et Méthodes :** Une étude de cohorte rétrospective multicentrique a été réalisée entre janvier 2003 et mars 2005, avec inclusion de patients ayant un syndrome de Lowe défini par la présence des 3 signes cardinaux et/ou anomalie moléculaire d'*OCRL1*. Ont été exclus les dossiers avec données médicales insuffisantes. Un questionnaire reprenant les données médicales, chirurgicales et socio-éducatives des patients a été rempli avec l'aide du médecin référent. L'étude moléculaire du gène *OCRL1* a été effectuée par SSCP et séquençage direct. **Résultats :** Quarante neuf patients ont pu être inclus, âgés de 2 à 50 ans. a) Une atteinte tubulaire proximale a été retrouvée dans 100 % des cas, avec acidose marquée dans 1/3 des cas, rachitisme dans la moitié des cas et diminution de la filtration glomérulaire à 15 ans chez les 27 patients les plus âgés. b) Une cataracte bilatérale a été diagnostiquée chez 47/49 patients, avec un âge moyen d'extraction de 3,4 mois. Un glaucome a été détecté dans 63 % des cas. c) L'hypotonie néonatale et le retard des acquisitions motrices étaient retrouvés dans 100 % des cas. L'âge moyen d'acquisition de la marche a été de 48 mois. Environ 20 % des patients n'ont qu'un décalage modéré des acquisitions. d) Plusieurs manifestations cliniques moins connues ont été notées de façon récurrente, comme une anémie ferriprive, des manifestations hémorragiques, une hypercholestérolémie et des lipomes sous cutanés. e) Une anomalie d'*OCRL1* a été retrouvée dans tous les cas où l'étude a été effectuée. Aucune corrélation significative entre le phénotype et le type/la localisation de mutation d'*OCRL1* n'a pu être mise en évidence. **Conclusion :** Il s'agit de la plus large étude descriptive jamais rapportée sur le syndrome de Lowe. Elle illustre la variabilité de la présentation clinique de cette affection. L'absence de corrélation génotype/phénotype permet d'évoquer la possibilité de facteurs régulateurs comme des gènes modificateurs.

Mots-clés : syndrome de Lowe, *OCRL1*, corrélation génotype phénotype.

■P242 / 543. MUTATIONS DE *CAPN3* DANS LA MYOSITE À ÉOSINOPHILES : ÉLARGISSEMENT DU SPECTRE PHÉNOTYPIQUE ET GÉNOTYPIQUE

M. Krahn (1, 2), C. Pécheux (1), F. Chapon (3), C. Bérout (4), M. Goicoechea (5), A. Saenz (5), N. Streichenberger (6), V. Drouin-Garraud (7), P. Laforet (8), N. B. Romero (9), I. Penisson-Besnier (10), R. Bernard (1, 2), J. A. Urtizberea (11), A. Lopez de Munain (5), F. Leturcq (12), N. Lévy (1, 2)

(1) Département de Génétique Médicale, Hôpital d'enfants de la Timone, Marseille, France ; (2) INSERM U910, Génétique médicale et génomique fonctionnelle, Faculté de Médecine de Marseille, France ; (3) Consultation de Pathologies neuromusculaires and Laboratoire de Neuropathologie, CHU Cote de Nacre, Caen, France ; (4) INSERM U827, Génétique des maladies rares : pathologie moléculaire, études fonctionnelles, banque de données génétiques, Institut Universitaire de Recherche Clinique, Montpellier, France ; (5) Servicio de Neurologia e Unidad de Genética and Unidad Experimental, Hospital Donostia, San Sebastian, Pays Basque, Espagne ; (6) Service de Neuropathologie, Hôpital Neurologique, Lyon, France ; (7) Service de Génétique, Hôpital Charles Nicolle, Rouen, France ; (8) Institut de Myologie, Hôpital de la Pitié-Salpêtrière, Paris, France ;



(9) INSERM U582 Institut de Myologie, Hôpital de la Pitié-Salpêtrière, Paris, France ; (10) Département de Neurologie, CHU, Angers, France ; (11) APHP, Hôpital Marin d'Hendaye, Hendaye, France ; (12) Laboratoire de Biochimie Génétique, Hôpital Cochin, Paris, France

Introduction : Des mutations du gène de la calpaine-3 (*CAPN3*) sont à l'origine de la forme la plus fréquente de dystrophie musculaire des ceintures, la forme autosomique récessive de type 2A (Limb Girdle Muscular Dystrophy type 2A ou LGMD2A). En raison de la grande taille du gène, l'analyse mutationnelle est rendue difficile par la grande taille du gène et la diversité des variants délétères. Pour environ 25 % des patients, l'analyse génomique n'identifie qu'un seul, ou aucun variant délétère. Nous avons utilisé ici des analyses transcriptionnelles en complément de l'analyse génomique. De plus, nous décrivons l'identification de mutations du gène *CAPN3* chez des patients atteints de myosite à éosinophiles idiopathique, une entité histo-pathologique rare, caractérisée par une infiltration du tissu musculaire squelettique par des polynucléaires éosinophiles. Il s'agit de la première cause génétique caractérisée pour cette pathologie. **Patients et méthodes :** Parmi notre cohorte de patients inclus pour suspicion de calpainopathie primaire, nous avons sélectionné 5 cas pour lesquels l'analyse génomique n'a pas permis d'identifier clairement les deux allèles délétères. L'analyse génomique par DHPLC a été complétée par une analyse transcriptionnelle qualitative et quantitative de *CAPN3* sur cDNA musculaire, et corrélée à une analyse bio-informatique. Dix patients atteints de myosite à éosinophiles idiopathique ont été inclus pour criblage mutationnel génomique de *CAPN3*. **Résultats et Discussion :** Caractérisation de nouvelles mutations introniques et d'une grande délétion génomique du gène *CAPN3* : Nous avons démontré l'effet pathogène de trois variants introniques de *CAPN3* (dont deux nouveaux) au niveau transcriptionnel. Cette analyse met par ailleurs en évidence une probable dégradation de type NMD (nonsense mediated mRNA decay) pour certains variants de *CAPN3*. De plus, nous avons caractérisé l'effet transcriptionnel et les points de cassure génomiques d'une grande délétion génomique récurrente de *CAPN3*. Ceci illustre l'existence de remaniements génomiques de grande taille chez certains patients atteints de LGMD2A. Identification de mutations du gène *CAPN3* comme cause génétique dans les myosites à éosinophiles idiopathiques : Suite à l'identification d'un déficit protéique en calpaine-3 chez un enfant atteint de myosite à éosinophiles idiopathique, corrélé à des mutations constitutionnelles délétères du gène *CAPN3*, nous avons démontré l'existence de mutations du gène *CAPN3* chez 9 autres patients atteints de cette maladie rare. Ces patients ont été inclus uniquement sur le profil histopathologique spécifique. Les myosites à éosinophiles constituent donc un phénotype particulier de calpainopathie primaire. Nous évaluons actuellement l'hypothèse qu'il pourrait s'agir d'un stade histologique évolutif et/ou pré-dystrophique des LGMD2A « typiques ».

Mots-clés : LGMD, myosite, calpaine-3.

■P243 / 550. MUTATION A140V DU GÈNE *MECP2* : DESCRIPTION CLINIQUE DE 3 PATIENTS ET REVUE DE LA LITTÉRATURE

L. Freeman (1), T. Bienvu (2), A. Jacquette (1), A. Afenjar (1), D. Ville (3), V. des Portes (3), D. Cohen (1), D. Héron (1)

(1) Centre de Référence « déficiences intellectuelles de cause rare », Département de Génétique et service de psychiatrie de l'enfant et l'adolescent, Hôpital de la Salpêtrière ; (2) Service de Biochimie Génétique, Hôpital Cochin-Port Royal Paris, France ; (3) Service de Neurologie Pédiatrique, Hôpital Debrousse, Lyon, France

Introduction : Des mutations du gène *MECP2* (méthyl CpG binding protein 2) sont responsables du syndrome de Rett (léthale chez le garçon) caractérisé chez la fille par une régression des acquisitions, un retard mental, des stéréotypies et une épilepsie fréquente. Cependant depuis l'identification du gène en 1999, plusieurs autres mutations considérées comme pathogènes ont été rapportées chez des garçons. Elles sont associées à différents phénotypes neurologiques allant d'un retard mental léger à une encéphalopathie néonatale sévère. La mutation A140V, initialement considérée comme un polymorphisme, est la plus fréquemment rencontrée. Elle est associée à un retard mental de gravité variable sans régression des acquisitions. Des signes neurologiques (paraparésie spastique, ataxie) ou psychiatriques (psychose infantile) ont été décrits chez certains patients. Les femmes conductrices peuvent présenter un retard mental léger. La mutation A140V n'a par contre jamais été retrouvée chez des patients atteints de syndrome de Rett typique. Nous rapportons les observations de 3 patients (dont 2 apparentés) présentant un retard mental associé à la mutation A140V du gène *MECP2*. **Patients :** Le patient 1 est d'origine portugaise, de parents non apparentés. Il est né au terme d'une grossesse normale. Il a présenté un retard d'acquisition du langage sans retard moteur, puis des

épisodes de décompensation aigue psychotiques dès l'âge de 11 ans ayant fait évoquer le diagnostic de schizophrénie atypique. Il n'a jamais convulsé. Il présente un retard mental modéré (sait lire et écrire). L'examen clinique à l'âge de 12 ans est normal en dehors d'une obésité. À 19 ans, il existe un syndrome pyramidal des membres inférieurs. Il n'a pas de dysmorphie. La mère du patient, porteuse de la mutation à l'état hétérozygote, n'a pas de déficience intellectuelle. Les patients 2 et 3 sont les deuxième et quatrième enfants d'un couple d'origine turque non apparenté. Les antécédents sont marqués par plusieurs morts fœtales in utero. Les deux enfants sont nés au terme de grossesses normales. Le patient 2, un garçon âgé de 13 ans présente un retard mental sans retard moteur associé à des troubles du comportement majeurs et est en institut spécialisé. Il a présenté un épisode de convulsions fébriles à l'âge de 18 mois, sans récurrence. Sur le plan morphologique, il présente une obésité morbide et des particularités morphologiques. L'examen neurologique est normal. Sa sœur, âgée de 11 ans, présente un retard mental plus léger, avec acquisition de la lecture et de l'écriture et une scolarisation adaptée. Les mêmes caractéristiques morphologiques que son frère sont retrouvées, notamment une obésité sévère, sans signe neurologique. Leur mère est hétérozygote pour cette mutation et présente une obésité et des troubles du comportement. **Discussion :** Certaines mutations du gène *MECP2* sont impliquées dans le retard mental chez les garçons avec une fréquence difficile à évaluer. Une étude ayant sélectionné des patients de sexe masculin présentant un retard mental non X Fragile met en évidence une fréquence de 1,5 % dans cette population. Même si la mutation A 140V est la plus fréquente, elle représente néanmoins un pourcentage très faible dans l'étiologie du retard mental isolé chez les garçons. Cette mutation ne semble pas associée à un phénotype très spécifique dans la littérature, mais peu de patients ont été précisément décrits. Nos 2 patients de sexe masculin présentent une obésité, des troubles psychiatriques (sévéres pour le patient 1), et le plus âgé un syndrome pyramidal d'apparition progressive. Il importe d'examiner attentivement plus de patients porteurs de cette mutation, et de suivre leur évolution afin d'en préciser le phénotype clinique neurologique et psychiatrique, et d'orienter ainsi la recherche ciblée de mutations

Mots-clés : retard mental, *MECP2*, mutation A140V.

■P244 / 551. LE RETARD MENTAL FIXE EST-IL UNE CAUSE FRÉQUENTE DE MALADIE NEUROMÉTABOLIQUE ?

E. Laguerre (1), A. Jacquette (1), A. Afenjar (1, 2), M.L. Moutard (2), M. Mayer (2), K. Maincent (2), N. Dorison (2), A. Guét (2), G. Ponsot (2), D. Héron (1, 2)

(1) Centre de Référence « déficiences intellectuelles de cause rare », Département de Génétique, Hôpital de la Salpêtrière, Paris, France ; (2) Service de Neurologie Pédiatrique et Pathologie du Développement, Hôpital Trousseau

Les erreurs innées du métabolisme sont une cause fréquente d'atteinte neurodégénérative du système nerveux central. Sur le plan clinique, l'orientation du diagnostic vers une maladie neurométabolique se fait souvent sur le caractère progressif (intervalle libre, perte des acquisitions) quelquefois difficile à affirmer. Néanmoins, l'absence de détérioration clinique n'exclut pas le diagnostic de maladie neurométabolique. Nous présentons les observations cliniques et paracliniques de 17 enfants issus de 14 familles, atteints de 7 maladies métaboliques différentes. Tous ces enfants avaient un retard mental non spécifique et non progressif avec pour certains des troubles psychotiques, des éléments dysmorphiques et/ou une épilepsie. Ces maladies étaient (1) une acidurie 4-hydroxybutyrique (déficit en succinate semialdéhyde deshydrogénase) (2) une acidurie 2-hydroxyglutarique, (3) un déficit en transporteur du glucose : maladie de De Vivo (2 cas), (4) une hyperprolinémie de type 1, (5) deux déficits en adenylosuccinate lyase (6) une hyperglycémie sans cétose (3 enfants de parents cousins germains) (7) des anomalies du métabolisme de la créatine (2 déficits en créatine et 5 avec un déficit en transporteur de la créatine). Toutes ces observations illustrent l'importance d'examen à visée métabolique dans les retards mentaux fixés ou les encéphalopathies non progressives, du fait des conséquences d'un diagnostic précoce pour un éventuel traitement spécifique, un conseil génétique adapté, éventuellement un diagnostic prénatal. Néanmoins, la question des « investigations minimales » chez des patients présentant un retard mental non spécifique est loin d'être résolue.

Mots-clés : retard mental fixé, maladies métaboliques, screening.

■P245 / 562. ASSOCIATION DE PLUSIEURS CAS D'APLASIE UTÉRO-VAGINALE A DES DÉLÉTIONS DANS LES QUATRE PRINCIPAUX LOCI CHROMOSOMIQUES LIES AU PHÉNOTYPE DIGEORGE/VCF : ÉTUDE SUR UNE COHORTE DE 57 CAS

K. Morcel (1, 2), L. Pasquier (1, 3), T. Watrin (1), C. Lecaigec (4), P. Philibert (5), R. Rouzier (6), T. Mouchel (2), P. Loget (7), C. Dubourg (1,

8), B.-J. Paniel (9), C. Sultan (5), S. Odent (3), J. Levêque (2), V. David (1, 8), I. Pellerin (1), C. Bendavid (1, 8), D. Guerrier (1)
 (1) UMR 6061 CNRS, Institut de Génétique et Développement de Rennes, Université de Rennes1, IFR 140 GFAS, Faculté de Médecine, Rennes, France ; (2) Département d'Obstétrique, Gynécologie et Médecine de la Reproduction Hôpital Anne de Bretagne, Rennes, France ; (3) Service de Génétique Médicale, \Centre de référence maladies rares anomalies du développement de l'Ouest\, Hôpital Anne-de-Bretagne, Rennes, France ; (4) Research Centre for Reproduction and Genetics, Academisch Ziekenhuis, Vrije Universiteit Brussel, Brussels, Belgium ; (5) Unité d'Endocrinologie-Gynécologie Pédiatrique, Service de Pédiatrie 1, Hôpital Arnaud-de-Villeneuve, Montpellier, France ; (6) Service de Gynécologie-Obstétrique, Hôpital Tenon, Assistance Publique des Hôpitaux de Paris, Université Pierre-et-Marie-Curie, Paris, France ; (7) Cabinet d'Anatomie et Cytologie Pathologiques Richier, Rennes, France ; (8) Laboratoire de Génétique Moléculaire et Hormonologie, Centre Hospitalier Universitaire de Pontchaillou, Rennes, France ; (9) Service de Gynécologie-Obstétrique, CHI de Créteil, Créteil cedex, France

Le syndrome de Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser ou MRKH correspond à une aplasie utéro-vaginale congénitale chez des femmes à caryotype normal, XX et présentant des caractéristiques sexuelles secondaires normales. Son incidence est estimée à 1 femme sur 4500 et il représente la deuxième cause d'aménorrhée primaire après la dysgénésie gonadique. L'aplasie utéro-vaginale peut être isolée (MRKH de type I) mais est généralement associée à d'autres malformations, principalement rénales et squelettiques et, dans un moindre mesure, auditives et cardiaques (MRKH de type II ou association MURCS). Elle peut également être retrouvée sur examen fœtopathologique après interruption médicale de grossesse pour aplasie rénale bilatérale ou malformations cardiaques majeures. Actuellement, les origines génétiques du syndrome MRKH n'ont pas encore été cernées. Les recoupements phénotypiques entre l'association MURCS et celles du syndrome de DiGeorge ou vélocardiofacial (DGS/VCF), nous ont conduits à cibler des recherches d'anomalies au sein des loci chromosomiques 4q34-qter, 8p23, 10p14 et 22q11.21, déjà décrits en association avec le spectre DGS/VCF. Cette analyse, réalisée par la technique de MLPA (Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification) sur une cohorte de 57 cas, a révélé l'implication de ces 4 loci dans 4 cas de syndrome MRKH. Ces résultats suggèrent un mécanisme de syndrome dit de « gènes contigus » et permettent donc d'associer au moins ces 4 loci chromosomiques au syndrome MRKH. Ils devraient également conduire à considérer le spectre du syndrome MRKH lors d'un diagnostic DGS/VCF et de sa prise en charge, et inversement.

Mots-clés : MRKH, association MURCS, MLPA.

■P246 / 573. RETARD MENTAL DE L'ADULTE : DU DIAGNOSTIC À LA PRISE EN CHARGE. ÉVALUATION D'UNE CONSULTATION MULTIDISCIPLINAIRE

P. Charles (1, 2), D. Héron (1, 2), B. Keren (1, 2), P. Ribai (1, 2), G. Ponsot (3), E. Delumeau (1, 2), P. Murat (1, 2), A. Brice (1, 2), A. Jacquette (1, 2)

(1) Consultation de Génétique, Hôpital de la Pitié-Salpêtrière, Paris ; (2) Centre de référence « déficiences intellectuelles de causes rares » ; (3) Service de neuropédiatrie, Hôpital Trousseau, Paris

La prévalence du retard mental est d'environ 3 %. Parmi les étiologies les causes génétiques sont nombreuses. La prise en charge des adultes porteurs d'un retard mental est difficile en l'absence d'étiologie établie pour la plupart qui souvent n'ont pas bénéficié des dernières avancées technologiques en matière de diagnostic. Dans le cadre du centre de référence « déficiences intellectuelles de causes rares », nous avons mis en place depuis deux ans dans le département de génétique de la Salpêtrière une consultation dédiée au diagnostic et à la prise en charge du retard mental de l'adulte, consultation à laquelle interviennent un généticien, un neurologue et un neuropédiatre si nécessaire. Nous rapportons ici l'activité de cette consultation, mise en place depuis novembre 2005 et les caractéristiques de la population suivie. Cet-vingt-deux patients ont été vus au cours de 185 consultations (1.5 consultations en moyenne par patient). Les patients sont adressés de différents services : de pédiatrie pour 25 % des patients qui sont arrivés à l'âge adulte, de neurologie pour 42 %, de myologie pour 10 %, de psychiatrie pour 10 %, et dans 1 à 4 % des cas d'autres services (gynécologie (4 %), génétique (3 %), endocrinologie (2 %), néphrologie (1 %), médecine interne (1 %)), ou du médecin traitant (2 %). L'âge moyen des patients à la première consultation est de 25.5 ans (14-48), le sexe ratio de 59 femmes pour 63 hommes. Le retard mental est rarement isolé (3 %) mais souvent associé à des signes neurologiques (39 %), une dysmorphie faciale ou des signes extra neurologiques dans les autres cas (58 %). Un diagnostic avait été préétabli pour un faible pourcentage de

patients (3 %). La consultation a permis de faire un diagnostic dans 15 % des cas. Outre le diagnostic, la consultation a également pour objectif la prise en charge et le suivi de ces patients qui peuvent bénéficier d'un bilan neuropsychologique et d'un entretien avec une assistante sociale pour leur permettre la meilleure orientation sociale et professionnelle en fonction de leurs aptitudes.

Mots-clés : retard mental, diagnostic, prise en charge.

■P247 / 574. PHÉNOTYPE RÉNAL ET EXTRA-RÉNAL ASSOCIÉ AUX MUTATIONS DU FACTEUR DE TRANSCRIPTION HNF1-BETA

L. Heidet (1, 2, 3), V. Morinière (1), A. Pawtowski (4), A.-S. Lebre, C. Antignac (1, 2, 3, 4), R. Salomon (1, 2, 3, 5)

(1) Centre de Référence Maladies Rénales Héritaires de l'Enfant et de l'Adulte ; (2) Inserm U574 ; (3) Université René-Descartes ; (4) Département de Génétique, Hôpital des Enfants Malades ; (5) Service de Néphrologie Pédiatrique, Hôpital des Enfants Malades

Le gène *TCF2* (ou *HNF1-béta*) code un facteur de transcription à homéodomaine impliqué dans le développement embryonnaire précoce. *TCF2* est exprimé dans le foie, l'intestin et le pancréas, et tout au long du néphron dans le rein. *HNF1-béta* régule l'expression des gènes *Umod*, *Pkhd1* et *Pkd2*, impliqués dans des néphropathies kystiques. Chez l'Homme les mutations hétérozygotes du gène *TCF2* sont associées au diabète *MODY5* associé à une maladie rénale le plus souvent kystique et, chez certains patients, à une hyperuricémie et/ou à des anomalies génitales. L'expression de l'atteinte rénale est très variable. Récemment des mutations de *TCF2* ont été mises en évidence chez environ 30 % des enfants dont les reins étaient hyperéchogènes avant la naissance. Nous rapportons ici une série de 27 patients non apparentés (5 adultes et 22 enfants) présentant un phénotype rénal associé à une mutation *TCF2*. Les résultats de l'échographie anté-natale étaient connus chez 19 patients et montraient des anomalies rénales dans 16 cas : reins hyperéchogènes dans 13 cas (bilatéraux dans 11 cas, associé à une dysplasie multikystique controlatérale dans deux cas), petit rein unilatéral dans un cas, gros reins avec dilatation des cavités dans un cas, dysplasie multikystique unilatérale isolée dans un cas. Outre les dysplasies multikystiques, des kystes étaient visibles en anténatal dans 4 cas (3 fois sur des reins hyperéchogènes bilatéraux, une fois sur des gros reins avec dilatation des cavités). Après la naissance une anomalie de la différenciation cortico-médullaire était notée dans 17 cas sur 19. Dans deux cas la différenciation observée dans la période néonatale disparaît ensuite. Des kystes étaient observés chez 20 patients. La taille des reins était très variable (augmentée dans 7 cas, normale dans 6 cas, diminuée dans 8 cas, non précisée dans 6 cas). Deux enfants avaient un seul rein. Chez les patients adultes c'est le plus souvent l'insuffisance rénale qui a révélé la maladie. Sur le plan extra rénal, l'uricémie était élevée dans 7 cas, normale dans 1 cas, non connue dans 18 cas. Nous n'avons le plus souvent pas d'information sur la biologie hépatique. Une hypoplasie pancréatique sévère avait été retrouvée chez un fœtus qui présentait des gros reins kystiques avec une dilatation pyélique bilatérale. Des anomalies génitales (utérus bicorne) étaient présentes chez une patiente adulte. Des antécédents familiaux étaient retrouvés chez 13 patients (diabète dans 4 cas, maladie rénale dans 8 cas, anomalies génitales dans un cas, hyperuricémie/goutte dans 2 cas). Les mutations mises en évidence sont des délétions complètes du gène dans 15 cas, des mutations faux sens dans 5 cas et des mutations non sens, avec décalage de la phase de lecture, ou d'épissage dans 7 cas. L'analyse de *TCF2* a été faite dans 8 familles. La mutation était transmise dans 5 cas (2 délétions, 3 mutations) et apparaissait *de novo* dans 3 cas (2 mutations et 1 délétion). Parmi les 3 patients porteurs de néo-mutation, deux présentaient des antécédents familiaux de diabète, et un enfant était né de parents consanguins. En conclusion, les mutations de *TCF2* sont associées à des phénotypes très variables sur le plan rénal et extra-rénal. Les délétions complètes représentent la majorité des mutations de ce gène.

Mots-clés : *TCF2*, dysplasie rénale, kystes.

■P248 / 576. DÉMOGRAPHIE DES JEUNES GÉNÉTICIENS ISSUS DU DIPLOME D'ÉTUDES SPÉCIALISÉES « GÉNÉTIQUE MÉDICALE, CLINIQUE, CHROMOSOMIQUE ET MOLÉCULAIRE » (DES 48)

S. Whalen, S. Mercier

SIGF (Société des internes de Génétique médicale de France)

Lors des dernières Assises de Génétique Humaine et Médicale en 2006, nous présentions la démographie des jeunes généticiens issus du Diplôme d'Études Spécialisées « Génétique Médicale, Clinique, chromosomique et moléculaire » (DES 48). Depuis janvier 2006, 10 internes ont rejoint cette



discipline, ce qui porte à 64 le nombre d'internes inscrits depuis 1995, date de la création de ce diplôme. Par ailleurs, 7 internes ont terminé leur cursus lors de ces 2 dernières années. On retrouve une répartition équilibrée entre les principales spécialités de la génétique. La plupart des internes se sont orientés vers une activité mixte clinique et laboratoire (cytogénétique ou biologie moléculaire). Vingt-trois internes sont actuellement en cours de formation au niveau national. La répartition géographique retrouve 4 internes à Paris, 2 internes par ville à Bordeaux, Lille et Tours ; et un interne par ville à Caen, Dijon, Lyon, Montpellier, Mulhouse, Nancy, Nice, Poitiers, Reims, Rennes, Saint-Etienne, Strasbourg et Toulouse. La génétique clinique est l'orientation principale souhaitée par la plupart des internes actuels, et souvent une activité mixte est envisagée en biologie moléculaire, cytogénétique ou fœtopathologie. Trois internes souhaitent s'orienter spécifiquement vers l'oncogénétique clinique et/ou moléculaire. Cette mise à jour de la situation des jeunes généticiens sera présentée en détail sur un poster, en précisant leur répartition géographique, leur orientation professionnelle (clinique, chromosomique, moléculaire), les différents stages effectués dans la maquette du DES, et les études universitaires réalisées en parallèle. Nous présenterons également des données similaires concernant les anciens internes du DES de génétique. Ces informations pourront être utiles tant dans les décisions d'ouverture de poste, que dans le choix de CHU pour les internes nouvellement reçus au concours et intéressés par cette spécialité.

Mots-clés : DES 48, démographie des jeunes généticiens, orientation professionnelle.

■P249 / 582. SYNDROME DE LENZ : À PROPOS D'UNE OBSERVATION

L. Kraoua (1), M. Chaabouni (1), F. Maazoul (1), I. Ouertani (1), I. Chelly (1), N. Hedhli (2), R. Mrad (1), N. Gandoura (2), H. Chaabouni (1)
(1) Service des maladies congénitales et héréditaires, hôpital Charles-Nicolle, Tunis, Tunisie ; (2) Service de pédiatrie et de néonatalogie, hôpital régional de Bizerte, Tunisie

Le syndrome de Lenz associe des malformations congénitales dont la plus caractéristique est une microphthalmie sévère et un retard mental. Il s'agit d'un syndrome rare (une vingtaine de cas ont été rapportés), récessif lié à l'X, génétiquement hétérogène. En effet, le gène a été localisé par des études de liaison au niveau de la région Xq27-q28 mais d'autres mutations touchant les gènes *BCOR* et *PQBP1*, situés respectivement en Xp11.4 et Xp11.23, ont été décrites chez des patients porteurs de ce syndrome. Nous rapportons le cas d'un garçon âgé de 11 ans chez qui le diagnostic de syndrome de Lenz a été retenu. Il s'agit d'un enfant issu de parents apparentés ($f = 1/16$), vu à notre consultation pour la première fois à l'âge de deux ans pour retard psychomoteur et dysmorphie faciale. L'examen à cet âge a montré un poids et une taille à -1 DS, un périmètre crânien à $-1,8$ DS, une asymétrie faciale avec un retrait de l'hémiface droite, une microphthalmie, une obliquité mongoloïde des fentes palpébrales, un palais profond, un microrétrognathisme, des oreilles décollées, des anomalies digitales à type de clinodactylie et de syndactylie partielle et une cryptorchidie droite. Sur le plan psychomoteur seule la position assise était acquise. Le caryotype et le bilan rénal étaient normaux. Le suivi de ce patient a été marqué par l'accentuation de la microcéphalie (-3 DS), la constatation d'un colobome, l'apparition d'une mal implantation dentaire et d'une cyphoscoliose, l'acquisition de la marche après l'âge de trois ans et un retard mental profond. L'examen ophtalmologique montre une microphthalmie bilatérale, un colobome irien et rétinien bilatéral et une atrophie optique. Le bilan radiologique révèle une déminéralisation osseuse diffuse. Le contrôle de la fonction rénale est normal.

Mots-clés : syndrome de Lenz, microphthalmie, retard mental.

■P250 / 584. DE LA NÉO-MUTATION AU MOSAÏCISME SOMATIQUE DANS UNE MALADIE LIÉ À L'X LE SYNDROME OCULO-FACIO-CARDIO-DENTAL (OFCD)

S. Whalen (1), S. Manouvrier-Hanu (2), O. Boute-Bénéjean (2), M. Gérard (3), F. Fellmann (4), F. Dastot-Le Moal (1), P. Bitoun (5), M-P. Cordier (6), I. Bailleul-Forrestier (3), M. Goossens (1), A. Verloes (3), I. Giurgea (1)
(1) Dpt de génétique et INSERM U841, Hôpital Henri Mondor, Créteil, France ; (2) Service de génétique clinique, Centre Hospitalier Régional Universitaire de Lille, France ; (3) Dpt de génétique médicale, Hôpital Robert-Debré, Paris, France ; (4) Service de génétique médicale, Centre Hospitalier Universitaire Vaudois, Lausanne, Switzerland ; (5) Dpt de génétique, Hôpital Jean-Verdier, Bondy, France ; (6) Dpt de génétique médicale, Hôpital Edouard Herriot, Lyon, France

Introduction : Le syndrome Oculo-Facio-Cardio-Dental (OFCD) associe des anomalies oculaires (cataracte congénitale, microphthalmie ou ptosis), faciales (visage allongé, pointe de nez bifide, philtrum long, fente palatine), cardiaques (principalement CIA ou CIV) et dentaires (oligodontie, retard d'éruption dentaire, fusion dentaire, malocclusion et radiculomégalie). Le gène responsable, *BCOR*, localisé en Xp11.4 au locus MCOPS2 de microphthalmie syndromique, a été identifié initialement dans une famille, chez des hommes atteints de Lenz microphthalmia (associant à la microphthalmie un retard mental et d'autres malformations). La mutation alors identifiée était une mutation faux-sens et sa causalité n'a pas été démontrée. Lors de la même étude ont été identifiées des mutations tronquantes et des délétions chez des femmes avec un syndrome OFCD. Depuis, une dizaine de mutations ont été documentées chez des femmes OFCD, mais aucune chez des hommes avec Lenz microphthalmia. Le gène *BCOR* code pour une protéine ubiquitaire, BCL6 corepressor, un régulateur transcriptionnel intervenant durant le développement du système nerveux central, oculaire et squelettique. Récemment, il a été impliqué dans des anomalies de mise en place de la latéralité. Afin de mieux définir le spectre phénotypique de cette pathologie, nous avons étudié le gène *BCOR* chez des patients présentant des signes du syndrome OFCD et de Lenz microphthalmia. Patients : Nous avons étudié 13 patients : 9, de sexe féminin, provenaient de 5 familles et présentaient un syndrome OFCD typique et 4, de sexe masculin, provenaient de deux familles, un garçon avec des signes du spectre OFCD et 3 frères avec un syndrome de Lenz microphthalmia. Méthodes : La recherche de mutations du gène *BCOR* a été réalisée par séquençage et la recherche de grands remaniements par PCR semi-quantitative multiplex et FISH. Résultats : Des mutations du gène *BCOR* ont été identifiées chez les 9 patientes présentant un syndrome OFCD, mais aucune mutation n'a été détectée chez les patients de sexe masculin présentant des signes du spectre OFCD ou un syndrome de Lenz microphthalmia. Ainsi, 4 mutations *de novo* ont été caractérisées chez 4 filles non apparentées avec un tableau typique de syndrome OFCD : 3 nouvelles mutations tronquantes (p.Pro288ArgfsX90, p.Pro190ProfsX26 et p.Arg1480X), et la première mutation récurrente (p.Arg976X). De plus, nous rapportons dans deux familles une mosaïque somatique chez des femmes qui ont transmis la mutation de façon homogène à leur fille atteinte. Dans la 1^{re} famille la mosaïque somatique a été identifiée chez deux jumelles monozygotes, âgées de 36 ans, avec un phénotype OFCD typique. Il s'agit d'une grande délétion emportant tout le gène, avec un mosaïcisme d'environ 50 % dans les leucocytes. Une des jumelles a transmis cette délétion à sa fille de 22 mois, atteinte de syndrome OFCD. Dans la 2^e famille le diagnostic de syndrome OFCD a été porté chez une fille de 10 mois présentant une délétion emportant les exons 13 et 14 du gène *BCOR*. Sa mère, âgée de 33 ans, asymptomatique, porte la même délétion avec un mosaïcisme d'environ 50 % dans les leucocytes. Une variabilité phénotypique est observée chez nos patientes avec un syndrome OFCD, en particulier pour les anomalies cardiaques (absentes dans 3 cas/9) et la dysmorphie qui peut être modérée. On note un retard mental modéré chez une patiente. Conclusion : Nous rapportons 6 mutations tronquantes ou délétions du gène *BCOR* chez 9 femmes présentant un syndrome OFCD et notons une variabilité phénotypique inter et intra-familiale. Nous décrivons pour la première fois dans cette pathologie, deux cas de mosaïcisme somatique chez des mères symptomatiques ou non. Les quatre autres mutations que nous rapportons sont considérées *de novo*, mais la possibilité d'une mosaïque germinale ne peut être exclue. Ces résultats sont d'une importance particulière pour le conseil génétique de cette maladie probablement sous-diagnostiquée.

Mots-clés : syndrome oculo-facio-cardio-dental, gène *BCOR*, mosaïque somatique.

■P251 / 591. MUTATIONS OF THE MITOCHONDRIAL HOLOCYTOCHROME C-TYPE SYNTHASE IN A FAMILY WITH MICROPHthalmia, LINEAR SKIN DEFECTS SYNDROME [MLS]

A. Raas-Rothschild (1), E.-L. Lahad (2), B. Franco (3), K. Kutsche (4), I. Lerer (1)
(1) Department of Human Genetics, Hadassah Hebrew University Medical Center, Jerusalem, Israel ; (2) Institute of Medical Genetics, Shaare Zedek Medical Center, Hebrew University Medical School, Jerusalem, Israel ; (3) Telethon Institute of Genetics and Medicine (TIGEM), Via Pietro Castellino 111, 80131, Naples, Italy ; (4) Institut für Humangenetik, Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf, Butenfeld 42, Hamburg, Germany

We had the opportunity to diagnose a family with Microphthalmia linear skin defect syndrome [MLS or MIDAS]. The MLS syndrome is an X-linked dominant male-lethal disorder most of the time associated with segmental monosomy of the Xp22 region. The first affected patient presented with left glaucoma, no anterior chamber, large opaque cornea and

right central leucoma. The second child presented with a diaphragmatic hernia and bilateral anophthalmia. The third affected daughter presented a linear facial skin defect which progressively disappeared, unilateral anophthalmia and sclerocornea. The family had 3 healthy boys, one healthy girl and 3 additional pregnancies ended by spontaneous abortions. The constellation of findings in this family was compatible with the diagnosis of MLS syndrome. Karyotype analysis of two of these patients was normal as was subtelomeric cytomolecular as well as CGH analysis of the X chromosome. We studied the family for linkage at the MIDAS locus and found a common haplotype between the 2 affected daughters that was different from the healthy daughter and boys. Analysis of the *HCCS* gene, which encodes the mitochondrial holocytochrome c-type synthase, permitted to show that the mother and the two affected daughters carry an 8.6-kb submicroscopic deletion. We wish to present the clinical findings of this family and discuss the variability of this disorder.

Mots-clés : microphthalmia, linear skin defect, holocytochrome c-type synthase.

■P252 / 593. SYNDROME DE GORLIN ET MALADIE DE HODGKIN : UNE ASSOCIATION RAREMENT DÉCRITE

M. Holder-Espinasse (1), L. Bagait (2), F. Piette (3), P. Pellerin (4), S. Manouvrier-Hanu (1), B. Grandchamp (2), N. Soufir (2)

(1) *Service de Génétique Clinique, Hôpital Jeanne de Flandre, CHRU Lille*; (2) *Laboratoire de Biochimie Hormonale et Génétique, Hôpital Bichat Claude Bernard, Paris*; (3) *Service de Dermatologie, Hôpital Huriez, CHRU Lille*; (4) *Service de Chirurgie Plastique, Hôpital Roger Salengro, CHRU Lille*

Le syndrome de Gorlin ou naevomatose baso-cellulaire est une affection rare transmise selon un mode d'hérédité autosomique dominant, à expressivité variable et pénétrance complète. Elle se caractérise par des anomalies du développement et par une prédisposition à différents cancers. Ainsi, de nombreux carcinomes baso-cellulaires peuvent être associés à des kystes odontogéniques des mâchoires, des naevi baso-cellulaires, une hyperkératose palmo-plantaire, des anomalies du squelette, des calcifications ectopiques intracrâniennes et une dysmorphie faciale avec macrocéphalie. Le gène responsable, *PTCH*, localisé en 9q22.3, code pour le récepteur Patched, qui régule négativement l'effet de Sonic Hedgehog. La plupart des mutations apparaissent *de novo*. Nous rapportons l'observation d'un patient âgé de 22 ans, présentant un syndrome de Gorlin ayant été diagnostiqué à l'âge de 11 ans devant l'association d'une fente palatine, d'une macrocéphalie, de kystes maxillaires et de naevi pigmentaires. Secondairement étaient mis en évidence un spina bifida occulta D7-D9, une malformation d'Arnold Chiari grade I-II et un lymphome hodgkinien. L'étude en biologie moléculaire du gène *PTCH* a permis d'identifier une mutation dans l'exon 15, de type c.2552G>A. La mutation n'a pas été retrouvée chez la mère de notre patient, qui présente également une macrocéphalie et des calcifications de la faux du cerveau. L'étude moléculaire n'a pas pu être réalisée chez le père. L'association syndrome de Gorlin-maladie de Hodgkin n'a été rapportée jusqu'à présent qu'à deux reprises dans la littérature, et le rôle de la radiothérapie utilisée dans le traitement du lymphome dans la genèse des carcinomes baso-cellulaires a été discuté. Nous rapportons un nouveau cas dont le diagnostic de naevomatose baso-cellulaire avait été effectué préalablement au diagnostic de maladie de Hodgkin, et pensons que cette association n'est pas fortuite.

Mots-clés : syndrome de Gorlin, naevomatose, maladie de Hodgkin.

■P253 / 599. TEUNISSEN-CREMERS SYNDROME, SYMPHALANGISM AND BRACHYDACTYLY TYPE B IN A FAMILY WITH THE *NOG* GENE P35S MUTATION : SHOULD WE LUMP THESE DISORDERS INTO THE *NOG* JOINT-FUSION DISEASES ?

N. Hirshoren (1), M. Gross (1), E. Banin (2), J. Sosna (3), R. Bargal (4), A. Raas-Rothschild (4)

(1) *Department of Otolaryngology / Head & Neck Surgery*; (2) *Department of Ophthalmology*; (3) *Department of Radiology*; (4) *Department of Human Genetics, Hadassah Hebrew University Medical Center, Jerusalem, 91120, Israel*

We report on a new family with Teunissen-Cremers syndrome. The proband presented with congenital conductive hearing loss due to stapes ankylosis and incus short process fixation with skeletal anomalies including symphalangism, broad thumbs and broad first toes, syndactyly, brachydactyly, contractures of the elbows and knees, hyperopia and lens opacities. This constellation of symptoms is compatible with the diagnosis of one of the joint fusion syndromes namely the Teunissen-Cremers syndrome [TCS], which was first, reported in 1990. Mutations in the *NOG* gene, which encodes the noggin protein, a bone morphogenetic protein

antagonist, were identified in TCS as well as in 4 other autosomal dominant disorders including Proximal symphalangism (SYM1), Multiple synostosis (SYNS1), Tarsal-Carpal Coalition syndrome) and Brachydactyly type B (BDB). Interestingly, we found that the family disease causing mutation, P35S, had already been reported in SYM1 and BDB patients. We suggest lumping these different syndromes into the *NOG* joint-fusion syndromes family.

Mots-clés : stapes ankylosis, *NOG*, Teunissen-Cremers.

■P254 / 601. SYNDROME DE NOONAN ASSOCIÉ À UN HABITUS MARFANOÏDE CHEZ UN PATIENT PORTEUR D'UNE MUTATION DE *SOS1*

G. Morin (1), C. Jeanpetit (1), M. Mathieu (1), H. Cavé (2), J.M. Lebrun (3), A. Verloes (2)

(1) *Unité de Génétique Clinique, Département de Pédiatrie, CHU d'Amiens*; (2) *Département de Génétique, Hôpital Robert-Debré, Paris*; (3) *Service de Pédiatrie, Centre Hospitalier de Soissons*

Introduction : Le syndrome de Noonan est une affection autosomique dominante hétérogène sur le plan génétique. Habituellement il associe une petite taille, un faciès caractéristique (ptosis, hypertélorisme, fentes palpébrales anti-mongoloïdes, arc de cupidon marqué, oreilles dysplasiques et implantées bas, cheveux implantés bas...), des anomalies cardiaques, un cou large ou un pterygium colli, des anomalies urinaires ou génitales (cryptorchidie) et des difficultés scolaires inconstantes. Les gènes impliqués dans le syndrome de Noonan codent pour des protéines régulant ou appartenant à la voie RAS-EKP. Le premier identifié *PTPN11* est impliqué dans près de 50 % des cas et aussi responsable du syndrome LEOPARD. Le gène *KRAS* est en cause dans des formes sévères de syndrome de Noonan et dans le syndrome Cardio-Facio-Cutané (CFC). Le gène *RAF1* est impliqué dans des formes avec cardiomyopathie. Récemment des mutations du gène *SOS1*, surexprimant la voie RAS, ont été décrites comme responsables de près d'un quart des syndromes de Noonan. Nous rapportons l'observation d'un patient atteint de syndrome de Noonan présentant un habitus marfanoïde inhabituel. Observation : Le patient est le troisième garçon d'une mère de 35 ans et d'un père de 39 ans, non apparentés. Il est né à terme, par voie basse, à l'issue d'une grossesse normale et sans signe de souffrance néonatale. À la naissance il pesait 3 280 g, mesurait 50 cm et avait un PC de 34 cm. À l'âge de 3 ans il était retrouvé un retard de langage nécessitant une prise en charge en orthophonie et des anomalies de la motricité fine. À 11 ans du fait de ses difficultés scolaires il était orienté vers un IME. Maintenant âgé de 24 ans il travaille en CAT. Sur le plan clinique il mesure 1 m 83 pour 70 kg et son PC est à 58 cm. Il est très longiligne avec un tronc particulièrement long et présente une arachnodactylie nette des mains et des pieds associée à une hyperlaxité ligamentaire patente. Il a présenté une scoliose sévère et a dû être opéré. Il a une déformation thoracique en carène probablement accentuée par la scoliose sévère. Au niveau du visage il a une implantation basse des cheveux, un hypertélorisme, un ptosis bilatéral modéré, des oreilles dysplasiques et implantées bas, un arc de cupidon marqué et un pterygium colli très net. Résultats : Le bilan réalisé a montré un caryotype standard 46,XY normal, une recherche d'X fragile négative et un criblage de gène *PTPN11* sans particularité. Le séquençage du gène *SOS1* a montré la présence d'une mutation hétérozygote 1654 A>C (R552G) déjà décrite. Discussion : Avant que ne soit découverte l'implication du gène *SOS1* dans le syndrome de Noonan, des mutations de ce gène avaient déjà été retrouvées dans des familles atteintes d'hypertrophie gingivale. Notre patient n'a pas une telle atteinte. En revanche il présente une grande taille et un habitus marfanoïde prononcé inhabituel dans un syndrome donnant plutôt des petites tailles. La famille de ce patient est de grande taille puisque son père mesure 1 m 83, sa mère 1 m 73 et ses deux frères respectivement 1 m 95 et 2 m. Ces derniers n'ont jamais été évalués cliniquement et n'auraient pas les mêmes difficultés que leur cadet. L'hypothèse d'un syndrome de Marfan associé a été évoquée et son investigation moléculaire est en cours. Cependant l'absence d'atteinte cardiaque caractéristique chez le propositus et ses apparentés, l'absence de scoliose, de myopie, d'hyperlaxité ligamentaire, et d'anomalie thoracique chez ses apparentés rend cette hypothèse peu probable. Il est possible que le syndrome marfanoïde qu'il présente soit simplement lié à la grande taille familiale avec un effet atténuateur du Noonan sur la taille. Le patient mesure 12 et 17 cm de moins que ses frères. Enfin un effet de la mutation de *SOS1* pourrait être envisagé. Cependant aucun des 4 patients rapportés par Tartaglia et Roberts et porteurs de cette même mutation ne semble présenter d'habitue marfanoïde.

Mots-clés : syndrome de Noonan, *SOS1*, habitus marfanoïde.



■P255 / 606. HYPERINSULINISME FAMILIAL DE TRANSMISSION AUTOSOMIQUE DOMINANTE PAR MUTATION DU GÈNE *SUR1* (ABCC8)

G. Morin (1), C. Jeanpetit (1), C. Bellanne-Chantelot (2), F. Moreau (3), M. Mathieu (1), A. Leke (3)

(1) Unité de Génétique Clinique, Département de Pédiatrie, CHU Amiens ; (2) UF de Génétique des Maladies Métaboliques et des Neutropénies Congénitales, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris ; (3) Néonatalogie, Département de Pédiatrie, CHU Amiens

Introduction : L'hyperinsulinisme congénital de l'enfant induit des hypoglycémies prolongées du fait de mutations sur des gènes impliqués dans la voie de régulation de la sécrétion d'insuline par les cellules des îlots de Langerhans. Dans la majorité des cas ces mutations concernent deux gènes adjacents situés en 11p15.1 appelés *SUR1* (ABCC8) et *KIR6.2* (KCNJ11), et dans les formes familiales leur mode de transmission est autosomique récessif. Des mutations de ces gènes sont aussi responsables d'hyperinsulinismes sporadiques focaux du fait d'un double événement qui consiste en la perte d'hétérozygotie de la région maternelle 11p entraînant l'expression d'une mutation transmise par le père. De très rares observations d'hyperinsulinismes familiaux de transmission autosomique dominante ont été rapportées, dont certaines secondaires à des mutations de *SUR1* (ABCC8). Nous rapportons une nouvelle famille d'hyperinsulinisme congénital dans laquelle la pathologie concerne un père et sa fille avec identification d'une mutation causale de *SUR1* jusqu'à ce jour jamais rapportée. **Observation :** À deux jours de vie, ce nouveau-né de sexe féminin présente un malaise grave avec bradycardie. Du fait de la présence de cocci gram + sur le liquide gastrique, une infection materno-fœtale est suspectée et l'enfant est transféré en néonatalogie. À l'arrivée dans le service, le bilan révèle une hypoglycémie sévère à 0.2 mmol/l. Les hypoglycémies se répètent ensuite et ne sont contrôlées que par l'institution d'une nutrition continue à débit constant enrichie en hydrates de carbone. Pour permettre une alimentation fractionnée normale, un traitement par diazoxide est instauré avec une bonne efficacité. Le père de ce nouveau-né a été suivi dans l'enfance pour des hypoglycémies récidivantes supposées liées à un hyperinsulinisme mais sans preuve diagnostique. Il a bénéficié d'un traitement par alimentation fractionnée et diazoxide. Depuis la fin de l'adolescence, le traitement médicamenteux a été interrompu et sa connaissance de sa pathologie lui permet de s'alimenter dès que des signes précurseurs d'hypoglycémie apparaissent. **Résultats :** Devant cette observation, un hyperinsulinisme autosomique dominant a été suspecté. Un séquençage des séquences codantes et des régions introniques adjacentes des gènes *HNF4*, *SUR1* (ABCC8) et *KIR6.2* (KCNJ11) a été réalisé. Une mutation faux sens de *SUR1* (2143G>A – V715M) a été retrouvée à l'état hétérozygote chez les deux patients. **Discussion :** La mutation retrouvée dans *SUR1* (ABCC8) n'a à notre connaissance jamais été rapportée. Plusieurs arguments suggèrent son implication dans le phénotype observé. La substitution qu'elle entraîne concerne un acide aminé hautement conservé. Elle n'a pas été retrouvée chez 120 sujets contrôles d'origine eurocaucasienne. Elle est présente chez les deux individus atteints de la famille. Cette observation d'hyperinsulinisme familial secondaire à des mutations de *SUR1* (ABCC8) vient s'ajouter aux rares observations précédemment rapportées dans la littérature. En 1998 Thornton rapportait l'atteinte de 6 personnes d'une même famille réparties sur 4 générations dont 4 étaient de sexe masculin et 2 de sexe féminin. En 2003, une mutation de *SUR1* ségrégeant avec les patients atteints était identifiée. En 2000 Huopio rapportait une grande famille d'hyperinsulinisme avec transmission dominante atteignant 7 individus d'hyperinsulinisme, 7 femmes de diabète gestationnel et provoquant 2 cas de décès néonataux. En 2003, Huopio insistait sur le fait que la mutation identifiée dans *SUR1* était à la fois responsable de l'hyperinsulinisme congénital mais aussi d'un nouveau type de diabète survenant chez l'adulte en milieu de vie, avec probable passage progressif d'un phénotype à l'autre avec l'âge.

Mots-clés : hyperinsulinisme, autosomique dominant, *SUR1* (ABCC8).

■P256 / 609. CARAMMEL : CENTRE DE RÉFÉRENCE POUR LES MALADIES MITOCHONDRIALES DE L'ENFANT À L'ADULTE, UN ENJEU DE SANTÉ PUBLIQUE, UNE NÉCESSITÉ POUR LE DIAGNOSTIC ET LA PRISE EN CHARGE DES PATIENTS

M. Rio, A. Munnich
Service de Génétique, hôpital Necker

Une maladie est définie comme rare si moins d'une personne sur 2000 en est atteinte. La majorité de ces maladies rares sont mal connues des professionnels de santé. Cette méconnaissance est souvent à l'origine d'un retard dans le diagnostic et la prise en charge. Leur diagnostic précoce et leur suivi nécessitent le recours à des équipes pluridisciplinaires. C'est le

rôle des « Centres de Référence Maladies rares ». Labellisé en 2005 dans le cadre du Plan National Maladies Rares, le Centre de Référence pour les Maladies Mitochondriales de l'enfant à l'adulte (CARAMMEL) accueille enfants, adultes, couples ou familles concernés ou susceptibles de l'être par une maladie mitochondriale. C'est un réseau composé de quatre centres experts en matière de maladies mitochondriales : CHU Necker, CHU Bicêtre, CHU d'Angers, CHU de Bordeaux. Ces quatre centres ont la particularité d'être associés à des unités de recherche INSERM travaillant sur les maladies mitochondriales. S'y associent quatre centres de compétence : CHU Dijon, Rouen, Tours et Limoges. Les missions du Centre CARAMMEL comprennent notamment : – L'implémentation d'une base de données spécifique afin d'améliorer la connaissance épidémiologique de ces maladies, de mieux apprécier l'histoire naturelle de la maladie, de mieux appréhender les conséquences de ces pathologies sur la qualité de vie, et d'en évaluer les besoins spécifiques. – Permettre un diagnostic de certitude de la maladie mitochondriale et apporter l'expertise nécessaire au conseil génétique et au diagnostic prénatal et préimplantatoire grâce à une collaboration entre cliniciens, biologistes et chercheurs. – Assurer au patient et sa famille une prise en charge cohérente et globale sur le plan médical et assurer un relais avec les médecins traitants et correspondants à proximité du domicile. – Développer et participer à des programmes de recherches dédiés aux maladies mitochondriales.

Mots-clés : mitochondrie, centre de référence, santé publique.

■P257 / 611. BASES GÉNÉTIQUES DES MICROPHALMIES/ ANOPHTALMIES

N. Chassaing (1, 2, 3), L. Lequeux (3), A. Vigouroux (3), F. Nicot (3), D. Martin (4), B. Gilbert-Dussardier (5), M. Rio (6), S. Odent (7), H. Etchevers (1, 8), P. Calvas (1, 2, 3)

(1) INSERM, U563, Centre de Physiopathologie de Toulouse Purpan, Toulouse, 31300 France ; (2) Université Toulouse III Paul-Sabatier, Toulouse, 31400 France ; (3) CHU Toulouse, Hôpital Purpan, Service de Génétique Médicale, Toulouse, 31300 France ; (4) Centre hospitalier du Mans, Service de Pédiatrie, Le Mans, 72037 France ; (5) CHU Poitiers, Service de Génétique Médicale, Poitiers, 86021 France ; (6) Hôpital Necker-Enfants Malades, Service de Génétique Médicale, Paris Cedex 15, 75743 France ; (7) CHU Rennes, Hôpital Sud, Service de Génétique Médicale, Rennes, 35203 France ; (8) INSERM, U781, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris Cedex 15, 75743 France

Les microphthalmies/anophtalmies sont les plus sévères des malformations oculaires. Leur incidence est estimée à environ 2-3 pour 10000. Plusieurs gènes ont récemment été impliqués dans ces anomalies oculaires (*SOX2*, *OTX2*, *RAX*, *PAX6*, *CHX10*, *STRA6*). Nous avons voulu déterminer la fréquence des anomalies de ces gènes dans une série de patients atteints d'anophtalmie (n = 21) isolée ou syndromique. Les gènes *SOX2*, *OTX2*, *RAX*, *CHX10* et *STRA6* ont pu être étudiés pour ces patients. L'implication de *SOX2*, gène majoritairement responsable des microphthalmies sévères/anophtalmies, a de plus été évaluée chez 30 patients atteints de microphthalmies unilatérales ou modérées. Les résultats de l'étude moléculaire de *SOX2* chez les 51 patients (21 anophtalmes et 30 microphthalmes) a permis d'identifier 11 mutations, soit chez environ 20 % des patients inclus. La majorité des patients porteurs d'une mutation présentaient une anophtalmie (10/11), et seul un présentait une microphthalmie bilatérale. Différents types de mutations ont été identifiées (faux-sens, non-sens, décalantes) sans que leur nature ne soit corrélée à la sévérité du phénotype. L'implication du gène *SOX2* a également pu être démontrée dans un syndrome AEG (Anophtalmia, Esophageal atresia, Genital abnormalities) dans une famille. Dans cette dernière, l'existence d'une variabilité phénotypique interindividuelle était marquée, le germain du proposant ne présentant avec la mutation qu'une hydrocéphalie tri-ventriculaire sans atteinte oculaire. L'existence de deux cas de récurrence au sein de deux fratries sans atteinte phénotypique parentale a abouti à la suspicion dans un cas et la démonstration dans l'autre d'une mosaïque germinale. La fréquence de cette éventualité doit moduler le conseil génétique. Sur les 11 patients anophtalmes non-porteurs d'une mutation dans *SOX2*, la responsabilité du gène *RAX* a pu être démontrée une fois (1/11) chez une patiente présentant une anophtalmie isolée (hétérozygotie composite associant une mutation non sens et une mutation décalant le cadre de lecture). L'implication du gène *OTX2* a été démontrée dans une forme familiale de microphthalmie/anophtalmie transmission dominante autosomique. La variabilité de l'atteinte oculaire est également remarquable dans cette famille s'étendant de la normalité à l'anophtalmie. On note comme pour le gène *SOX2* une extension extra-oculaire des phénotypes et la survenue inconstante d'un retard mental. Le gène *STRA6* (1/11) est responsable de l'association d'une anophtalmie, d'une cardiopathie et d'un retard mental chez trois frères et sœurs sans atteinte parentale, correspondant à une forme récessive autosomique liée

à une hétérozygotie composite pour deux mutations faux-sens. Aucune mutation de *CHX10* n'a été retrouvée. L'implication de ces gènes dans les microphthalmies modérées est en cours d'évaluation chez les 30 patients microphthalmes. Une évaluation de la fréquence d'implication des différents gènes dans les microphthalmies et anophthalmies et la précision du spectre phénotypique des atteintes vise à déterminer un arbre décisionnel diagnostique pour ces malformations dont la connaissance demeure imprécise et où l'hétérogénéité génétique s'accroît.

Mots-clés : anophthalmie, microphthalmie, *SOX2*.

■P258 / 614. ATTEINTE NEUROLOGIQUE PRÉCOCE CHEZ 4 ENFANTS PORTEURS DE MUTATIONS BIALLÉLIQUES DE *PRODH*

A. Afejar (1, 2, 3), M.L. Moutard (1), D. Doummar (1), A. Guet (1, 4), D. Rabier (5), A.I. Vermersch (6), C. Mignot (1, 4), L. Burglen (2, 3), D. Heron (2, 7), E. Thioulouse (8), T. Billette de Villemeur (1, 4), D. Campion (9), D. Rodriguez (1)

(1) Service de neuropédiatrie, Hôpital Armand-Trousseau, Paris ; (2) Centre de référence des anomalies du développement embryonnaire, Hôpital Armand-Trousseau, Paris ; (3) Service de génétique, Hôpital Armand-Trousseau, Paris ; (4) Université Paris VI, Paris ; (5) Service de biochimie, Hôpital Necker, Paris ; (6) Service d'explorations fonctionnelles du système nerveux, central, Hôpital Armand-Trousseau, Paris ; (7) Service de génétique, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris ; (8) Service de biochimie, Hôpital Armand-Trousseau, Paris ; (9) INSERM U614 Faculté de Médecine Rouen

L'hyperprolinémie de type I (HPI) se définit biochimiquement par une élévation du taux de prolinémie sans excrétion urinaire de Delta1-pyrroline-5-carboxylique. Elle résulte d'un déficit en proline oxydase (POX). Cette enzyme intervient lors de la première étape de la conversion de la proline en glutamate. Le gène codant pour la POX : *PRODH* est localisé en 22q11 ; région délétée dans le syndrome vélocardiofacial (VCF). Avant l'identification du gène, différents phénotypes ont été décrits chez des patients avec HPI. Alors que certains patients étaient asymptomatiques d'autres avaient des atteintes neurologiques et extraneurologiques. Depuis l'étude de *PRODH* des mutations hétérozygotes, hétérozygotes composites et homozygotes ont été identifiées chez des patients avec des taux de proline sérique variables et diverses symptomatologies (patients schizophrènes, avec délétion 22q11 et/ou phénotype neurologique). Une étude fonctionnelle a divisé les mutations de *PRODH* en fonction de l'importance de la réduction d'activité de la POX en légère, moyenne ou sévère. Dans cette étude, nous rapportons l'observation de 4 enfants avec HPI et un phénotype neurologique sévère similaire. Nous avons identifié chez ces patients des altérations bialléliques de *PRODH*, toutes responsables d'une réduction sévère de l'activité enzymatique. Il s'agit de mutations faux sens, de mutations stop, de délétions de *PRODH* et d'une délétion 22q11. Quatre autres enfants avec mutations sévères bialléliques de *PRODH* sont rapportés dans la littérature. Le phénotype de ces 8 patients est similaire et associe retard de développement psychomoteur précoce, retard cognitif, traits autistiques et épilepsie. Leurs hyperprolinémies varient de 400 à 2 200 µmol/l. La forme neurologique sévère de l'hyperprolinémie de type I est donc liée à des altérations bialléliques de *PRODH* responsables d'une réduction sévère de l'activité enzymatique. Chez les enfants avec ce type de phénotype neurologique et chez ceux avec délétion 22q11 ce d'autant qu'il existe un retard mental et des troubles autistiques il est intéressant de doser la prolinémie. Lorsque celle-ci est élevée il convient de rechercher des mutations de *PRODH*.

Mots-clés : hyperprolinémie type 1, gène *PRODH*, troubles autistiques.

■P259 / 615. PSEUDOXANTHOMÉ ÉLASTIQUE : INTÉRÊT DE L'IRM CÉRÉBRALE

D.P. Germain (1, 2, 3), C. Perronne (1, 4), H. Allahdadi (1), J.F. Begue (1), C. Boileau (5) ; R. Carlier (6), L. Gouya (5), C. Vallée (6), K. Benistan (1, 2)

(1) Centre de référence de la maladie de Fabry et des maladies héréditaires du tissu conjonctif, Hôpital Raymond Poincaré, Garches ; (2) Unité de génétique médicale, Hôpital Raymond Poincaré, Garches ; (3) Université de Versailles St Quentin en Yvelines ; (4) Département de Médecine Aiguë Spécialisée, Hôpital Raymond Poincaré, Garches ; (5) Laboratoire de biochimie et biologie moléculaire, hôpital Ambroise Paré, Boulogne ; (6) Service de radiologie, Hôpital Raymond Poincaré, Garches

Le pseudoxanthome élastique (PXE, OMIM #264800) est une maladie héréditaire du tissu conjonctif de transmission autosomique récessive, liée à des mutations du gène *ABCC6* au locus 16p13 codant pour une protéine transmembranaire liant l'ATP. Les manifestations cliniques sont

essentiellement dermatologiques, ophtalmologiques et cardio-vasculaires. L'atteinte vasculaire périphérique du PXE est liée à la calcification des fibres élastiques de l'intima, de la limitante élastique interne et de la media de la paroi des artères de moyen et petit calibre. Les lésions sont diffuses et touchent par ordre de fréquence décroissante les artères des membres, les coronaires, les axes carotidiens et vertébraux. Des infarctus cérébraux responsables de paralysie et aphasie transitoires par oblitération artérielle ont été rapportés. Peu de données sont disponibles dans la littérature sur l'imagerie cérébrale chez les patients cliniquement asymptomatiques. Objectif : Etudier la prévalence des lésions ischémiques à l'IRM cérébrale chez les patients atteints de pseudoxanthome élastique. Patients et méthodes : Onze patients (deux hommes et neuf femmes) consécutifs atteints de pseudoxanthome élastique, âgés en moyenne de 51 ans (âges extrêmes : 30-70 ans) vus en consultation dans le centre de référence des pathologies héréditaires du tissu conjonctif, bénéficièrent d'une IRM cérébrale systématique avec réalisation de séquences sagittales en pondération T1, de séquences axiales en pondération T2, de séquences coronales de type FLAIR, et d'une séquence angiographique avec étude des étages sus-tentorial et sous-tentorial. Neuf patients étaient cliniquement asymptomatiques sur le plan neurologique tandis que deux patients avaient des antécédents d'accident ischémique transitoire (AIT). Résultats : Seuls quatre patients (un homme et trois femmes) sur 11 avaient une IRM cérébrale normale. Les sept autres patients, parmi lesquels les deux patients cliniquement symptomatiques, présentaient tous, à des degrés divers, une atteinte vasculaire à l'IRM cérébrale. Parmi ces sept patients, quatre d'entre eux (trois femmes et un homme) présentaient des séquelles de lésions ischémiques (un cas de séquelle d'infarctus occipital droit et de lacunes de la corona radiata, un cas de lacunes cérébelleuses, protubérantielles et frontales multiples, un cas de lacunes cérébelleuses et latéro-ventriculaires, et un cas de lacunes de la capsule externe et de la corona radiata). Deux autres patientes présentaient des hypersignaux de la substance blanche cortico-sous-corticale. Par ailleurs, des anomalies de structure des vaisseaux cérébraux furent mises en évidence à l'angio-IRM chez cinq de ces sept patients (un cas d'hypoplasie de l'artère vertébrale, un cas d'aspect rigide et irrégulier des artères du polygone de Willis, un cas d'aplasie de l'artère communicante postérieure droite, un cas de calcifications des artères du polygone de Willis prédominant au niveau des siphons carotidiens et des artères cérébrales moyennes, un cas d'asymétrie de calibre des artères sylviennes avec volumineuse artère communicante postérieure et dolichotronic basilaire). Discussion : Nos données démontrent l'intérêt de l'imagerie par résonance magnétique (IRM) pour le bilan du PXE. Une maladie occlusive multifocale des petits vaisseaux cérébraux, des infarctus lacunaires et des lésions de la substance blanche furent documentés en imagerie cérébrale chez 64 % des patients (n = 11) la plupart encore cliniquement. Nous recommandons la réalisation systématique d'une IRM cérébrale chez tout patient adulte atteint de pseudoxanthome élastique, affection monogénique responsable d'accidents vasculaires cérébraux.

Mots-clés : pseudoxanthome élastique, tissu conjonctif, *ABCC6*.

■P260 / 618. LE TAURODONTISME : SIGNE DYSMORPHOLOGIQUE ET IMPLICATIONS MOLÉCULAIRES

M.-C. Manière (1), A. Reibel (1), F. Clauss (1), Y. Alembik (2), C. Delfosse (3), A. Bloch-Zupan (1, 4)

(1) Faculté de Chirurgie Dentaire, Université Louis Pasteur, Centre de Référence pour les Manifestations Odontologiques des Maladies Rares, Service soins bucco-dentaires, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg ; (2) Service de Génétique Médicale, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg ; (3) Département d'Odontologie Pédiatrique, Faculté de Chirurgie Dentaire, CHRU de Lille ; (4) IGBMC, Illkirch

Le taurodontisme est une anomalie dentaire morphologique observée au niveau des dents pluriradiculées. Il se retrouve en denture temporaire et permanente, peut-être uni ou bilatéral et intéresser une ou plusieurs dents. Cette anomalie est caractérisée par un déplacement apical de la furcation entraînant une augmentation du volume de la chambre pulpaire. La prévalence varie de 2,5 % chez les caucasiens à environ 15-20 % dans d'autres groupes de population (Inuit, Afrique). Cette anomalie semble due à un défaut de la gaine épithéliale de Hertwig, émanation de l'épithélium dentaire interne juxtaposé à l'épithélium dentaire externe, dont l'apparition signe la fin de la formation coronaire et l'initiation de la formation radiculaire, modifiant ainsi l'arborisation radiculaire. Le taurodontisme est exploré à la radiographie panoramique dentaire et on le retrouve souvent de manière isolée. Il peut être associé à d'autres anomalies du développement dentaire comme les agénésies ou l'amélogenèse imparfaite. Associé à d'autres symptômes, on le retrouve dans certains syndromes génétiques tels que la trisomie 21, les syndromes de Klinefelter, de Wolf-Hirschhorn, de Smith-Magenis, le syndrome Tricho-Dento-Osseux, ou encore



l'hypophosphatase. Au travers de cas cliniques, nous montrerons comment la mise en évidence du taurodontisme peut participer à l'orientation du diagnostic et quels rôles pourraient jouer les gènes impliqués dans la mise en place de la racine et des tissus de soutien associés.

Mots-clés : anomalie dentaire, taurodontisme, syndrome.

■P261 / 627. MANIFESTATIONS PHÉNOTYPIQUES DENTO-MAXILLO-FACIALES ASSOCIÉES AU SYNDROME DE SCHIMMELPENNING-FEUERSTEIN-MIMS : PRÉSENTATION D'UN CAS CLINIQUE ET REVUE DE LA LITTÉRATURE

S. Jung (1), F. Clauss (1, 2), A. De Saint Martin (3), M.-C. Manière (1, 2)

(1) *UF d'Odontologie Pédiatrique, Service de Soins Bucco-dentaires, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg (HUS)*; (2) *Centre National de Référence pour les manifestations odontologiques des maladies rares, HUS*; (3) *Service de Pédiatrie 2, HUS*

Introduction : Le syndrome de Schimmelpenning-Feuerstein-Mims (SFM), également appelé syndrome du naevus sébacé, est un syndrome polymalformatif rare et de survenue sporadique, appartenant à la famille des phacomatoses (OMIM 63200). Il est caractérisé par une association entre des naevi ou hamartomes sébacés linéaires et des atteintes systémiques diverses telles que des anomalies du système nerveux central, vasculaires, ophtalmologiques, squelettiques et lymphatiques. À ce jour, 128 cas ont été rapportés dans la littérature. L'étiopathogénie moléculaire est une mutation autosomique para-dominante létale intervenant à un stade précoce de l'embryogenèse. La survie des individus est uniquement permise par un mosaïcisme somatique. Des troubles de la régulation paracrine, impliquant notamment les molécules de type Transforming Growth Factor (TGF), sont à l'origine d'une prolifération cellulaire anormale induisant les lésions cutanées observées dans le cadre de ce syndrome, mais également dans le cadre des autres phacomatoses. **Cas clinique :** Une enfant présentant un syndrome de SFM et âgée de 21 mois a été adressée par le service de Neuropédiatrie à l'U.F. d'Odontologie Pédiatrique des HUS pour diagnostic et traitement d'anomalies dentaires. L'anamnèse médicale révèle une naissance prématurée à 34 SA, des troubles neurologiques avec un retard mental, une épilepsie, une hémiparésie et une hémiplegie spastique droites, ainsi qu'une agénésie du corps calleux et une hémimégalencéphalie gauche traitée par hémisphérectomie à l'âge de 7 mois au Children's Hospital de Cleveland (USA). La patiente présente différents éléments dysmorphiques maxillo-faciaux tels qu'une légère asymétrie faciale, un élargissement de l'ensellure nasale, un effacement du philtrum, ainsi qu'une rétrognathie mandibulaire. Nous notons l'existence d'un hamartome sébacé vertical s'étendant de la pointe du nez à la région frontale. Nous observons également des anomalies dentaires localisées exclusivement au niveau de l'hémi-maxillaire gauche, c'est-à-dire homolatéralement aux anomalies du système nerveux central : ces manifestations phénotypiques dentaires consistent d'une part en des hypoplasies de l'émail au niveau de toutes les dents temporaires, et d'autre part en des éruptions prématurées à la fois des dents temporaires et permanentes. **Discussion :** La manifestation clinique principale du syndrome de SFM est représentée par les naevi sébacés linéaires qui sont localisés préférentiellement au niveau de la face et du cou et dont la distribution topographique suit les lignes de Blaschko. Certains auteurs rapportent que des lésions de la muqueuse buccale peuvent se trouver en continuité avec les lésions cutanées. Diverses autres manifestations dento-maxillo-faciales sont également intégrées au spectre phénotypique : anomalies dentaires, lésions tumorales bénignes du maxillaire et de la mandibule (odontome, granulome central à cellules géantes, tumeur odontogène adénomatoïde, améloblastome, lésions fibro-osseuses), lésions tumorales bénignes de la muqueuse buccale (papillomes). Etant donné le risque de transformation maligne des hamartomes sébacés linéaires, les lésions muqueuses peuvent se compliquer de carcinomes. D'autres tumeurs malignes, en particulier des tumeurs des glandes salivaires, sont également rencontrées. Tout comme les lésions squelettiques et neurologiques, les anomalies dento-maxillaires associées au syndrome de SFM présentent une distribution topographique spécifique homolatérale aux lésions cutanées. **Conclusion :** Du fait de la prévalence élevée d'atteintes dentaires, muqueuses et maxillo-faciales dans le syndrome de SFM, l'odontologiste devrait participer de façon précoce à la démarche diagnostique ainsi qu'à la prise en charge complexe de ces patients. Etant donné le risque potentiel de survenue de tumeurs malignes au niveau de la cavité buccale, il est indispensable d'instaurer un suivi bucco-dentaire régulier et prolongé.

Mots-clés : syndrome de Schimmelpenning, phénotype, anomalies dento-maxillo-faciales.

■P262 / 633. MODIFICATIONS DE STRUCTURE ET DE DENSITÉ OSSEUSES ASSOCIÉES À LA DYSPLASIE ECTODERMIQUE HYPOHIDROTIQUE LIÉE À L'X

F. Clauss (1, 2), M.-C. Manière (1, 2), F. Obry (1, 2), Y. Alembik (3), H. Lesot (4), M. Schmittbuhl (1, 2)

(1) *Faculté de Chirurgie Dentaire, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, France*; (2) *Centre national de Référence des manifestations odontologiques des maladies rares, Strasbourg, France*; (3) *Département de Génétique Médicale, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, France*; (4) *UMR INSERM U595, Faculté de Médecine, Strasbourg, France*

Introduction : La dysplasie ectodermique hypohidrotique liée à l'X (DEX) est caractérisée par un vaste spectre génotypique et phénotypique associant une agénésie ou une dystrophie des dérivés ectodermiques (dents, phanères, glandes exocrines) dont l'étiologie moléculaire est une mutation du gène *ED1* codant pour un facteur morphogène épithélial appelé l'Ectodysplasine (EDA). Les mutations du gène *ED1*, impliquées dans le phénotype de DEX, sont localisées sur les exons codant pour les différents domaines fonctionnels moléculaires de l'EDA : le site d'homologie TNF (exons 7, 8 et 9) intervenant dans l'interaction EDA-EDA Receptor (EDAR) ; le site collagène-like (exon 5) impliqué dans l'homotrimérisation de l'EDA et le site de clivage protéolytique (exon 3). L'EDA active la voie de transduction NF-kappaB, essentielle dans les processus de différenciation et d'activation ostéoclastique, via EDAR et les molécules adaptatrices TAB2, TAK1 et TRAF6. Les anomalies dentaires sont associées une hypotrophie osseuse alvéolaire et une dysmorphie squelettique crânio-faciale. **Hypothèse :** La mutation du gène codant pour l'EDA est à l'origine de perturbations de l'ostéogenèse et du métabolisme osseux de par les fonctions moléculaires de la voie EDA-NF-kappaB dans la différenciation et l'activation ostéoclastique. De plus, les interactions fonctionnelles entre la voie de l'EDA et RANKL, qui est une cytokine ostéoclastogénique majeure, sont probablement altérées par la mutation de *ED1*. En effet l'EDA est exprimée au niveau des ostéoblastes durant le développement embryonnaire, ce qui suggère l'existence de fonctions moléculaires de l'EDA dans l'ostéogenèse. Le phénotype du modèle expérimental murin de DEX, la souris Tabby, est caractérisé par des modifications structurales osseuses. Les manifestations phénotypiques osseuses au niveau crânio-facial, associées au phénotype de DEX chez l'homme, pourraient influencer l'ostéointégration implantaire dans le cadre de la réhabilitation implantaire prothétique des patients DEX. **Matériel et méthodes :** Afin d'investiguer les modifications structurales osseuses associées à la DEX, des examens scanographiques, des reconstructions multiplanaires et tridimensionnelles ainsi que des analyses densitométriques osseuses ont été réalisés chez un groupe de 5 patients atteints de DEX. Les densités osseuses ont été caractérisées selon la classification des densités osseuses de Lekholm et Zarb. **Résultats :** Des zones d'hyperdensité osseuse médullaire, correspondant à une densité de type D2-D1, sont retrouvées sur les coupes scanographiques des patients DEX et sont confirmées par les analyses densitométriques. En effet, les profils densitométriques osseux des patients DEX montrent une hyperminéralisation osseuse de la région symphysaire par rapport aux profils densitométriques témoins, caractérisés par une densité médullaire de type D4. Un phénotype d'hypercorticalisation de sévérité variable au niveau de la région symphysaire des patients DEX est observé sur les coupes scanographiques et les reconstructions tridimensionnelles.

Mots-clés : dysplasie ectodermique hypohidrotique, phénotype osseux, analyses densitométriques.

■P263 / 643. MUTATION DU GÈNE *NPHP2* DANS LA NÉPHRONOPHTISE INFANTILE

R. Salomon (1, 2, 3, 5), V. Morinière (1), T. Lacoste (2, 3), M. Delous (2, 3), S. Saunier (2, 3), C. Antignac (1, 2, 3, 4)

(1) *Centre de Référence Maladies Rénales Héritaires de l'Enfant et de l'Adulte*; (2) *Inserm U574*; (3) *Université René-Descartes*; (4) *Département de Génétique, Hôpital des Enfants Malades*; (5) *Service de Néphrologie Pédiatrique, Hôpital des Enfants Malades*

La néphronophtise (NPH) est une néphropathie héréditaire tubulo-interstitielle de transmission autosomique récessive. La forme juvénile la plus fréquente qui évolue vers l'insuffisance rénale terminale (IRT) durant l'adolescence est caractérisée par des anomalies des membranes basales tubulaires associées à une fibrose interstitielle massive, et à un stade plus tardif, des kystes dans la médullaire. La forme infantile responsable d'une IRT avant l'âge de deux ans est caractérisée par des reins augmentés de taille avec des kystes corticaux et médullaires dès la naissance. Les gènes *NPHP1*, *NPHP3*, *NPHP4* et *NPHP5* peuvent être mutés dans la forme juvénile, alors que le gène *NPHP2* codant pour l'inversine est responsable de la NPH infantile. Tous ces gènes sont exprimés dans le cil primaire, comme les gènes responsables d'autres maladies rénales kystiques. Nous

avons analysé le gène *NPHP2* dans une cohorte de 28 patients avec une NPH responsable d'une IRT avant l'âge de 6 ans. Une mutation du gène *NPHP2* a été trouvée chez 17 patients issues de 15 familles non apparentées, dont 6 déjà rapportées¹. L'âge moyen de l'IRT était de 22 mois (5-46). Des signes extra-rénaux étaient présents chez 11 patients : un situs inversus associé à une anomalie cardiaque dans deux cas (communication interventriculaire (CIV) chez l'un, sténose pulmonaire et aortique chez l'autre), une sténose pulmonaire isolée chez un autre patient, des épiphyses en cônes chez deux sœurs, une hypertriglycéridémie dans deux cas, une fibrose hépatique chez deux patients, une atrophie cérébelleuse dans un cas, une atteinte bronchique chez deux patients, une surdité de perception dans un cas et une hydrocéphalie dans un cas. La rétine était normale dans tous les cas. Une hypertension artérielle était notée dans 11 cas souvent sévère, une microangiopathie était présente chez deux patients. La biopsie rénale réalisée chez 12 patients, montre une néphrite interstitielle avec des kystes corticaux et médullaires. 14 mutations différentes de ont été retrouvées (7 mutations stop, 3 mutations décalant le cadre de lecture, 3 mutations faux-sens et une mutation d'épissage). Il s'agissait d'une mutation homozygote dans 5 familles, de mutations à l'état hétérozygote composite dans 7 familles alors qu'une mutation a été identifiée sur un seul allèle dans 3 familles. Les patients sont originaires de France (10), de Turquie (2), d'Israël (1), du Liban (1), du Portugal (1) et du Maroc (1). Le gène *NPHP2* est impliqué dans notre série dans la moitié des cas de néphrite interstitielle avec insuffisance rénale avant l'âge de 6 ans. L'histologie quand elle était disponible était caractéristique. Les anomalies extra-rénales en particulier cardiaques, osseuses et hépatiques sont fréquentes, elles traduisent probablement un dysfonctionnement du cil primaire dans ces différents organes.

Référence

Otto et al. *Nat Genet* 2003 ; 34 : 413-20.

Mots-clés : néphronophtise, *NPHP2*, ciliopathie.

■P264 / 645. GÈNE EIF2B3 : FACTEUR DE SUSCEPTIBILITÉ À LA SCLÉROSE EN PLAQUES ?

F. Taithe (1), E. Eymard-Pierre (1), C. Barbier (1), I. Cournu-Rebeix (2), F. Clerget-Darpoux (3), B. Fontaine (2), M.-C. Babron (3), O. Boespflug-Tanguy (1), A. Fogli (1)

(1) INSERM UMR384, Faculté de médecine, Clermont-Ferrand ; (2) AP-HP, INSERM UMR 546, Université Pierre et Marie Curie, Paris 6 ; (3) INSERM U535, Hôpital Paul Brousse, Villejuif

Introduction : La sclérose en plaques (SEP) est une affection chronique inflammatoire et démyélinisante du système nerveux central qui semble associé à une combinaison complexe de facteurs génétiques et environnementaux. Devant l'existence de nombreuses similitudes cliniques, physiopathologiques et génétiques entre la SEP et les leucodystrophies liées à des mutations du gène du facteur d'initiation de la traduction eIF2B (eIF2B-pathies), nous avons fait l'hypothèse d'une éventuelle contribution des cinq gènes *EIF2B* dans la susceptibilité multigénique de la SEP et nous avons étudié dans un premier temps le gène *EIF2B5*, le plus fréquemment impliqué dans les eIF2B-pathies, mais les résultats se sont avérés négatifs. Nous avons ensuite analysé le gène *EIF2B3*, récemment associé à l'âge de début de la maladie de Parkinson. Matériel et méthodes : Pour ce travail, nous avons génotypé par discrimination allélique en utilisant les sondes TaqManTM 12 marqueurs indépendants couvrant l'ensemble du gène *EIF2B3* chez 885 individus appartenant à une banque de 295 familles trios (base de données REFGENSEP). Résultats : La recherche pour chacun de ces marqueurs d'un déséquilibre de transmission entre les parents et les enfants atteints n'a pas montré d'association entre *EIF2B3* et la SEP. Par ailleurs, l'appariement de cette recherche avec la covariable MSSS (score de sévérité de la SEP) n'a pas révélé de relation entre ce gène et l'hétérogénéité clinique de la SEP. Conclusion : Le gène *EIF2B3* ne semble donc pas participer à la prédisposition génétique à la SEP. Ce travail devra être complété en utilisant d'autres covariables et l'analyse des autres gènes *EIF2B* devra également être envisagée.

Mots-clés : Sclérose en plaques, *EIF2B3*, facteur de susceptibilité.

■P265 / 646. UNE MUTATION ACTIVATRICE DE RET CHEZ DES PATIENTS ATTEINTS D'HYPODYSPLASIE RÉNALE ISOLÉE

R. Salomon (1, 2, 3, 5), V. Morinière (1), M. Santoro (6), F. Schaefer (7), le groupe ESCAPE et C. Antignac (1, 2, 3, 4)

(1) Centre de Référence Maladies Rénales Héritaires de l'Enfant et de l'Adulte ; (2) Inserm U574 ; (3) Université René-Descartes ; (4) Département de Génétique, Hôpital des Enfants Malades ; (5) Service de Néphrologie Pédiatrique, Hôpital des Enfants Malades ; (6) University « Federico II », 80131 Naples, Italy ; (7) University Hospital for Pediatric and Adolescent Medicine, Heidelberg, Germany

Le proto-oncogène *RET* code pour un récepteur tyrosine-kinase qui joue un rôle essentiel au cours du développement rénal et du système nerveux entérique. L'inactivation du gène *Ret* chez la souris entraîne une aganglionose digestive et une hypodysplasie rénale (HDR). Chez l'homme, des mutations inactivatrices sont présentes chez des patients atteints de la maladie de Hirschsprung qui se caractérise par une absence de plexus myentérique dans la partie terminal du colon. Des malformations rénales ont été décrites de façon exceptionnelle chez ces patients. Les mutations du gène *RET* n'ont par ailleurs jamais été rapportées chez des patients avec HDR isolée. Des mutations activatrices de *RET* prédisposent au cancer médullaire de la thyroïde (CMT) isolé ou associé à un phéochromocytome et à une hyperparathyroïdie voire à une ganglioneuromatose digestive (Néoplasies endocrines multiples de type 2). Quelques cas d'agénésie rénale ou d'HDR ont été décrits chez des patients ayant un CMT. Nous avons recherché des mutations dans le gène *RET*, son ligand *GDNF* et le co-récepteur *GFRA1* dans une cohorte de 100 patients ayant une hypodysplasie rénale responsable d'une insuffisance rénale avant l'âge de 15 ans. Une mutation faux-sens Y791F dans l'exon 13 de *RET* a été mise en évidence chez six enfants non apparentés. Cette mutation a déjà été rapportée chez des patients ayant un CMT. Il est intéressant de noter que tous ces patients sont originaires d'Europe centrale comme les six patients de notre cohorte. Nous avons pu en analysant les marqueurs microsatellites dans la région du gène *RET* sur le chromosome 10 déduire que ces patients originaires de Pologne, de Serbie et d'Allemagne avaient un ancêtre commun. L'ancienneté de l'effet fondateur de cette mutation a été estimé à 26 générations ce qui correspond à une mutation datant de 650 ans environ avec un intervalle de confiance à 95 % de 13 à 53 générations. Aucune antécédent de cancer médullaire de la thyroïde, de phéochromocytome ou de maladie de Hirschsprung n'était connu chez ces patients et leurs familles. Des tests biologiques pour dépister le cancer médullaire de la thyroïde (dosage de la calcitonine) sont en cours. Les premiers résultats montrent déjà dans deux familles des taux compatibles avec une hyperplasie cellules C. Nous avons testé l'effet de cette mutation sur l'activation du domaine kinase de RET et pu démontrer que cette mutation avait bien un effet activateur de la kinase comme attendu mais à un degré moindre que la mutation C634R fréquente au cours des NEM2A. Cette constatation est en accord avec le fait que le CMT chez les patients porteurs de la mutation Y791F ont des CMT moins agressifs et plus tardifs que ceux qui sont associés à la mutation C634R de l'exon 10. L'absence de CMT chez les patients, leurs parents et grands-parents démontre que la pénétrance de cette mutation est faible pour le CMT. Il serait intéressant de faire chez tous les patients ayant la mutation Y791F de *RET* une échographie rénale. Compte tenu de la fréquence de cette mutation dans les pays d'Europe centrale, il peut paraître licite de la rechercher chez tous les patients ayant une HDR dans cette région du monde. Des dosages de la calcitonine de base et après stimulation par la pentagastrine devraient alors être systématiquement réalisés lorsque cette mutation est détectée. La réalisation d'une thyroïdectomie est hautement recommandée si le test est positif mais l'âge auquel cette intervention doit être programmée est très discuté.

Mots-clés : hypodysplasie rénale, *RET*, cancer médullaire de la thyroïde.

■P266 / 649. ASPECTS DENTO-MAXILLO-FACIAUX DU SYNDROME DE SOTOS : À PROPOS DE 2 CAS

C. Delfosse (1), T. Trentesaux (1), M. M. Roussel (1), M. Holder-Espinasse (2), Y. Alembik (3), A. Bloch-Zupan (4, 5), M.-C. Manière (4)

(1) Département d'Odontologie Pédiatrique, Faculté de Chirurgie Dentaire, CHRU de Lille ; (2) Service de Génétique Médicale, CHRU de Lille ; (3) Service de Génétique Médicale, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg ; (4) Faculté de Chirurgie Dentaire, Université Louis Pasteur, Centre de Référence pour les Manifestations Odontologiques des Maladies Rares, Service de Soins bucco-dentaires, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg ; (5) IGBMC, Illkirch

Le syndrome de Sotos (OMIM #117550), encore appelé gigantisme cérébral, est principalement caractérisé par d'une part une croissance excessive avec macrocéphalie et avance de l'âge osseux, d'autre part des éléments dysmorphiques caractéristiques associés à un retard mental et moteur de gravité variable. D'autres anomalies, incluant une scoliose, des anomalies cardiaques et urogénitales, une épilepsie ont été rapportées (Baujat et Cormier-Daire, 2007). La prévalence exacte de ce syndrome n'est pas connue, mais des centaines de cas ont été décrits dans la littérature (approximativement 1/10 000). Des mutations et des délétions totales ou partielles dans le gène *NSD1*, localisé en 5q35 et codant pour une histone-méthyltransférase, ont été détectées dans plus de 75 % des cas de patients atteints. La plupart des cas sont sporadiques. Cas cliniques Le premier cas est celui d'un enfant adressée au département d'odontologie pédiatrique du CHRU de Lille pour une réhabilitation bucco-dentaire à l'âge de 8 ans u



développement dentaire chez la souris (Rayasam et coll., 2003). Les troubles comportementaux associés à ce syndrome compliquent la prise en charge odontologique et nécessitent fréquemment le recours à la sédation consciente, voire, en cas d'échec, à l'anesthésie générale. Une meilleure compréhension des aspects comportementaux du syndrome de Sotos et un bilan odontologique précoce permettraient d'optimiser la prise en charge bucco-dentaire.

Mots-clés : manifestations maxillo-bucco-dentaires, comportement, prise en charge.

■P267 / 650. ÉTUDE CLINIQUE ET GÉNÉTIQUE DE LA DYSTROPHIE NEUROAXONALE INFANTILE (GÈNE *PLA2G6*)

A. Afenjar (1, 2, 3), I. Desguerre (4), A. Guet (1, 5), C. Mignot (1, 5), A. Gelot (6), A. Toutain (7), F. Giuliano (8), M.-A. Barthez (9), S. K. Westaway (10), A. Gregory (10), T. Nguyen (10), G. Ponsot (1) T. Billette de Villemeur (1, 5), S. J. Hayflick (10), D. Rodriguez (1, 2, 5) L. Burglen (2, 3)

(1) AP-HP, Service de neuropédiatrie, Hôpital Armand-Trousseau, Paris, France ; (2) AP-HP, centre de référence pour les malformations et maladies congénitales du cerveau, Hôpital Armand-Trousseau, Paris, France ; (3) AP-HP, Service de génétique, Hôpital Armand-Trousseau, Paris, France ; (4) AP-HP, Service de neuropédiatrie, Hôpital Necker, Paris, France ; (5) Université Paris VI, Paris, France ; (6) AP-HP, neuropathologie laboratoire d'anatomopathologie, Hôpital Armand-Trousseau, Paris, France ; (7) Service de génétique, Hôpital Bretonneau, Tours, France ; (8) Service de génétique, Hôpital de l'Archet, Nice, France ; (9) Service de neurologie, Hôpital Gastien de Clocheville, Tours, France ; (10) Department of molecular and medical genetics, Portland Oregon, USA

Introduction : La dystrophie neuroaxonale infantile (DNAI) est une maladie neurodégénérative de transmission autosomique récessive caractérisée sur le plan neuropathologique par la présence de corps sphéroïdes traduisant une dégénérescence axonale. Cliniquement on observe une dégradation neurologique débutant avant 3 ans, avec hypotonie axiale et syndrome pyramidal aboutissant à un état grabataire. Ces signes sont associés à une atrophie optique, une atteinte de la corne antérieure et à l'IRM cérébrale une atrophie cérébelleuse. La confirmation diagnostique reposait jusqu'à présent sur l'aspect des axones à l'histologie (peau, conjonctive, nerfs périphériques, rectum) Plus récemment un hyposignal des globes pâles a été décrit chez certains patients. Ce nouveau signe radiologique évoque une accumulation de fer et a permis de rapprocher la DNAI des « neurodegeneration with brain iron accumulation » (NBIA). Parmi ces NBIA, le syndrome Karak se caractérise par un tableau dégénératif débutant par des troubles de la marche vers l'âge de 5 ans. Ces similitudes ont permis à Morgan *et al.* d'identifier un locus candidat situé en 22q12-q13 puis des mutations du gène *PLA2G6* dans ces deux pathologies. Ce gène code pour une phospholipase A2 et jouerait un rôle dans l'apoptose cellulaire et l'homéostasie membranaire. Aucune mutation de *PLA2G6* n'a été retrouvée chez 13 % des patients suggérant l'existence d'un second gène ou la présence de mutations non détectées (promoteur, intron, délétion de plusieurs exons). **Patients, matériel et méthodes –** Nous avons étudié 14 patients ayant un diagnostic certain ou présumé de DNAI. L'étude du gène *PLA2G6* a été réalisée, pour 7 d'entre eux dans le cadre d'une collaboration avec le laboratoire du Pr Hayflick et pour les 7 autres par notre équipe, par séquençage, associé à la recherche systématique d'une grande délétion, emportant l'exon 14 et l'extrémité 3' du gène. Ce travail a comporté une analyse des données, cliniques, électrophysiologiques, histologiques et radiologiques des patients, et des corrélations génotype-phénotype. **Résultats discussion–** Des mutations bialléliques du gène *PLA2G6* ont été identifiées chez tous les patients. Il s'agit majoritairement de mutations faux-sens (9) mais aussi de mutations non-sens (3), mutation d'épissage (1), d'une délétion en phase de 3 acides aminés et de la grande délétion emportant l'extrémité 3' du gène. Tous les patients ont eu un développement psychomoteur initial normal (marche acquise chez 4/14). Les premiers signes sont apparus avant l'âge de 18 mois (5 mois-18 mois). Il s'agissait de troubles ophtalmologiques (strabisme, nystagmus) (3/14), d'une hypotonie (5/14), d'une stagnation des acquisitions psychomotrices (5/14) et d'une diplégie spastique (1/14). Tous ont présenté ensuite une régression psychomotrice avec altération du contact, hypotonie axiale et syndrome tétrapyréal. Trois patients ont présenté des crises convulsives (à 2,5, 3 et 6 ans). L'évolution a conduit à un état grabataire après 18 mois à 6 ans d'évolution. Cinq patients sont décédés entre l'âge de 7 et 10 ans de l'évolution de la DNAI, et une est décédée à 3 ans d'une tumeur périméale. Les 12 patients qui ont bénéficié d'un EEG avaient des rythmes rapides sur au moins un tracé. Une atrophie cérébelleuse était présente chez 12 des 13 patients ayant eu une IRM cérébrale. Un EMG a été réalisé chez 11 enfants retrouvant une neuropathie motrice. L'atrophie optique

était constante après l'âge de 2 ans. La biopsie de peau, réalisée chez 12 patients, a permis de confirmer le diagnostic chez 10 enfants. L'analyse des données cliniques et moléculaires n'a permis d'identifier aucune corrélation génotype-phénotype. **Conclusion–** Ce travail confirme que le gène *PLA2G6* est un gène majeur de dystrophie neuroaxonale infantile. L'étude moléculaire permet d'éviter la biopsie cutanée lorsque le phénotype est typique. La biopsie reste indiquée dans les phénotypes atypiques et en cas de normalité de *PLA2G6*

Mots-clés : dystrophie neuroaxonale infantile, *PLA2G6*, corrélation génotype-phénotype.

■P268 / 666. RÉDUCTION DU NOMBRE DE COPIES DU GÈNE *RBMY* DANS UN CAS DE MICRODÉLÉTION PARTIELLE EN AZFB

I. Plotton (1, 2, 3, 4), C. Ducros (2, 3), M. Pugeat (3), P. Durand (1), Y. Morel (2), H. Lejeune (1, 4)

(1) IFGL, Hôpital Debrousse ; (2) Laboratoire de Biochimie Endocrinienne et Moléculaire, GHE ; (3) Fédération d'Endocrinologie ; (4) Département de Médecine de la Reproduction, Lyon, France

Les microdélétions complètes de la région AZFb du chromosome Y sont habituellement associées à une azoospermie par blocage en méiose. Nous rapportons un cas d'oligo-asthénospermie avec diminution du volume testiculaire et élévation de la FSH. Le dépistage à la recherche de microdélétion de l'Y a montré l'absence d'un marqueur sY 143, suggérant une microdélétion en AZFb. Les STS testés secondairement pour caractériser la taille de la délétion indiquent qu'il s'agit d'une délétion partielle distale de la région AZFb L'analyse de l'ADN génomique du père montre des résultats identiques. Au cours des investigations, une grossesse est survenue naturellement après deux ans de délai. Le caryotype fœtal était 46, XY et la même microdélétion était observée sur l'ADN des amniocytes, puis par la suite confirmé sur le sang du cordon à la naissance, chez un garçon bien portant. Le gène candidat *RBMY1* est localisé dans la région AZFb mais il possède également des gènes et pseudogènes homologues ailleurs dans le génome. Nous avons développé un marqueur spécifique de *RBMY1*, selon les données génomiques de la famille de gènes RBM, en choisissant des amorces amplifiant l'intron 9. La spécificité de ce marqueur a été confirmée par l'absence d'amplification chez la femme, l'homme 46, XX, SRY+ et un patient avec une délétion classique de AZFb. Ce marqueur est présent chez les témoins fertiles, comme chez le patient, son père et son fils. L'analyse avec la sonde RBMY1 marquée au 32P en Southern Blot de l'ADN digéré par Eco R1 est en faveur d'un réarrangement chez le patient et son fils avec la disparition de 2 bandes par rapport aux témoins fertiles. Les données du Southern Blot ont été confirmées par PCR quantitative, avec une diminution du nombre de copies chez le patient, son père et son fils par rapport aux témoins fertiles. L'analyse complémentaire à la recherche d'une délétion partielle d'AZFb montre une délétion associée des copies DAZ3 et DAZ4 et de sY 1192 ce qui est habituellement associée à l'haplogroupes N3 du chromosome Y. Ainsi, pour la première fois, nous décrivons un patient avec un trouble partiel de la spermatogenèse associé à une délétion partielle de AZFb, dans l'haplogroup N3 du chromosome Y. Cette microdélétion partielle de la région AZFb vient conforter l'idée que le blocage en méiose des microdélétions classiques de la région AZFb sont dues à l'absence complète des 6 copies du gène *RBMY1*.

Mots-clés : microdeletion chromosome Y, copies de *RBMY1*, reproduction.

■P269 / 674. ANOMALIES DENTAIRES ET MAXILLO-FACIALE DANS LE SYNDROME 48XXYY : ÉTUDE DE CAS

C. Tardieu (1), V. Pastre (2), F. Cheynet (3)

(1) Service d'odontologie, CHU Timone Marseille ; (2) Service d'Odontologie, Orthodontie, CHU Timone Marseille ; (3) Service de Stomatologie chirurgie maxillo-faciale, CHU Timone Marseille

Introduction : Le tableau clinique du syndrome 48,XXYY ne décrit pas actuellement de manifestations odontologiques (Source Orphanet). Cependant, la consultation en urgence du jeune garçon D. pour une cellulite maxillaire droite à l'âge de 10 ans a permis de diagnostiquer de nombreuses anomalies dentaires. **Matériel et Méthodes :** Le suivi de D depuis 3 ans et gence infectieuse ou douloureuse ? chez des enfants qui fréquentent les consultations médicales depuis leur plus jeune enfance. Le diagnostic des anomalies dentaires, souvent rencontrées dans les syndromes malformatifs, devrait être proposé plus systématiquement et les parents encouragés à des consultations régulières. Le potentiel odontologique et les fonctions oro-faciales pourraient ainsi être mieux préservées, voire corrigées. **Conclusion :** La situation de cet enfant souligne l'intérêt d'une prise

en charge bucco-dentaire précoce des manifestations odontologiques des maladies rares. Le traitement tardif reste possible, mais plus pénible pour l'enfant.

Mots-clés : dent, hypodontie, malformations oro faciales.

■P270 / 675. LES MUTATIONS DU GÈNE DU TRANSPORTEUR DE LA TRIIODOTHYRONINE (MCT8) SONT RESPONSABLES D'UN PHÉNOTYPE NEUROLOGIQUE SÉVÈRE AVEC RETARD DE MYÉLINISATION : À PROPOS DE 2 PATIENTS

V. Valayannopoulos (1), A. Carré (2), I. Desguerre (3), N. Boddaert (4), J. Amiel (5), A. Munnich (5), P. de Lonlay (1), M. Polak (2)

(1) Unité de Métabolisme ; (2) INSERM U-845 et Unité d'Endocrinologie Pédiatrique ; (3) Neuropédiatrie ; (4) Radiologie Pédiatrique ; (5) Service de Génétique et INSERM U-781, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris

Les mutations du gène du transporteur de la triiodothyronine (MCT8 ou SLC16A2) de transmission récessive liée au chromosome X, ont été décrites chez des jeunes patients de sexe masculin présentant une hypotonie dès la naissance, un retard du développement, une spasticité pyramidale et une dystonie extrapyramidale constituant le syndrome d'Allan-Herndon-Dudley (OMIM 300523). Ces patients se présentent avec un profil thyroïdien particulier avec une T3 élevée, une T4 basse avec une TSH normale ou discrètement élevée. Nous présentons 2 jeunes patients de sexe masculin, âgés actuellement de 36 mois et de 26 mois porteurs de mutations de MCT8. Le premier patient a été diagnostiqué à l'âge de 2 mois devant une hypotonie avec mauvais contact social motivant la réalisation d'un bilan biologique thyroïdien qui a révélé un profil compatible avec ce déficit. L'évolution a été marquée par la majoration de l'hypotonie avec apparition d'une hypertonie extrapyramidale et d'une spasticité, d'un strabisme convergent ainsi qu'un retard de développement global. L'IRM cérébrale réalisée à l'âge de 9 mois a retrouvé un retard de myélinisation massif en T2 et une élévation du pic de choline à la spectro-RMN. Le diagnostic a été confirmé après mise en évidence d'une mutation d'épissage IVS4-1G>C du gène SLC16A2. Un traitement par la L-thyroxine a été essayé qui n'a pas amélioré la symptomatologie du patient. La biologie thyroïdienne et l'examen clinique sont normaux chez la mère du patient qui est porteuse hétérozygote de la même mutation. Le 2^e patient a été diagnostiqué à l'âge de 8 mois. Il présentait un retard global du développement avec hypotonie axiale et hypertonie extra-pyramidale associée à une spasticité des membres inférieurs et un strabisme convergent. Il présentait les mêmes anomalies biologiques thyroïdiennes à savoir une T3 élevée avec une T4 basse et une TSH discrètement élevée. Son IRM cérébrale à l'âge de 24 mois montrait comme précédemment un retard majeur de myélinisation en T2 et une élévation du pic de choline à la spectro-RMN. Le séquençage du gène SLC16A2 a retrouvé une mutation G564R dans l'exon 6. La mère de ce patient est elle-même porteuse d'un retard mental avec un bilan biologique thyroïdien similaire. Le statut moléculaire de la mère est en cours d'investigation de même que l'étude de l'inactivation de l'X. En résumé, l'investigation des patients de sexe masculin présentant un phénotype neurologique sévère avec retard du développement, spasticité et dystonie et un retard de myélinisation massif à l'IRM doit comprendre un bilan biologique thyroïdien complet afin de détecter des profils compatibles avec les mutations du gène du transporteur MCT8.

Mots-clés : MCT8, dystonie, retard de myélinisation.

■P271 / 676. SUIVI AU LONG COURS DE 2 OBSERVATIONS DE SYNDROME DE KENNY-CAFFEY DE TRANSMISSION AUTOSOMIQUE RÉCESSIVE AVEC MUTATION DANS LE GÈNE TBCE

S. Noel-Couillard (1), M. Le Merrer (1), J.C. Carel (2), G. Pinto (3), A. Munnich (1), V. Cormier-Daire (1)

(1) Service de Génétique Médicale, CHU Necker-Enfants Malades, Paris ; (2) Service d'Endocrinologie pédiatrique, CHU Robert-Debré, Paris ; (3) Service d'Endocrinologie pédiatrique, CHU Necker-Enfants Malades, Paris

Le syndrome de Kenny-Caffey de type autosomique récessif (ou type 1) est un syndrome rare qui associe une hypoparathyroïdie congénitale, un retard staturo-pondéral post natal sévère, un retard psychomoteur d'intensité variable, une dysmorphie faciale, des infections à répétition et des anomalies radiologiques caractéristiques avec un épaississement de la corticale osseuse et des sténoses médullaires. Il est très proche du syndrome de Sanjad-Sakati, décrit au Moyen Orient, qui s'en distingue par l'absence d'ostéosclérose et de manifestations infectieuses. Dans ces deux syndromes, des mutations du gène TBCE, qui code pour une protéine chaperone de la tubuline, ont été identifiées. À ce jour environ 25 observations de syndrome de Kenny-Caffey de type autosomique récessif ont été publiées. 13 d'entre elles ont bénéficié d'un diagnostic moléculaire qui a

toujours retrouvé la même délétion de 12 paires de bases (del 155-166) au niveau de l'exon 3 du gène TBCE, présente à l'état homozygote. Cette mutation récurrente n'a été identifiée que chez des patients originaires du Moyen Orient ; elle a également été rapportée dans 52 observations de syndrome de Sanjad-Sakati. Nous rapportons ici deux observations de syndrome de Kenny-Caffey avec mutation identifiée dans le gène TBCE, chez deux patients non apparentés âgés respectivement de 6 ans et demi et 23 ans. La première patiente, d'origine tunisienne, est née d'un mariage consanguin. Le diagnostic a été évoqué à l'âge de 12 mois devant un retard staturo-pondéral post natal très sévère, une hypoparathyroïdie néonatale, une microcéphalie, des anomalies dentaires, un strabisme, un retard psychomoteur modéré et un aspect radiologique caractérisé par un épaississement modéré de la corticale et des os longs grêles. Il a été confirmé par l'identification de la mutation récurrente (del 155-166) à l'état homozygote dans le gène TBCE. Cette enfant a été traitée par hormone de croissance dans l'hypothèse d'un déficit en GH associé, sans aucune efficacité. À 6 ans et demi, elle pèse 7 800 g (– 5DS) et mesure 82 cm (– 7DS) pour un PC de 44 cm (– 4.5DS). Elle a développé récemment une insuffisance pancréatique exocrine. Le deuxième patient est un jeune homme de 23 ans, né de parents apparentés et bien portants, originaires du Maroc. Il a perdu une sœur et un frère en période néonatale dans des circonstances mal précisées et son demi frère, également né d'un mariage consanguin, est décédé à l'âge de 8 ans dans un tableau clinique similaire au sien. Un syndrome de Kenny-Caffey a été diagnostiqué à l'âge de 10 ans devant une hypoparathyroïdie congénitale, un retard staturo-pondéral post natal sévère, une microcéphalie, des agénésies dentaires, une hypermétropie, un retard psychomoteur modéré, une lymphopénie et un épaississement de la corticale sur les radiographies des os longs. La mutation récurrente du gène TBCE a été identifiée à l'état homozygote. L'évolution a été compliquée par une scoliose sévère responsable d'une insuffisance respiratoire chronique restrictive, par un hypogonadisme, par des malaises hypoglycémiques inexpliqués, par des infections ORL à répétition avec perforation tympanique et surdité et par l'apparition d'une néphrocalcinose, suite à la supplémentation vitamino-calcique de l'hypoparathyroïdie. Il a été traité par hormone de croissance sans efficacité et sa taille finale est de 102 cm pour un poids de 18 kg. Ces deux observations illustrent la sévérité des manifestations cliniques du syndrome de Kenny-Caffey de type autosomique récessif, associant un retard staturo-pondéral majeur, un hypogonadisme, des complications respiratoires, orthopédiques et endocriniennes, jamais rapportées à ce jour. À notre connaissance, c'est la première fois que la mutation récurrente de TBCE est identifiée chez des patients originaires d'Afrique du Nord.

Mots-clés : Kenny-Caffey autosomique récessif, tubuline, complication.

■P272 / 679. ÉTUDE CLINICO-PATHOLOGIQUE D'UN CAS DE HYALINOSE SYSTÉMIQUE INFANTILE PORTEUR D'UNE MUTATION DANS CMG2

B. Demeer (1), M. Viprey-Thouvard (2), M. Ramirez (3), N. Bednarek (2), M. Doco-Fenzy (1), M. Abely (2), J. Martignetti (3), D. Gaillard (1)

(1) Service de génétique, CHRU de Reims, France ; (2) Service de Pédiatrie, American Memorial Hospital, CHRU de Reims, France ; (3) service de génétique humaine, Mount Sinai School of Medicine, USA

La hyalinoase systémique infantile – ISH – est une pathologie rare de transmission autosomique récessive, appartenant au large spectre hétérogène des fibromatoses génétiques. Elle est caractérisée par un début précoce à la naissance ou dans les premières semaines de vie et associe des contractures articulaires avec limitation douloureuse de la mobilité, une atteinte cutanéomuqueuse avec diminution de l'élasticité cutanée, épaississement cutané généralisé, papules, nodules sous-cutanés peri-orificiels, plaques d'hyperpigmentation cutanée, et hypertrophie gingivale, un retard staturo-pondéral, et une diarrhée chronique rebelle avec des épisodes de déshydratation et de sepsis sévères. Au niveau histologique, il existe une accumulation systémique de matériel hyalin amorphe d'origine inconnue, notamment dans la peau, l'appareil digestif, les muscles et les tissus glandulaires. Le gène CMG2 – Capillary Morphogenesis gene-2 –, codant pour une protéine transmembranaire possédant d'importants rôles dans l'adhésion cellule/cellule et dans les interactions cellule/matrice extracellulaire, a récemment été impliqué dans la hyalinoase systémique infantile et dans la fibromatose juvénile hyaline – JHF –. Nous rapportons une observation répondant aux critères cliniques et histologiques d'une hyalinoase systémique infantile, et comportant une implication musculaire précoce et une entéropathie exsudative. Le diagnostic d'ISH a été confirmé en biologie moléculaire par la découverte d'une mutation non décrite dans l'exon 1 du gène CMG2. Une revue de la littérature est également présentée.

Mots-clés : CMG2, hyalinoase, fibromatose.



■P273 / 680. PHÉNOTYPE DE PRADER-WILLI AU COURS DU SYNDROME DE L'X FRAGILE

R. M'rad (1, 2), M. Chaabouni (1, 2), L. Kraoua (1), I. Chelly (1), H. Jilani (1), I. Ouertani (1), F. Maazoul (1), L. Ben Jemaa (1, 2), H. Chaabouni (1, 2)

(1) *Faculté de Médecine de Tunis. Laboratoire de génétique humaine, 15 rue Djebel Lakhdhar La Rabta, 1007 Tunis, Tunisie* ; (2) *Service des maladies congénitales et héréditaires, EPS Charles Nicolle Tunis*

Un enfant de 7 ans nous a été adressé à la consultation de génétique pour obésité inexpliquée à +10DS, et un retard mental. La taille et le périmètre crânien étaient respectivement à +1,8DS et +1DS. Les différentes explorations métaboliques réalisées étaient normales. Un retard du développement psychomoteur, un retard de la parole ainsi que des troubles du comportement à type d'hyperactivité, agressivité et hyperphagie sont notés. L'interrogatoire retrouve la notion d'une tante maternelle ayant une ménopause précoce. Les analyses en cytogénétique moléculaire et de la méthylation ont éliminé un syndrome de Prader Willi. Par contre l'étude de la méthylation du gène *FMR1* a permis de conclure au syndrome de l'X fragile. Devant une obésité inexpliquée, le syndrome de l'X fragile doit être considéré parmi les diagnostics différentiels du syndrome de Prader Willi. L'enquête génétique ainsi que les troubles du comportement associés peuvent aider à orienter le diagnostic.

Mots-clés : Prader Willi like, X fragile, conseil génétique.

■P274 / 683. HYDROPS FÉTAL ET MYOPATHIE AVEC EXCÈS DE FUSEAUX RÉVÉLATEURS D'UN SYNDROME DE COSTELLO

M. Sinico (1), R. Gherardi (2), H. Cavé (3), A. Verloes (3), D. Amram (1) and L. Van Maldergem (1)

(1) *Centre pluridisciplinaire de diagnostic prénatal et UF de génétique clinique, CHI Créteil* ; (2) *Service d'anatomie pathologique, CHU Henri-Mondor, Créteil* ; (3) *Service de génétique, CHU Robert-Debré, Paris*

Le syndrome de Noonan et apparentés figure dans la liste des causes génétiques d'hydrops fœtal. Un fœtus de 24 semaines (âge maternel 31 ans, âge paternel 48 ans) fut référé au centre multidisciplinaire de diagnostic prénatal pour œdème des tissus mous de la face. Au contrôle 10 j plus tard, la généralisation de cet œdème ont fait poser le diagnostic d'hydrops fœtal, avec hépatosplénomégalie apparente. Une expulsion prématurée à 25 semaines montre un fœtus de sexe féminin, modérément dysmorphique (traits épaissis, cou court, oreilles bas-implantées) qui décède après quelques minutes. L'autopsie indique des paramètres de poids, taille et périmètre crânien dans les limites normales et une organomégalie, l'absence de cardiomyopathie et une formule musculaire atypique. En effet, un excès de fuseaux est observé au niveau du quadriceps et de la musculature laryngée. Sur base de l'observation récente de trois enfants avec cardiomyopathie, excès de fuseaux musculaires et une mutation du gène *h-ras* par un groupe hollandais (van der Burgt *et al.*, 2007), l'ADN fœtal fut séquencé et la mutation classique c.G35A du syndrome de Costello fut identifiée à l'état hétérozygote, non retrouvée sur l'ADN leucocytaire de ses parents. Ceci permet d'inclure le syndrome de Costello dans le diagnostic différentiel de l'hydrops fœtal, même en l'absence de cardiomyopathie, et attire l'attention sur l'importance d'un examen détaillé du muscle, en particulier au niveau des fuseaux neuromusculaires.

Mots-clés : hydrops fœtal, muscle, diagnostic prénatal.

■P275 / 684. LES DÉFICITS DE SYNTHÈSE DE LA SÉRINE : UNE CAUSE TRAITABLE DE MICROCÉPHALIE

V. Valayannopoulos (1), I. Desguerre (2), F. Raqbi (3), C. Gitiaux (2), C. Parsy (4), D. Rabier (5), V. Abadie (4), A. Munnich (6), P. de Lonlay (1) (1) *Unité et Centre de Référence de Métabolisme* ; (2) *Neuropédiatrie* ; (4) *Pédiatrie Générale* ; (5) *Biochimie B* et (6) *Génétique* ; *Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris* ; (3) *Service de Pédiatrie-CH de Creil*

Les déficits de synthèse de la sérine impliquent trois enzymes différentes (phosphosérine phosphatase, phosphoglycérate déshydrogénase et phosphosérine aminotransférase) et sont caractérisés par une microcéphalie, un retard psychomoteur et une épilepsie. Ces déficits sont traitables par l'administration de sérine orale avec des résultats variables selon le déficit et le moment de l'initiation du traitement. Nous présentons un patient issu de parents consanguins d'origine turque présentant une forte suspicion de déficit en PGD. Il se présente à la naissance avec un RCIU et une microcéphalie sévère (PC de naissance à 28 cm), des troubles de la succion-dégutition, un stridor en rapport avec une hypotonie du carrefour aéro-digestif, une encéphalopathie sévère avec contact visuel et mobilité spontanée très pauvres, une hypertonie diffuse, notamment périphérique

avec accès douloureux de spasticité et de dystonie responsables d'une rapide luxation de hanche. L'IRM cérébrale à l'âge de 2 mois montre un retard sévère de myélinisation et une paucité de la gyration. La sérine est effondrée dans le LCR (7 mol/l, normes : 27-70) et basse dans le plasma (34 mol/l, normes : 138+/-27). La glycine, dérivée de la sérine, est normale dans le LCR et basse dans le plasma (92 mol/l, normes : 223+/-41). Un essai de traitement par la sérine orale vient de démarrer. Cette observation illustre la nécessité de rechercher systématiquement devant toute microcéphalie congénitale ou acquise un déficit de la synthèse de la sérine par dosage de la sérine dans le LCR, d'autant plus que ce déficit est théoriquement traitable par l'administration orale de sérine et qu'un diagnostic anténatal est envisageable.

Mots-clés : microcéphalie, sérine, traitement.

■P276 / 688. SYNDROME D'ASPERGER ET SCHIZOPHRÉNIE PRÉCOCE ASSOCIÉS À UNE MUTATION DU GÈNE *MECP2*.

A. Curie (1, 2), G. Lesca (3), G. Bussy (1, 2), S. Magnificat (4), V. Arnaud (4), A. Ritz (5), S. Gonzalez (5), S. Marignier (1), O. Revol (6), D. Gérard (7), V. des Portes (1, 2)

(1) *Service de neuropédiatrie, Hôpital Debrousse, Lyon* ; (2) *Institut des Sciences cognitives, CNRS UMR5230, Bron* ; (3) *Service de biologie moléculaire, Hôpital Edouard Herriot, Lyon* ; (4) *Service de pédopsychiatrie, Hôpital Saint-Jean de Dieu, Lyon* ; (5) *Service de rééducation fonctionnelle, l'escalade, Centre Hospitalier Lyon Sud, Lyon* ; (6) *Service de pédopsychiatrie, Hôpital neurologique, Lyon* ; (7) *Service de pédopsychiatrie, Centre Hospitalier Lyon Sud, Lyon*

Des mutations du gène *MECP2*, classiquement à l'origine d'un syndrome de Rett chez les filles, ont été aussi rapportées chez les garçons comme étant à l'origine de plusieurs tableaux cliniques : encéphalopathies précoces sévères avec décès survenant avant l'âge de 2 ans, syndrome de Rett classique associé à une aneuploïdie du chromosome X, ou une mosaïque somatique, retard mental lié à l'X isolé ou syndromique (amyotrophie, épilepsie, ataxie, tremblement paraplégie spastique, hypotonie). Plus rarement, des mutations ont été rapportées dans des troubles psychiatriques : syndrome PPM-X associant psychoses, signes pyramidaux et macroorchidie liée à l'X dans une famille, et dans une autre, un patient présentant une dysphasie développementale et une schizophrénie. Patients et méthode : Nous rapportons ici le phénotype clinique détaillé, neuropsychologique (échelle de Wechsler) et psychiatrique (échelle d'observation standardisée, ADOS), de deux frères présentant une mutation du gène *MECP2* associée à une sémiologie psychiatrique. Résultats : Chacun présente un syndrome d'Asperger confirmé par l'ADOS. Mais l'un d'eux a évolué vers une schizophrénie infantile avec deux épisodes de décompensation délirante dont une déclenchée par la prise de corticoïde. Les neuroleptiques sont mal tolérés (dès 3 mg/j de rispéridone pour 35 kg à 12 ans) et devant la persistance d'un état délirant avec une évolution maniaque (excitation motrice et insomnie), un traitement par valproate de sodium est progressivement instauré en association avec la rispéridone. Il présente alors une hyperammonniémie majeure (673 micromol/l), faisant même craindre un déficit en Ornithine TransCarbamylase. Le tableau psychiatrique évoluera favorablement sous rispéridone et carbamazépine mais des troubles de la vigilance diurne et du sommeil (antérieurs à la seconde décompensation délirante) conduiront à une polysomnographie qui révélera des apnées centrales. Si le profil cognitif de ces deux enfants non déficients présente des similarités (troubles praxiques et attentionnels), on retiendra que celui qui a évolué vers une schizophrénie présentait un haut niveau verbal (QIV à 121). L'analyse en biologie moléculaire du gène *MECP2* a mis en évidence une néomutation faux sens au niveau de l'exon 4 (S164I) chez les deux patients. Conclusion : Il semble intéressant de rechercher une mutation du gène *MECP2* chez les garçons présentant un syndrome d'Asperger ou une schizophrénie infantile, d'autant plus s'il existe d'autres cas familiaux, une hyperammonniémie ou une mauvaise tolérance aux neuroleptiques. Chez ces patients on évitera d'utiliser des médicaments inhibiteurs du cycle de l'urée, et on recourra à de faibles posologies de neuroleptique afin de favoriser leur tolérance.

Mots-clés : mutation du gène *MECP2*, syndrome d'Asperger, schizophrénie précoce.

■P277 / 690. VARIABILITÉ PHÉNOTYPIQUE INTRA-FAMILIALE DE L'HYPOVENTILATION ALVÉOLAIRE CENTRALE CONGÉNITALE (SYNDROME D'ONDINE)

D. Badila-Timbolschi (1, 2), D. Trochet (3), J. Amiel (3), P. Desprez (2), A. Barats (2), S. Hirschi (4), H. Dollfus (1), B. Doray (1)

(1) *Service de Génétique Médicale, Hôpitaux universitaires de Strasbourg* ; (2) *Service de Pédiatrie II, Hôpitaux universitaires de Strasbourg* ; (3) *Unité de Recherches sur les Handicaps Génétiques de l'Enfant INSEM*

Marine est la deuxième enfant d'un couple non apparenté. Elle est née à terme, après une grossesse marquée par un diabète gestationnel et un hydramnios. L'APGAR est de 7, puis 8 et 9. Des apnées sont constatées à 30 minutes de vie nécessitant une ventilation mécanique. L'évolution rapidement favorable autorise une extubation à 12 heures de vie et le retour à domicile. À l'âge de 2 mois, Marine est réhospitalisée en raison d'accès de cyanose et de pauses respiratoires, nécessitant la reprise de la ventilation mécanique. Un bilan élargi permet d'éliminer une étiologie infectieuse, neuro-musculaire, métabolique ou cardiaque. Un syndrome d'Ondine est suspecté ; l'analyse du gène *PHOX2B* permet d'identifier une mutation hétérozygote, dans l'exon 3, à type de duplication de 15 nucléotides entraînant une expansion de 5 alanines au sein de la série de 20 alanines dans la région C-terminale de la protéine. L'évolution est favorable sur le plan respiratoire avec une ventilation correcte en veille mais la persistance d'une hypoventilation lors du sommeil rendant nécessaire une ventilation via trachéotomie dès l'âge de 2 mois et demi. Marine présente par ailleurs des difficultés sévères d'alimentation (troubles de la succion-déglutition) nécessitant une gastrostomie d'alimentation et une constipation chronique (maladie de Hirschsprung en cours d'exploration). Suite à la confirmation moléculaire du syndrome d'Ondine chez Marine, les antécédents familiaux sont reconstitués. Le père de Marine, âgé de 40 ans, présente des antécédents d'épilepsie de type « petit-mal » pendant l'enfance. À l'âge de 25 ans, il est hospitalisé pour bilan étiologique d'une décompensation cardiaque ; des épisodes d'hypoglycémies sont mis en évidence et la survenue d'apnées d'origine centrale est objectivée par la poly-somnographie. Une ventilation non-invasive nocturne est mise en place, mal tolérée et finalement progressivement interrompue par le patient lui-même à l'âge de 34 ans ; le dernier bilan témoigne néanmoins d'une nette amélioration spontanée des symptômes et la ventilation nocturne n'est plus indiquée. Le frère aîné de Marine, Dimitri, est âgé de 9 ans. À la naissance, l'on signale une hypotonie et une détresse respiratoire modérée, ne nécessitant pas d'intubation, et d'évolution favorable en quelques jours. Par la suite, l'enfant n'a plus présenté de troubles respiratoires et il n'est signalé ni troubles de l'alimentation, ni troubles du transit. Le développement moteur est normal. Sur le plan cognitif, Dimitri est scolarisé en école spécialisée et un diagnostic de déficit de l'attention/hyperactivité a été porté à l'âge de 7 ans. L'examen morphologique de Dimitri met en évidence un visage amimique, un strabisme convergent, une bouche ouverte en permanence, une hypoplasie maxillaire et mandibulaire. En raison du contexte clinique évocateur, l'analyse du gène *PHOX2B* est pratiquée chez le père et le frère de Marine et permet d'identifier chez chacun d'eux la mutation familiale. Le syndrome d'Hypoventilation alvéolaire centrale congénitale est une affection rare, autosomique dominante, caractérisée par un dysfonctionnement congénital du contrôle nerveux autonome de la respiration et une atteinte diffuse du système nerveux autonome. Notre observation illustre l'extrême variabilité phénotypique de ce syndrome, dont la dénomination commune de « syndrome d'Ondine » paraît surtout adaptée aux formes sévères et de début précoce. Elle démontre que la même mutation peut aboutir à des tableaux cliniques de début, de sévérité et d'évolution très différentes, même au sein d'une même famille ; cette variabilité d'expression rend ainsi indispensable la réalisation d'une enquête familiale précise, à la recherche de symptômes compatibles, même mineurs, et suggère d'élargir les indications d'analyse du gène *PHOX2B*, même en l'absence d'antécédents familiaux. Enfin, cette variabilité phénotypique vient compliquer le conseil génétique, notamment en prénatal.

Mots-clés : hypoventilation alvéolaire centrale, syndrome d'Ondine, expressivité variable.

■P278 / 693. ASSOCIATION D'UN SYNDROME DE NOONAN ET D'UNE TUMEUR CENTRALE GRANULOMATEUSE À CELLULES GÉANTES, UNE COMPLICATION RARE DU SYNDROME DE NOONAN. QUATRE OBSERVATIONS DONT DEUX MUTATIONS DE *SOS1* ET DEUX MUTATIONS DE *PTPN11*

C. Beneteau (1), H. Cave (2), A. Moncla (3), A. Munnich (4), A. Verloes (2), B. Leheup (1)

(1) Département de Génétique, Hôpital d'enfants CHU de Nancy ; (2) Département de Génétique, Hôpital Robert-Debré, Paris ; (3) Département de Génétique Médicale, Hôpital d'enfants de la Timone, CHU de Marseille ; (4) Service de Génétique Médicale, Hôpital Necker-Enfants-Malades, Paris

Nous rapportons quatre observations de tumeur centrale granulomateuse à cellules géantes (CGCG) survenues chez des patients présentant un phénotype clinique caractéristique d'un syndrome de Noonan (SN). Deux d'entre eux présentent une mutation dans le gène *SOS1* et les deux autres

dans le gène *PTPN11*. Le premier patient est pris en charge en période néonatale pour une sténose valvulaire pulmonaire associée à une macrosomie (TN 55 cm, PN 4 285 g). L'enfant est évalué à l'âge de 8 ans devant la découverte d'images kystiques bilatérales des ramus mandibulaires. Le phénotype facial est très évocateur d'un SN sans retard de croissance. L'évaluation du locus *PTPN11* ne met pas en évidence d'anomalie. La mutation c.1656G>C p.Arg552Ser du gène *SOS1* a été mise en évidence. Le deuxième patient présente une sténose pulmonaire, avec aspect facial évocateur de SN. À l'âge de 13 ans il présente une synovite pigmentovillonnodulaire (SPV) de la cheville gauche avec lésions osseuses corticales non ossifiantes du genou droit et un phénotype évocateur d'un SN. Son développement cognitif est rapporté comme normal. La mutation c.1656G>T.Arg552Ser dans le gène *SOS1* vient d'être mise en évidence. Le troisième patient présente une sténose valvulaire pulmonaire diagnostiquée en période néonatale. Un SN est évoqué devant des particularités morphologiques et un retard de croissance post-natal. Vers l'âge de 5 ans, le diagnostic radiologique de multiples kystes radio-transparents de la mandibule est fait dans le bilan d'un aspect de chérubisme avec, à l'examen anatomo-pathologique des cellules multinucléées géantes au sein d'un stroma fibreux. L'évolution est marquée par des difficultés scolaires, un retard pubertaire et une petite taille finale. Une étude moléculaire a mis en évidence une mutation à l'état hétérozygote du gène *PTPN11* au niveau de l'exon 3 c.184T>G, p.Tyr62Asp. Le quatrième patient présente une sténose valvulaire et supra-valvulaire pulmonaire diagnostiquée durant la période anténatale. L'âge paternel est de 58 ans à la conception. L'aspect morphologique facial est évocateur d'un SN. Vers l'âge de 12 ans une image unilacunaire du ramus de la mandibule est découverte de façon fortuite avec à la biopsie une tumeur CGCG. L'évaluation de *PTPN11* a mis en évidence au niveau de l'exon 8 une mutation à l'état hétérozygote c.922A>G, p.Asn308Asp. À notre connaissance, nous rapportons les deux premières mutations identifiées dans le gène *SOS1* chez des patients présentant un SN associé à une tumeur CGCG. Des mutations de *PTPN11* ont déjà été rapportées dans la littérature dans l'association de Noonan-Chérubisme. Ces mutations sont identiques à celles retrouvées dans le SN sans chérubisme (comme dans le cas de notre troisième et quatrième observation). Aucune mutation n'a jamais été rapportée dans l'association Noonan-SPV. Des telles associations ont été décrites initialement comme une entité distincte du SN appelée Noonan-like/tumeur multiple granulomateuse à cellules géantes (NL/MGCG). La mise en évidence de mutations de *SOS1* et *PTPN11* chez plusieurs patients permet d'affirmer le caractère non spécifique et génétiquement hétérogène de cette entité. De plus, la fréquence de ces tumeurs CGCG dans le SN est probablement sous-estimée par l'absence d'examen systématique radiologique de la mandibule. Ces quatre observations permettent également de discuter du lien potentiel des voies de signalisation impliquées dans CGCG et SN. Des mutations de *SH3BP2* rapportées dans le chérubisme n'ont jamais été retrouvées dans le cadre d'un chérubisme associé au SN. Des mutations de *PTPN11* et *SOS1* sont retrouvées dans les tumeurs CGCG associées au SN. Il existe des éléments communs à la voie d'expression *SH3BP2* et à la voie des RAS MAP kinases. L'expression de *SH3BP2* doit se situer en aval de l'expression de *PTPN11* et de *SOS1*, expliquant ainsi pourquoi des mutations de *PTPN11* et de *SOS1* sont présentes dans des associations de CGCG et SN.

Mots-clés : syndrome de Noonan, tumeur granulomateuse centrale à cellules géantes (CGCG), *SOS1*.

■P279 / 698. LMX1B ET NAIL PATELLA : EXPÉRIENCE DANS 25 FAMILLES ET CORRÉLATION GÉNÉOTYPE-PHÉNOTYPE

J. Ghoumid (1), M. Holder-Espinasse (1, 4), F. Escande (2), A. Dieux-Coeslier (1), A. Mezel (3), S. Manouvrier-Hanu (1, 4) et le groupe de Génétique Clinique et Conseil Génétique

(1) Service de Génétique Clinique, CHRU de Lille, France ; (2) Laboratoire de Biologie Moléculaire, CHRU de Lille, France ; (3) Service de Chirurgie et Orthopédie de l'Enfant, CHRU de Lille, France ; (4) Université Lille 2 Lille, France

Le syndrome Nail Patella (NPS) est caractérisé par l'association de malformations des membres constantes (dysplasie unguéale, rotules absentes ou hypoplasiques, anomalies des coudes responsables de difficultés à la pro-supination, « cornes iliaques » sur la radiographie de bassin...), à une néphropathie inconstante (glomérulonéphrite) et/ou une atteinte oculaire également inconstante (glaucome, cataracte). Surdité, scoliose, prédisposition au cancer colo-rectal ont aussi été décrits. Le NPS est lié à des mutations de *LMX1B*, un gène situé en 9q34.1 qui code un facteur de transcription à homéodomaine impliqué dans la mise en place normale de l'axe dorsoventral des membres au cours du développement et la morphogénèse de la membrane basale glomérulaire. Nous avons séquencé *LMX1B*



dans 21 familles, soit 25 personnes (+ 4 familles en cours) atteintes de NPS. Le diagnostic de NPS était retenu chez 19 patients index, en raison d'anomalies caractéristiques des membres. Chez un patient le NPS était considéré comme atypique en raison de son association à un retard mental, sans délétion chromosomique en 9q34.1. Chez un patient présentant une néphropathie et une cataracte sans anomalie des membres le diagnostic était écarté. Nous avons identifié une mutation délétère de *LMX1B* chez 13/19 (68 %) des patients index typiques. Chez 9 patients (69 %) il s'agissait de mutations tronquantes (« stop » ou « frame shift »). Quatre mutations « faux sens » pouvaient être considérées comme délétères car déjà décrites ou ségrégant avec l'affection dans la famille. Nous avons identifié une mutation faux-sens non encore décrite mais située dans l'homéodomaine et survenue de novo chez le garçon avec NPS et retard mental (celui-ci pouvant donc avoir une autre origine). Enfin deux mutations faux sens situées dans l'homéodomaine mais non encore décrites sont probablement délétères sans que ceci puisse être affirmé. Au total donc une mutation de *LMX1B* a été retrouvée chez 16/20 patients index (80 %). Les anomalies des membres étaient isolées dans 14/16 familles mutées. Dans un cas sporadique (mutation p.Gln37X) une néphropathie était associée à des anomalies des membres typiques avec synostose radio-cubitale. Dans un cas familial (mutation p.Gln139X) un glaucome était associé aux anomalies des membres chez plusieurs sujets de la famille dont 2/3 testés. Les mutations identifiées étaient par ordre de fréquence situées dans les exons 4 (7 cas), 2 et 5 (4 cas chacun), et 3 (1 cas). Chez trois patients index typiques (deux familiaux et un sporadique) aucune mutation de *LMX1B* n'a été identifiée. Dans les trois cas était observée une atteinte rénale. La recherche de délétion de *LMX1B* est en cours chez eux. Aucune mutation de *LMX1B* n'a été retrouvée chez le patient chez lequel le diagnostic de NPS n'avait pas été retenu. En conclusion, il n'y a pas de corrélation génotype-phénotype claire dans cette petite série, on peut cependant observer que nous n'avons pas identifié de mutation *LMX1B* dans 3/4 des familles avec atteinte rénale. Ce point demande à être exploré par la recherche de grandes délétions du gène.

Mots-clés : Nail Patella syndrome, *LMX1B*, génotype-phénotype.

Génétique des maladies complexes

■P280 / 38. *HSPD1* IS NOT A MAJOR SUSCEPTIBILITY GENE FOR RHEUMATOID ARTHRITIS IN THE FRENCH CAUCASIAN POPULATION

L. Jacq (1, 2), V.H. Teixeira (1, 3), S. Garnier (1), L. Michou (1), P. Dieudé (1, 4), D. Rocha (1), C. Pierlot (1), H. Mbarek (1), E. Petit-Teixeira (1) F. Cornélis (1, 2, 5)

(1) GenHotel-EA3886-Evry; (2) Hôpital Sud Francilien-Corbeil-Essonnes, France; (3) Faculty of Medicine-University of Coimbra-Portugal; (4) Hôpital Bichat-Paris; (5) Hôpital Lariboisière-Paris

Rheumatoid arthritis (RA) is a common human systemic autoimmune disease, for which previous studies have suggested the importance of genetic factors. Two susceptibility genes have been established so far: *HLA-DRB1* and *PTPN22*. A genome scan suggested 19 non-HLA susceptibility loci in a French Caucasian population. The *HSPD1* gene is located in one of these loci (2q33), and encodes for a member of the chaperonin family (heat shock 60kDa protein 1, HSP60). Heat shock proteins constitute a family of proteins involved in cell homeostasis, immune and inflammatory reactions. HSP60 is a mitochondrial chaperonin, highly preserved during evolution, responsible for protein folding. Homozygous *Drosophila melanogaster hspd1* homolog *-/-* mutants die early during embryogenesis. In human cells, knock-down of the *HSPD1* gene compromises folding of the mitochondrial matrix enzymes indicating an essential role of HSP60. Furthermore, HSP60 can downregulate adaptive immune responses and is involved in apoptosis in patients with systemic autoimmune diseases. Interestingly, DNA vaccination with the *hspd1* gene can inhibit adjuvant arthritis of the Lewis rats. *HSPD1* is thus a positional and functional RA candidate gene. The aim of this study was to test *HSPD1* in the hypothesis of a major susceptibility gene, using a family-based analysis from the French Caucasian population. Three single nucleotide polymorphisms (SNP) tagging the 3 linkage disequilibrium blocks of *HSPD1* were studied in 100 RA Trio families and 100 other families were used for replication. Genetic analyses were performed using the comparison of allelic frequencies, the transmission disequilibrium test and the genotype relative risk. We observed a significant RA association for the C/C genotype of rs2340690 in the first sample. However, this association was not confirmed in the second sample. The 2 other SNPs (rs788016, rs2605039) and the haplotype analysis did not show any significant result. We conclude that

HSPD1 is not a major RA susceptibility gene in the French Caucasian population.

Mots-clés : *HSPD1*, rheumatoid arthritis, candidate gene.

■P281 / 54. ÉTUDE GÉNÉTIQUE DE LA KÉRATODERMIE PALMOPLANTAIRE DE BUSCHKE-FISCHER-BRAUER DANS UNE FAMILLE TUNISIENNE

O. Mamay (1), M. Gribaa(1), I. Amri (2), S. Kacem (1), N. Ghariani (2), A. Saad (1)

(1) Laboratoire de Cytogénétique, de Génétique Moléculaire et de Biologie de la Reproduction Humaines, CHU Farhat HACHED, SOUSSE; (2) Service de Dermatologie, CHU Farhat HACHED, SOUSSE

Introduction : La kératodermie palmoplantaire (KPP) ponctuelle ou KPP de Buschke-Fischer-Brauer (KPP-BFB) est une maladie dermatologique rare de la peau épaisse à transmission autosomique dominante, caractérisée par des lésions hyperkératosiques d'aspect papuleux. Cette pathologie est classée parmi les maladies orphelines et dont le gène responsable est encore inconnu. Deux loci liés à cette maladie ont été décrits : le locus 8q24.13-8q24.21 qui fait 9.89 cm et le locus 15q22.2-15q22.31 qui fait 5.06 cm. Matériel et méthodes : Nous disposons d'une famille Tunisienne atteinte de la KPP-BFB. Cette famille est formée de 29 individus s'étendant sur cinq générations dont 19 sont atteints et 10 sont phénotypiquement sains. Tous les atteints ont bénéficié : - d'un examen clinique détaillé, - d'une biopsie de leur lésion pour une étude anatomopathologique, - des prélèvements sanguins pour le dosage des marqueurs biologiques de routine et de certains marqueurs tumoraux ainsi que pour l'extraction d'ADN génomique. L'étude de liaison génétique a été effectuée par l'amplification des 6 marqueurs STRs sur le chromosome 8 et 10 autres marqueurs sur le chromosome 15. Le calcul du LOD score pour évaluer la possibilité de la liaison génétique a été réalisé par deux méthodes : deux-points par le logiciel FastLink et multipoints par SimWalk. Résultats et discussion : Pour le locus du chromosome 8, l'analyse des haplotypes a montré l'absence de ségrégation des 6 marqueurs étudiés avec la maladie. Le calcul du LOD score a confirmé ce résultat avec des valeurs autour de zéro. Ceci élimine, dans notre famille, la liaison génétique de la KPP-BFB à ce locus. Pour le locus du chromosome 15, nous avons obtenu un Zmax du LOD Score de 3.018 en faveur de la liaison génétique. L'observation des recombinaisons au niveau des haplotypes construits avec le minimum de recombinaison a permis de réduire la taille de ce locus à 3.261 Mb. Conclusion : L'étude de cette grande famille tunisienne nous a permis de lier leur KPP-BFB à la région 15q22.2-15q22.31 tout en réduisant sa taille à 3.261 Mb. L'étude des gènes candidats de ce locus nous permettra d'identifier l'anomalie responsable et par conséquent les bases moléculaires régissant cette pathologie.

Mots-clés : lod score, str, haplotypes, keratodermies palmoplantaires, reduction, locus.

■P282 / 100. IMPORTANCE DU CHOIX DE LA MÉTHODE DANS L'ESTIMATION DES RISQUES ASSOCIÉS À DES MUTATIONS GÉNÉTIQUES

F. Alarcon (1), C. Bourgain (1), V. Planté-Bordeneuve (2), D. Stoppa-Lyonnet (3), C. Bonaiti-Pellié (1)

(1) INSERM, U535, Villejuif; (2) Dépt Neurologie, CHU Bicêtre, Le Kremlin Bicêtre; (3) Unité de génétique oncologique, Institut Curie, Paris, France

Certaines maladies à âge de début variable sont dues à la présence d'une mutation prédisposante dans un gène. Pour ces maladies, l'estimation précise du risque cumulé d'être atteint selon l'âge chez les porteurs de la mutation (appelée fonction de pénétrance) permet une meilleure compréhension des mécanismes sous-jacents de la maladie et permet également d'améliorer et de développer des stratégies de prévention. L'estimation de la pénétrance ne peut se faire qu'à partir de familles sélectionnées sur l'existence d'un ou de plusieurs atteints. Cependant, la plupart des études utilisent des méthodes d'estimation qui ne tiennent pas compte du biais introduit par cette sélection. Or, dans ce cas, les risques sont fortement surestimés. Il est donc indispensable de développer des méthodes adaptées, qui prennent en compte ce biais et corrigent pour la sélection. Dans cette étude, nous avons étudié le cas où les familles sont sélectionnées sur l'existence d'au moins un atteint. Nous avons comparé deux méthodes corrigeant pour ce type de sélection : 1) La Vraisemblance Prospective qui tient compte de la sélection en modélisant explicitement les critères de sélection (Planté-Bordeneuve *et al.*, 2003); 2) La Proband's phenotype Exclusion Likelihood (ou PEL), une méthode que nous avons récemment développée. Cette méthode intuitive est inspirée de la méthode de Weinberg (1912) utilisée en analyse de ségrégation; elle permet de corriger pour la sélection

en « retirant » l'information phénotypique apportée par l'index. Nous avons comparé la fiabilité de ces deux méthodes à partir de familles simulées sous différents modèles de maladie et sous différents schémas de sélection. Nous avons montré que la méthode optimale dépend à la fois du modèle génétique et des critères de sélection. Ainsi, nous avons montré qu'il était préférable d'utiliser la Vraisemblance Prospective dans le cas de maladies purement génétiques (i.e. sans cas sporadiques) et lorsque la probabilité de sélection est grande. Par contre, la PEL est mieux adaptée dans le cas de maladies partiellement génétiques (i.e. sous-entités mendéliennes) pour lesquelles les critères de sélection sont nécessairement plus restrictifs pour avoir un taux de détection de mutations suffisant. Enfin, nous avons appliqué ces méthodes sur des maladies correspondant aux deux modèles génétiques considérés : 1) un échantillon de familles sélectionnées sur l'existence d'au moins une femme atteinte de cancer du sein avant 35 ans et porteuse d'une mutation *BRCA1* ou *BRCA2* ; 2) un échantillon de familles de neuropathie amyloïde liée à la transthyrétine d'origine française ou portugaise, ces deux populations ayant des courbes de pénétrance sensiblement différentes. Nous montrons que les résultats sont franchement dépendants de la méthode utilisée. Cette étude et ses applications montrent l'erreur que peut provoquer le choix d'une mauvaise méthode et donc l'importance de ce choix pour l'estimation de la fonction de pénétrance à partir de données familiales. Plante-Bordeneuve V, Carayol J, Ferreira A, Adams D, Clerget-Darpoux F, Misrahi M, Said G, Bonaiti-Pellie C : Genetic study of transthyretin amyloid neuropathies : Carrier risks among French and Portuguese families. *J Med Genet* 2003 ;40 :e120. Weinberg W : Methode und Fehlerquellen der Untersuchung auf mendelschen Zahlen beim Menschen. *Arch Rass u Ges Biol* 1912 ;9 :165-174.

Mots-clés : pénétrance, estimation, biais.

■P283 / 115. L'ÉTUDE DES HOLOPROSENCÉPHALIES ISOLÉES PAR CGH-ARRAY IDENTIFIÉ DES GAINS OU PERTES CHEZ 24 % DES PATIENTS ET REFLÈTE LA PART MAINTENANT MAJORITAIRE DE CES ALTÉRATIONS GÉNOMIQUES DANS LA PATHOLOGIE

C. Bendavid (1, 2), C. Dubourg (1, 2), J. Seguin (1), I. Gicquel (1), L. Pasquier (1, 4), V. Dupé (1), M.R. Durou (2), S. Jaillard (1, 3), C. Henry (3), J. Mosser (1), S. Odent (1, 4), V. David (1, 2)
(1) UMR 6061 CNRS-Université de Rennes1-Rennes ; (2) Laboratoire de Génétique Moléculaire-CHU Pontchaillou-Rennes ; (3) Laboratoire de Cytogénétique-CHU Pontchaillou-Rennes ; (4) Service de Génétique Médicale-Hôpital Sud-Rennes

L'holoprosencéphalie (HPE) est la plus fréquente des anomalies du développement cérébral chez l'homme (1/16 000 naissances vivantes et 1/250 produits d'avortement) ; elle est généralement associée à des anomalies faciales. Notre groupe s'intéresse aux patients atteints d'HPE avec un caryotype normal. La génétique de l'holoprosencéphalie est complexe : dans notre expérience, les mutations (18 %) et les délétions (8 %) dans les quatre gènes principaux (*SHH*, *ZIC2*, *SIX3* et *TGIF*) peuvent expliquer environ 26 % des cas. L'étude systématique des régions subtélomériques par MLPA a révélé 4 % de réarrangements complexes supplémentaires. Afin d'identifier de nouveaux loci candidats et donc de nouveaux gènes candidats, nous avons décidé d'étudier nos patients HPE par hybridation sur puces pangénomiques CGH-Array Agilent 44K puis 244K qui sont composées d'oligonucléotides indexant l'ensemble des gènes humains connus et procurant une résolution moyenne de 75 Kb et 15 Kb respectivement. 74 échantillons (47 fœtus et 27 enfants vivants), sans anomalies caryotypiques, ont été testés en utilisant comme contrôle deux ADN mâle ou femelle issus de donneurs uniques (non poolés). Sur ces 74 échantillons, 18 présentaient des réarrangements (24 %) concernant des loci candidats HPE connus ou de nouveaux loci potentiels situés sur différents chromosomes mais avec une faible récurrence. Nous avons observé 11 délétions isolées, 5 gains isolés et 2 gains et pertes associés, ces derniers suggérant une translocation non équilibrée d'origine parentale. Certains patients présentaient déjà une mutation ponctuelle dans un des quatre gènes principaux, parfois héritée d'un parent qui par contre n'avait pas d'altération microdélétionnelle. Les anomalies détectées ont une taille très variable allant de 100 kb à 16 Mb ; toutefois, les altérations génomiques n'ont pas été retenues quand elles touchaient moins de trois sondes consécutives sur la puce ce qui sous-évalue peut-être dans nos résultats les fréquences de micro-réarrangements. Aucun des nouveaux loci candidats ne correspondait à des régions concernées par des CNVs (variations du nombre de copies) répertoriées à ce jour dans les bases de données des variations du génome humain normal (TCAG database). Les rares régions redondantes étaient situées sur les chromosomes 21q et 20p. La fréquence des microremaniements génomiques est plus élevée chez les fœtus (32 %) que chez les

nouveaux-nés (11 %), mais aucune corrélation n'a pu être établie entre la taille des délétions et la sévérité des phénotypes HPE. Si on tient compte des microdélétions précédemment identifiées dans les gènes HPE connus (8 %) et dans les subtélomères (4 %), nos résultats montrent que les micro-réarrangements pourraient être le mécanisme moléculaire majeur dans l'holoprosencéphalie puisqu'ils représentent 36 % des cas au total. L'existence potentielle de nombreux nouveaux gènes candidats dans les vastes régions couvertes par les anomalies identifiées renforce l'hypothèse de l'origine multigénique de cette anomalie du développement cérébral.

Mots-clés : holoprosencéphalie CGH array remaniements génomiques.

■P284 / 129. RECHERCHE D'UNE ASSOCIATION GÉNÉTIQUE ENTRE LE GÈNE *IRF5* ET LA SUSCEPTIBILITÉ À LA POLYARTHRITE RHUMATOÏDE DANS LA POPULATION TUNISIENNE

A. Maalej (1), M. Ben Hamad (1), S. Marzouk (2), V. Hugo-Teixeira (3), Z. Bahloul (2), H. Ayadi (1), E. Petit-Teixeira (3), F. Cornelis (3)
(1) Laboratoire de Génétique Moléculaire Humaine, Faculté de Médecine, Avenue Majida Boulila 3029 Sfax, Tunisie ; (2) Service de Médecine Interne CHU Hédi Chaker Sfax, Tunisie ; (3) Genhotel Laboratoire de Recherche Européen pour la Polyarthrite Rhumatoïde, Université d'Evry-val d'Essonne, ECRAF-Université Paris 7, 2 rue Gaston Crémieux, CP 5727 91057, Evry, France

La polyarthrite rhumatoïde (PR) est une maladie inflammatoire chronique. La susceptibilité à cette maladie auto-immune la plus fréquente est sous le contrôle de facteurs génétiques et environnementaux. Dans cette étude cas/contrôle, nous avons recherché une éventuelle association entre le gène *IRF5* et la susceptibilité à la PR dans la population tunisienne. Le polymorphisme rs2004640 a été analysé dans une série de 140 malades et 185 témoins d'origine tunisienne. Le génotypage a été effectué par la technique de PCR en temps réel avec sondes fluorescentes (TaqMan Applied Biosystem). La comparaison entre cas et contrôles des fréquences alléliques et génotypiques a été effectuée par le test χ^2 et le test du risque relatif du génotype. L'analyse statistique a montré une fréquence plus élevée du génotype TT chez les malades (42,14 %) par rapport aux témoins (31,35 %) ($\chi^2 = 5,91$; $p = 0,014$; OR = 1,59 ; IC [1,01-2,51]). Par ailleurs, la même analyse réalisée dans le sous groupe de malades avec anticorps anti peptides citrullinés n'a pas montré une association plus significative ($\chi^2 = 3,94$, $p = 0,046$; OR = 1,54 ; IC [0,92 - 2,59]). En conclusion, nos résultats suggèrent que le génotype TT est un marqueur de prédisposition à la PR dans notre échantillon d'étude.

Mots-clés : polyarthrite rhumatoïde, gène de susceptibilité, association.

■P285 / 138. RÔLE DES INTERLEUKINES IL4 ET IL13 ET DE LEUR RÉCEPTEUR DANS LA SUSCEPTIBILITÉ À LA SCLÉROSE EN PLAQUES

M.C. Babron (1), E. Genin (1), I. Cournu-Rebeix (2), H. Perdry (1), F. Clerget-Darpoux (1), B. Fontaine (2)
(1) INSERM U535 et Univ. Paris-Sud, Villejuif, France ; (2) INSERM U546 et Univ Paris Pierre et Marie Curie, Paris, France

La sclérose en plaques (SEP) est une maladie multifactorielle, dans laquelle des facteurs tant génétiques qu'environnementaux interviennent. On connaît peu les facteurs génétiques impliqués, à l'exception d'un facteur du complexe HLA. Deux criblages du génome [Broadley *et al.*, 2001 ; Babron *et al.*, 2004] ont suggéré la présence d'un facteur de risque dans la région chromosomique 5q31. La localisation dans cette région des gènes *IL4* et *IL13*, codant pour des cytokines impliquées dans la réaction immunitaire, en fait de bons candidats à la susceptibilité à la SEP. D'autre part, dans des maladies multifactorielles comme la SEP, on soupçonne de plus en plus l'implication de deux ou plusieurs variants appartenant à la même voie métabolique. L'implication de la voie métabolique IL13-IL4 et leur récepteur IL4R a ainsi été suggérée dans une autre maladie auto-immune, le diabète insulino-dépendant [Bugawan *et al.*, 2003]. Nous avons examiné le rôle de cette voie métabolique dans un échantillon de 124 trios français avec une nouvelle stratégie. Tous les polymorphismes génétiques de ces trois gènes, *IL4*, *IL13* et *IL4R*, ont été identifiées par séquençage [cf résumé de Cournu-Rebeix *et al.*]. Nous nous sommes concentrés sur les 73 variants les plus communs (fréquence allélique >10 %). Aucun d'eux, pris individuellement, ne montre d'association significative avec la SEP. Nous avons ensuite examiné toutes les combinaisons de deux variants, l'un dans *IL4/IL13*, l'autre dans *IL4R*. Parmi les 1170 combinaisons évaluées, 6 combinaisons étaient significatives (p -value corrigée < 1 %). Ces combinaisons sont en cours de réplcation dans un nouvel échantillon de malades. Cette étude a été financée par l'ARSEP.

Mots-clés : sclérose en plaques, interleukine, association.



■P286 / 141. LE SÉQUENCAGE : UN OUTIL LOURD MAIS ROBUSTE POUR L'IDENTIFICATION DES POLYMORPHISMES ASSOCIÉS AUX MALADIES COMPLEXES

I. Courmu-Rebeix (1), M.C. Babron (2), E. Genin (2), L. Guillot-Noel (1), F. Clerget-Darpoux (2), B. Fontaine (1, 3) et le « Réseau Français d'Étude Génétique de la Sclérose en Plaques (REFGENSEP) »
(1) INSERM UMR S 546, Paris, France ; (2) INSERM UMR 535 ; Univ Paris Sud, Villejuif-France ; (3) Fédération des maladies du système nerveux, Hôpital de la Pitié-Salpêtrière, Paris, France

Introduction : Le projet HapMap avait pour but de définir des sets de polymorphismes, répartis sur différents blocs haplotypiques au sein du génome humain, pour les études d'association génétique. Cependant le débat sur le choix des polymorphismes permettant l'identification de facteurs de prédisposition existe toujours. De plus, à l'heure actuelle pour un gène candidat donné, l'information concernant les variants génétique accessible dans les bases de données est la plus part du temps incomplète. Il a été montré que les gènes codant pour les cytokines étaient impliqués dans la prédisposition à plusieurs maladies autoimmunes. Les interleukines 4 et 13 et leur récepteur IL4R ont en particulier été associés au diabète de type I, à la polyarthrite rhumatoïde ou encore à la maladie coeliaque. Ces gènes ont été partiellement étudiés dans la prédisposition génétique à la sclérose en plaques avec des résultats contradictoires. Dans le but de réaliser une étude complète des polymorphismes bi-alléliques (SNP) des gènes *IL4*, *IL13* et *IL4R* dans la prédisposition à la SEP, nous avons entièrement séquencé ces gènes (introns et exons) en collaboration avec le centre national de séquençage (Pr Weissenbach, EVRY). Nous présentons ici les résultats concernant les gènes *IL4* et *IL13*. Matériel et méthodes : 124 familles simplex (1 atteint de SEP et ses 2 parents) issus de la cohorte REFGENSEP. Séquençage en forward et reverse de 42 couples d'amorces répartis sur les gènes soit 31 248 séquences. Analyse de séquence : logiciel ABI Prism®SeqScape v2.5. La lecture manuelle de 3 fragments pour 372 individus a permis de définir les critères de lecture automatique permettant de détecter l'ensemble des polymorphismes et d'éliminer les fausses variations. Paramètres de lecture définis : – seuil de détection 50 % – analyse automatique de toutes les séquences pour le génotypage des SNP connus – analyse automatique de toutes les séquences « propres » pour l'identification de nouveaux SNP – lecture manuelle des séquences « non propres » pour le génotypage des nouveaux SNP – vérification manuelle pour tous les nouveaux SNP avec une fréquence inférieure à 1 %. Le logiciel Haploview v3.2 a été utilisé pour le calcul du déséquilibre de liaison entre SNP, le calcul des fréquences et l'identification des Tag SNP. Résultats : parmi les 199 SNPs étudiés, 145 étaient informatifs. 82 étaient identifiés dans les bases de données, 63 ont été mis en évidence par notre étude. 54 SNPs présentaient une fréquence (MAF) supérieure à 5 %. Afin de limiter le nombre de SNP à génotyper pour une étude d'association nous avons identifié les SNPs permettant de capturer l'ensemble de l'information sur le locus (TagSNPs). Nous avons identifié 16 TagSNPs représentant les 54 SNP (MAF > 5 %). Au sein du cluster *IL13-IL4*, 30 SNP avaient été génotypés dans le projet HapMap et étaient représentés par 9 TagSNPs. Ces 9 TagSNPs ne capturaient l'information que de 36 des SNP de notre étude. Conclusion : le séquençage systématique du locus *IL13-IL4* nous a permis de mettre en évidence 63 nouveaux polymorphismes non décrits dans les bases de données. L'identification de TagSNPs à partir de nos résultats a montré qu'à partir des données HapMap, 17 % des SNPs informatifs du locus n'aurait pas été pris en compte dans les analyses d'association. Une étude d'association (TDT individuel et de combinaison) entre les gènes *IL13* et *IL4* et la sclérose en plaques a été réalisée pour l'ensemble des polymorphismes identifiés (Voir résumé, M.C. Babron et al.).

Mots-clés : sclérose en plaques, interleukines, séquençage.

■P287 / 163. PADI_4 UN HAPLOTYPE FONCTIONNEL ASSOCIÉ À LA POLYARTHRITIE RHUMATOÏDE DANS UNE POPULATION FRANÇAISE

F. Gandjbakhch (1), I. Fajardy (2), S. Dubucquoi (3), B. Ferré (2) L. Castéra (2), A. Lieven (2) B. Duquesnoy (1), E. Solau-Gervais (1)
(1) Service de Rhumatologie, CHRU Lille ; (2) Centre de biologie et pathologie, pôle de biochimie, CHRU Lille ; (3) Centre de Biologie et Pathologie, service d'immunologie, CHRU Lille

Les gènes peptidyl arginine déiminase (*PADIs*) codent pour des enzymes responsables de la déimination des résidus arginine. Des épitopes citrullinés sont à l'origine de l'apparition d'auto-anticorps spécifique de la polyarthrite rhumatoïde (PR) : anti-Sa (vimentine), antifillagrine, antifibrine anti-CCP (anticyclic citrullinated peptide). La spécificité de tels anticorps pour la PR suggère un rôle important de la citrullination et font des gènes *PADI* des candidats majeurs dans la susceptibilité et l'évolutivité

de la PR. Des SNP localisés dans l'intron 3 du gène : *PADI_4* 89 A/G et *PADI_4* 90 C/T définissent un haplotype 89-90 GT décrit comme susceptible dans des populations asiatiques atteintes de PR. Cette association n'a pas été confirmée dans de récentes études européennes. Objectifs : Génotyper ces SNP dans une population française atteinte de PR et rechercher l'existence (1) d'une association avec HLA-DR (2) une corrélation avec la présence d'anticorps anti CCP2. Patients et méthodes 405 patients atteints de PR et 179 témoins originaires de la région Nord Pas de Calais. Tous les patients répondent aux critères définis par le collège américain de Rhumatologie. Après vérification des haplotypes par séquençage, les SNP *PADI_4* ainsi que le locus HLA-DRB1 sont génotypés par PCR-RFLP. Les anticorps CCP2 sont dosés par une technique ELISA commerciale. Résultats : Nous retrouvons une association positive de l'haplotype susceptible *PADI_4* 89-90 GT ($p = 0,02$) et du génotype GT/GT ($p = 0,05$) avec le trait phénotypique. Ainsi 22 % des patients PR sont homozygotes GT contre 10 % des témoins. De plus L'haplotype GT et le génotype GT/GT sont corrélés à la présence d'anticorps anti CCP2 ($p = 0,03$ et $p = 0,05$ respectivement). Nous ne retrouvons pas d'association entre *PADI* et les allèles susceptibles HLA DRB1 *0401-*0402 *0405 et DR10). Conclusion : nos résultats confirment les données japonaises et coréennes et suggèrent donc une implication du gène *PADI_4* comme nouveau marqueur de susceptibilité et peut être d'évolution de la PR. Cette association apparaît comme indépendante du système HLA.

Mots-clés : *PADI_4*, polyarthrite rhumatoïde, anti CCP.

■P288 / 164. INFLUENCE DES GÉNOTYPES DE FCGR3A-V212F ET TNFRSF1B-M196R DANS UNE POPULATION DE PATIENTS ATTEINTS DE POLYARTHRITIE RHUMATOÏDE TRAITÉS PAR INFILIXIMAB

C. Rooryck-Thambo (1), T. Barnette (1, 2), C. Richez (2), A. Laleye (1), T. Schaeverbeke (2), B. Arveiler (1)
(1) Laboratoire de Génétique Humaine, Université Victor Segalen Bordeaux 2, 33076 Bordeaux Cedex, France ; (2) Service de Rhumatologie, CHU Bordeaux-Pellegrin, Place Amélie Raba Léon, 33075 Bordeaux cedex, France

Introduction : Les anti-TNF alpha ont beaucoup modifié la prise en charge de la Polyarthrite Rhumatoïde (PR). Malgré la démonstration claire de leur efficacité, plusieurs études présentent des résultats discordants en terme de réponse au traitement, avec la présence d'environ 40 % de patients non-répondeurs. L'objectif de cette étude est de rechercher l'association de deux SNPs, FCGR3A-V212F et TNFRSF1B-M196R, d'une part avec la prédisposition à la PR et d'autre part avec la réponse à l'Infliximab. Patients et Méthodes. La population d'étude est composée de 78 patients atteints de PR, et 70 témoins sains. Les analyses d'association ont été réalisées en comparant les fréquences alléliques et génotypiques entre les cas et les témoins. Résultats. Aucune association n'a été mise en évidence entre la prédisposition à la PR et les génotypes des deux SNPs étudiés. Une association significative a été retrouvée entre les porteurs de l'allèle TNFRSF1B-196R et une mauvaise réponse au traitement (OR = 3.825, IC95 % = [1.30-11.44], $p = 0.006$). Conclusion. Ce travail constitue la première étude retrouvant une association significative entre la réponse à l'Infliximab et le SNP TNFRSF1B-M196R dans une population française de patients atteints de PR. Des études de plus grande envergure doivent être envisagées pour préciser le rôle exact joué par ce variant dans la réponse au traitement.

Mots-clés : polyarthrite rhumatoïde, pharmacogénétique, anti-TNF.

■P289 / 174. L'ALLÈLE LONG DU MICROSAATELLITE DU PROMOTEUR DU GÈNE CD2BP1 EST ASSOCIÉ À LA MALADIE DE CROHN ET AUX ABCÈS ASEPTIQUES DANS LA POPULATION FRANÇAISE

M.F.J. André (1, 2), M.C. Cardoso (3), G. Grateau (4, 5), M. Chamaillard (6, 7, 8), P. Blanc (3), N. Costedoat-Chalumeau (9), J. Henry-Berger (10), B.S. Ramakrishna (11), M. Delpech (12, 13, 14), O. Aumaitre (2, 15), I. Creveaux (1, 3, 15)

(1) Inserm, U384, Clermont-Ferrand ; (2) CHU Clermont-Ferrand, Hôpital Gabriel Montpied, Service de Médecine Interne ; (3) CHU Clermont-Ferrand, Faculté de Médecine, Service de Biochimie Médicale et Biologie Moléculaire ; (4) Assistance Publique, Hôpitaux de Paris, Hôpital Tenon, Service de Médecine Interne ; (5) Université Paris 6 ; (6) Inserm, U795, Lille ; (7) Université Lille 2 ; (8) CHRU Lille, Hôpital Huriez, Service des Maladies de l'Appareil Digestif et de la Nutrition ; (9) Assistance Publique, Hôpitaux de Paris, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Service de Médecine Interne ; (10) CNRS, UMR6547, Complexe Universitaire des Cèzeaux, Aubière ; (11) Department of Gastrointestinal Sciences, Christian Medical College and Hospital, Vellore, India ; (12) Institut Cochin de Génétique

Moléculaire, Hôpital Cochin, Paris ; (13) Assistance Publique – Hôpitaux de Paris, Hôpital Cochin, Laboratoire de Biochimie et Génétique Moléculaires ; (14) Université Paris Descartes ; (15) Université Clermont 1, UFR Médecine

Introduction : Le syndrome des abcès aseptiques (AA) est une maladie rare, caractérisée par la survenue d'abcès purement stériles dans des organes profonds. Les antibiotiques sont sans effet alors que la corticothérapie améliore rapidement les symptômes et fait disparaître les abcès. Dans 57 % des cas, les AA sont associés à une maladie de Crohn (MC) qu'ils peuvent précéder, et dans 20 % des cas à une dermatose neutrophilique (DN). Le Pyoderma gangrenosum qui est une forme de DN sporadique est une des composantes d'un syndrome de transmission autosomique dominante qui associe une Arthrite Purulente aseptique et une Acné sévère (PAPA syndrome ; OMIM 604416). Le PAPA syndrome est associé à des mutations sur le gène *CD2BP1* (chromosome 15). Objectifs : Les similitudes cliniques entre les AA et le PAPA syndrome soulèvent l'hypothèse d'une implication de la *CD2BP1* dans la physiopathologie des premiers. Nous avons donc voulu chercher si des variations de séquences sur ce gène pouvaient être associées aux AA. Patients et méthodes : Dix neuf patients Français avec AA dont 9 ayant une MC ont été étudiés. Les 15 exons du gène ont été amplifiés par PCR puis testés par dHPLC seuls ou mélangés avec un témoin afin de détecter des hétéroduplexes. Ces derniers ont été ensuite séquencés. L'analyse des polymorphismes du microsatellite a été effectuée par PCR et électrophorèse sur séquenceur automatique. Les fréquences des différents allèles du microsatellite ont été comparées à celles de 118 contrôles Français, 86 patients Français et 40 patients Indiens ayant une MC. L'analyse du promoteur du gène a été effectuée avec Genomatix suite. Résultats : Un microsatellite (CCTG)_n a été mis en évidence dans la région promotrice du gène et une nouvelle délétion de 3 pb au début de la région 3' non transcrite. Aucune mutation n'a été retrouvée dans la séquence codante mais des SNP connus ont été retrouvés dans les parties introniques. Concernant le microsatellite, trois allèles ont été mis en évidence quelle que soit la population. L'allèle le plus long, (CCTG)₇, était significativement associé aux AA en comparaison à des contrôles Français ($p = 0,0154$). Cette association était aussi retrouvée avec la MC seule ($p = 0,0351$) chez les Français mais pas chez les Indiens. Conclusion : Le microsatellite du promoteur de *CD2BP1* est possiblement impliqué dans la pathogénie des AA et de la MC. Il pourrait être un gène modificateur de la MC. Des études fonctionnelles complémentaires sont nécessaires pour apprécier si les différents allèles modifient l'expression du gène.

Mots-clés : CD2BP1/PSTPIP1, microsatellite polymorphism, Crohn disease.

■P290 / 179. XERODERMA PIGMENTOSUM : ANALYSE CLINIQUE ET MOLÉCULAIRE SUR PEAU NOIRE À MAYOTTE

C. Nava (1), A.C. Malbrunot (1), P. Munier (1), J.C. Hebert (2), A. Munich (3), F. Cartault (1)

(1) Laboratoire de Génétique, Unité INSERM U781, CHD Félix Guyon, La Réunion ; (2) Service de Pédiatrie, Centre Hospitalier de Mamoudzou, Mayotte ; (3) Unité INSERM U781, Hôpital Necker, Paris

Le Xeroderma Pigmentosum (XP) est une génodermatose autosomique récessive rare, caractérisée par une hypersensibilité aux UV et une prédisposition aux cancers cutanés. Ce phénotype est dû à une mutation dans l'un des 7 gènes impliqués dans la forme classique du XP (*XPA* à *G*), conduisant à l'altération d'une voie de réparation de l'ADN lésé après exposition aux UV : la voie NER (Nucleotide Excision Repair) ou à une mutation du gène *XPV* (XP Variant) induisant un défaut de la polymérase ϵ et conduisant à un phénotype moins sévère. Cette maladie a été identifiée dans toutes les populations. Elle est plus fréquente au Moyen-Orient, en Afrique du Nord et au Japon (1/100 000) qu'en Europe ou aux Etats-Unis (1/1 000 000). Alors que le XP est rare et particulièrement mal connu chez les patients à peau noire, Mayotte, collectivité départementale française appartenant géographiquement à l'archipel des Comores dans l'Océan Indien, comprend la plus grande cohorte de patients mélanodermes atteints de XP (21 cas recensés : 1/10 000). Objectif : Le but de notre étude était de caractériser les spécificités cliniques et génétiques du XP chez les patients Mahorais. Patients et Méthodes : Parmi les 21 patients, 10 étaient décédés au début de l'étude. Pour les 11 autres, un suivi prospectif en consultation multidisciplinaire (généticien, ophtalmologue, neuro-pédiatre, ORL, dermatologue) a débuté en avril 2007 et sera poursuivi jusqu'en 2009. L'analyse en biologie moléculaire a pu être réalisée chez 15 patients (les 11 vivants + 4 décédés pour lesquels de l'ADN avait été conservé). Compte tenu de la forme clinique de XP chez ces patients, nous avons débuté la recherche de mutation par l'étude du gène *XPC*, par séquençage bi-directionnel. Nous avons étudié le transcrit par RT-PCR. Résultats : Tous nos patients présentaient une atteinte cutanée et ophtalmologique

précoce et sévère. L'âge médian aux premiers symptômes était de 6 mois. 6/11 avaient présenté au moins un cancer cutané avec un âge médian au premier cancer de 4,2 ans, soit 3,8 ans avant l'âge médian rapporté dans la littérature. Aucun patient ne présentait de signes neurologiques. Nous avons identifié chez tous nos patients la mutation G>C à -1pb dans l'intron 11 du gène *XPC* à l'état homozygote, aboutissant à l'abolition d'un site accepteur d'épissage. L'étude de l'ARNm a permis d'identifier au moins 3 isoformes : conservation de l'intron 11, délétion des 44 premières paires de bases de l'exon 12 et délétion de la totalité de l'exon 12. Discussion : Alors que les mutations de *XPC* ne sont habituellement pas récurrentes, tous nos patients présentent la même mutation traduisant l'effet fondateur et la consanguinité liés à l'insularité. Cette homogénéité génétique est corrélée à une homogénéité clinique : tous les patients présentent une atteinte cutanée et ophtalmologique sévère et précoce, liée aux facteurs environnementaux, aux difficultés de prise en charge et peut-être à l'altération de la protéine elle-même causée par une mutation au niveau d'un site d'épissage. La forme clinique du XP chez nos patients étant similaire à celles des autres patients africains rapportés (Sénégal, Afrique du Sud, Nigeria, Cameroun), cette mutation serait à rechercher en priorité chez eux.

Mots-clés : Xeroderma pigmentosum à Mayotte, gène *XPC*, anomalie d'épissage.

■P291 / 181. IMPLICATION DU BIAIS DE L'INACTIVATION DU CHROMOSOME X (XCI) DANS LA PRÉDISPOSITION FÉMININE À LA POLYARTHRITE RHUMATOÏDE

G. Chabchoub (1), E. Uz (2), A. Maalej (1), C.A. Mustapha (2), M. Ben Hamad (1), S. Marzouk (3), Z. Bahloul (3), T. Ozelik (2) et H. Ayadi (1)
(1) Laboratoire de Génétique Moléculaire Humaine, Faculté de Médecine de Sfax, Tunisie ; (2) Department of Molecular Biology and Genetics, Bilkent University, Faculty of Science, Ankara, Turkey ; (3) Service de médecine interne, CHU Hédi Chaker de Sfax, Tunisie

La polyarthrite rhumatoïde (PR) est une affection auto-immune fréquente, elle affecte 0,5-1 % de la population générale avec une nette prédominance féminine (le rapport femme/homme est de 3/1). Le biais de l'inactivation du chromosome X est l'une des hypothèses pour expliquer cette prédominance féminine. Ce biais a été recherché chez 106 femmes atteintes de PR ainsi que 97 femmes contrôles d'origine Tunisienne. L'analyse moléculaire a été réalisée par digestion de l'ADN par deux enzymes de restriction *RsaI* et *HpaII* suivie d'une amplification par PCR et migration sur gel de polyacrylamide 8 %. L'analyse densitométrique a été effectuée par le programme MultiAnalyst version 1.1 (Bio-Rad, Hercules, California). L'étude statistique a été effectuée avec le Test Chi2 et le test exact de Fisher. L'analyse de ces données a montré un biais d'inactivation (supérieur à 90 %) chez les femmes atteintes de PR comparées aux femmes contrôles (22,4 % vs 8,7 % ; $p = 0,03$). L'analyse de sous groupes de malades présentant une érosion, nodules et autres maladies auto-immunes n'a pas montré une différence significative ($p > 0,05$). De même l'analyse de sous groupes de patients avec anticorps anti immunoglobuline (RF) et anticorps anti peptides citrullinés (CCP) n'a pas montrée une association significative. En conclusion, nos résultats suggèrent que le biais de l'inactivation du chromosome X pourrait expliquer la prédominance féminine chez les femmes atteintes de PR.

Mots-clés : inactivation du chromosome X, récepteur des androgènes, polyarthrite rhumatoïde.

■P292 / 187. EFFET PARENTAL DES VNTR DU GÈNE DE L'INSULINE SUR LE POIDS DE NAISSANCE DANS UN CONTEXTE FAMILIAL DE DIABÈTE DE TYPE 1

I. Fajardy (1), F. Vasseur (3), A. Vambergue (2), M. Vandersippe (1), C. Stuckens (2), J. Weill (2), J. Rousseaux (1), P. Fontaine (2)

(1) Centre de Biologie et de Pathologie, CHRU Lille ; (2) Centre de dépistage du prédiabète de type 1, Clinique Marc Linquette, CHRU Lille ; (3) EA2694 et Pôle de Santé Publique CHRU Lille

Le gène de l'insuline situé au locus IDDM2, comprend notamment (1) des VNTR (motifs répétés de 14 à 15 bases) en amont du site de transcription, (2) des SNPs identifiés par RFLP tels que -23 HphI et +1127 PstI. Le nombre de répétitions des VNTR définit 3 sous classes : IS (23-45) IL(45-63) et III (> 140) identifiant des haplotypes de susceptibilité au diabète : VNTR IS-HphI (+) -PstI (+) et des haplotypes protecteurs : VNTRIII - HphI(-) PstI (-). Par ailleurs il existe des résultats discordants dans la littérature concernant l'association entre INS VNTR et le poids de naissance. Objectif : Analyser la transmission des allèles INS VNTR dans des familles avec sujet diabétique de type I, et rechercher une association avec le poids de naissance. Matériel et méthodes 240 familles, dont 66



avec père atteint, 70 avec mère atteinte et 104 avec 1 enfant atteint. Les poids de naissance sont ajustés selon le terme, le sexe et le rang de naissance. L'association entre facteur génétique et phénotype a été analysée par la méthode TDT (Abecassis *et al.*, 2000). L'analyse haplotypique a été réalisée au moyen du logiciel Xbat. Résultats (1) Nous ne retrouvons pas de prédominance des sous classes IS dans notre groupe de sujets diabétiques. (2) La transmission des VNTR par les parents diabétiques ne montre pas de distorsion particulière. (3) L'analyse de la provenance des VNTR révèle une moindre transmission essentiellement maternelle des VNTR de classe III chez les enfants diabétiques (transmis 5 % non transmis 30 % $p < 10^{-6}$). (4) La même analyse réalisée chez les enfants non diabétiques montre un excès de transmission des VNTR IL paternels (transmis 66 %, non transmis 46 % $p = 0.001$). (5) L'haplotype VNTR IL- Hph1 (+) est associé à un poids de naissance plus élevé dans l'ensemble de la population. ($p = 0,03$). Nous montrons que cet effet est paternel et est porté par l'allèle Hph1(+). Conclusion Notre étude confirme l'implication de INS VNTR dans la susceptibilité au diabète de type 1 avec des profils de transmission différents selon le statut clinique. L'association retrouvée entre INS VNTR IL- Hph1 (+) et le poids de naissance indépendamment du diabète pourrait être en rapport avec l'empreinte parentale paternelle au locus IGF2 impliqué dans la croissance fœtale et proche du gène de l'insuline.

Mots-clés : diabète de type 1, INS-VNTR, poids de naissance.

■P293 / 192. ASSOCIATION DES VARIANTS DE L'EXON 1 DE LA MANNOSE BINDING LECTINE (MBL) À LA MALADIE DE CROHN. INDÉPENDANCE PAR RAPPORT AUX ASCA (ANTI-CORPS ANTI-MANNANE DE SACCHAROMYCES CEREVISIAE) I. Fajardy (1), J.F. Colombel (4), J. Branche (4), N. Francois(3), G. Top-Rossini (1), M. Chamailard (4), D. Poulain (2, 3), B. Sendid (2, 3) (1) CBP, Biochimie-CHRU Lille ; (2) INSERM U799 ; (3) Parasitologie-Mycologie, Pôle de Microbiologie, CHRU Lille ; (4) Service de gastroentérologie, CHRU Lille

La MBL est une protéine plasmatique de la famille des lectines impliquée dans la défense immunitaire innée. Elle reconnaît et lie spécifiquement des polysaccharides présents à la surface de multiples micro-organismes conduisant à leur destruction. Il existe une différence interindividuelle dans les taux plasmatiques de MBL expliquée en partie par l'existence de polymorphismes situés dans le premier exon (codons 52, 54, 57) du gène de la MBL ainsi que dans le promoteur (-221 C/G). On définit ainsi dans ces 2 régions des allèles sauvages appelés A et Y et l'ensemble des allèles mutés O et X respectivement. Les génotypes XA/O et O/O seraient responsables d'un taux faible circulant de la protéine MBL. Peu d'études ont concerné la relation entre variants MBL et anticorps anti-Saccharomyces cerevisiae (ASCA) et les résultats retrouvés sont discordants. Objectifs : rechercher une association entre les variants décrits de la MBL et la susceptibilité à la maladie de Crohn (MC) dans une population française et rechercher un lien avec la présence et le taux d'ASCA. Patients et Méthodes 45 patients atteints de Crohn et 150 témoins sont génotypés au niveau de l'exon1 et de la région promotrice du gène de la MBL par PCR-DGGE et PCR-SSP. Résultats : Nous retrouvons une association positive et significative restreinte aux variants de l'exon 1 à l'état hétérozygote A/O (fréquences MC 0.51 vs Témoins 0.26). Cette association est portée majoritairement par le variant 52 C223T, Arg52Cys (fréquences MC 0.2 vs 0.06 témoins). Les mutations retrouvées ne sont associées ni au statut ni à l'amplitude des titres d'ASCA. Conclusion : Nous confirmons l'implication du gène de la MBL dans la susceptibilité à la MC. Le fait que cette association soit indépendante des ASCA qui ont les mêmes cibles que la MBL suggère l'intervention de facteurs génétiques agissant en synergie.

Mots-clés : MBL, ASCA, Crohn.

■P294 / 202. DIAGNOSTICS OF HUMAN SYNDROMES OF HIGH RADIOSENSITIVITY : A NEW APPROACH

I.M. Spivak, N.M. Pleskach, N.V. Smirnova, A.N. Shatrova, V.M. Mikhelson
Institute of Cytology, Russian Academy of Sciences

Protein kinase ATM (ataxia-telangiectasia mutated) is the key protein in global cell response. In causes of mutations in both alleles of the ATM gene, either disease with complicated pleiotropic phenotype ataxia-telangiectasia (AT) is developed, or Louis-Bar syndrome, characterized by multiple neurological anomalies, high probability of tumors, accelerated aging, and utmost sensitivity to action of ionizing radiation (Spivak, 1999 ; Landsdorp, 2000 ; Shiloh, 2003). Although AT is the most frequent syndrome of the hereditary increased radiosensitivity, heterozygous occurrence of this disease is broader than could be supposed, judging by its probability

(1 case in 200,000 newborn), reaching the level of 2 to 10 percent in various populations. The heterozygous carriage of this mutation does not lead to AT but is connected with an extremely elevated risk of early malignant tumors of varied etiology. Data accumulated by present time, concerning the role of the ATM protein in regulation of cell response to DNA damage allow to propose radiobiological approaches to definition of this carriage. Flow cytometry and indirect fluorescence method were applied for discrimination of this carriage by blood relatives of AT-patient in our study. Checkpoint-control and G2-arrest after gamma-irradiation was absent in the AT-cells and decreased in AT-carriers cells. Two proteins (p53, and phosphorylated form of variant histone H2AX) have been chosen for immunofluorescence study. No specific fluorescence of the P53 protein, was observed in nuclei of intact cells, both by healthy donor, and all those patients having ataxia-telangiectasia, as well as heterozygote carriers of the aforementioned disease. In 0.5 hour after being irradiated in dose 5 Gy, bright specific green fluorescence appears in cells of healthy donor, corresponding to stabilization of the P53 protein, while in 1.5 hour after irradiation return to intact state is starting. In cells of patients with AT, as well as their blood relatives-strong heterozygous carriers of the disease (parents), such specific nucleus fluorescence appears not earlier than in 1 hour, and stays on the same level as 1.5 hour after irradiation, i.e. alteration of time and stabilization character of the P53 protein, compared to cells from healthy donor, occurs. Alterations in number of foci of the phosphorylated form of variant histone H2AX in cells of AT patients, and their blood relatives, were studied. Judging by nucleus focuses of the gamma-H2AX, the number of double-strand breaks in cells after being irradiated, or subjected to action of mutagens is detected, and what is the dynamics of their consolidation, taking place as part of activation of DNA repair processes, and global cell response to DNA damage. Practically no specific foci, containing gamma-H2AX, were observed in nuclei of intact cells of healthy donor. At the same time, foci are well pronounced in intact nuclei of cells of AT patients, and heterozygous carriers of this disease. However the alterations in cell cycle control and the quantitative differences in P53 stabilization after gamma-irradiation, and gamma-H2AX foci formation were found in cells of members of AT families. These peculiarities may serve as additional markers, contributing to detailed diagnosis of ataxia-telangiectasia on cell level, and the detection of carriage of this disease in dubious cases (e.g. by sisters and brothers of patient).

Mots-clés : ataxia-telangiectasia, histone H2AX, P53.

■P295 / 211. DÉVELOPPEMENT D'UNE QMPSF FACILITANT LA DÉTECTION DES MICROREMANIEMENTS GÉNOMIQUES CHEZ DES PATIENTS ATTEINTS D'AUTISME

A.-L. Mosca (1, 2), P. Saugier-Verber (1, 3), A. Goldenberg (3), C. Thauvin (2), V. Drouin-Garraud (3), A. Rosier (4), N. Lagarde (5), P. Brun (4), F. Joly (5), F. Bonnet-Brilhault (6), F. Mugneret (7), C. Andres (6), D. Campion (1), M. Tosi (1), L. Olivier-Faivre (2), T. Frébourg (1, 3)
(1) Inserm U614, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Institut Hospitalo-Universitaire de Recherche Biomédicale de Rouen ; (2) Service de Génétique, CHU de Dijon ; (3) Service de Génétique, CHU de Rouen ; (4) Centre de Ressource Autisme de Haute Normandie, CH du Rouvray ; (5) Centre de Ressource Autisme de Bourgogne, CHU de Dijon ; (6) Inserm U619, Faculté de Médecine et CHU de Tours ; (7) Laboratoire de Cyto-génétique, CHU de Dijon

L'autisme est une affection neuro-psychiatrique caractérisée par des déficits des interactions sociales et de la communication, associés à un répertoire de comportements restreints, répétitifs et stéréotypés. Un enfant sur 1 000 est atteint d'autisme avec 4 fois plus de garçons que de filles. Plusieurs arguments épidémiologiques plaident en faveur de l'importante composante génétique de l'autisme. Actuellement, le diagnostic d'une maladie génétique monogénique incluant des signes autistiques, comme le syndrome de l'X Fragile, est porté chez 15 % des sujets autistes. En outre, 10 à 15 % des sujets autistes présentent des anomalies du caryotype, en particulier des délétions et duplications interstitielles (15q11-q13, 22q11) et des remaniements subtélomériques. L'objectif de cette étude est le développement d'une méthode de génétique moléculaire, reposant sur le principe de la QMPSF (Quantitative Multiplex PCR of Short Fluorescent Fragments), facilitant la détection de micro-remaniements génomiques à l'origine d'autisme. Nous avons modélisé 2 QMPSF, l'une explorant 16 régions chromosomiques déjà impliquées dans l'autisme et l'autre explorant 14 gènes, candidats par leur fonction dans la synaptogenèse et par leur implication dans des études de liaison et d'association répliquées. Nous avons inclus 107 patients dont le diagnostic d'autisme a été validé par le centre de ressource autisme de trois régions, Rouen, Tours et Dijon. Au terme d'un bilan génétique, ces patients sont répartis en deux cohortes : la première cohorte correspond à des syndromes autistiques, l'autisme étant

associé à différents symptômes, la seconde cohorte correspond à des autismes purs. Dans la mesure où 70 % des patients autistes ont un retard mental, il nous a semblé intéressant d'explorer en complément les extrémités sub-télomériques et les régions interstitielles les plus fréquemment impliquées dans le retard mental grâce à des QMPSF antérieurement modélisées. Ces analyses ont permis de détecter 2 remaniements chromosomiques. Le premier est une délétion du gène *PRODH* en 22q11 associé à une mutation sur le second allèle (c.553C>T) entraînant une réduction partielle de l'activité enzymatique chez une fille présentant un autisme avec retard mental. Le diagnostic d'hyperprolinémie de type I est ainsi hautement probable chez cette enfant. Le second remaniement est une duplication de la région 15q11-q13 chez un garçon présentant un autisme syndromique. Cette duplication, rapportée chez 2 % des patients autistes, implique un groupe de gènes codant pour des récepteurs au GABA. Or une des hypothèses étiologiques retenues de l'autisme est le déséquilibre entre les synapses excitatrices et inhibitrices. Ces premiers résultats montrent l'intérêt de développer cette méthode simple et peu coûteuse utilisable dans les laboratoires hospitaliers de génétique moléculaire pour faciliter le diagnostic des remaniements chromosomiques chez les patients autistes. Ainsi tout patient autiste pourra bénéficier en routine de la QMPSF autisme qui a permis de mettre en évidence ces 2 anomalies ainsi que de la QMPSF identifiant les remaniements chromosomiques les plus fréquents dans le retard mental. En revanche, en raison de la faible rentabilité de l'exploration des télomères, cette analyse doit être réservée aux patients autistes répondant aux critères.

Mots-clés : autisme, QMPSF, microremaniements.

■P296 / 216. LE PROTO-ONCOGÈNE *RET* : GÈNE MAJEUR ET GÈNE MODIFICATEUR

L. de Pontual (1), A. Pelet (1), M. Clément-Ziza (1), D. Trochet (1), S.E. Antonarakis (2), T. Attié-Bitach (1), P.L. Beales (3), J.-L. Blouin (2), F. Dastot le Moal (4), H. Dollfus (5), M. Goossens (4), N. Katsanis (6), R. Touraine (7), J. Feingold (1), A. Munnich (1), S. Lyonnet (1), J. Amiel (1)

(1) Université Paris-Descartes, Faculté de Médecine ; INSERM ; AP-HP, Hôpital Necker-Enfants Malades, INSERM U-781, Paris, France ; (2) Department of Genetic Medicine and Development, University of Geneva Medical School, Switzerland ; (3) Molecular Medicine Unit, Institute of Child Health, London, WC1N 1EH, UK ; (4) INSERM U-654, Créteil, France ; (5) Service de Génétique Médicale, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France ; (6) McKusick-Nathans Institute of Genetic Medicine, Johns Hopkins University School of Medicine, Baltimore, Maryland 21205, USA ; (7) Service de Génétique, Hôpital Nord, 42055, Saint-Etienne Cedex 2, France

L'expressivité variable et la pénétrance incomplète sont observées tant dans les maladies Mendéliennes que multifactorielles. La maladie de Hirschsprung (MH), malformation congénitale du système nerveux entérique, est un modèle d'approche des maladies à hérédité complexe. Une étude non paramétrique de paires de germains nous a permis de proposer un modèle oligogénique dont le proto-oncogène *RET* est le gène majeur. L'événement moléculaire à ce locus peut être une mutation de la séquence codante (50 % des formes familiales et 15 % des formes sporadiques), mais, plus souvent, un polymorphisme non codant de l'intron 1 dans une séquence régulatrice hautement conservée. De nombreuses maladies chromosomiques ou géniques prédisposent à la MH. Nous avons étudié 393 patients atteints de Trisomie 21, syndrome de Waardenburg de type IV, de Mowat-Wilson, d'Ondine et de Bardet-Biedl, atteints ou non de MH. La pénétrance de la MH varie de moins de 5 % à plus de 80 % selon les syndromes. L'allèle de prédisposition au locus *RET* est sur-représenté de manière significative chez les patients avec MH dans les groupes Ondine, Bardet-Biedl ou T21 mais pas chez les patients avec MH et syndrome de Waardenburg de type IV ou de Mowat-Wilson. De façon intéressante, un groupe hétérogène de 28 patients avec MH et retard mental et dont le caryotype est normal est également *RET*-dépendant. On peut donc distinguer des MH dépendantes et indépendantes de *RET* parmi les MH syndromiques, que les bases moléculaires soient connues ou restent à identifier.

Mots-clés : Hirschsprung disease, modifier gene, hypomorphic allele.

■P297 / 458. IMPLICATION DE *PTPN22* DANS LA SUSCEPTIBILITÉ GÉNÉTIQUE DE LA SCLÉRODERMIE SYSTÉMIQUE : ÉTUDE D'ASSOCIATION DANS UNE SÉRIE FRANÇAISE ET MÉTA-ANALYSE

P. Dieudé (1), M. Guedj (2), J. Wipff (3, 10), J. Avouac (3, 10), E. Hachulla (4), E. Diot (5), B. Granel (6), J. Sibilia (7), J. Cabane (8), O. Meyer (1),

L. Mouton (9), A. Kahan (3), N. Soufir (10), B. Grandchamp (10), C. Boileau (11), Y. Allanore (3, 11)

(1) Université Paris 7, Service de Rhumatologie Hôpital Bichat Claude Bernard, APHP, Paris, France ; (2) Laboratoire Statistique et Génome, UMR CNRS-8071, INRA-1152, Université d'Evry Val d'Essonne ; (3) Université Paris 5 Descartes, Rhumatologie A, Hôpital Cochin, APHP, Paris, France ; (4) Université Lille II, Médecine Interne, Lille, France ; (5) INSERM EMI-U 00-10, CHU Bretonneau, Tours, France ; (6) INSERM U399, faculté de médecine de La Timone, Marseille, France ; (7) Université Louis Pasteur, Service de Rhumatologie, Hôpital Hautepierre, Strasbourg, France ; (8) Université Pierre et Marie Curie, Service de Médecine Interne, Hôpital Saint-Antoine, APHP, Paris, France ; (9) Paris 5 Descartes Université, Médecine Interne, Hôpital Cochin, APHP, Paris, France ; (10) Université Paris 7, Laboratoire de Biochimie Hormonale et Génétique, Hôpital Bichat Claude Bernard, APHP, Paris, France ; (11) Université Paris 5 Descartes, Hôpital Necker, INSERM U781, APHP, Paris, France

Rationnel : L'allèle 620W du single nucleotide polymorphism (SNP) rs2476601 de *PTPN22* est un facteur génétique de susceptibilité commun à plusieurs maladies autoimmunes (MAI) tels le diabète de type 1, le lupus systémique, la polyarthrite rhumatoïde, les thyroïdites autoimmunes ou encore le vitiligo. La Sclérodermie Systémique (SSc) est une maladie rare, pour laquelle l'agrégation individuelle avec certaines MAI a été rapportée. Récemment, 3 études d'association cas-témoins ont observé des résultats divergents concernant le rôle de l'allèle *PTPN22**620W dans la susceptibilité génétique de la SSc. Cependant, les effectifs, l'hétérogénéité ethnique ainsi que l'absence de prise en compte de la co-existence d'une maladie auto-immune associée à *PTPN22* limitaient leurs conclusions. Objectif. Les buts de cette étude sont, d'une part, de tester l'association entre le SNP R620W de *PTPN22* et la SSc, dans une cohorte multicentrique de malades Français Caucasiens. D'autre part, préciser l'implication de R620W dans la susceptibilité génétique de la SSc en réalisant une méta-analyse à partir des données de la littérature. Chaque analyse est réalisée en prenant en compte l'éventuelle co-existence d'une autre MAI pour laquelle *PTPN22* est un facteur génétique de susceptibilité connu. Patients et méthodes. 669 patients atteints de SSc ont été comparés à 504 témoins, tous d'origine française caucasienne. Le génotypage a été réalisé par Taqman. Les fréquences alléliques et génotypiques ont été comparées entre les deux populations testées par un test exact de Fisher. Les Odds Ratio (OR) correspondants ont été calculés en prenant, pour chaque SNP, comme valeur de référence le génotype homozygote pour l'allèle non suspecté. La méta-analyse a été réalisée par régression logistique ajustée sur les différentes populations testées. Résultats : Dans la série Française, l'information sur l'existence d'une autre MAI associée était disponible pour 417/669 patients atteints de SSc parmi lesquels 92 (22 %) présentaient une association SSc-MAI. Au sein des 92 individus présentant un overlap SSc-MAI, 54 (13 %) souffraient d'une MAI pour laquelle *PTPN22* est un facteur génétique défini (polyarthrite rhumatoïde, lupus, thyroïdite auto-immune). Il n'a pas été mis en évidence d'association entre SSc et l'allèle *PTPN22**620W dans la population Française Caucasienne ; [R/W+W/W] OR = 0.98 ; 95 %IC [0.71-1.36]. L'analyse stratifiée par la présence ou non d'auto-anticorps spécifiques (anticorps anti-Topoisomérase I et anti-centromère), n'a pas révélé d'association avec *PTPN22* : [R/W+W/W] ORanti-TopoI = 1.08 ; 95 %IC [0.64-1.77], ORanti-centromère = 0.93 ; 95 %IC [0.59-1.43]. De même, l'analyse stratifiée pour la présence d'une MAI associée n'a pas montré d'association (OR = 0.98 ; 95 %IC [0.43 ; 2.08]). La méta-analyse incluant 1 809 patients atteints de SSc et 1262 contrôles trouve une association entre *PTPN22* et la SSc : [R/W+W/W] P = 3.43 × 10⁻², OR = 1.05 ; 95 %IC [1.00-1.10]. L'association est plus marquée chez les patients présentant un auto-anticorps anti-Topoisomérase I : [R/W+W/W] P = 1.19 × 10⁻³, ORanti-TopoI = 1.09 ; 95 %IC [1.04-1.16]. La sous-analyse incluant 1 559 patients caucasiens Européens et Nord Américains et 952 témoins confirme une association restreinte au seul groupe de patients avec auto-anticorps anti-Topoisomérase I [R/W+W/W] P = 1.08 × 10⁻², ORanti-TopoI = 1.08 ; 95 %IC [1.02-1.15]. **CONCLUSION.** De même que les associations observées entre *PTPN22* et plusieurs MAI concernent des sous-groupes de patients exprimant des auto-anticorps, la participation de R620W à la susceptibilité de la SSc apparaît restreinte au sous-groupe de malades anti-Topoisomérase I positifs.

Mots-clés : Sclérodermie systémique, *PTPN22*, Association.

■P298 / 501. UTILISATION DE PHYLOGÉNIES POUR DÉTECTER DES ASSOCIATIONS ENTRE HAPLOTYPES ET TRAITS QUANTITATIFS

C. Bardel (1, 2), V. Danjean (3), E. Génin (4, 5), P. Darlu (4, 5)



(1) Institut des Sciences pharmaceutiques et biologiques, Université Lyon 1, Université de Lyon ; (2) INSERM, ERI 22, Lyon ; (3) Université Joseph Fourier, LIG, UMR 5217, Grenoble ; (4) Université Paris-Sud UMR-S535, Villejuif ; (5) INSERM, Villejuif

Le développement des techniques de biologie moléculaire permet maintenant de disposer de très grandes quantités de marqueurs génétiques le long des chromosomes, facilitant ainsi l'identification de facteurs génétiques de risque potentiellement impliqués dans l'expression quantitative de certaines maladies. Afin d'exploiter au mieux ces données, les méthodes d'analyse sont souvent basées sur la reconstruction d'haplotypes à partir des marqueurs situés sur un même chromosome. Lorsque le nombre de marqueurs pris en considération augmente, le nombre d'haplotypes augmente également, diminuant en conséquence la puissance des tests d'association. Pour pallier ce problème, diverses méthodes de regroupement d'haplotypes ont été suggérées. Dans ce travail, nous proposons un nouveau test d'association entre traits quantitatifs et haplotypes : ALTree-q. Dans ce test, les haplotypes sont regroupés en fonction de leur histoire évolutive reconstruite sous la forme d'un arbre phylogénétique. Une série d'analyses de variance emboîtées est alors réalisée aux différents niveaux de regroupement définis par l'arbre. Nous avons réalisé une étude de puissance du test ALTree-q par simulations et nous avons comparé ses performances à deux autres tests : une analyse de variance réalisée sur l'ensemble des haplotypes simultanément et le test TreeScan proposé par Templeton *et al.* (2005). Nos simulations ont été réalisées pour différents modèles génétiques pour le trait quantitatif. Nous avons montré qu'ALTree-q est le test le plus performant dans le cas de modèles dominants ou additifs. Nous avons aussi montré que les trois tests sont sensibles à des paramètres comme l'héritabilité du trait, la fréquence de l'allèle à risque et le déséquilibre de liaison (DL) entre le locus à risque et les autres marqueurs. ALTree-q se révèle particulièrement puissant dans le cas d'allèles à risque fréquents et de DL fort. En conclusion, nos résultats montrent que l'utilisation des phylogénies d'haplotypes peut se révéler très intéressante pour la recherche des facteurs génétiques impliqués dans la variabilité phénotypique et illustrent bien l'apport de la génétique des populations dans ce contexte.

Mots-clés : test d'association haplotypique, traits quantitatifs, phylogénie.

■P299 / 519. EXCLUSION DES GÈNES SARA2, BET1, VIT1A, STX5 DANS DEUX FAMILLES ATTEINTES DE LA MALADIE D'ANDERSON, SYNDROME DE MALABSORPTION DES LIPIDES

M. Varret (1), M. Silvain (2), A. Grodet (3), A. Munnich (1), C. Boileau (1), L. Ferkdadj (4), J. Schmitz (5), L.-P. Aggerbeck (2), M.-E. Samson-Bouma (1)

(1) Inserm U781, Paris ; (2) Centre de Génétique Moléculaire, Gif Yvette ; (3) Atelier Microscopie Électronique, Centre de Recherche Biomédicale Bichat-Beaujon CRB3, Université Paris VII ; (4) Service d'Anatomie Pathologique, Hôpital R. Debré, Paris ; (5) Département de Pédiatrie, Hôpital Necker-Malades, Paris

Introduction : La maladie d'Anderson (MA) est une hypocholestérolémie génétique à transmission autosomique récessive très rare (trente-six cas ont été décrits jusqu'à présent). Elle est caractérisée par un syndrome de malabsorption intestinale des lipides, des diarrhées, un retard de croissance, une réduction de la sécrétion d'alpha et de bétalipoprotéines, une déficience en vitamines liposolubles (E et A) pouvant entraîner une neuropathie. Une absence totale de chylomicrons post-prandiaux est également observée, reflet d'un défaut de sécrétion par les entérocytes du à une mutation du gène SARA2 codant la protéine Sar1b. L'examen endoscopique montre la présence d'une gelée blanche à la surface de la muqueuse intestinale. Un régime pauvre en matières grasses enrichi en vitamines liposolubles (A et E) et en acides gras essentiels permet une régression des symptômes gastro-intestinaux et un retour à une croissance normale. **Matériel et méthodes** : Nous avons recruté deux familles dont un et trois sujets sont atteints de la MA pour lesquels les sept exons du gène SARA2 ont été séquencés. L'implication du gène SARA2, comme étant responsable de la MA, dans ces deux familles a été aussi étudiée par une analyse de liaison à l'aide de l'étude de marqueurs microsatellites (CA)n flanquants le gène SARA2. Par cette même approche, nous avons également étudié, dans ces deux familles, l'implication des gènes BET1, VIT1a, et STX5. Parallèlement, nous avons séquencé directement les huit exons du gène SYLB1, proche du télomère, chez les parents et les enfants malades dans le but d'identifier une mutation éventuellement transmise avec la MA. Un consentement éclairé a été signé par chaque sujet participant à cette étude (RBM 93018, CCPRB 94002). **Résultats** : Ces travaux nous ont permis, dans un premier temps, d'exclure le gène SARA2 seul connu à ce jour pour être impliqué dans le développement de la maladie d'Anderson. Le

séquençage des sept exons du gène SARA2 n'a révélé aucune mutation. L'exclusion du gène SARA2, comme étant responsable de la MA, dans ces deux familles a été confirmée par une analyse de liaison. Nous avons également exclu, dans ces deux familles, l'implication des gènes BET1, VIT1a, et STX5 qui codent pour des protéines impliquées dans le transport vésiculaire des chylomicrons entérocytaires : Rbet 1, Vti 1a et Syntaxine 5. Parallèlement, aucune mutation n'a été observée dans la partie codante du gène SYLB1 (codant la protéine VAMP7) comme étant la cause du défaut de sécrétion des chylomicrons chez ces patients. L'exclusion définitive de SYLB1 reste à être confirmée par l'étude des introns et du promoteur. **Conclusion** : La recherche du défaut génétique impliqué chez ces deux familles atteintes de la maladie d'Anderson non liées à une mutation de SARA2 a permis d'exclure trois gènes candidats : BET1, VIT1a et STX5. Ces résultats suggèrent l'existence d'autres facteurs essentiels à la sécrétion des chylomicrons, encore inconnus à ce jour.

Mots-clés : hypocholestérolémie, linkage, séquençage.

■P300 / 539. GENESIS : IDENTIFICATION ET CARACTÉRISATION DE NOUVEAUX GÈNES DE PRÉDISPOSITION AU CANCER DU SEIN À PARTIR DE L'ÉTUDE DE PAIRES DE SŒURS ATTEINTES ET DE TÉMOINS APPARENTÉES ET NON APPARENTÉES

S. Eon-Marchais (1), M. Marcou (1), M. G. Dondon (1), L. Barjoux (2), L. Toulemonde (1), E. Cavaciuti (1), V. Bonadona (3), H. Sobol (4), C. Noguès (5), A. Chompret (6), P. Berthet (7), C. Bonaiti (8), M.-C. Babron (8), O. Sinilnikova (2), N. Andrieu (1), D. Stoppa-Lyonnet (9) pour GENESIS – groupe « Génétique et Cancer »

(1) Inserm U900 & Service de Biostatistiques, Institut Curie, Paris ; (2) Unité Mixte de Génétique Constitutionnelle des Cancers Fréquents, Hospices Civils de Lyon/Centre Léon Bérard, UMR5201 CNRS, Lyon ; (3) UMR CNRS 5558, Centre Léon Bérard, Lyon ; (4) Département d'Oncologie Génétique de Prévention et Dépistage/Inserm EMI 9939, Institut Paoli-Calmettes, Marseille ; (5) Laboratoire d'Oncogénétique, Centre René Huguenin, Saint-Cloud ; (6) Unité d'Oncogénétique, Institut Gustave Roussy, Villejuif ; (7) Service d'Oncologie Génétique, Centre François Baclesse, Rouen ; (8) Inserm U535, Hôpital Paul Brousse, Villejuif ; (9) Inserm U830, Université Paris 5 & Service de Génétique Oncologique, Institut Curie, Paris

Contexte et Objectifs Le cancer du sein (CS) est une pathologie qui concerne environ 10 % des femmes dont l'espérance de vie est de plus de 80 ans. Les études de ségrégation ont montré que 5 % des cas sont liés à un facteur génétique transmis selon un mode dominant. Deux gènes, BRCA1 et BRCA2, ont été identifiés ; leurs mutations sont impliquées dans environ 5 % des CS et 20 % des cas familiaux testés (Miki *et al.*, 1994, Wooster *et al.*, 1995). Une partie des 80 % restant pourrait être expliquée par des prédispositions encore non identifiées mais dont le mode de transmission serait plus vraisemblablement récessif ou oligogénique. L'étude GENESIS a pour objectif d'identifier de nouveaux gènes de prédisposition et d'évaluer leur rôle dans l'apparition d'un CS ainsi que celui de facteurs non génétiques qui pourraient modifier leur effet. **Données et Méthode** GENESIS combine une étude de liaison génétique non paramétrique chez des paires de sœurs atteintes de CS et non porteuses d'une mutation des gènes BRCA et une étude d'association avec deux groupes témoins : sœurs indemnes et proches non apparentées (amies, collègues). Les analyses de liaison génétique explorent l'ensemble du génome (GW). Les études d'association seront plus particulièrement centrées sur les régions d'intérêt désignées par les études de liaison et par les résultats publiés des études d'association GW. Les études d'association permettront, outre d'identifier de nouveaux facteurs génétiques, d'estimer les risques de CS associés et d'évaluer les éventuelles interactions gènes-environnement/style de vie. Le recueil de caractéristiques phénotypiques des cas (densité mammaire, caractéristiques tumorales examinées en tissu-array...) permettra de définir des endophénotypes et ainsi de diminuer l'hétérogénéité génétique attendue au sein de la population d'étude. L'effectif attendu est 6 000 personnes (1 000 paires de sœurs et 4 000 témoins et apparentés). **Protocole** du recueil des données et des prélèvements biologiques Les diverses étapes du protocole se font par courrier et sont coordonnées par le Centre Coordonnateur* et le Centre de Ressources Biologiques#. Les femmes index sont invitées à participer par les consultants en génétique du Groupe Génétique et Cancer (GGC) de la Fédération Nationale des Centres de Lutte Contre le Cancer. Les sœurs atteintes et indemnes, les frères et les parents ainsi qu'une proche non apparentée sont invités par les index. Les données épidémiologiques concernent les antécédents gynécologiques et obstétricaux, les traitements hormonaux, les habitudes tabagiques actives et passives, la consommation d'alcool, l'activité physique, les expositions aux radiations,... Les échantillons sanguins (sang total,

lymphocytes, plasma, sérum) et tumoraux sont collectés. Les mammographies des index, sœurs atteintes et de leurs témoins sont numérisées pour la mesure de la densité mammaire. État d'avancement Une étude pilote a été réalisée sur 48 cas index invités en novembre 2006. La participation a été de 81 %. L'étude nationale a commencé en avril 2007. Le protocole et l'avancement de GENESIS seront présentés en détail et la population incluse en janvier 2008 sera décrite. Retombées : L'identification de nouveaux gènes de prédisposition au CS aura un impact sur la prise en charge des femmes à risque. La connaissance de ces gènes permettra également de mieux comprendre l'origine d'un certain nombre de cas de CS a priori non familiaux et permettra d'optimiser la prise en charge de leurs apparentées. Enfin, la connaissance des fonctions biologiques de ces gènes, de leurs interactions avec des facteurs environnementaux permettra de proposer des actions de prévention.

Remerciements : GENESIS est soutenue par la Ligue Nationale Contre le Cancer depuis 2006

Références

* Inserm U900 & Service de Biostatistiques, Institut Curie, Paris.

Unité Mixte Génétique Constitutionnelle des Cancers Fréquents, Hospices Civils de Lyon/Centre Léon Bérard, Lyon.

Mots-clés : cancer du sein, gène de prédisposition, interaction gène-environnement.

■P301 / 571. INTERRUPTION DU GÈNE *SLC6A10* LOCALISÉ EN 16P11.2

N. Bayou (1), R. M'rad (1, 2), A. Belhaj (3), L. Kraoua (1), I. Ouertani (1), I. Chelly (1), H. Jilani (1), R. Zemni (1), M. Chaabouni (1, 2), H. Daoud (4), S. Briault (4), M. B. Helayem (3), L. Ben Jemaa (1, 2), H. Chaabouni (1, 2)

(1) Faculté de Médecine de Tunis. Laboratoire de génétique humaine, 15 rue Djebel Lakdhar La Rabta, 1007 Tunis, Tunisie ; (2) Service des maladies congénitales et héréditaires. EPS Charles Nicolle Tunis ; (3) Service de pédopsychiatrie. Hôpital Razi, La Manouba, Tunisie ; (4) Faculté de Médecine de Tours, INSERM U619, 2bis, Bd Tonnelé 37000, Tours France

L'autisme est un désordre neurodéveloppemental qui se manifeste durant les premières années de la vie et qui est caractérisé par des troubles dans les interactions sociales et la communication et par la présence de modalités comportementales répétitives. Chez 10 à 15 % des patients atteints d'un syndrome autistique, il est possible d'identifier une anomalie chromosomique non spécifique ou spécifique d'un syndrome particulier. Nous rapportons le cas d'un enfant autiste chez qui l'étude cytogénétique a mis en évidence une translocation de novo. Les différentes analyses de cartographie par bacs ainsi que les analyses de bioinformatique nous ont permis de montrer que le point de cassure sur le chromosome 16 interrompt un gène paralogue de *SLC6A8* appelé aussi *SLC6A10* ou *CT2*. Outre l'expression spécifique de ce gène dans le testicule, déjà rapportée par Iyer *et al.* en 1996, nous avons mis en évidence une expression au niveau du cerveau fœtal et adulte. L'implication du gène *SLC6A10* dans l'apparition du phénotype autistique chez notre patient est discutée.

Mots-clés : autisme, *SLC6A10*, translocation.

■P302 / 602. UN QUATRIÈME PHÉNOTYPE POUR L'HYPERCHOLESTÉROLÉMIE FAMILIALE À TRANSMISSION AUTOSOMIQUE DOMINANTE

A. Marques-Pinheiro (1), M. Abifadel (1, 2), M. Marduel (1), J. Bonneau (1), K. Ouguerram (3), M. Devillers (1), D. Erlich (1), M. Krempf (3), C. Junien (1), A. Munnich (1), J.-P. Rabès (1, 4), C. Boileau (1, 4), M. Varret (1)
(1) INSERM U781, Paris ; (2) Faculté de Pharmacie, Université Saint-Joseph, Beirut, Liban ; (3) INSERM U539, Hôtel-Dieu, Nantes ; (4) Laboratoire de Biochimie, d'Hormonologie et de Génétique Moléculaire, AP-HP, Ambroise Paré, Boulogne

Avec une prévalence de 1/500, l'Hypercholestérolémie Familiale (HCF) constitue une des maladies héréditaires les plus fréquentes. Au niveau biologique, elle est caractérisée par une élévation des taux plasmatiques de cholestérol total et de cholestérol-LDL. Cette maladie, le plus souvent autosomique dominante, est due à des altérations de différents gènes dont le gène codant le récepteur des LDL (*LDLR*), le gène codant son ligand, l'apolipoprotéine B-100 (*APOB*) et le gène *PCSK9* codant une protéine dont le rôle précis dans la maladie reste à élucider. Par une analyse familiale nous avons localisé un quatrième gène de l'HCF (*HCHOLA4*) en 16q22. Ce gène est localisé dans un intervalle de 1,8 cm qui correspond à une région physique de 3,8 Mb comprenant une centaine de gènes dont la moitié ont été séquencés. Grâce au réseau National de Recherches sur les HCF, nous avons recruté dix-sept petites familles (quarante-trois sujets atteints, trente-quatre sujets normocholestérolémiques) qui ne sont liées à aucun des gènes *LDLR*, *APOB* ou

PCSK9. Ces familles sont en cours d'étude, afin d'identifier d'autres familles présentant une liaison génétique avec la localisation initiale du gène *HCHOLA4* en 16q22 et de parvenir à réduire la région d'intérêt. Sur le plan clinico-biologique, cette forme de la maladie est indiscernable des formes liées aux autres gènes. Des études cinétiques *in vivo* des lipoprotéines riches en apo B-100 ont montré que le défaut métabolique est localisé au niveau de l'élimination des LDL plasmatiques. L'étude de l'expression du gène *LDLR* par PCR quantitative dans des lignées lymphoblastoïdes a montré que les cellules des malades ne répondent pas à la déplétion en cholestérol contrairement aux contrôles chez qui l'expression du gène *LDLR* est augmentée significativement. Ces résultats suggèrent que cette nouvelle forme d'HCF est due à une altération, directe ou indirecte, de l'endocytose ou du trafic intracellulaire du récepteur des LDL. Enfin, une analyse protéomique (électrophorèse bidimensionnelle et spectrométrie de masse) a été entreprise dans le but d'identifier un « profil d'expression protéique » propre aux sujets *HCHOLA4* plutôt qu'une altération spécifique. Cette analyse a déjà permis d'identifier 2 protéines candidates intéressantes : les protéines GDI alpha et GGPS1. En effet, ces protéines participent à la régulation de l'activité des protéines G Rab, protéines régulatrices de l'endocytose et du trafic vésiculaire. En conclusion, ces résultats nous permettent d'amorcer la définition métabolique du défaut *HCHOLA4*.

Mots-clés : hypercholestérolémie, protéomique, linkage.

■P303 / 626. DÉFAILLANCE HÉPATIQUE SUBAIGUË ET DÉGRADATION NEUROLOGIQUE CHEZ UNE ENFANT DE 3 MOIS : DÉPLÉTION DE L'ADN MITOCHONDRIAL PAR DÉFICIT EN ADN POLYMÉRASE GAMMA

C. Dumant (1), A. Goldenberg (2, 3), A.-S. Lebre (4), C. Lardennois (5), V. Drouin-Garraud (2, 3), É. Mallet (1), A. Laquerrière (6), A. Munnich (4), A. Rotig (4), T. Frebourg (1, 2), M. Rio (4), P. de Lonlay (4), S. Bekri (3, 7)

(1) Service de Pédiatrie, CHU de Rouen ; (2) Génétique Clinique, CHU de Rouen ; (3) Fédération de Génétique, CHU de Rouen ; (4) Département de Génétique, Necker-Enfants-Malades, Paris ; (5) Service de Pédiatrie Néonatale et Réanimation, CHU de Rouen ; (6) Service d'Anatomie-Pathologique, CHU de Rouen ; (7) Laboratoire de Biochimie, CHU de Rouen

Les déplétions de l'ADN mitochondrial par mutation du gène *POLG1* codant pour la sous-unité catalytique de l'ADN polymérase gamma (enzyme essentielle à la réplication et la réparation de l'ADN mitochondrial) ont été associées récemment au syndrome d'Alpers (insuffisance hépatique, épilepsie sévère et détérioration neurologique). Nous rapportons le cas d'une enfant de 3 mois qui a présenté une défaillance hépatique et neurologique subaiguë ayant entraîné le décès et chez qui des mutations de *POLG1* ont été identifiées. Cette patiente a été hospitalisée à l'âge de 3 mois pour une perte de poids et une suspicion de gastro-entérite (diarrhée, vomissements). Cette enfant est née à terme, eutrophe sans antécédent familial notable et sans notion de consanguinité. En début d'hospitalisation, il a été noté, malgré un bon contact, une hypotonie axiale majeure et une stagnation du périmètre crânien depuis l'âge d'un mois. L'IRM cérébrale est normale. Très rapidement, une majoration des signes digestifs et l'apparition d'hypoglycémies ont rendu nécessaire la mise en place d'une alimentation entérale continue. Puis, devant une dégradation brutale de l'état général accompagnée d'une hépatomégalie et d'un ictère, le diagnostic d'insuffisance hépato-cellulaire a été porté, motivant son transfert en réanimation. L'enfant est décédée 3 semaines après son entrée en hospitalisation. Le bilan métabolique a objectivé une hyperlactacidémie constante (4 mM/L), des rapports L/P entre 28 et 37, une hyperlactatorachie (4,40 mM/L), qui ont permis d'évoquer une cytopathie mitochondriale. Des prélèvements tissulaires en peri-mortem ont été réalisés. L'étude histologique de la biopsie musculaire a mis en évidence des anomalies discrètes (rares fibres prenant un aspect de « ragged-red fibers » et quelques fibres COX négatives). L'étude de la chaîne respiratoire mitochondriale sur la biopsie hépatique a révélé un déficit généralisé. Une déplétion de l'ADN mitochondrial a été retrouvée avec un taux résiduel de 3 % dans le foie, et 12 % dans le muscle. Le séquençage du gène *POLG1* a permis de montrer que l'enfant était hétérozygote composite pour les mutations p.P587L et p.A1105V chacune héritée d'un parent. Ce cas illustre la prévalence et la gravité des formes autosomiques récessives de mutations de *POLG1* entraînant des déplétions sévères de l'ADN mitochondrial.

Mots-clés : déplétion, *POLG1*, défaillance hépatique et neurologique.

■P304 / 664. ÉTUDE D'ASSOCIATION ET D'EXPRESSION DU GÈNE *CASP7* DANS UNE POPULATION CAUCASIENNE FRANÇAISE ATTEINTE DE POLYARTHRITE RHUMATOÏDE

V. H. Teixeira (1, 2), L. Jacq (1, 3), S. Lasbleiz (1, 4), P. Hilliquin (3), F. Cornelis (1, 3, 5), E. Petit-Teixeira (1)



(1) GenHotel-EA3886, Evry-Paris VII Universités, Evry-Genopole ; (2) Faculté de Médecine, Université de Coimbra, Portugal ; (3) CHSF, Corbeil-Essonnes ; (4) Service de Rhumatologie, Hôpital Lariboisière, Paris ; (5) Unité de Génétique Clinique, Hôpital Lariboisière, Paris

Introduction : La Polyarthrite Rhumatoïde (PR) est une maladie inflammatoire chronique caractérisée par l'inflammation persistante du tissu synovial conduisant à la destruction des articulations affectées. L'apoptose insuffisante des macrophages, des fibroblastes et des lymphocytes synoviaux est un mécanisme qui pourrait contribuer à la persistance de la maladie. Les caspases sont des acteurs importants de l'initiation (initiateurs) et du déroulement (effecteurs) de la mort cellulaire programmée. La caspase 7 est un effecteur qui possède quatre variants de transcription codant pour trois isoformes distinctes (bêta, alpha et delta). L'isoforme bêta de la caspase 7 est dépourvue de site actif et peut agir en tant qu'inhibiteur dominant des isoformes actives alpha et delta de la procaspase 7. Une étude cas/contrôles dans une population caucasienne espagnole a montré une association significative du génotype GG du polymorphisme rs2227309 A>G du gène *CASP7* avec la PR. Le but de notre travail est d'étudier l'association et la liaison de ce polymorphisme rs2227309 avec la PR dans des familles trio caucasiennes françaises (un patient atteint et ses 2 parents). De plus, le niveau de l'expression de l'ARNm des isoformes bêta et alpha de la *CASP7* est évalué chez 24 patients atteints de PR et chez 15 contrôles caucasiens français. Patients et Méthodes. Le polymorphisme rs2227309 du gène *CASP7* est génotypé dans un échantillon de 100 familles trio. Une réplication dans un deuxième échantillon de 100 familles trio a été réalisée. Le génotypage a été effectué par PCR avec sondes fluorescentes (TaqMan). L'information d'association et de liaison est obtenue par le test de déséquilibre de transmission et le risque relatif de génotype. L'expression relative de l'ARNm des isoformes bêta et alpha de la *CASP7* a été quantifiée dans les cellules sanguines périphériques de 24 patients atteints de PR et de 15 contrôles par transcription inverse à partir de l'ARN total puis par PCR quantitative. Résultats. Nous avons observé une transmission significativement plus élevée du génotype AA chez les patients avec facteur rhumatoïde que chez les contrôles ($P = 0.04$). La réplication dans un second échantillon de familles n'a pas reproduit ce résultat. L'analyse combinée des deux échantillons testés ne présente donc aucun résultat d'association entre le SNP testé et la maladie. Les isoformes bêta et alpha de *CASP7* sont moins exprimées chez les patients que chez les contrôles ($P = 0.07$, $P = 0.0006$, respectivement). Discussion : Les résultats de l'étude d'association nous permettent de conclure à l'absence d'implication du polymorphisme rs2227309 du gène *CASP7* dans la composante génétique de la PR pour la population testée. Le locus du gène *CASP7* n'est pas représenté parmi les 19 régions liées à la maladie dans la population française caucasienne. De plus, la dernière étude du génome entier par l'analyse de SNPs dans une population Caucasienne (UK) a permis de mettre en évidence de nouveaux loci associés à la PR, mais aucun ne contient la région du gène *CASP7*. Les données d'expression ont permis de mettre en évidence une baisse significative de l'expression de l'isoforme alpha de la caspase 7 entre les contrôles et les patients PR. Cela suggère que l'activité apoptotique médiée par la caspase 7 au niveau des cellules du sang périphérique est moins importante chez les malades par rapport aux témoins. L'expression de l'isoforme bêta est également moins élevée chez les patients, mais de manière non significative. Donc son activité inhibitrice des formes actives des caspases peut également conduire à une baisse de l'activité apoptotique chez les patients PR. Conclusion. Le polymorphisme rs2227309 du gène *CASP7* n'est pas associé à la PR dans la population française caucasienne. Des investigations complémentaires de la régulation de l'expression du gène *CASP7* sont nécessaires pour confirmer son implication dans les mécanismes apoptotiques impliqués dans cette maladie.

Mots-clés : *CASP7*, polyarthrite rhumatoïde, expression.

Génétique Moléculaire

■P305 / 2. CONTRIBUTION OF *BRCA1* AND *BRCA2* MUTATIONS TO BREAST CANCER IN TUNISIA

W. Troudi (1, 2), N. Uhrhammer (3), C. Sibille (4), W. Mahfoudh (5), T. Jalabert (3), L. Chouchane (5), Y.J. Bignon (3), F. Ben Ayed (2), A. BenAmmar Elgaied (1)

(1) Laboratory of Genetics, Immunology and Human Pathology at the Faculty of Sciences of Tunis. Faculty of Sciences of Tunis. University El Manar I ; (2) Salah Azaiez Institute of Carcinology of Tunis ; (3) Laboratoire Diagnostique Génétique et Moléculaire. Centre Jean-Perrin. Clermont-Ferrand, France ; (4) Laboratory of Molecular Genetic of Hereditary Pathologies. Center of Human Genetics UCL. Bruxelles ; (5)

Laboratory of Molecular Immuno-Oncology, Faculty of Medicine of Monastir. Tunisia

Hereditary breast cancer accounts for 3-8 % of all breast cancers. Combination of *BRCA1* and *BRCA2* genes mutations is responsible for 30 % of hereditary breast cancer cases. To investigate the prevalence of *BRCA1* and *BRCA2* gene mutations in familial breast cancer patients with affected relatives in Tunisia, 36 patients who had at least one first degree relative affected with breast and/or ovarian cancer were analysed. Thirty three patients were suggestive of *BRCA1* mutation and 3 were suggestive of *BRCA2* mutation. Four mutations in *BRCA1* gene were detected among which, one novel frame-shift mutation (c.211dupA) described in two unrelated patients and 3 frameshift mutations ; c.4041delAG, c.2551delG and c.5266dupC. In this study we describe the c.5266dupC mutation which was described only among Jewish Ashkenazi population. Two frameshift mutations (c.1309delAAAAG and c.5682insA) were observed in *BRCA2* gene. Nineteen percent (7/36) of the familial cases were altered on *BRCA1* or *BRCA2* genes with deleterious mutations. Almost all the cases mutated by deleterious mutations on *BRCA1* gene reported a family history of breast and/or ovarian cancer in the index case or in their relatives. Our data are the first to contribute to information on mutation spectrum of *BRCA* genes in Tunisia and offer a recommendation for clinical genetic testing policy.

Mots-clés : *BRCA1*, *BRCA2*, mutation analysis breast cancer, tunisia.

■P306 / 6. PARTICULARITÉS PROTÉIQUES ET MOLÉCULAIRES D'UNE COHORTE DE 69 PATIENTS ÉVOQUANT UNE SARCOGLYCANOPATHIE

M. Trabelsi (1), N. Kaviani (1), V. Commere (1), N. Deburgrave (1), C. Beugnet (1), S. Llens (1), J.C. Barbot (1), J.C. Kaplan (1-3), F. Leturcq (1-3), J. Chelly (1-3)

(1) Laboratoire de Biochimie et Génétique Moléculaire. Hôpital Cochin, Paris, France ; (2) Institut Cochin, Université Paris Descartes, CNRS UMR 8104, Paris, France ; (3) Inserm, U567, Paris, France

Notre étude a consisté à définir le spectre de mutations au niveau des gènes alpha-, beta-, gamma-, delta-Sarcoglycanes (*SGCA*, *SGCB*, *SGCG* et *SGCD*) chez des patients évoquant cliniquement et biologiquement une sarcoglycanopathie (myopathie des ceintures à transmission autosomique récessive, LGMD type 2C-F). Après avoir exclu les patients présentant les trois mutations les plus fréquentes, en France, à savoir la c.229C>T(R77C) du (*SGCA*), la c.525delT et la c.848G>A (C283Y) du (*SGCG*), nous avons étudié une cohorte de 69 patients. La biopsie musculaire et l'étude par Western-Blot des protéines musculaires n'ont été réalisées que chez 48 patients révélant des anomalies qualitatives des alpha- et gamma-sarcoglycanes (SG). La recherche de mutations a été basée sur le séquençage des gènes alpha-, beta-, gamma-, delta-Sarcoglycanes et l'étude par PCR semi-quantitative fluorescente (QF-PCR) des *SGCA* et *SGCG*. Le diagnostic a été confirmé chez 75 % (36/48) des patients présentant une anomalie qualitative des a- et g-s (SG) alors qu'il n'a été établi que chez 52 % (11/21) des patients n'ayant pas eu de biopsie musculaire. Le *SGCA* était muté dans 55.3 % des cas alors que le *SGCG* et *SGCB* l'étaient dans 25.5 et 17 % des cas, respectivement. Au niveau du *SGCD*, une seule mutation hétérozygote a été mise en évidence chez un patient double hétérozygote pour le *SGCB* et le *SGCD*. Parmi les 43 mutations identifiées dans notre cohorte, 22 ont été décrites pour la première fois. Concernant les patients restants, dont 12 avec un profil Western Blot anormal, une seule mutation a été identifiée dans 45.5 % des cas (10/22) alors qu'aucune mutation n'a été mise en évidence dans 54.5 % (12/22) des cas. Ces résultats, associés à l'exclusion des quatre gènes des sarcoglycanes par génotypage utilisant des marqueurs microsatellites polymorphes, évoquent l'implication, dans ce phénotype sarcoglycan-like, d'autres gènes codant pour des protéines interagissant avec les SG. Les résultats de notre travail nous ont permis de révéler l'importance du Western-Blot dans la stratégie diagnostique des sarcoglycanopathies, la fréquence élevée des délétions d'exons (15.8 %) au niveau des *SGCA* et *SGCG* ainsi que la présence d'une région hot spot de duplications au niveau de l'exon 1 du *SGCB* (5/69).

Mots-clés : Sarcoglycanopathies Western Blot séquençage.

■P307 / 17. DÉFAUT DE LOCALISATION NUCLÉAIRE DE LA PROTÉINE CDKL5 DÙ À DES MUTATIONS FAUX-SENS DU DOMAINE KINASE DE *CDKL5* CHEZ DES PATIENTES PRÉSENTANT UNE ENCÉPHALOPATHIE CONVULSIVANTE SÉVÈRE

H. Rosas-Vargas (1), N. Bahi-Buisson (2), C. Philippe (3), B. Girard (4), J. Nectoux (1, 4, 5), M. Ange N'Guyen (6), C. Gitiaux (2), P. Jonveaux (3), J. Chelly (1, 4, 5), T. Bienvenu (1, 4, 5)

(1) Institut Cochin, Université Paris Descartes, CNRS UMR (8104), Paris, France ; (2) Department of Neuropediatrics, Necker-Enfants-Malades

Hospital, Paris, France ; (3) Laboratoire de Génétique, EA3441, CHU Brabois, Vandœuvre-Les-Nancy, France ; (4) Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Hôpital Cochin, Laboratoire de Biochimie et Genetique Moléculaire, Paris, France ; (5) Inserm, U567, Paris, France ; (6) Service de Pédiatrie, CHU Grenoble, Grenoble, France

Des mutations dans la séquence codante du gène *CDKL5* sont à l'origine de spasmes infantiles, d'épilepsies sévères pharmacorésistantes et de formes atypiques de syndrome de Rett. Actuellement une vingtaine de mutations distinctes ont été identifiées à travers le monde. Aucune corrélation claire génotype-phénotype n'a encore été établie. Nous avons examiné par chromatographie liquide haute pression en condition dénaturante et par séquençage direct la totalité de la région codante du gène *CDKL5* chez 151 filles présentant soit une encéphalopathie convulsivante sévère inexpliquée, soit un syndrome de Rett atypique en absence de mutations dans le gène *MECP2*. Nous avons ainsi identifié trois nouvelles mutations faux-sens situées dans le domaine catalytique kinase de *CDKL5* (p.Ala40Val, p.Arg65Gln, p.Leu220Pro). L'analyse de ségrégation familiale a montré que la variation p.Arg65Gln était présente chez le père asymptomatique, suggérant que cette variation est un polymorphisme non délétère. Toutefois, les deux autres mutations faux-sens p.Ala40Val et p.Leu220Pro étaient de novo. La mutation p.Ala40Val a été identifiée chez deux patientes non apparentées et représente la première mutation récurrente du gène *CDKL5*. Pour les deux mutations de novo, nous avons effectué une mutagenèse dirigée du gène *CDKL5* à partir de l'ADNc de *CDKL5* cloné dans un vecteur plasmidique permettant l'expression d'une protéine de fusion *CDKL5-GFP*. Après transfection des différentes constructions sauvage et mutées dans des cellules COS-7, nous avons montré que ces mutations faux-sens entraînent une localisation cytoplasmique de la protéine *CDKL5* mutée, alors que la protéine *CDKL5* sauvage présente une localisation essentiellement nucléaire. Ainsi, une anomalie de localisation subcellulaire de la protéine *CDKL5* est associée à la survenue d'un retard sévère du développement, avec hypotonie sévère, spasmes infantiles, stéréotypies manuelles, et épilepsie précoce.

Mots-clés : *CDKL5*, *MECP2*, épilepsie.

■P308 / 18. L'EFFET PROTECTEUR DU POLYMORPHISME P.VAL66MET DU FACTEUR NEUROTROPHIQUE BDNF (BRAIN-DERIVED NEUROTROPHIC FACTOR) SUR LA SURVENUE DES CRISES D'ÉPILEPSIE DANS LE SYNDROME DE RETT

J. Nectoux (1, 2), N. Bahi-Buisson (3), I. Guellec (3), J. Coste (4), N. De Roux (5), H. Rosas-Vargas (1, 2), M. Tardieu (6), J. Chelly (1, 2, 7), T. Bienvenu (1, 2, 7)

(1) Institut Cochin, Université Paris-Descartes, CNRS (UMR 8104), Paris, France ; (2) Inserm U567, Paris, France ; (3) Service de Neuropédiatrie, Hôpital Necker-Enfants Malades, AP-HP, Paris, France ; (4) Service de Biostatistiques et d'Informatique Médicale, AP-HP, Hôpital Cochin, Paris, France ; (5) Service de Biochimie et Génétique Moléculaire, Hôpital Robert-Debré, Paris, France ; (6) Service de Neurologie, CHU Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre, France ; (7) Laboratoire de Biochimie et Genetique Moléculaire, Hôpital Cochin, Paris, France

Les mutations du gène *MECP2* sont à l'origine des formes classiques et atypiques du syndrome de Rett (RTT) qui touchent essentiellement les filles. Chez la fille RTT, deux facteurs génétiques sont susceptibles d'influencer le phénotype : l'inactivation du chromosome X (XCI) et le type et la position des mutations *MECP2*. Cependant, l'XCI (étudiée sur les lymphocytes) et le génotype *MECP2* ne permettent pas d'expliquer clairement les variations phénotypiques chez les patientes RTT suggérant la participation d'autres facteurs environnementaux et génétiques. Le facteur neurotrophique BDNF, essentiel à la survie neuronale, à la différenciation, et à la plasticité synaptique, est l'une des cibles de *MeCP2*. BDNF présente un polymorphisme fonctionnel p.Val66M et, affectant le trafic intracellulaire et la sécrétion de BDNF. Notre travail avait pour objectif de mettre en évidence une association entre le polymorphisme p.Val66M et (c.G196A) dans BDNF et la sévérité de la symptomatologie dans le RTT en tenant compte du génotype *MECP2*. 81 patientes RTT présentant une mutation *MECP2* ont été incluses. Dans ce travail, nous avons mis en évidence une relation entre le génotype *MECP2* et certains critères cliniques, comme la sévérité des troubles moteurs, la précocité et la sévérité des crises d'épilepsie. Les mutations faux-sens, essentiellement celles localisées dans le domaine MBD, sont ainsi associées à une plus grande sévérité des crises d'épilepsie ($p = 0.003$), et les mutations non-sens à une plus grande sévérité des atteintes moteurs ($p = 0.05$). Aucune différence significative dans la distribution du polymorphisme p.Val66M et n'a été observée en fonction de la sévérité des troubles moteurs, de la communication verbale et non verbale, des stéréotypies gestuelles, de la dyspraxie oro-faciale, de l'hyperventilation, du sommeil, et de l'automutilation.

Toutefois, les filles RTT présentant le génotype p.Val66Val présentent des crises d'épilepsie plus précocement (avant 2 ans) que les filles RTT porteuses de l'allèle Met. Dans notre étude, aucune patiente présentant une crise d'épilepsie précoce ne présentait l'allèle Met, suggérant que l'allèle Met présente un effet protecteur sur la survenue précoce des crises d'épilepsie dans le syndrome de Rett.

Mots-clés : BDNF, *MECP2*, Rett syndrome.

■P309 / 21. MORT SUBITE DU NOURRISSON ET SYNDROME DU QT LONG CONGÉNITAL

G. Millat (1), B. Kugener (2), P. Chevalier (3), H. Huang (4), M. Chahine (4), D. Malicier (5), R. Rousson (1), C. Rodriguez-Lafrasse (1) Laboratoire de Cardiogénétique Moléculaire, Centre de Biologie Est, Hospices Civils de Lyon ; (2) Urgences Nourissons, Hôpital Debrousse, Lyon ; (3) Unité de Cardiologie et Soins Intensifs, Hôpital Cardiovasculaire et Pneumologique L-Pradel, Bron ; (4) Centre de recherche Université Laval Robert-Giffard, Québec, Canada ; (5) Institut Médico-légal, Domaine Rocquencourt, Lyon, France

La définition de la Mort Subite du Nourrisson est le décès brutal, inattendu, d'un nourrisson âgé de moins de 1 an, apparemment en bonne santé, pendant son sommeil. Malgré des mesures de prévention d'ordre comportemental (couchage des bébés sur le dos sans couette ni oreiller, limitation du tabagisme passif,...), la Mort Subite du Nourrisson reste la première cause de décès au cours de la 1^{re} année de vie. En plus de facteurs de risque environnementaux, différents facteurs de risques biologiques, y compris génétiques, ont également été décrits. Quelque soit le gène suspecté, la composante génétique peut s'envisager de 2 façons : existence de mutations qui par elles-mêmes suffisent à l'expliquer le décès ou présence de polymorphismes qui peuvent prédisposer certains nourrissons aux décès dans des conditions critiques (fièvre, infection...). De précédentes études ont ainsi permis de démontrer que des variants exoniques (mutations et/ou polymorphismes) de gènes impliqués dans le syndrome du QT Long pouvaient expliquer certains cas de Mort Subite Inexpliquée du Nourrisson. Le syndrome du QT long congénital est une pathologie cardiaque cliniquement et génétiquement hétérogène caractérisée par un allongement de l'espace QT à l'ECG. Cet allongement est associé à un risque élevé de survenue de troubles graves du rythme ventriculaire (torsades de pointes, fibrillation ventriculaire) pouvant entraîner syncope et mort subite. Environ 75 % des cas de syndrome du QT Long sont dues à des mutations affectant des gènes codant des sous unités de canaux sodiques et potassiques [*KCNQ1*, *KCNH2*, *SCN5A*, *KCNE1* et *KCNE2*]. Afin de mieux préciser le lien entre la Mort Subite du Nourrisson et le Syndrome du QT long, une cohorte de 55 nourrissons décédés de façon inexpliquée avant 1 an a été étudiée en simple aveugle. Pour chacun des cas, il a été réalisé d'une part un protocole d'autopsie standardisé (radiographies, toxicologie, neuropathologie, histologie, microbiologie, virologie,...) et d'autre part une étude moléculaire des gènes *KCNQ1*, *KCNH2*, *SCN5A*, *KCNE1* et *KCNE2*. Le profil moléculaire établi pour chaque cas contient non seulement la ou les mutations probables, mais également les polymorphismes préalablement décrits dans la littérature comme ayant un effet sur l'intervalle QT. Le protocole d'autopsie standardisé a pu expliquer 19 des 55 décès. Pour ces 19 cas, aucune mutation n'a été identifiée sur les gènes étudiés. Inversement, pour les 36 décès qui demeuraient sans diagnostic après l'autopsie, 6 sont porteurs de mutations affectant les gènes du syndrome du QT long. Tous les mutants identifiés n'ont pas été retrouvés après analyse de 200 chromosomes témoins. La moitié de ces mutants sont localisés sur le gène *SCN5A*. La caractérisation fonctionnelle de chacun d'entre eux est actuellement en cours. Cette étude confirme que les mutations affectant les gènes du QT long représentent une des causes génétiques majeures des cas de Mort Subite du Nourrisson. Si l'autopsie ne permet pas de déterminer une cause au décès d'un nourrisson, l'étude médico-légale devrait donc être complétée par l'analyse des gènes impliqués dans le syndrome du QT Long. L'identification de ces mutations pourrait donc permettre de réduire le nombre de morts subites inexpliquées du nourrisson et permettre d'envisager de nouvelles perspectives physiopathologiques.

Mots-clés : mort subite du nourrisson, QT long, arythmies.

■P310 / 25. UN NOUVEAU LOCUS POUR LES ÉPILEPSIES GÉNÉRALISÉES AVEC CONVULSIONS FÉBRILES (GEFS+) EN 8P23-P21

S. Baulac (1), I. Gourfinkel-An (2), P. Couarch (1), M. Baulac (2), O. Dulac (3), R. Nabbout (3), E. LeGuern (1) (1) INSERM, UMR 679, Hôpital de la Pitié-Salpêtrière, Paris, France ; (2) Center of Epileptology, AP-HP, Hôpital de la Pitié-Salpêtrière, Paris, France ; (3) Neuropediatrics department, AP-HP, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France



Le contexte familial GEFS+ (Generalized epilepsy with febrile seizures plus) associe des convulsions fébriles à des crises épileptiques afebriles. A ce jour, des mutations dans 3 gènes, *SCN1A*, *SCN1B* et *GABRG2*, ont été identifiées suggérant une hétérogénéité génétique. Nous avons réalisé une cartographie génétique à l'aide de marqueurs microsatellites espacés de 10 cm dans sept familles françaises dont le phénotype était compatible avec le tableau GEFS+ et une transmission autosomique dominante. Un nouveau locus a été identifié sur le bras court du chromosome 8, en 8p23-p21 après exclusion du reste du génome dans la famille la plus informative. Le génotypage des six autres familles avec les marqueurs de la région suggère qu'une seconde famille est liée à ce locus, permettant ainsi de réduire l'intervalle candidat à 9 Mb. Le séquençage des gènes candidats localisés dans la région est en cours.

Mots-clés : épilepsie, convulsions fébriles, locus.

■P311 / 26. LONG QT SYNDROME CAUSED BY LARGE DELETIONS INCLUDING THE *KCNH2* (*HERG*) GENE UNDETECTABLE BY CURRENT POLYMERASE CHAIN REACTION-BASED EXON-SCANNING METHODOLOGIES

S. Schmitt (1, 2), F. Briec (1), M. Le Cunff (1), C. Vieyres (3), C. Le Caigneck (1, 2), F. Kyndt (1, 2, 4), H. Le Marec (1, 4, 5), V. Probst (1, 4, 5), J.J. Schott (1, 2, 4)

(1) Inserm U533, l'institut du thorax, Faculté de médecine Nantes, France ; (2) Laboratoire de Génétique Moléculaire Service de Génétique Médicale ; (3) Cabinet de cardiologie Angoulême, France ; (4) Centre de référence de maladies rares ; (5) Clinique cardiologique, l'institut du thorax, CHU de Nantes, France

Long-QT syndrome (LQTS) is an inherited cardiac arrhythmia characterized by a prolonged QT interval on the surface ECG associated with syncope and sudden death from torsades de pointes polymorphic ventricular tachycardia. It is estimated to affect 1 in 5 000 individuals. LQTS may be caused by mutations in 4 major genes encoding K⁺ channels pore forming (*KCNQ1*, *KCNH2*) and auxiliary (*KCNE1*, *KCNE2*) subunits and in the gene encoding the cardiac specific Na⁺ channel *SCN5A*. Genetic testing for congenital LQTS has been performed in research laboratories for the past decade. Approximately 75 % of patients diagnosed with LQTS have mutations in one of five LQTS genes. Possible explanations for the remaining genotype-negative cases include LQTS mimickers, novel LQTS-causing genes, unexplored regions of the known genes, and genetic testing detection failures. The purpose of this study was to determine the relative copy number in the 5 major LQTS genes in a series of 100 mutation-negative LQTS probands. A multiplex ligation-dependent probe amplification (MLPA) approach was used using SALSA P114 MLPA kit (MRC Holland, Amsterdam, The Netherlands). Aberrant exon copy numbers were confirmed by Quantitative Multiplex PCR of Short Fluorescent Fragment (QMPSF). Array based CGH analysis was performed using Agilent Human Genome 244K Micro arrays to further map the genomic rearrangements. Whenever possible, familial investigation was performed to test segregation of the copy number variation. This study identified two large deletions in *KCNH2* gene in 2 probands. A *KCNH2* deletion spanning exon 4 to 14 was identified in a 20 years old symptomatic woman with QTc > 554 milliseconds. QMPSF analysis of exon 15 identified a deletion of the last *KCNH2* exon. CGH analysis identified a much larger genomic deletion of 650 Kb deletion including *KCNH2* exon 4 to 15 but also 19 additional genes downstream of *KCNH2* including the amiloride binding protein 1 gene (*ABP1*) and a cluster of genes encoding immunity-associated proteins (*GIMAPs*). Familial and clinical investigations identified 3 additional affected individuals with a *KCNH2* deletion. A second large deletion was identified in a second proband with a QTc = 478 milliseconds who experienced syncope after emotional stress. MLPA analysis identified the deletion from exon 1 to 14 and exon 15 QMPSF analysis confirmed full length deletion of *KCNH2* gene. Using Agilent array CGH 244 K, the size of the deletion was estimated to be 145 Kb. 5' breakpoint maps between *KCNH2* and *NOS3* genes intergenic region whereas 3' breakpoint maps after the *ABP1* gene. No familial investigation was possible since the proband was adopted. Both genomic deletions were not found in 100 controls and no deletions or duplications were identified in the *KCNQ1*, *KCNE1*, *KCNE2* or *SCN5A* genes. Both deletions are expected to be non functional thereby decreasing I_{Kr} current in ventricular cardiomyocytes suggesting haploinsufficiency as the most likely mechanism leading to LQTS in both probands and relatives. Further clinical investigations are currently underway to investigate for additional phenotypes in all patients. Despite a quit limited number of LQTS probands screened in this study, the identification of 2 large deletions in LQTS genes strongly suggests screening for copy number variant in mutation negative LQTS probands.

Mots-clés : cœur, arythmie, biologie moléculaire.

■P312 / 35. SEARCH FOR THE *RP25* GENE IN A CONSANGUINEOUS FAMILY WITH AUTOSOMAL RECESSIVE RETINITIS PIGMENTOSA

E. Lafont (1), A. Sénéchal (1), C. Barbezier (1), G. Humbert (1), D. Hillaire (1), C.P. Hamel (1)

(1) INSERM U583 INM, Hôpital Saint-Éloi, Montpellier

Retinitis Pigmentosa (RP) belongs to the group of pigmentary retinopathies and is the most common inherited retinal dystrophy. This disease is characterized by a progressive loss of vision, initially manifesting as night blindness and a reduction of the peripheral visual field. There are only 50-60 % of all cases of autosomal dominant RP and 30-60 % of all cases of autosomal recessive (ar) RP for which the gene is identified. To date 22 genes and loci have been implicated in arRP. We performed locus exclusion followed by a genome wide scan in a consanguineous Tunisian family with arRP comprising 31 members in six generations, among which 18 were affected. We found evidence of linkage on 6q (lod score at theta = 0 of 6.60 for D6S257 and of 6.35 for D6S1053) corresponding to the previously described *RP25* locus, and for which the gene remains to be identified. We then searched for the mutation in a 6.7-Mb interval. We have studied the 10 candidate genes located in this interval including *EGFL11*, since this gene is strongly expressed in the retina. No causative mutation was found. We are currently sequencing 17 LOC sequences. The discovery of new genes will provide perspectives to understand the pathophysiology of RP and to develop therapeutic approaches.

Mots-clés : candidate genes, *RP25*, genetic disease.

■P313 / 36. RECHERCHE DE MUTATIONS MITOCHONDRIALES CHEZ DES PATIENTS TUNISIENS ATTEINTS DU SYNDROME DE LEIGH

E. Mkaouer-Rebai (1), F. Kammoun (2), C. Triki (2), F. Fakhfakh (1)

(1) Laboratoire de Génétique Moléculaire Humaine, Faculté de Médecine de Sfax, Tunisia ; (2) Service de Neurologie, CHU Habib Bourguiba de Sfax, Tunisia

Le syndrome de Leigh est une maladie neurologique progressive caractérisée par des lésions neuropathologiques qui débute typiquement chez le nourrisson de moins d'un an mais il existe de rares cas de début tardif, jusqu'à l'âge adulte. Parmi les premiers signes de la maladie, on note souvent une régression psychomotrice, une hypotonie générale ou axiale, une régression des acquisitions motrices, et des vomissements. L'IRM montre des lésions du type hypersignaux en T2 des noyaux gris, en particulier des putamens et de la protubérance. Une rétinopathie, une atrophie optique et une surdité sont souvent présentes. Les causes du syndrome de Leigh sont multiples, mais dans tous les cas, ils impliquent un défaut de la production énergétique aérobie. Les gènes altérés responsables peuvent être d'origine mitochondriale ou nucléaire ; ils codent pour l'une des sous-unités du complexe de la pyruvate déshydrogénase ou des complexes respiratoires I ou II, ou encore pour une protéine intervenant dans l'assemblage du complexe V. Les mutations mitochondriales associées au syndrome de Leigh sont multiples et elles touchent essentiellement les gènes *ND3*, *ND4*, *ND4L*, *ND5*, *ND6*, l'*ATPase 6*, l'*ARNtLeu(UUR)*, l'*ARNtTrp* et l'*ARNtLys* mitochondriaux. L'étude a porté sur 15 patients Tunisiens présentant un tableau clinique évocateur d'un syndrome de Leigh. Le diagnostic a été basé sur des données neurologiques, radiologiques et biochimiques. La recherche de mutations mitochondriales associées à cette maladie a été effectuée par PCR-RFLP ou par séquençage automatique. Les résultats ont montré l'absence de toute mutation mitochondriale décrite dans le syndrome de Leigh dans les gènes testés. Cependant, nous avons détecté 58 polymorphismes connus au niveau des gènes de l'*ATPase 6*, *ND3*, *ND4L*, *ND4*, *ND5*, *ND6*. Tous ces 58 polymorphismes sont rapportés dans les bases de données de l'ADN mitochondrial. Nous avons aussi repéré 16 nouveaux polymorphismes et 2 nouvelles mutations responsables d'un changement d'acide aminé au niveau des gènes de NADH déshydrogénase 2 et de l'*ATPase 8*. Nous avons soumis toutes ces nouvelles variantes dans la base de données de l'ADN mitochondrial : www.mitomap.org. Elles peuvent être consultées en accédant à <http://www.mitomap.org/cgi-bin/mitomap/tbl15gen.pl> sous les références suivantes : #2007072403, #2007072404, #2007072406, #2007072407, #2007072408, #20070724010, #20070724011, #20070724012, #20070724013, #20070327005, #20070327006, #20070327008, #20070327009, #20070327010, #20070327011, #20070327012, #20070609002, #20070609003

La recherche par modélisation de l'effet des ces deux mutations est en cours.

Mots-clés : mutations mitochondriales, syndrome de Leigh, maladie mitochondriale.

■P314 / 40. FRÉQUENCE ÉLEVÉE DE MICRORÉARRANGEMENTS DE LA RÉGION AZFC DANS DEUX POPULATIONS INFERTILE ET NORMOZOOSPERMIQUE FRANÇAISES

V. Roze (1), J.L. Bresson (1, 2), F. Fellmann (3)

(1) EA MENRT 3185 Génétique et Reproduction, Faculté de Médecine et de Pharmacie ; (2) Service de Génétique, Histologie, BDR, CHU, place St-Jacques, 25030 Besançon, France ; (3) Service de génétique médicale, CHUV, 1011 Lausanne, Suisse

La région AZFc du bras long du chromosome Y est une des régions les moins stables du génome humain. Elle est composée de multiples palindromes entraînant différents types de réarrangements : délétions complètes ou partielles, duplications complètes ou partielles ou encore des événements de délétion/duplication. L'impact de ces réarrangements sur l'infertilité masculine est encore discuté. Les gènes les plus étudiés dans AZFc sont DAZ et CDY1 ; présents en 4 et 2 exemplaires respectivement. Nous avons recherché les microréarrangements d'AZFc dans 2 populations : 344 patients infertiles et 136 contrôles. Pour cela, l'analyse par PCR de marqueurs spécifiques d'AZFc, l'analyse de polymorphismes SNVs de DAZ et CDY1 ainsi que le dosage du nombre de copies de ces gènes par PCR quantitative « en temps réel » (Q-PCR) ont été réalisés. Tous les patients ont été haplotypés pour les polymorphismes YAP, 12f2 et 92R7 et les individus présentant un réarrangement d'AZFc également pour les polymorphismes Tat, M9 et SRY-4064, définissant 5 haplogroupes de l'Y : E, J, K(xN3, P), N3 et P et un paragroupe Y*(xD,E,J,K). Quarante-deux réarrangements (8,7 %) ont été identifiés représentant une fréquence élevée de recombinaisons, avec des fréquences de délétions et de duplications similaires dans les deux populations. L'analyse des polymorphismes SNVs de DAZ et CDY1 ainsi que le dosage du nombre de copies de CDY1 par Q-PCR nous ont permis de mieux caractériser ces réarrangements et leurs mécanismes. Les réarrangements complexes (délétion /duplication) ont été identifiés uniquement chez les patients infertiles, incluant deux de l'haplogroupe N3 et deux de l'haplogroupe J. Cette étude apporte des données complémentaires sur les réarrangements de la région AZFc et leurs potentiels impacts sur l'infertilité masculine.

Mots-clés : réarrangements chromosomiques, infertilité masculine, chromosome Y.

■P315 / 45. RECHERCHE DE MUTATIONS DANS LE GÈNE MECP2 CHEZ DES PATIENTS TUNISIENS ATTEINTS DU SYNDROME DE RETT

N. Fendri-Kriaa (1), Z. Abdelkafi (2), I. Ben Rebeh (2), F. Kammoun (1), C. Triki (1), F. Fakhfakh (2)

(1) Unité de Neuropédiatrie, CHU Habib Bourghiba de Sfax ; (2) Laboratoire de génétique moléculaire humaine, Faculté de Médecine de Sfax

Le syndrome de Rett (SR) est une maladie neurodégénérative chronique d'origine inconnue qui touche presque exclusivement les filles. Il est caractérisé par un retard psychomoteur apparaissant entre l'âge de 6 et 18 mois avec plusieurs critères de diagnostic dont la stéréotypie des mains est le signe le plus caractéristique. Il constitue l'une des causes les plus connues du retard mental chez les femmes avec une fréquence de 1/10 000 à 1/15 000. Les cas sont le plus souvent sporadiques. Ce syndrome de Rett est une maladie héréditaire liée au chromosome X qui se transmet selon un mode dominant. Elle est causée essentiellement par des mutations dans le gène MeCP2 (en Xq28) codant pour une protéine appelée Methyl-CpG-Binding Protein 2 (MeCP2). L'objectif de ce travail est de chercher les mutations et/ou les polymorphismes au niveau du gène MeCP2 chez deux patientes Tunisiennes (P1 et P2) atteintes du syndrome de Rett. Cette recherche a été réalisée par séquençage direct des 4 exons du gène et des séquences introniques flanquantes. Les résultats de séquençage ont montré l'absence de mutations et polymorphismes dans les régions explorées du gène chez la patiente P2. Cependant, la patiente P1 a montré la présence de la mutation faux sens R306C qui change l'acide aminé Arginine par une Cystéine. Cette mutation est une transition (916C>T) qui a été décrite comme la première mutation qui touche le domaine TRD (Transcription Repression Domain) de la protéine MeCP2. D'autre part, les résultats ont montré l'absence de cette mutation chez les parents de la patiente P1. Il s'agit donc d'une mutation de novo. En conclusion, cette première étude sur le syndrome de Rett en Tunisie a permis de confirmer l'implication du gène MeCP2 dans le syndrome de Rett. Une analyse des régions promotrices et non traduites du gène MeCP2 est prévue pour chercher la mutation chez la patiente P2.

Mots-clés : syndrome de Rett, MeCP2, mutation.

■P316 / 47. ALTÉRATIONS DU MÉTABOLISME DE L'ARNM DU GÈNE LAMA2 GÉNÉRANT UN DÉFICIT TOTAL EN LAMININE ALPHA 2 ET UNE ATTEINTE SÉVÈRE DE DYSTROPHIE MUSCULAIRE CONGÉNITALE

O. Siala (1, 2), N. Louhichi (1), C. Triki (3), M. Morinière (2), F. Fakhfakh (1)*, F. Baklouti (2)* ; * Les deux derniers auteurs doivent être considérés comme équivalents

(1) Laboratoire de Génétique Moléculaire Humaine, Faculté de Médecine de Sfax ; (2) Université Lyon 1, Lyon, F-69003, France ; CNRS, UMR5534, Centre de génétique moléculaire et cellulaire ; (3) Service de Neurologie, CHU Habib Bourguiba de Sfax

La Dystrophie Musculaire Congénitale (DMC) est une maladie neuromusculaire rare et hétérogène à transmission autosomique récessive. À une hétérogénéité clinique est associée une hétérogénéité génétique, donnant les différentes formes décrites. Cependant, toutes les formes montrent une faiblesse musculaire et une hypotonie générale dès la naissance ou dans les 6 mois qui la suivent, avec un taux de CPK élevé. Cinquante pourcent des cas atteints montrent un déficit total primaire en laminine alpha 2, causé par des mutations sur le gène LAMA2 (6q22), et donnant naissance à la forme MDC1A. Nous présentons dans ce travail une atteinte sévère et chevauchante de DMC chez une patiente ayant présenté une scoliose lombaire et des difficultés respiratoires, menant à son décès à l'âge de 10 ans. Une immunofluorescence réalisée sur des coupes de biopsie musculaire de la patiente ainsi que d'un témoin normal a été réalisée avec deux anticorps monoclonaux spécifiques de la laminine alpha 2. Une étude de liaison génétique a été réalisée utilisant des marqueurs microsatellites spécifiques des différentes formes décrites de DMC y compris la forme MDC1A. Le séquençage des 65 exons codants du gène LAMA2 ainsi que leurs jonctions introniques a été également effectué. Afin d'explorer l'impact des mutations retrouvées dans le gène LAMA2 sur le métabolisme de l'ARNm, une approche ex-vivo de construction de minigène suivie d'une transfection cellulaire transitoire de cellules Hela et de RT-PCR ont été requises. Les études de liaison génétique n'ont montré de liaison évidente à aucune des formes décrites de DMC. Cependant, la déficience totale en laminine alpha 2 retrouvée chez la patiente était en faveur de son atteinte par la forme MDC1A. Le séquençage des 65 exons du gène LAMA2 ainsi que leurs jonctions introniques a révélé que la patiente est hétérozygote composite pour deux nouvelles mutations : la première, héritée du côté maternel, est une délétion frameshift sur l'exon 57 (8007delT) générant un codon stop. La deuxième est une mutation de novo consistant en une délétion de 7 pb dans l'intron 17 (c.2450+5_c.2450+11del). Les résultats de l'étude fonctionnelle par RT-PCR a montré que la mutation (c.2450+5_c.2450+11del) entraîne un skipping total de l'exon 17. Les résultats de l'immunofluorescence ainsi que ceux de l'approche fonctionnelle suggèrent que les deux mutations sont en trans, générant des ARNm non-sens qui sont potentiellement cibles à la dégradation par NMD (nonsense mRNA mediated decay). L'ensemble de ces résultats montrent que la mutation (c.2450+5_c.2450+11del) altère le métabolisme de l'ARNm du gène LAMA2 malgré sa présence hors des dinucléotides consensus des sites 5' et 3' d'épissage (5'ss et 3'ss). En effet, cette délétion de 7pb altère l'extrémité 3' du consensus d'épissage en 5' qui semble être cruciale dans le recrutement de la protéine U6snRNP. L'emplacement des U1snRNA et U6snRNA au 5'ss est nécessaire pour activer le spliceosome, en apportant le site catalytique dans la région proche du 5'ss.

Mots-clés : dystrophie musculaire congénitale, exon skipping, non-sens mRNA mediated decay.

■P317 / 48. CORRÉLATION PHÉNOTYPE-GÉNOTYPE DANS LE DÉFICIT HÉRÉDITAIRE EN PYRUVATE CARBOXYLASE

S. Monnot (1, 2), V. Serre (1), B. Chadeaux (3), S. Romano (4), P. de Lonlay (4), J. Aupetit (3), V. Paquis (2), A. Munnich (1), J.-P. Bonnefont (1)

(1) Service de génétique médicale, hôpital Necker-Enfants Malades, Paris ; (2) Service de génétique médicale, hôpital l'Archet 2, Nice ; (3) Service de biochimie métabolique, hôpital Necker-Enfants Malades, Paris ; (4) Service de maladies métaboliques pédiatriques, hôpital Necker-Enfants Malades, Paris

Le déficit primaire en pyruvate carboxylase (PC) (non biotine-sensible), enzyme catalysant la première étape de la néoglucogénèse, est une anomalie génétique rare de transmission autosomique récessive. Trois phénotypes ont été décrits selon la sévérité de l'expression clinique. Seulement 6 mutations du gène codant pour la PC ont été rapportées à ce jour. Parmi les quatre patients de la présente étude, trois enfants d'origine caucasienne (patients 1, 3, 4) présentaient la forme la plus sévère, dite forme « française », de la maladie. Deux sont décédés dans la première semaine de vie et le troisième à l'âge de 7 mois, dans un contexte d'acidose lactique



majeure. La dernière patiente, issue d'un couple consanguin originaire d'Arabie Saoudite (patiente 2) présentait à l'âge de 2 ans un retard de développement psychomoteur et des épisodes récurrents d'acidose lactique (forme dite « américaine »). L'activité de la PC était indétectable dans les fibroblastes de tous les patients. Le séquençage direct des 23 exons du gène codant pour la PC a permis d'identifier 6 nouveaux variants, i) l'un à l'état homozygote chez la patiente 2 (forme américaine), à savoir c.467G>A (exon 3, p.Arg156Gln), et ii) les 5 autres en situation d'hétérozygotie composite, à savoir c.911A>G (exon 7, p.Tyr304Cys) et IVS7-1G>T (intron 7, anomalie d'épissage) chez le patient 1, c.1748G>T (exon 12, p.Arg583Leu) et c.2876dupT (exon 17, stop prématuré) chez le patient 3, et c.3392_3400del9nt (exon 20, stop prématuré) pour le patient 4 (deuxième mutation non identifiée). Les arguments suggérant la responsabilité des variants de séquence identifiés vis-à-vis du phénotype clinique sont i) pour la délétion, la prédiction d'un décalage du cadre avec survenue d'un codon stop prématuré, ii) pour l'anomalie d'épissage et la duplication, la mise en évidence d'un phénomène de « RNA decay » après séquençage du cDNA, iii) pour les mutations « faux-sens », 1/ leur absence sur 100 chromosomes témoins, 2/ leur localisation dans des domaines protéiques très conservés, 3/ la prédiction des effets de ces mutations sur la conformation de la protéine après modélisation *in silico*, fondée sur les similarités de la PC humaine (non cristallisée) avec la sous-unité biotine carboxylase de la PC d'*Aquifex aeolicus* et avec la transcarboxylase de *Propionibacterium shermanii*, dont la structure tridimensionnelle est connue. Ces données, jointes à celles (rares) de la littérature, suggèrent que les mutations tronquantes sont plus fréquemment associées à la forme « française » de la maladie, alors que les mutations faux-sens prédomineraient dans la forme « américaine ».

Mots-clés : pyruvate carboxylase, corrélation génotype-phénotype, analyse mutationnelle.

■P318 / 55. LES MUTATIONS DANS LE GÈNE *TCF8* ENTRAÎNENT UNE EXPRESSION ECTOPIQUE DE LA E-CADHÉRINE AU COURS DE LA DYSTROPHIE POSTÉRIEURE POLYMORPHE DE LA CORNÉE

S. Valleix (1), B. Nedelec (1), C.M. Bera (1), F. Niel (1), B. Kantelip (2), B. Delbosc (3), M. Muraine (4), G. Renard (5), M. Delpech (1)
(1) Service de Biochimie et Génétique Moléculaire et U567-CHU Cochin de Paris ; (2) Service d'Anatomie Pathologique-CHU Besançon ; (3) Service d'Ophtalmologie-CHU Besançon ; (4) Service d'Ophtalmologie-CHU Rouen ; (5) Service d'Ophtalmologie-CHU Hôtel-Dieu de Paris

La dystrophie postérieure polymorphe de la cornée (PPCD) est une dystrophie héréditaire autosomique dominante qui affecte l'endothélium et la membrane de Descemet de la cornée. Au cours de cette maladie, les cellules endothéliales de la cornée, qui normalement forment une monocouche de cellules hexagonales amitotiques, subissent une transformation épithéliale avec changement morphologique, prolifération et élaboration d'une membrane basale anormale. Récemment, le gène *TCF8* (GeneBank accession number NM_030751) s'est révélé être un des gènes impliqués dans cette pathologie. *TCF8* est un répresseur majeur de la transcription de nombreux gènes dont certains codent pour des collagènes et des molécules impliquées dans les jonctions intercellulaires, notamment la E-cadherine. Les souris invalidées pour ce gène présentent de nombreuses anomalies du squelette, des anomalies des cellules T et meurent peu après la naissance montrant que *TCF8* joue un rôle majeur au cours du développement embryonnaire. Parallèlement, *TCF8* s'est révélé être crucial dans les mécanismes moléculaires impliqués dans la transition épithélio-mésenchymateuse (EMT), mécanisme mis en jeu dans de nombreux processus de développement pour la mise en place des tissus, mais également anormalement réactivé dans la progression tumorale. Nous présentons l'étude de 5 familles atteintes de PPCD chez lesquelles nous avons identifié des mutations nouvelles du gène *TCF8*. Dans 2 familles, nous rapportons également des manifestations extraoculaires qui récapitulent en partie le phénotype des souris invalidées pour *tcf8*. De plus, à partir de spécimens de cornée pathologiques obtenus lors de greffes de cornée de ces patients atteints de PPCD nous avons mené une étude histologique en microscopie optique, en microscopie électronique ainsi qu'une étude immunohistochimique. Nous montrons que chez ces patients mutés dans *TCF8*, les cellules endothéliales ont acquis un phénotype épithélial exprimant anormalement des cytokératines et qu'elles ont également anormalement proliféré. De plus, ces cellules endothéliales pathologiques ont élaboré une membrane de Descemet anormale suggérant que la pathologie a débuté avant la 12^e semaine de gestation. En microscopie électronique ce phénotype épithélial des cellules endothéliales pathologiques s'accompagne de l'apparition anormale de jonctions cellulaires de type desmosomes et jonctions adhérentes. Sur le plan moléculaire, nous avons mis en évidence pour la 1^{re} fois que ces

cellules endothéliales pathologiques ayant un gène *TCF8* muté expriment anormalement la E-cadherine. Au cours de cette étude, nous avons également découvert que les patients mutés dans *TCF8* présentent également une pathologie de l'épithélium cornéen.

Mots-clés : dystrophie cornéenne héréditaire, gène *TCF8*, E-cadherine.

■P319 / 61. MUTATION MONOALLÉLIQUE DU GÈNE *BUB1B* DANS UN CAS FAMILIAL DE MVA/PCS

E. Bohers (1), A. Moncla (2), R. Sesbotté (1), N. Philip (2), T. Frebourg (1)

(1) Inserm U614, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Institut Hospitalo-Universitaire de Recherche Biomédicale de Rouen ; (2) Département de Génétique Médical Hôpital des Enfants de la Timone, Marseille

Le point de contrôle du fuseau mitotique est un mécanisme de surveillance essentiel permettant de maintenir un nombre correct de chromosomes au cours du cycle cellulaire. L'une des protéines majeures de ce point de contrôle est la kinase BUBR1 (codée par le gène *BUB1b*). Récemment, des mutations bi-alléliques du gène *BUB1b* ainsi que des mutations hétérozygotes associées à un variant spécifique en trans ont été identifiées dans le cadre du syndrome MVA (mosaic variegated aneuploidy). Le syndrome MVA, dont la transmission est considérée comme autosomique récessive, est caractérisée par des aneuploïdies constitutionnelles en mosaïque associées à un retard sévère de croissance intra-utérine, une microcéphalie, une prédisposition aux cancers et, dans la plupart des cas, à une séparation prématurée des chromatides (PCS). Nous avons réalisé une analyse extensive du locus *BUB1b* dans le cadre d'une récurrence de syndrome MVA avec PCS au sein de la même fratrie. Le premier fœtus présentait une microcéphalie avec une malformation de Dandy-Walker et le caryotype sur liquide amniotique a mis en évidence des aneuploïdies multiples en mosaïque dans 72 % des cellules. La surveillance échographique de la seconde grossesse a révélé une microcéphalie, une anomalie de la fosse postérieure et retard de croissance et le caryotype a objectivé des aneuploïdies multiples dans 71 % des cellules, confirmant la récurrence de MVA. Des images typiques de PCS ont pu être détectées dans 21 % des cellules fœtales et l'évaluation retrospective du liquide amniotique de la première grossesse a confirmé la PCS dans 33 % des cellules. Le criblage de la séquence codante du gène *BUB1b*, réalisé chez les 2 fœtus n'a permis de mettre en évidence chez les 2 fœtus qu'une seule mutation hétérozygote délétère touchant le site canonique donneur d'épissage de l'exon 7 (c.968+1G>A). Une QMPSF explorant les 23 exons de *BUB1b* a exclu l'existence d'un remaniement génomique hétérozygote. Ne disposant pas de l'ADN des parents, nous avons mis au point une PCR quantitative des deux marqueurs 26020GT/rs35585912 et D15S994 localisés respectivement à 54 kb en amont et 69 kb en aval du gène *BUB1b*. Cette analyse a révélé que les deux fœtus ne partageaient en fait qu'un seul allèle de *BUB1b*. Ainsi, ces résultats suggèrent que le déterminisme génétique du syndrome MVA est probablement complexe : autosomique récessif dans certaines familles, résultant de l'association d'une mutation nulle et d'un variant hypomorphe dans d'autres, il pourrait être même oligogénique. Cette hétérogénéité pourrait s'expliquer par la biologie de la protéine BUBR1 qui, comme toutes les protéines impliquées dans le fuseau mitotique, est particulièrement sensible au dosage.

Mots-clés : MVA, *BUB1b*, hétérogénéité génétique.

■P320 / 62. ÉTUDE FONCTIONNELLE DES CELLULES ENDOTHÉLIALES PROVENANT DU FOIE DE PATIENTS ATTEINTS DE MALADIE DE RENDU-OSLER

G. Lesca (1, 2), B. Bancel (1, 3), O. Boillot (4), S. Giraud (2), M.-F. Bourgeade (5), H. Plauchu (6), C. Trépo (1), M.-J. Marion (1)

(1) Inserm U871, Lyon ; (2) Laboratoire de génétique, Hôpital Édouard-Herriot, Hospices Civils de Lyon ; (3) Laboratoire d'anatomie pathologique, Hôpital de la Croix-Rousse, Hospices Civils de Lyon ; (4) Fédération des spécialités digestives, Hôpital Édouard Herriot, Hospices Civils de Lyon ; (5) Inserm U542, Hôpital Paul-Brousse, Villejuif ; (6) Service de génétique, Hôpital-Dieu, Hospices Civils de Lyon

La maladie de Rendu-Osler ou HHT (hereditary hemorrhagic telangiectasia) est une maladie vasculaire autosomique dominante dont la prévalence dépasse 1/8 000. Elle est caractérisée par des malformations artérioveineuses et s'exprime le plus souvent par des épistaxis spontanées et répétées et des tégangiectasies cutanéo-muqueuses. Le pronostic de la maladie est surtout déterminé par la survenue de complications pulmonaires, hépatiques, intestinales ou cérébrospinales. La HHT est principalement causée par les mutations germinales des gènes *ENG* et *ACVRL1*, codant respectivement pour l'endogline et ALK1, qui sont des récepteurs appartenant à la superfamille du TGF-beta. Il est généralement admis que les mutations produisent une haploinsuffisance. Les

atteintes hépatiques sont plus fréquentes chez les patients porteurs d'une mutation du gène *ACVRL1*. Elles ont longtemps été sous-estimées et, si elles demeurent silencieuses durant plusieurs décennies, elles peuvent être à l'origine d'une insuffisance cardiaque ou d'une cholangite ischémique nécessitant le recours à une transplantation orthotopique. Bien que ces lésions hépatiques soient dépistées de plus en plus précocement, leur histoire naturelle est encore très mal connue. Les cellules endothéliales pourraient jouer un rôle clé dans leur initiation et leur progression. Le but de notre travail était d'étudier les conséquences des mutations germinales au niveau des cellules provenant du foie explanté de quatre patients ayant bénéficié d'une transplantation orthotopique et porteurs de mutations différentes du gène *ACVRL1*. Nous avons pu isoler des cellules endothéliales et des myofibroblastes que nous avons caractérisées d'après leur morphologie et l'expression de marqueurs spécifiques en immunofluorescence et en RT-PCR. Nous avons recherché l'existence d'une mutation sur le deuxième allèle ou une perte d'hétérozygotie par QMPSF. Nous avons effectué plusieurs tests fonctionnels classiques de l'angiogénèse : test de prolifération et de synthèse d'ADN, test de blessure, test de tubulogénèse sur Matrigel. Nous avons étudié l'expression d'endogline, d'ALK1 et des Smad1 et 2 en western blot et en immunofluorescence. Nous avons également étudié la sécrétion de TGF-beta actif par les cellules endothéliales et les myofibroblastes. Nos résultats montrent que les cellules endothéliales des patients ont une morphologie normale et ne présentent pas d'anomalie majeure de prolifération, de migration ou de capacité à former des structures tubulaires sur Matrigel. On ne retrouve pas de mutation sur le deuxième allèle. Le taux normal d'expression d'ALK1 en western blot n'est pas en faveur d'une haploinsuffisance. Il existe une sécrétion de TGF-beta actif, tant par les cellules endothéliales que par les myofibroblastes des patients, qui n'est pas observée chez les témoins. En conclusion, les cellules endothéliales provenant du foie de patients HHT ne présentent pas d'altération morphologique et fonctionnelle majeure, *in vitro*, et en particulier en ce qui concerne les voies de signalisation du TGF-beta. Nos résultats suggèrent que les lésions vasculaires de la maladie résulteraient de perturbations des relations entre les cellules endothéliales et leur environnement tissulaire, débutant dès la période embryonnaire.

Mots-clés : rendu-Osler, cellule endothéliale, *ACVRL1*.

■P321 / 68. IMPLICATION D'UNE DÉLÉTION DU PROMOTEUR DE *SLC39A4* DANS L'ACRODERMATITE ENTÉROPATHIQUE

S. Schmitt (1), M. Giraud (1), C. Scoul (2), J. Morissard (3), S. Kürty (2), S. Bezieau (1, 2)

(1) Service de Génétique Médicale-CHU Nantes ; (2) Laboratoire d'étude du polymorphisme de l'ADN (LEPA)-Faculté de médecine de Nantes ; (3) INSERM U533-Nantes

L'acrodermatite entéropathique (AE) est une maladie génétique autosomique récessive rare due à des mutations dans le gène *SLC39A4* (8q24.3) codant pour un transporteur du zinc exprimé majoritairement au niveau duodénal, jejunal et rénal. Il s'agit d'une affection liée à un déficit du zinc caractérisé sur le plan clinique par une dermatite acrale et péri-orificielle, une diarrhée et une alopécie généralisée. Le séquençage direct du gène permet l'identification d'une anomalie moléculaire dans environ 80 % des cas. Afin d'augmenter le taux de détection des mutations, la recherche de grands réarrangements a été développée par QMPSF au sein du laboratoire et a permis l'identification d'une délétion de 1.9 kb située 3 kb en amont du promoteur. L'analyse in-silico a permis la mise en évidence de 7 éléments MRE (Metal Response Elements) dans cette région. Ces motifs sont impliqués dans la régulation de l'expression des gènes ce qui suggère un rôle potentiel dans le mécanisme moléculaire de l'AE. Parmi notre cohorte de 42 cas index, cette délétion est retrouvée à l'état homozygote avec une fréquence allélique de 7.1 % contre 0.36 % dans une population de 275 témoins et avec une fréquence de 5.95 % à l'état hétérozygote contre 4.9 % pour les témoins. Pour les patients AE présentant la délétion à l'état homozygote, un variant c.192+19G>A est retrouvé systématiquement en déséquilibre de liaison à la différence de la population témoin déléetée. En conclusion, la délétion du promoteur observée chez les patients atteints d'AE correspondrait à un polymorphisme associé à la mutation c.192+19G>A. Des études complémentaires de ségrégation dans les familles AE et le dosage du zinc plasmatique chez les hétérozygotes permettrait de statuer sur un éventuel rôle modulateur de cette délétion dans l'absorption du zinc.

Mots-clés : acrodermatite entéropathique, *SLC39A4*, délétion.

■P322 / 70. EFFETS FONDATEURS RÉGIONAUX POUR LA MALADIE DE RENDU-OSLER LIÉE AUX MUTATIONS DU GÈNE *ACVRL1* CHEZ LES PATIENTS FRANÇAIS ET ITALIENS

G. Lesca (1), E. Genin (2), C. Blachier (1), C. Olivieri (3), F. Coulet (4), G. Brunet (5), S. Dupuis-Girod (6), E. Buscarini (7), F. Soubrier (4), A. Calender (1), C. Danesino (3), S. Giraud (1), H. Plauchu (6)

(1) Laboratoire de Génétique, Hôpital Édouard-Herriot, Hospices Civils de Lyon ; (2) INSERM U535, Villejuif ; (3) Genetica Medica, Università di Pavia et Fondazione IRCCS S. Matteo, Pavia ; (4) Laboratoire d'Onco-génétique et d'Angiogénétique Moléculaire, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris ; (5) Centre d'Études Démographiques, Université Lumière Lyon 2 ; (6) Service de Génétique, Hôtel-Dieu, Hospices Civils de Lyon ; (7) Gastroenterologia ed Endoscopia Digestiva, Ospedale Maggiore, Crema

La maladie de Rendu-Osler est une maladie autosomique dominante caractérisée par des malformations artérioveineuses. Elle est principalement causée par les mutations germinales de deux gènes, *ENG* et *ACVRL1*. Il y a une vingtaine d'années, une étude épidémiologique effectuée en France a montré que la prévalence de la maladie était largement sous évaluée (actuellement considérée comme supérieure à 1/8 000) et qu'elle pouvait beaucoup varier d'une région à l'autre. Deux concentrations de patients ressortaient de façon évidente : la première était située dans la région du Haut-Jura et la deuxième, de moindre importance, dans le département des Deux-Sèvres. Bien que les mutations associées à la maladie de Rendu-Osler soient majoritairement des mutations privées, certaines d'entre elles ont été rapportées à plusieurs reprises, parfois dans des pays différents, surtout dans le cas du gène *ACVRL1*. Nous avons étudié les haplotypes de 116 patients vivant en France ou dans le Nord de l'Italie et porteurs de 13 mutations différentes du gène *ACVRL1*, à l'aide de 10 microsatellites couvrant une région de 20 mégabases. Pour cinq mutations, nous avons pu estimer l'âge de l'ancêtre commun le plus récent à l'aide du programme ESTIAGE. Nous avons également mis en relation nos données génétiques avec les données de l'étude épidémiologique antérieure. Nos résultats montrent que la plupart des mutations étudiées résultent vraisemblablement à la fois d'événements mutationnels indépendants et d'un effet fondateur. L'âge de l'ancêtre commun le plus récent variait entre 100 et 550 ans, selon la mutation. La mutation c.1112dupG, qui a été exclusivement rapportée chez des patients d'origine française, est responsable de la grande concentration de familles qui a été mise en évidence dans les montagnes du Haut-Jura au cours de l'étude épidémiologique. Cette mutation serait survenue chez un habitant de la vallée de la Valsérine il y a environ 325 ans puis sa fréquence s'y serait accrue du fait de la dérive génétique. À partir de la fin du XIX^e siècle et au cours du XX^e siècle, elle s'est répandue dans la région environnante, particulièrement dans les centres urbains locaux et régionaux. De façon originale, cette mutation constitue donc un marqueur biologique de la migration d'une population rurale. Inversement, la mutation p.Arg374Gln est survenue indépendamment dans plusieurs aires géographiques différentes. Dans le cas de l'haplotype porté par les familles du département des Deux-Sèvres, l'âge de l'ancêtre commun le plus récent a été estimé à environ 100 ans (4 générations) ce qui est compatible avec une distribution des familles plus concentrée que dans le cas du Haut-Jura. Parmi les 5 mutations communes aux patients français et italiens, deux d'entre elles étaient associées à des haplotypes différents. Pour les 3 autres, et en particulier dans le cas de la mutation p.Arg144X, certains patients des deux pays partageaient un haplotype commun plus ou moins étendu. Compte tenu de l'histoire des migrations récentes, il est vraisemblable que certaines de ces mutations soient survenues chez un ancêtre commun vivant en Italie, puis aient été introduites en France ultérieurement par certains de ses descendants.

Mots-clés : *ACVRL1*, Rendu-Osler, effet fondateur.

■P323 / 73. IDENTIFICATION DE GRANDS REMANIEMENTS DANS LE GÈNE *MVK* PAR QF-PCR

S. Soler, C. Rittore, L. Philibert, S. Grandemange et I. Touitou
Unité médicale des maladies auto-inflammatoires, CHU A.-de-Villeneuve Montpellier

Le déficit en mévalonate kinase (MKD) est une maladie auto-inflammatoire héréditaire caractérisée par des épisodes récurrents de fièvre et d'inflammation. Des mutations dans le gène codant la mévalonate kinase (*MVK*) sont responsables de MKD. Actuellement, nous utilisons dans notre laboratoire, des techniques classiques nous permettant de détecter uniquement des mutations ponctuelles. Il nous a paru intéressant de développer pour ce gène, une technique identifiant de plus larges réarrangements tels que des délétions ou des duplications d'exons. C'est pourquoi, nous avons mis au point la technique de Quantitative Fluorescent-PCR (QF-PCR) pour l'étude de l'ensemble des 10 exons du gène *MVK* en adaptant la technique décrite par Casilli *et al.* L'analyse par QF-PCR d'une cohorte de 51 témoins, a permis de détecter pour 20 d'entre eux, une duplication de l'exon 11 qui semble être un polymorphisme de nombre de copie (copy number polymorphism, CNP). Cette technique de PCR multiplex, sensible et reproductible, va être utilisée afin d'identifier de possibles grands remaniements chez certains patients, dont le diagnostic clinique MKD a été confirmé, alors qu'aucune mutation ponctuelle du gène n'a été trouvée.

Mots-clés : mévalonate kinase, QF-PCR, PCR multiplex.



■P324 / 75. HYPERGLYCINÉMIE SANS CÉTOSE : APPORT DE LA MLPA À L'IDENTIFICATION DES DÉLÉTIONS DANS LE GÈNE *GLDC*

C. Acquaviva, M.-O. Rolland, S. Ruet, I. Maire, R. Froissart
Service des Maladies Héritaires du Métabolisme, Centre de Biologie Est, Hospices Civils de Lyon, 59 Bd Pinel, 69500 Bron

Introduction : L'hyperglycinémie sans cétose (NKH), transmise selon le mode autosomique récessif, est due à un déficit de l'un des quatre composants du complexe clivant la glycine (CCG). La forme la plus classique débute en période néonatale et son pronostic est sévère. Le diagnostic biochimique repose sur la mise en évidence d'une élévation majeure et isolée de la glycine à la fois dans le sang et le LCR. Le diagnostic est confirmé par la mise en évidence du déficit enzymatique dans une biopsie de foie. Il doit être complété par l'identification de mutations dans un des gènes codant les protéines du CCG. Parmi ces protéines, la protéine P codée par le gène *GLDC*, est déficiente dans plus de 80 % des cas de NKH. Le gène *GLDC* localisé sur le chromosome 9 (en 9p24) comprend 25 exons. La plupart des mutations identifiées sont privées. Matériel et méthodes : L'étude mutationnelle du gène *GLDC* a été réalisée en première intention par séquençage direct des exons et des jonctions intron-exon chez 56 patients. Dans certains cas, la recherche de délétion a ensuite été effectuée en utilisant le kit MLPA (Multiplex Ligation dependent Probe Amplification) (Salsa MLPA kit P209 *GLDC*, MRC-Holland). Résultats et discussion : L'étude de première intention a permis de déterminer le génotype complet de 43 patients : 38 avec des altérations de petite taille et 5 avec une délétion d'un ou plusieurs exons à l'état homozygote. Pour les 11 patients restants, 1 seul allèle a été identifié. L'utilisation de la technique MLPA a alors permis de compléter le génotype de ces patients par la mise en évidence de délétions de taille variable (emportant 1 à 25 exons) à l'état hétérozygote. Cette technique a d'autre part confirmé la présence des 5 délétions à l'état homozygote. Au total, le génotype complet a donc été établi pour tous les patients. Des délétions de taille variable dans le gène *GLDC* ont été identifiées chez 16 patients soit une fréquence allélique de 19 %. Conclusion : Ce travail confirme la fréquence importante des délétions dans le gène *GLDC* et l'intérêt de l'utilisation de la MLPA pour leur identification. Le diagnostic prénatal de l'hyperglycinémie sans cétose par la technique enzymatique étant souvent d'interprétation délicate, il est indispensable d'avoir les outils pour identifier les mutations des patients et de pouvoir ainsi proposer un diagnostic prénatal fiable aux couples à risque.

Mots-clés : NKH, délétions, autosomique récessif.

■P325 / 77. DÉTECTION DE MICRODUPLICATIONS PAR MLPA CHEZ DES SUJETS TUNISIENS PRÉSENTANT UN RETARD MENTAL INEXPLIQUÉ

L. Hila (1), H. Tebourbi (1), L. Ben Jemaa (2), F. Maazoul (2), R. M'rad, H. Chaabouni (2)

(1) laboratoire de génétique humaine-Faculté de médecine-tunis ; (2) Service des maladies congénitales et héréditaires-EPS Charles Nicole-Tunis

Introduction : La prévalence du retard mental dans la population générale est estimée à 3 %. Des anomalies chromosomiques sont retrouvées dans environ 10 % des cas et constituent la première cause génétique du retard mental. Cependant pour 60 % des patients aucune étiologie n'est retrouvée. Grâce à la cytogénétique moléculaire il a été démontré qu'environ 5 % des retards mentaux sont dus à des remaniements cryptiques. Matériel et méthodes : Nous avons testé 25 sujets tunisiens présentant un retard mental idiopathique avec signes dysmorphiques et 8 témoins avec deux kits commerciaux P036B – P070 (MRC-Holland.Amsterdam.Netherlands). Les critères d'inclusion ont été un retard mental inexplicable, un caryotype normal à un ordre de résolution de 500 bandes et l'exclusion du diagnostic du syndrome X Fragile. Résultats : Les résultats ont été interprétés par comparaison à des témoins normaux et/ou présentant une anomalie connue. L'analyse des données a été basée sur le calcul du rapport de la hauteur/aire d'un pic donné, divisée par la somme des hauteurs/aires de tous les pics pour un individu sur la hauteur/aire du même pic, divisée par la somme des hauteurs/aires de tous les pics du témoin. Nous avons mis en évidence des anomalies à type de duplications pures avec 5 cas de dup 4q et deux duplications dup 15q plus dup Xq retrouvées chez trois sœurs. Discussion : L'existence de séquences recombinogènes localisées aux frontières des remaniements et en rapport avec des recombinaisons homologues non alléliques est connue. Ce mécanisme devrait être à l'origine aussi bien de délétions que de duplications. Cependant peu de syndromes microduplicationnels sont connus à ce jour. Cette différence semble être due à un biais technique, en effet, la variabilité phénotypique des remaniements cryptiques et en particulier des duplications nécessite un criblage

indépendant de la symptomatologie clinique. La MLPA (Multiplex Ligation – dependent Probe Amplification) est une technique récente pour l'exploration des extrémités télomériques, riches en séquences répétées, à la recherche de variations du nombre de copies au niveau de ces régions. Elle présente l'avantage de détecter les délétions et duplications partielles qui ne peuvent être décelées par la technique de FISH. Conclusion : La technique MLPA est une technique efficace, simple, rapide, à coût faible et pertinente pour un premier screening des remaniements télomériques.

Mots-clés : MLPA, retard mental, remaniement télomérique.

■P326 / 78. LA DYNAMIQUE MOLÉCULAIRE : UN OUTIL POUR L'INTERPRÉTATION DES CONSÉQUENCES DES MUTATIONS

E. Cadet (1), C. Cézard (2), K. Foulon (1), F.Y. Dupradeau (2), J. Rochette (1, 2)

(1) Laboratoire de Génétique & INSERM 0351, CHU Amiens, France 2, UPJV, UFR-Pôle Santé Amiens

Introduction : Dans le génome des eucaryotes supérieurs, le taux de mutations est estimé à environ 8.5×10^{-9} par génération. Le taux de mutations délétères est mathématiquement dérivé du taux de mutations précédent et il est estimé à 1.2 par génome haploïde et par génération (Hague-Liautard *et al.*, 2007). Un nombre important de mutations est donc sans effet notable. Les conséquences fonctionnelles des mutations dépendent uniquement de leur nature et de leur localisation. Lorsqu'il s'agit de mutations présentes dans les séquences codantes, l'effet sur la protéine n'est pas nécessairement évident, même lorsqu'il existe une nouvelle différence de charge, de taille ou de polarité. Des effets de compensation par de nouvelles interactions peuvent conserver les structures, si ce n'est tout à fait intactes, au moins suffisantes pour ne pas entraîner de conséquences pathologiques notables (Dupradeau *et al.*, 2000). Matériel et Méthodes : En l'absence de tests fonctionnels parfois difficiles à réaliser, il existe une alternative de plus en plus utilisée : la modélisation moléculaire. Trois principaux outils existent à l'heure actuelle : i) la modélisation par homologie (logiciel What if), ii) la modélisation en solvant implicite (logiciel Amber 8), iii) la modélisation en solvant explicite (autres programmes Amber). Nous avons utilisé les deux premières techniques dans le but d'interpréter un certain nombre de mutations déjà décrites ou nouvelles, liées à des gènes impliqués dans l'hémochromatose. Leurs applications sont décrites. Résultats : La modélisation par homologie, simple et rapide donne des résultats statiques et très approximatifs. Cette technique est exemplifiée par la construction de modèles originaux mutés du gène *HFE* (Hémochromatose de type 1, mutation Q283P, C282Y) et de celui qui code la ferroportine (G490D). Nous en soulignons les limites. Les deux dernières techniques beaucoup plus résolutive donnent des résultats dynamiques et permettent par exemple d'illustrer les conséquences des mutations non seulement sur les structures 3D mais aussi renseignent sur les interactions avec un ligand. En particulier, nous montrons que notre stratégie permet de renseigner sur l'interprétation des conséquences de deux mutations en cis, traitées séparément et conjointement (*HFE*: Gly43Asp+His63Asp) par rapport à la structure sauvage. Cet allèle complexe a été découvert, hérité avec le second allèle porteur de la mutation Cys282Tyr. Nous montrons également les conséquences de mutations du gène *HFE* sur les interactions avec le récepteur 1 de la transferrine (TfR1). Nous avons ainsi mis en évidence le rôle crucial du résidu G43 dans une interaction avec le récepteur de la transferrine. Sa substitution par un aspartate entraîne la perte de flexibilité d'une boucle liant le domaine alpha-1 au domaine alpha-2 de la protéine *HFE* interagissant avec TfR1. Nous démontrons l'absence d'effet de la mutation His63Asp sur la structure 3D de la protéine *HFE* et l'absence de conséquence dans sa liaison avec le TfR1 (Dupradeau *et al.* sous presse). Conclusion : L'innocuité de la mutation His63Asp est une indication pour le séquençage de la totalité du gène *HFE* chez les homozygotes His63Asp surchargés en fer, voire chez certains C282Y/H63D dont le phénotype de présentation de la surcharge en fer est le même que celui des patients Cys282Tyr homozygotes. La recherche de mutations dans d'autres gènes impliqués dans le métabolisme du fer peut être aussi envisagé dans ces cas précis. Notre approche de modélisation moléculaire constitue une aide à la décision du séquençage, elle peut bénéficier à de nombreux généticiens, la seule limite étant la puissance des outils de calcul disponibles dans les laboratoires.

Mots-clés : Mutation, modélisation moléculaire, hémochromatose.

■P327 / 79. CONSÉQUENCES MOLÉCULAIRES D'UNE DÉLÉTION INTRONIQUE DU GÈNE *WNK1* RESPONSABLE D'HYPERTENSION HYPERKALIEMIQUE FAMILIALE (HHF) : MISE EN ÉVIDENCE D'ÉLÉMENTS RÉGULATEURS

E. Elvira-Matelot, C. Delaloy, A.M. Houot, X. Jeunemaitre, J. Hadchouel
Unité INSERM U772, Collège de France

L'étude génétique de l'HHF, une forme rare autosomique dominante d'hypertension artérielle, a révélé un nouveau mécanisme de régulation de la pression artérielle grâce à l'identification des gènes *WNK1* et *WNK4* (With No lysine (K) kinase 1 et 4). Ces kinases, exprimées notamment dans le tubule distal rénal, jouent un rôle complexe dans la régulation du transport ionique (Na⁺, K⁺, Cl⁻). Le gène *WNK1* est à l'origine de plusieurs isoformes : des isoformes longues (L-WNK1) ubiquitaires issues de deux promoteurs proximaux P1 et P2, et des isoformes courtes rénales (KS-WNK1), issues d'un promoteur rénal rP. Les mutations observées dans l'HHF sont de larges délétions au niveau de l'intron 1, et des résultats préliminaires du laboratoire montrent que cette délétion a pour conséquences une surexpression généralisée de L- et de KS-WNK1 ainsi qu'une expression ectopique généralisée de KS-WNK1. Ces données suggèrent la présence dans l'intron 1 d'un ou plusieurs éléments répresseurs et/ou insulateurs. L'objectif de l'étude a donc consisté à rechercher et caractériser ces différents éléments régulateurs. Cinq séquences candidates (C1-5), toutes localisées dans la délétion minimale (22 Kb) observée chez les patients HHF, ont été identifiées par recherche bioinformatique de séquences conservées entre espèces. Après clonage de C1 à C5 en aval des trois promoteurs de *WNK1*, la recherche d'un effet répresseur *in vitro* a été effectuée en mesurant l'activité luciférase après transfection transitoire dans trois types cellulaires. La recherche d'une séquence insulatrice a été effectuée après insertion de C1 à C5 de part et d'autre de l'enhancer rénal en amont du promoteur rP. Les résultats suggèrent que la séquence C4 pourrait jouer le rôle d'un élément répresseur spécifique du promoteur P2 ; de même en ce qui concerne la séquence C1 vis-à-vis du promoteur rP. Ceci pourrait expliquer en partie la surexpression des isoformes de *WNK1* observées après délétion de l'intron 1. La séquence C5 bloque l'activité de l'enhancer rénal et pourrait jouer le rôle d'un insulateur. Ceci est aussi cohérent avec l'expression ectopique de KS-WNK1 chez la souris transgénique. Si confirmés, ces résultats seraient en faveur d'un mécanisme transcriptionnel complexe à l'origine de l'HHF qui serait lié à la suppression d'au moins deux répresseurs et un insulateur.

Mots-clés : hypertension hyperkaliémique familiale, *WNK1*, répresseurs, insulateurs.

■P328 / 84. ANALYSE MOLÉCULAIRE DU GÈNE *CUL7* DANS UNE SÉRIE DE 58 PATIENTS PORTEURS D'UN SYNDROME 3 M

C. Huber (1), A.-L. Delezoide (2), C. Bauman (2), V. Malan (1), A. Munnich (1), V. Cormier-Daire (1) et le groupe collaboratif sur le syndrome 3 M

(1) Department of Genetics and INSERM U781, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France ; (2) Department of Genetics, Hôpital Robert-Debré, Paris, France

Le syndrome 3 M (OMIM 273750) est une maladie autosomique récessive, caractérisée par un retard de croissance pré et post-natal, une dysmorphie faciale, une macrocéphalie relative, une intelligence et un bilan endocrinien normaux. Au cours du développement, des manifestations osseuses apparaissent telles qu'un aspect grêle des os longs, une augmentation de la hauteur des vertèbres et un retard d'âge osseux. L'étude d'une série de 29 familles nous a permis de localiser le locus de la maladie sur le chromosome 6p21.1 puis d'identifier le gène *CUL7* comme responsable du syndrome 3 M. À la suite de cette étude, nous avons pu collecter les prélèvements de 29 nouvelles familles porteuses d'un syndrome 3M, et identifier des mutations dans 16 familles sur 29 comprenant 18 nouvelles mutations. Au sein de cette série, le diagnostic de syndrome 3 M avait été évoqué chez un fœtus interrompu à 33 SA, présentant un retard de croissance sévère, un périmètre crânien normal, des caractéristiques faciales (lèvres épaisses, nez court, narines antévertées, front haut), des talons proéminents et des os longs grêles. Par séquençage direct, nous avons identifié une mutation située sur un site d'épissage (c.1215+1G>A), héritée du père. De plus, nous avons mis en évidence une absence de contribution maternelle et une complète isodisomie du chromosome 6, d'origine paternelle. L'étude histologique de la plaque de croissance du fémur de ce fœtus montre une augmentation de la densité et de la taille des chondrocytes localisés dans les zones de réserve et de prolifération. Aucune anomalie majeure des zones préhypertrophique et hypertrophique n'a été notée, suggérant que *CUL7* est principalement impliqué dans la prolifération des chondrocytes mais pas dans leur différenciation. Nous concluons que *CUL7* est le gène majeur à l'origine du syndrome 3 M avec des mutations identifiées dans 77,6 % des cas (45/58). L'absence de mutation chez 13 de nos patients et l'exclusion du locus 6p21.1 dans 5 familles consanguines est en faveur d'une hétérogénéité génétique du syndrome 3 M.

Mots-clés : syndrome 3 M, *CUL7*, isodisomie uniparentale chromosome 6.

■P329 / 87. IDENTIFICATION D'UN NOUVEAU LOCUS DE DÉPLÉTION DE L'ADN MITOCHONDRIAL

J. Mollet (1), J.-P. Jais (2), E. Sarzi (1), D. Chretien (1), A. Munnich (1), A. Rötig (1)

(1) INSERM U781, Hôpital Necker-Enfants Malades, 149 rue de Sèvres, 75015 Paris, France ; (2) SBIM, Hôpital Necker-Enfants Malades, 149 rue de Sèvres, 75015 Paris, France

Les déplétions de l'ADN mitochondrial (ADNmt) sont caractérisées par la réduction du nombre de copies de l'ADNmt responsable d'un déficit multiple des enzymes de la chaîne respiratoire mitochondriale. Elles représentent un groupe de patients cliniquement et génétiquement hétérogène. Ces déplétions résultent de mutations de gènes nucléaires impliqués dans le maintien de l'ADNmt. Dans notre série de plus de 100 patients avec déplétion sévère de l'ADNmt, la mutation provoquant la maladie a été identifiée chez seulement 30 % d'entre eux. Nous avons identifié une grande famille consanguine d'Afrique du Nord avec un déficit multiple de la chaîne respiratoire associé à une déplétion de l'ADNmt. Les quatre patients ont présenté une hypotonie néonatale, un retard de croissance et/ou une hépatomégalie. Les bilans métaboliques ont révélé une hyperlactatémie et/ou un taux élevé de thymidine et d'uracile dans les urines, mais ces caractéristiques n'ont pas été systématiquement trouvées pour tous les patients. Les analyses biochimiques du muscle squelettique effectuées sur trois des patients ont révélé un déficit multiple de la chaîne respiratoire. Un tour de génome (SNP 10K Affymetrix) a été réalisé, mais n'a pas permis d'identifier une région d'homozygotie commune aux quatre enfants atteints. Une étude plus fine des données cliniques, biologiques et enzymologiques a soulevé l'hypothèse de l'existence de deux maladies dans cette famille. En partant de cette hypothèse, nous avons identifié une première région d'homozygotie sur le chromosome 1 contenant le gène *DPYD* codant pour la dihydropyrimidine déshydrogénase. Une mutation homozygote de *DPYD* a été trouvée chez les trois patients ayant un taux élevé de thymidine et d'uracile dans les urines. Une deuxième région de 21 Mb, commune aux deux patients présentant des taux élevés de lactate et donc *a priori* une maladie mitochondriale, a été identifiée sur le chromosome 6. Les gènes candidats de cette région sont actuellement en cours d'analyse. Ce travail permettra l'identification d'un nouveau gène nucléaire responsable de déplétion de l'ADNmt.

Mots-clés : mitochondrie, déplétion, ADNmt.

■P330 / 88. UNE NOUVELLE MUTATION DÉCALANTE DU GÈNE *FGA* (CHAÎNE ALPHA DU FIBRINOGENE) INDUIT L'APPARITION D'UN MOTIF PEPTIDIQUE VLITL TRÈS AMYLOÏDOGÈNE CONDUISANT À UNE AMYLOSE RÉNALE

S. Valleix (1), P. Le Pogamp (2), P. Derreumaux (3), C. Vasseur (1), G. Grateau (1), M. Delpech (1)

(1) Service de Biochimie et Génétique Moléculaire et U567-CHU Cochin-Paris ; (2) Service de Néphrologie-CHU de Rennes ; (3) Laboratoire de Biochimie théorique et Institut de Biologie Physico-Chimique-UPR9080 CNRS et Université Paris VII

Une nouvelle mutation décalante du gène *FGA* (chaîne alpha du fibrinogène) induit l'apparition d'un motif peptidique VLITL très amyloïdogène conduisant à une amylose rénale. Les amyloses héréditaires liées à la chaîne alpha du fibrinogène sont des entités très rares, à tropisme rénal, qui se manifestent vers la 4^e décennie par une protéinurie et évoluent inéluctablement vers l'insuffisance rénale chronique terminale. La transmission de cette maladie est autosomique dominante avec une pénétrance variable expliquant l'absence fréquente d'histoire familiale. Le pronostic rénal défavorable nécessite, dans les cinq ans suivant le diagnostic, une transplantation rénale qui elle-même se solde rapidement par un échec dû à la récurrence des dépôts amyloïdes. Sur le plan moléculaire, on distingue deux types de mutations, les mutations fausses et les mutations décalantes, mais toutes ces mutations amyloïdogènes surviennent exclusivement au niveau de l'exon 5 du gène *FGA* codant la partie C-terminale de la chaîne alpha. Les formes les plus sévères d'amylose rénale sont celles liées aux mutations décalantes. Trois mutations décalantes « privées » ont été décrites, chacune d'entre elles n'ayant été rapportée que dans une seule famille. Ces trois mutations décalantes conduisent, toutes, à un arrêt prématuré de la chaîne alpha du fibrinogène au niveau du codon 548 au lieu du codon 610, produisant une chaîne alpha avec une partie C-terminale plus courte et dont la séquence des derniers 27 acides aminés est modifiée. Ici, nous rapportons une nouvelle famille française atteinte d'amylose rénale et chez laquelle nous avons identifié une nouvelle mutation décalante dans le gène *FGA*, conduisant à la synthèse d'une chaîne alpha mutante dont la séquence C-terminale est similaire à celles résultantes des trois autres mutations décalantes rapportées jusque-là. Les mécanismes à l'origine de la fibrillogénèse de la chaîne alpha du fibrinogène restent totalement inconnus, et à la suite de cette nouvelle famille, nous avons émis l'hypothèse que la partie



C-terminale mutante résultant de cette nouvelle mutation décalante pouvait contenir une séquence peptidique particulière responsable du caractère amyloïdogène de FGA. Cette hypothèse était également fondée sur le fait que seuls des fragments protéolysés contenant la partie C-terminale mutée de la chaîne alpha du fibrinogène sont retrouvés dans les fibrilles amyloïdes. À cette fin, nous avons utilisé différents logiciels informatiques, notamment les algorithmes TANGO et CSSP, qui ont précédemment détecté avec succès les régions amyloïdogènes de nombreuses protéines amyloïdes comme le prion, le lysozyme, la transthyréline et le peptide A-béta de la maladie d'Alzheimer. Les analyses *in silico* que nous avons menées ont montré que la chaîne alpha du fibrinogène sauvage ne présente pas de caractéristique intrinsèque amyloïdogène et que les différents mutants amyloïdogènes (mutations faux-sens *versus* mutations décalantes) ne partagent pas un mécanisme commun d'aggrégation. Pour les mutations décalantes, les résultats indiquent que le peptide de séquence VLITL, présent uniquement dans la partie C-terminale des chaînes alpha dérivant des mutations décalantes et absent dans la chaîne alpha normale est une région importante pour promouvoir l'aggrégation en feuillets bêta plissés et qu'il constitue probablement le noyau fibrillogénique. La prédiction que ces 5 résidues hydrophobes VLITL sont aptes à former des structures pouvant favoriser la conformation en feuillets bêta plissés est en accord avec l'observation récente que la séquence peptidique VII, très proche de VLI, est capable à elle seule de former, *in vitro*, des fibrilles amyloïdes. L'identification de ce pentapeptide amyloïdogène pourrait permettre d'envisager une nouvelle voie d'approche thérapeutique pour ces amyloses par l'élaboration de drogues inhibitrices ciblant de façon spécifique la séquence VLITL.

Mots-clés : amylose héréditaire, chaîne alpha du fibrinogène, atteinte rénale.

■P331 / 94. INFERTILITÉ MASCULINE PAR ABSENCE DES CANAUX DÉFÉRENTS : INTÉRÊT DE LA RECHERCHE DE RÉARRANGEMENTS DU GÈNE CFTR POUR LE DIAGNOSTIC ET LE CONSEIL GÉNÉTIQUE

I. Ratbi (1), M. Legendre (1), F. Niel (1), J. Martin (1), J.-C. Soufir (2), V. Izard (3), B. Costes (1), A. Lefloch (1), C. Costa (1), M. Goossens (1) E. Girodon (1)

(1) Service de Biochimie et Génétique Moléculaire, AP-HP et INSERM U841, Hôpital Henri-Mondor, 94010 Créteil, France ; (2) Service de Biologie de la Reproduction et du développement, AP-HP, Hôpital de Bicêtre, 94270 Le Kremlin-Bicêtre, France ; (3) Service d'Urologie, AP-HP, Hôpital de Bicêtre, 94270 Le Kremlin-Bicêtre, France

Introduction : La recherche de mutations du gène de la mucoviscidose (gène *CFTR*) fait partie du bilan étiologique des infertilités masculines par absence bilatérale des canaux déférents (ABCD). Les patients sont souvent hétérozygotes composés pour une mutation à effet « modéré » et une mutation à effet « sévère », associée à la mucoviscidose, et cette notion est importante pour le conseil génétique des couples bénéficiant d'une procréation assistée. Cependant, selon les études, au moins une mutation n'est pas identifiée chez 20 à 55 % des patients. La recherche de grands réarrangements du gène *CFTR*, récemment introduite dans les études génétiques des patients atteints de mucoviscidose, a été effectuée dans une cohorte de patients infertiles par ABCD au phénotype bien caractérisé, ce qui a permis de faire le point sur l'ensemble des génotypes associés à cette pathologie. **Méthodes :** L'exploration du gène *CFTR* chez 222 patients infertiles par ABCD a reposé sur une combinaison de méthodes de balayage (DGGE, DHPLC et séquençage) et, pour une sélection de 61 patients, sur une technique d'amplification multiplex semi-quantitative de l'ensemble des régions codantes, à la recherche de grandes délétions, duplications et insertions. **Résultats :** Près de 88 % des allèles ont ainsi été caractérisés et 82 % des patients sont porteurs de deux mutations. Les 10 mutations les plus fréquentes rendent compte de 74,6 % des allèles identifiés. Quatre grands réarrangements ont été identifiés chez des patients porteurs d'une mutation modérée : deux délétions partielles déjà rapportées (emportant les exons 17a à 18 et 22 à 23), une délétion complète et une nouvelle duplication des exons 11 à 13. Ces réarrangements rendent compte de 7 % des allèles précédemment non identifiés et de 1 % du total des allèles. **Conclusion :** Ces résultats illustrent l'intérêt pour le diagnostic et le conseil génétique d'une étude complète du gène *CFTR* chez les patients infertiles par ABCD, incluant la recherche de grands réarrangements.

Mots-clés : mucoviscidose, *CFTR*, infertilité masculine.

■P332 / 96. ÉTAT DES LIEUX DES SURDITÉS GÉNÉTIQUES EN ALGÉRIE

C. Giannesini (1), F. Ammar-Khodja (2), V. Faugère (1), S. Léonard (1), M. Makrelouf (3), R. Malek (4), M. Djenaoui (5), A. Zenati (3), M. Claustres (1, 6, 7), A-F Roux (1, 6)

M/S hors série n° 1, vol. 24, janvier 2008

(1) CHU Montpellier, Laboratoire de Génétique Moléculaire, Montpellier ; (2) Department of Molecular and Cell Biology, Biological Faculty of Sciences, University of USTHB, El Alia, Bab-Ezzouar, Alger, Algérie ; (3) Genetic Unit of Biochemistry, Central Laboratory, CHU Bab-El-Oued, Alger, Algérie ; (4) Department of Otolaryngology, CHU Bab El Oued, Alger, Algérie ; (5) Department of Otolaryngology, CHU Mustapha, Alger, Algérie ; (6) Inserm, U827, Montpellier ; (7) Univ, Montpellier 1, Montpellier

Afin d'identifier les origines génétiques des surdités en Algérie, 54 familles d'enfants scolarisés dans des écoles spécialisées pour malentendants ont été prélevées et analysées à différents loci connus comme étant impliqués dans les surdités non syndromiques (DFN). L'origine génétique de la surdité était supposée par la présence de plusieurs membres atteints au sein de chaque fratrie. Les enfants scolarisés ont pu bénéficier d'un suivi clinique et des audiogrammes ont permis d'évaluer précisément leur degré de déficience auditive. Tous les patients présentaient une surdité congénitale moyenne à profonde. Deux enfants présentaient par ailleurs des troubles de la vision nocturne pouvant laisser suggérer un syndrome de Usher. Une consanguinité était connue dans 50 % des familles étudiées. Le locus *DFNB1* se trouve majoritairement impliqué dans les surdités congénitales non syndromiques. Dans un premier temps, l'étude moléculaire exhaustive de ce locus, par analyse des exons codant et non codant et des délétions *GJB6-D13S1830* et *GJB6-D13S1854*, a été réalisée sur l'ADN des 54 cas index. Vingt patients ont été génotypés avec des mutations délétères établissant l'implication du locus *DFNB1* à 37 %. Parmi les patients *DFNB1*, 70 % portent la mutation 35delG à l'état homozygote. Cependant l'identification de 5 autres mutations du gène *GJB2* (E47X, V37I, c.167delT, N206S et IVS1+1G>A) montre qu'une étude restreinte à la mutation majoritaire n'est pas satisfaisante. Chez trente-quatre cas index, aucun génotype *DFNB1* pathogène n'a pu être identifié. L'ADN des apparentés étant disponible pour 16 d'entre eux, une analyse des haplotypes *DFNB1* a alors été effectuée dans le but d'exclure définitivement son implication. Ce locus a été exclu pour 10/16 familles analysées ; l'hypothèse d'une mutation *DFNB1* Algérienne commune à toutes ces familles a pu être éliminée. Le laboratoire de Montpellier est par ailleurs spécialisé dans le diagnostic moléculaire du syndrome de Usher (analyse exhaustive de 8 gènes Usher). Certains des loci USH sont également impliqués dans les surdités non syndromiques : *DFNB2/USH1B* (*MYO7A*), *DFNB12/USH1D* (*CDH23*), *DFNB23/USH1F* (*PCDH15*), *DFNB18/USH1C* (*USH1C*), *USH1G* (*USH1G*) et *DFNB31/USH2D* (*WHRN*). Une étude de l'ensemble de ces loci a été effectuée sur la cohorte. L'efficacité de cette approche est renforcée par un taux de consanguinité élevé au sein des familles Algériennes et une homozygotie à un locus donné peut alors être recherchée. Le séquençage du gène correspondant a permis d'identifier les mutations pathogènes dans les gènes *MYO7A* (2 familles) et *CDH23* (1 famille). La même démarche appliquée aux 2 patients suspectés d'un syndrome de Usher a conduit à la caractérisation de 2 mutations délétères, dans *MYO7A* et *PCDH15*, confirmant ainsi le diagnostic clinique chez ces deux enfants. Cette étude démontre la très forte hétérogénéité génétique de la population algérienne qui rend complexe toute mise en place d'un diagnostic moléculaire efficace. Une des causes majeures des surdités congénitales reste le taux très important des mariages consanguins, ce qui constitue un véritable problème de santé publique.

Mots-clés : surdité, génotype, haplotype.

■P333 / 98. MOSAÏQUES SOMATIQUES MASCULINES : EST-CE SI RARE EN HÉMOPHILIE ?

C. Costa (1, 2), A.M. Frances (3), S. Letourneau (1), P. Contevelle (1), E. Girodon-Boulant (1, 2), M. Goossens (1, 2)

(1) AP-HP, Groupe Henri Mondor-Albert Chenevier, Laboratoire de Génétique Moléculaire ; (2) INSERM U841, Département de Génétique, équipe 11, Université Paris 12, Créteil F-94000 ; (3) Hôpital Font-Pré, Génétique Médicale, Toulon, 83000 France

Environ 1/3 des cas d'hémophilie sont sporadiques, dont 20 % sont dus à une néo mutation survenue soit au niveau germinale soit très tôt durant l'embryogenèse, ainsi à l'origine de mosaïques germinale ou somatique. En hémophilie, la plupart des cas de mosaïque somatique ont été rapportés chez des femmes conductrices. Seuls trois cas ont été rapportés chez des hommes dans la littérature. Nous présentons ici un cas exceptionnel de mosaïque somatique chez le grand-père asymptomatique d'un hémophile A sévère. La mutation délétère identifiée par séquençage direct chez le propositus est également retrouvée chez la mère et la tante maternelle de celui-ci, suggérant un grand-mère conductrice. La mutation n'étant retrouvée ni dans les leucocytes ni dans les cellules buccales et uro-épithéliales de cette dernière, cette hypothèse est remise en cause et soulève la question de l'origine de l'anomalie. L'étude de la ségrégation des

marqueurs liés au gène du facteur VIII permet d'identifier l'origine de l'allèle délétère chez le grand père paternel asymptomatique. Parce que les mosaïques somatiques peuvent être difficiles à détecter par les méthodes conventionnelles, elles nécessitent des procédures d'enrichissement non utilisables en routine. Grâce à l'évolution technologique, de nouvelles méthodes plus sensibles telles la DHPLC (denaturing-high-liquid-pressure-chromatography) couplée éventuellement à l'utilisation des nucléases, enzymes reconnaissant les mésappariements, semblent être prometteuses. Ainsi, dans le cas présenté ici, leur utilisation en comparaison au séquençage direct montre chez le grand-père de l'hémophile une meilleure sensibilité à détecter l'allèle muté. Dans les cas sporadiques il est important pour le conseil génétique de déterminer s'il existe un risque familial. Un résultat négatif n'élimine pas la possibilité d'une mosaïque et peut conduire à rassurer faussement sur le statut de conductrice. Ce cas suggère que les mosaïques somatiques sont vraisemblablement sous-estimées, particulièrement dans les cas sporadiques et soulève l'intérêt de réaliser une étude de liaison pour identifier l'origine de l'allèle délétère et d'utiliser des méthodes sensibles pour détecter les mosaïques.

Mots-clés : mosaïque masculine, hémophilie, conseil génétique.

■P334 / 106. ANALYSES MOLÉCULAIRES DU GÈNE *LRRK2* CHEZ 233 FAMILLES EUROPÉENNES ET NORD-AFRICAINES ATTEINTES DE LA MALADIE DE PARKINSON

S. Lesage (1), C. Condroyer (1), E. Lohmann (1), A. Lannuzel (4), F. Tison (5), P. Damier (6), A. Dürr (1, 2), A. Brice (1, 2, 3), et le réseau PDG (1) *INSERM U679 Neurologie et Thérapeutique Expérimentale, Hôpital de la Pitié-Salpêtrière, AP-HP, et Université Pierre-et-Marie-Curie, Faculté de Médecine, Paris, France*; (2) *Département de Génétique, Cytogénétique et Embryologie, CHU Pitié-Salpêtrière, AP-HP, 75013 Paris, France*; (3) *Fédération de Neurologie, CHU Pitié-Salpêtrière, AP-HP, 75013 Paris, France*; (4) *Service de Neurologie, Hôpital Ste-Anne, 75014 Paris, France*; (5) *Service de Neurologie, Hôpital Haut-Lévêque, 33604 Pessac, France*; (6) *Service de Neurologie, Hôpital Guillaume-et-René-Laënnec, 44093 Nantes, France*

Introduction : La maladie de Parkinson (MP) est une affection neurodégénérative progressive, caractérisée cliniquement par la triade bradykinésie, rigidité et tremblement de repos, dus à la dégénérescence des neurones dopaminergiques de la voie nigro-striatale. Des mutations dans le gène *LRRK2* (Leucine-Rich-Repeat Kinase 2) au locus PARK8 ont été identifiées dans des familles présentant une transmission de type autosomique dominant. Parmi elles, la mutation G2019S (c.6055 G>A) est la plus communément retrouvée, mais avec des fréquences très variables selon l'origine géographique et ethnique des populations étudiées. Du fait que le gène *LRRK2* est un grand gène comprenant 51 exons codants, peu d'études ont porté sur le criblage entier du gène dans un grand nombre de familles avec une transmission autosomique dominante. But du travail : Déterminer le spectre mutationnel du gène *LRRK2* dans une grande série de familles MP compatibles avec une transmission autosomique dominante et établir des corrélations génotype-phénotype. Patients et méthodes : Nous avons sélectionné 233 familles MP compatibles avec une transmission autosomique dominante. Ces familles sont essentiellement d'origine française (78 %), et aussi d'Afrique du Nord (n = 14). L'âge moyen de début de la maladie des cas index est de 50,4 ± 12,3 ans (extrêmes, 18-86). Les 51 exons du gène *LRRK2* et leurs régions flanquantes ont été séquencés dans les 2 sens. **RÉSULTATS :** Nous avons identifié 8 mutations potentielles chez 22 cas index (9,4 %), comprenant 5 substitutions nouvellement identifiées (S52F, D334K, N363S, I810V, R1325Q). La mutation G2019S a été identifiée chez 13 cas index (5,6 %) dont 6 sont d'origine maghrébine (6/14=43 %). Les mutations hétérozygotes connues R1441H et I1371V ont été retrouvées, chacune dans une famille. La plupart des mutations identifiées dans notre série sont localisées dans les domaines fonctionnels de la protéine. Le phénotype associé à la présence de ces mutations ressemble à celui d'un syndrome parkinsonien typique avec cependant des âges de début de la maladie très variables [53,2 ± 9,6 ans (extrêmes, 35-71)]. **CONCLUSION :** L'analyse du gène entier de *LRRK2* dans une grande série de familles majoritairement françaises atteintes de MP présentant une transmission autosomique dominante a montré que les mutations sont rares, à l'exception de la mutation G2019S. Le tableau clinique des patients porteurs de mutations de *LRRK2* est celui d'un Parkinson typique. En terme de diagnostic moléculaire du gène *LRRK2*, les mutations connues les plus fréquentes seront criblées en priorité.

Mots-clés : maladie de Parkinson, *LRRK2*, mutations.

■P335 / 110. UN NOUVEAU SYNDROME POLYMALFORMATIF ASSOCIÉ À UNE MUTATION HOMOZYGOTE DU GÈNE *FTO*

S. Boissel (1), O. Reisch (2), F. Molinari (1), H. Etchevers (1), A. Munnich (1), L. Colleaux (1)

(1) *INSERM U781 and Département de Génétique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris*; (2) *Department of Medical Genetics, Assaf Harofeh, Israel*

Nous présentons ici l'étude d'une famille israélienne consanguine et multiplex, dans laquelle 8 enfants atteints présentent un nouveau syndrome polymalformatif à transmission autosomique récessive et caractérisé par un retard psychomoteur sévère, un retard de croissance intra-utérin, un retard de myélinisation, des anomalies cardiaques, une fente palatine, une dysmorphie faciale et une mort prématurée. Les analyses biochimiques et métaboliques, ainsi que le caryotype haute résolution sont normaux. Mettant à profit la stratégie de cartographie par autozygotie en analysant 5 enfants atteints et 15 apparentés sains, nous avons identifié une région unique d'homozygotie de 6,5 Mb en 16q12-q13, entre les marqueurs D16S411 et D16S3140 (D16S3136, Zmax = 4,16 à theta = 0). Celle-ci contient 29 gènes connus. Le séquençage du gène *FTO* (fat mass and obesity associated), a ensuite permis de caractériser une mutation homozygote faux-sens dans l'exon 5 : c.947G>A, p.R316Q. Cette mutation co-ségrège avec la maladie et n'a pas été retrouvée chez 400 allèles contrôles dont 100 allèles de la même origine ethnique. Chez la souris, *Fto* est un des gènes affectés par la mutation Fused toes (Ft), une délétion hétérozygote des gènes du cluster des Iroquois B, Fts, Ftm et Fto. Les souris hétérozygotes Ft présentent une syndactylie des membres antérieurs. Les embryons homozygotes Ft/Ft montrent des anomalies de la formation du tube neural et du développement cérébral qui entraînent des malformations craniofaciales sévères ainsi qu'une mort embryonnaire précoce. De façon très surprenante, des études d'association ont récemment montré qu'un variant hétérozygote dans l'intron 1 de *FTO* prédispose à l'obésité chez l'enfant et l'adulte. Toutefois, le rôle précis de *FTO* dans cette pathologie reste inconnu. Des études d'expression par RT-PCR sur des ARNs de différents tissus humains nous ont déjà permis de montrer que *FTO* est exprimé de façon ubiquitaire au cours du développement embryonnaire et à l'âge adulte. Par ailleurs, des expériences d'hybridation *in-situ* sur des embryons et des fœtus humains sont en cours afin d'établir plus précisément le patron d'expression de *FTO*. Enfin, des expériences de transfection avec la protéine sauvage ou mutée (p.R316Q) dans des cellules HEK 293T ont démontré que la protéine est localisée dans le noyau et que la mutation n'affecte pas cette localisation. Nos résultats confirment l'efficacité de la cartographie par autozygotie pour identifier de nouveaux gènes responsables de pathologies autosomiques récessives. Ils mettent également en lumière les bases moléculaires d'un nouveau syndrome polymalformatif. Les analyses en cours devraient nous permettre de mieux caractériser la fonction de *FTO* au cours du développement embryonnaire et également de comprendre comment un variant hétérozygote peut être associé à l'obésité alors qu'une mutation homozygote du même gène entraîne un syndrome polymalformatif sévère.

Mots-clés : cartographie par autozygotie, syndrome polymalformatif, retard psychomoteur.

■P336 / 114. IDENTIFICATION DE NOUVEAUX TRANSCRITS ALTERNATIFS DU GÈNE *MEFV* DANS DES LEUCOCYTES HUMAINS

S. Grandemange (1), C. Notarnicola (2), I. Touitou (1)
(1) *Unité médicale des maladies auto-inflammatoires, CHU A.-de-Villeneuve, Montpellier*; (2) *ERI 25 Muscle et Pathologies, INSERM, CHU A.-de-Villeneuve, Montpellier*

Introduction : La fièvre méditerranéenne familiale (FMF) est une maladie autosomique récessive qui se caractérise par des attaques récurrentes de fièvre et inflammation des séreuses. Des mutations dans le gène *MEFV* sont responsables de la FMF. *MEFV*, exprimé principalement dans les neutrophiles et les monocytes, code la protéine Marenstrine/Pyrine qui semble être un régulateur de l'inflammation. Récemment, différents transcrits d'épissage alternatifs ont été caractérisés, suggérant l'existence de plusieurs protéines *in vivo*. Matériels et Méthodes : À ce jour, le profil d'expression de la protéine native n'est pas connu. Dans ce but, nous avons effectué une analyse des messagers *MEFV* par RT-PCR, à partir d'ARN de leucocytes humains d'individus contrôles. Les produits de PCR, effectuée à l'aide d'oligonucléotides localisés dans les exons 1 et 10, ont été clonés et directement séquencés. **Résultats :** Nous avons ainsi identifié des nouveaux messagers issus d'un épissage alternatif. Le transcrit complexe, *MEFV*-d2-9ext, résulte d'une délétion en phase de l'exon 2 et d'une extension de 117 pb en 5' de l'exon 9, engendrant un codon stop prématuré. Le second transcrit, *MEFV*-d2-3-4, généré par la délétion des exons 2, 3 et 4, résulte en un décalage du cadre de lecture et prédit une courte protéine correspondant uniquement à la séquence codante de l'exon 1. Deux isoformes dérivées du *MEFV*-d2-3-4 présentent en plus, une délétion de l'exon 7 ou des exons 7 et 8. **Conclusion et perspectives :** Nos résultats



confortent les données de la littérature et confirment l'existence d'un nombre important de transcrits MEFV, mais à ce jour, nous ne savons pas quelle(s) variant(s) protéique(s) est (sont) présent(s) dans la cellule. Parce que l'altération de la régulation de l'expression de *MEFV* pourrait être impliquée dans la physiopathologie de la FMF, nous établirons le profil d'épissage des transcrits MEFV et le profil protéique d'individus contrôles, et nous le comparerons aux profils caractérisés chez des patients atteints de FMF.

Mots-clés : FMF, expression, épissage alternatif.

■P337 / 122. UNE NOUVELLE MUTATION DU GÈNE *FRAS1* EN 4Q21 CHEZ UN NOURRISSON TUNISIEN ATTEINT D'UN SYNDROME DE FRASER

W. Ben Romdhan (4), M. Zenker (2), M. Jallouli (3), R. Louati (1), F. Kallebi (1), R. Mhiri (3), T. Rebai (1), N.B. Abdelmoula (1)

(1) Laboratoire d'Histologie, Faculté de Médecine de Sfax Tunisie ; (2) Institut de génétique Humaine, Erlangen Allemagne ; (3) Unité de Chirurgie Pédiatrique, CHU Hédi Chaker Sfax Tunisie ; (4) Service de Pédiatrie, CHU Hédi Chaker Sfax Tunisie

Le syndrome de Fraser est un syndrome polymalformatif très rare caractérisé par la présence d'une atteinte oculaire, la cryptophtalmie, d'une syndactylie, d'anomalies génitales, d'une agénésie rénale et de malformations laryngées. Deux gènes du syndrome de Fraser ont été identifiés : le gène *FRAS1* en 4q21 et le gène *FREM2* en 13q13. Des mutations ont été identifiées à l'intérieur de *FRAS1* mais rarement au niveau de *FREM2*. Nous rapportons l'observation clinique d'un nourrisson tunisien de sexe masculin originaire de Gafsa chez qui un syndrome de Fraser a été cliniquement diagnostiqué et pour lequel une étude moléculaire du gène *FRAS1* a été pratiquée. Le nourrisson a été hospitalisé à l'âge de deux mois pour cure chirurgicale d'une hernie scrotale droite. Il est issu d'un couple consanguin de second degré ayant déjà un enfant de sexe masculin de 5 ans en bon état de santé. À l'examen clinique, il pesait 4 500 g (M) et mesurait 50 cm (-2DS). Il présentait une dysmorphie faciale avec notamment des anomalies oculaires. Il s'agissait d'une microphthalmie à droite avec fusion des moitiés internes des deux paupières laissant une petite fente palpébrale avec une cornée inaccessible. À l'IRM orbitaire, le globe oculaire était déformé de petite taille avec absence du cristallin et déformation du segment antérieur. Le nerf optique était de morphologie et de localisation normale. Le nourrisson présentait par ailleurs, un hypertélorisme, des anomalies du nez avec une racine large et des ailes hypoplasiques, une agénésie du pavillon de l'oreille droite avec hypoplasie du conduit auditif externe et fusion des deux berges antérieure et postérieure de celui-ci à l'exploration tomodensitométrique des rochers. Le nourrisson présentait en outre une syndactylie bilatérale des doigts et des orteils ainsi qu'un stridor audible. L'imagerie par résonance magnétique du cerveau montrait à l'étage sus tentorial, un discret amincissement du corps calleux et une discrète dilatation des ventricules latéraux. Les organes génitaux externes se caractérisaient par une verge coude de petite taille avec hypospadias et présence d'une hernie inguinale droite. Les échographies cardiaques et abdominales étaient sans anomalie décelable. Une étude cytogénétique avec marquage des chromosomes en bandes RGH et GTG s'est révélée normale 46,XY. Une étude moléculaire indirecte à l'aide de marqueurs microsatellites à proximité des gènes *FRAS1* et *FREM2* a permis de montrer une homozygotie pour un large intervalle autour du locus *FRAS1*. Le séquençage direct de tous les exons et des régions introniques flanquants du gène *FRAS1* a permis de mettre en évidence une mutation homozygote du site d'épissage de l'exon 23 : IVS23+IG>A. Il s'agit d'une nouvelle mutation qui n'a pas été décrite auparavant.

Mots-clés : Fraser syndrome, *FRAS1*, mutation.

■P338 / 123. RÉDUCTION DE LA RÉGION 2P11.1-Q12.2 RESPONSABLE DU SYNDROME DE TREMBLEMENT MYOCLONIQUE CORTICAL FAMILIAL ASSOCIÉ À UNE ÉPILEPSIE ET EXCLUSION DE GÈNES CANDIDATS

D. Bouteiller (1), C. Saint-Martin (1), G. Stevanin (1, 2), C. Popescu (1), M. Ruberg (1), E. LeGuern (1, 2), P. Labauge (3), C. Depienne (1, 2)

(1) INSERM U679, Paris ; (2) Département de génétique et cytogénétique, AP-HP, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris ; (3) Service de Neurologie, Hôpital Caremeau, Nîmes

Le tremblement myoclonique cortical familial associé à une épilepsie (TMCFE), également connu sous le nom de FAME (Familial Adult Myoclonic Epilepsy) est un syndrome transmis sur un mode autosomique dominant. Il est caractérisé par un tremblement myoclonique cortical qui débute généralement chez l'adulte et qui peut survenir seul ou être accompagné de crises épileptiques qui sont le plus souvent de type généralisé

tonico-clonique. Deux loci, situés dans les régions chromosomiques 8q23.3-q24.11 (FAME1) et 2p11.1-q12.2 (FAME2), ont été précédemment décrits mais aucun gène pathogène n'a été identifié à ce jour. Dans le but d'identifier le locus morbide et le gène en cause dans une large famille d'origine espagnole, nous avons réalisé une cartographie génétique. L'analyse de liaison a montré que la famille est liée à une région située en 2p11-q12 chevauchante avec le locus FAME2. Ce résultat a permis de réduire la région critique à un intervalle de 9,42 cm. Par ailleurs, des mutations dans la séquence codante de cinq gènes candidats contenus dans l'intervalle réduit (*KCNIP3*, *DRD5P1*, *SIAT9*, *REEP1* et *VAMP5*) ont été exclues par séquençage direct et par MLPA (multiplex ligation-dependent probe amplification) dans le cas de REEP1. Etant donné qu'aucun gène connu codant pour un canal ionique ou une protéine associée n'est contenu dans l'intervalle réduit, nous proposons des stratégies alternatives pour identifier le gène pathogène de cette région impliqué dans le TMCFE.

Mots-clés : épilepsie, tremblement cortical, liaison génétique.

■P339 / 124. MUTATIONS DE *SCN1A* HÉRITÉES ASSOCIÉES À L'ÉPILEPSIE MYOCLONIQUE SÈVÈRE DU NOURRISSON

O. Trouillard (1), C. Saint-Martin (2), I. Gourfinkel-An (2), E. Fedirko (1), R. Nabbout (3), E. LeGuern (1, 2), C. Depienne (1, 2)

(1) Département de génétique et cytogénétique, AP-HP, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris ; (2) INSERM U679, Paris ; (3) Service de neuropédiatrie, Hôpital Necker, Paris

Les mutations du gène *SCN1A*, codant pour le canal sodique neuronal dépendant du voltage Nav1.1, sont associées soit à une épilepsie généralisée avec des convulsions fébriles prolongées (phénotype épileptique variable connu sous le nom de GEFS+) soit à un syndrome beaucoup plus sévère appelé épilepsie myoclonique sévère du nourrisson (EMSN ou syndrome de Dravet). Seules des mutations de type faux-sens, héritées sur un mode autosomique dominant, sont retrouvées dans le GEFS+ alors que la plupart des mutations décrites dans l'EMSN sont des mutations *de novo* de tous types, en particulier tronquantes ou faux-sens. Cependant, un petit nombre de mutations responsables d'EMSN sont héritées d'un parent asymptomatique ou modérément atteint, soulevant la question d'une expressivité variable de ces mutations et des facteurs déterminant la sévérité de l'épilepsie. L'objectif de ce travail a été de déterminer les mécanismes à l'origine de la variabilité du phénotype chez les parents porteurs d'une mutation associée à une EMSN chez leur(s) enfant(s). Nous avons analysé 11 familles avec un (7 familles) ou deux enfants (4 familles) atteints d'EMSN, pour lesquelles une mutation dans *SCN1A* héritée d'un parent avait été identifiée. Dans 7 familles, nous avons montré qu'une mutation tronquante était survenue *de novo* et était à l'état de mosaïque somatique chez le parent transmetteur dans au moins 5 cas sur 7. L'absence d'épilepsie ou la présence d'une épilepsie modérée chez le parent s'explique par le mosaïcisme dans ces familles. Dans 3 familles, une mutation faux-sens était transmise de façon autosomique dominante chez plusieurs membres de la familles présentant un phénotype épileptique de type GEFS+ et était également présente chez le patient atteint d'EMSN. Le pronostic clinique chez ces patients était meilleur que l'évolution classique de l'EMSN, bien que celui-ci puisse être aussi observé chez des patients avec des mutations *de novo*. Nos résultats sont en faveur de deux mécanismes génétiques distincts responsables d'EMSN et de l'existence de facteurs génétiques ou environnementaux additionnels déterminant donc la sévérité du phénotype épileptique. Le mosaïcisme parental pourrait représenter jusqu'à 10 % des familles avec au moins un enfant atteint d'EMSN.

Mots-clés : épilepsie, *SCN1A*, mosaïque.

■P340 / 125. SPECTRE DES MUTATIONS ET CARACTÉRISTIQUES CLINIQUES ASSOCIÉES AU GÈNE *SPG4* DANS LES PARALÉGIES SPASTIQUES

E. Denis (1), C. Depienne (1, 2), E. Fedirko (1), B. Bricka (1), A. Durr (1, 2), A. Brice (1, 2)

(1) Département de génétique et cytogénétique, AP-HP, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris ; (2) INSERM U679, Paris

Les mutations du gène *SPAST/SPG4*, qui code pour la protéine spastin, représentent la cause la plus fréquente de paraplégie spastique (PS) autosomique dominante pure. Dans le cadre d'un diagnostic moléculaire de routine, nous avons analysé le spectre des mutations de *SPG4* et les caractéristiques cliniques présentes chez les patients portant des mutations. Nous avons criblé une large série de 543 patients avec paraplégie spastique pure ou complexe (ie avec des signes cliniques additionnels) par DHPLC (denaturing high performance liquid chromatography), séquençage et MLPA (multiplex ligation-dependent probe amplification). Nous avons identifié 164 familles avec mutations, 133 présentant des substitutions ou des petites

délétions/insertions et 31 présentant des microréarrangements du gène allant de la délétion d'un exon à celle du gène entier. La grande majorité des mutations (>90 %) étaient associées à une PS pure dans les familles. Cependant, quelques familles ont présenté des signes additionnels tels que des troubles cognitifs variables, une démence, un retard mental, une neuropathie périphérique ou un syndrome parkinsonien. Une grande proportion des mutations, plus particulièrement de type faux-sens (substitutions d'acides aminés), a été identifiée chez des cas avec PS mais sans histoire familiale. L'analyse détaillée des familles a mis en évidence une pénétrance réduite et dépendante de l'âge. De plus, nous avons également identifié une mutation *de novo* associée à un mosaïcisme somatique chez un des patients. Nos résultats sont en faveur de l'existence de facteurs modulateurs du phénotype pour expliquer pénétrance réduite et expressivité variable. Ces résultats ont des conséquences pour les indications de l'analyse moléculaire de SPG4, pour l'interprétation des résultats et pour le conseil génétique.

Mots-clés : paraplégie spastique héréditaire, *SPG4/SPAST*, *MLPA*.

■P341 / 126. CARACTÉRISATION MOLÉCULAIRE DES POINTS DE CASSURE DU GÈNE *CREBBP*

D. Simon (1), I. Burgelin (1), M. Stef (1), C. Rooryck (1, 2), D. Lacombe (2), I. Coupry (1), B. Arveiler (1, 2)

(1) Laboratoire de Génétique Humaine, Pôle Génotypage Séquençage, Université Victor Segalen Bordeaux 2, France ; (2) Service de Génétique Médicale, CHU de Bordeaux, France

Introduction : Le syndrome de Rubinstein-Taybi (SRT) est une maladie rare, autosomique dominante causée par des mutations dans le gène *CREBBP* (CREB-binding protein) et plus rarement dans le gène *EP300*. Ce syndrome est connu pour être associé à des délétions du gène *CREBBP* dans 10 à 15 % des cas. **Matériel et méthodes :** Par analyse en CGH-array et en PCR Quantitative Multiplex Fluorescente (QMF-PCR) nous avons montré que les réarrangements étaient présents chez 20 % des patients, et que la taille des délétions observées était comprise entre 1245 pb et 6,5 Mb. Notre objectif actuel est de mettre en évidence les mécanismes intervenant dans ces remaniements. La présence répétée de points de cassure dans certaines portions du gène conduit à penser que des séquences particulières, comme par exemple des duplications segmentales ou des séquences répétées sont présentes dans ces régions. Nous avons entrepris de séquencer 13 points de cassure intragéniques. **Résultats :** Actuellement, six délétions sont caractérisées, avec des tailles comprises entre 1245 pb et 48327 pb. L'une d'entre elles est un réarrangement complexe avec une insertion d'un fragment de 435 pb localisé à 3 kb du segment délété. Aucune séquence particulière n'a été identifiée à proximité du point de cassure. Chez un des patients, les séquences bordant le point de cassure sont des éléments *AluSc* et *AluSx* comportant 30 bases 100 % identiques. Dans un autre cas, seules cinq bases sont identiques entre la séquence LINE L1ME2 et la séquence SINE MIR3, et enfin chez un autre patient, sept bases sont identiques avec à proximité une séquence *AluSx* d'un coté et de l'autre une séquence *AluSg* localisée à 250 pb. Dans les deux derniers cas, il n'y a pas de séquences homologues. Les sept autres réarrangements sont en cours de caractérisation. **Conclusion et perspectives :** Les résultats obtenus nous indiquent que les séquences *Alu* sont souvent impliquées dans les réarrangements intragéniques du gène *CREBBP*. Nous n'avons pas encore séquencé les points de cassure des duplications. En parallèle nous caractérisons également des points de cassure extragéniques car il serait intéressant de savoir si les mécanismes de réarrangements intragéniques et extragéniques sont différents.

Mots-clés : *CREBBP*, points de cassure, séquences répétées.

■P342 / 128. MUTATION PRÉVALENTE AVEC EFFET FONDATEUR DANS LE XERODERMA PIGMENTOSUM DU GROUPE C EN AFRIQUE DU NORD : L'ESPOIR D'UN DIAGNOSTIC PRÉNATAL ET PRÉSYMPTOMATIQUE SIMPLIFIÉ

N. Soufir (1), C. Ged (2), A. Sarasin (3), A. Bourillon (1), C. Chemin (2), E. Bourrat (4), J. Armier (3), D. Pham (3), C. Blanchet-Bardon (4), K. Khadir (5), M. Zghal (6), C. Robert (7), B. Bouadjar (8), A. Stary (3), A. Taieb (2), H. Benchiki (5), H. de Verneuil (2), B. Grandchamp (2)

(1) Laboratoire de Biochimie hormonale et génétique, Hôpital Bichat, APHP, Paris, France ; (2) INSERM U876, Université V.-Segalen-Bordeaux-2 et CHU Pellegrin Bordeaux, France ; (3) Genomes and Cancers, FRE 2939 CNRS, Institut Gustave-Roussy, Villejuif, France ; (4) Service de Dermatologie, Hôpital Saint-Louis, APHP, Paris, France ; (5) Service de Dermatologie, CHU Ibn Rochd, Casablanca, Maroc ; (6) Service de Dermatologie, Hôpital Habib Thameur, TUNIS, Tunisie ; (7) Service de Dermatologie, Institut Gustave-Roussy, Villejuif, France ; (8) CHU de Bab El Oued, Alger, Algérie

Introduction : Le xeroderma pigmentosum (XP) est une génodermatose rare, transmise de façon autosomale récessive, causée par des mutations germinales de certains gènes de réparation de l'ADN (système NER). Les patients montrent une sensibilité extrême au soleil et présentent une fréquence de cancers cutanés environ 1 000 fois supérieure à la population générale. Sept groupes de complémentation ont été rapportés (XP-A à XP-G), ainsi qu'un groupe variant (XPV ou POL H). Les groupes XP-C, XP-A, XPV sont les plus fréquents en Europe et en Afrique du Nord. La présence d'une mutation sur les deux allèles du gène de réparation concerné est responsable d'un phénomène d'hypermutagenèse qui conduit au développement anormalement précoce de cancers cutanés multiples. **Patients et Méthodes :** Nous avons étudié prospectivement 38 patients présentant une symptomatologie typique du XP, originaires en majorité d'Afrique du Nord : 18 patients suivis à Casablanca, 10 patients suivis à Alger et 10 patients suivis en France dont 6 originaires du Maghreb. Trois quarts des patients étaient issus de parents consanguins, aucun ne présentant d'atteinte neurologique. De plus, nous avons étudié rétrospectivement l'ADN provenant de lignées fibroblastiques de 15 patients XPC (10 originaires d'Afrique du Nord, 5 d'Europe) authentifiés préalablement par test de complémentation. Les ADN ont été préparés à partir de prélèvements sanguins ou cutanés, après obtention d'un consentement éclairé. Les mutations du gène *XPC* ont été identifiées par séquençage automatique (région codante et jonctions intron-exon). Les haplotypes ont été reconstitués à l'aide de polymorphismes fréquents du gène *XPC* et de 2 microsatellites intragéniques. La mutation prévalente du gène *XPA* a été analysée par RFLP et/ou par séquençage de l'exon 6. **Résultats et discussion :** La mutation prévalente du gène *XPA* (p.R228X) est présente à l'état homozygote chez 5 patients (13 %), tous d'origine consanguine. Une mutation fortement prévalente du gène *XPC* (p.V548A fsX572) est présente à l'état homozygote chez 29 patients (76 %) dont la majorité d'origine consanguine. Cinq autres mutations du gène *XPC* (dont 4 non publiées) ont été identifiées chez 3 patients : 2 sont hétérozygotes composées et le 3^e, homozygote, est issu de parents consanguins. Un haplotype rare est commun chez 18 patients porteurs de la mutation prévalente, originaires d'Afrique du Nord, ce qui suggère fortement un effet fondateur dans le bassin méditerranéen. Ces données ont une influence directe sur la stratégie à employer pour l'analyse moléculaire des patients XP, en tenant compte du degré élevé de consanguinité. L'étude des lignées XPC retrouve la mutation prévalente p.V548A fsX572 à l'état homozygote dans 10 cas (9 patients originaires d'Afrique du Nord et un d'Espagne). De plus, 5 autres mutations du gène *XPC* ont été identifiées, l'une chez un patient d'Afrique du Nord à l'état homozygote, les 4 autres chez des patients européens, à l'état hétérozygote composite. **Conclusion :** La forme XP-C, la plus commune en Europe et en Afrique du Nord, est une maladie invalidante, caractérisée par une lourde morbidité et une mortalité précoce. La fréquence très élevée de la même mutation chez les malades d'Afrique du Nord va considérablement simplifier le diagnostic moléculaire du XP dans le Maghreb. Ceci aura 2 conséquences : d'une part, faciliter le diagnostic prénatal de la maladie dans les familles qui le souhaitent, et d'autre part permettre la réalisation du diagnostic présymptomatique dès la naissance afin de mettre en place une photoprotection adaptée.

Mots-clés : génodermatose, effet fondateur, diagnostic moléculaire.

■P343 / 134. RÔLE FONCTIONNEL DE L'ISOFORME LYMPHOCYTAIRE DE LA DYSTROPHINE TOUJOURS EN QUESTION : NOUVEAUX ÉLÉMENTS DÉDUITS DE L'ANALYSE D'UN SUJET BECKER PRÉSENTANT UN ALLÈLE COMPLEXE DU GÈNE *DMD*

P. Khau-Van-Kien, D. Thorel, C. Saquet, D. Méchin, S. Tuffery-Giraud, M. Claustres

Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHU de Montpellier/INSERM U827

Introduction : La régulation transcriptionnelle du gène dystrophine, le plus grand gène humain est un phénomène complexe et peu connu, qui permet de générer selon les tissus de nombreuses isoformes de la protéine. Parmi celles-ci, l'existence et le rôle d'une isoforme lymphocytaire (Dp427L), spécifiquement transcrite à partir d'un promoteur (juxtaposé à l'exon 1 non codant) situé à plus de 4,5 Mégabases de l'exon 2 est débattue dans la littérature. Nous rapportons ici les données issues de l'analyse d'un cas index présentant une dystrophinopathie. **Sujets et Méthodes - Sujet (cas index)** étudié exhaustivement en génétique moléculaire : recherche de grands réarrangements (MLPA), étude des transcrits musculaires (RT-PCR/PTT) et séquençage de la totalité des 79 exons et des 8 promoteurs - Etude de ségrégation familiale des variations identifiées - Etude épidémiologique des variations identifiées à partir de 164 chromosomes issus de la population générale et de 109 témoins masculins apparentés sains



sélectionnés dans des familles DMD antérieurement caractérisées – Etudes *in silico* : conservation inter et intra espèces, modélisation 3D de la mutation c.170T>C (p.Leu57Pro). Résultats – Seules deux variations potentiellement délétères et non décrites sont identifiées chez le cas-index : 1 – transition G>A en +1 du site donneur d'épissage de l'exon 1 de l'isoforme lymphocytaire : IVS1+1G>A (Dp4271) ; 2 – c.170T>C ou p.Leu57Pro (retrouvée sur les transcrits DMD sans anomalie d'épissage) dans l'exon 3 du gène *DMD*. – La ségrégation de ces deux variants dans la famille du cas index, montre que ceux-ci coségrègent en cis avec le statut des conductrices obligatoires. – La mutation c.170T>C (p.Leu57Pro) n'est pas retrouvée sur les 273 chromosomes témoins testés par contre, la deuxième variation : IVS+1G>A (Dp4271) est identifiée sur l'ADN du frère sain d'un cas index Duchenne présentant une duplication de l'exon 2 du gène *DMD*. Cette variation est également retrouvée chez la mère conductrice asymptomatique (notamment pas d'élévation des CPK). – Les études complémentaires, conservation inter et intra espèces, prédictions *in silico* et modélisation 3D de la variation c.170T>C (p.Leu57Pro) renforcent fortement son caractère délétère supposé (faux-sens situé au niveau du domaine de liaison à l'actine). Discussion/ Conclusion : La présence d'une variation altérant le site invariant GT d'épissage chez : 1 – un sujet témoin indemne de la maladie, 2 – en trans d'une mutation délétère chez sa mère conductrice obligatoire mais asymptomatique, 3 – en cis d'une autre mutation (p.Leu57Pro) dont la causalité est fortement suggérée ; indique que celle-ci correspond vraisemblablement à un polymorphisme rare, sans retentissement fonctionnel remarquable. Notre observation confirme certaines données de la littérature qui suggèrent un caractère artéfactuel et putatif de l'isoforme lymphocytaire Dp4271 du gène dystrophine.

Mots-clés : dystrophine, isoforme lymphocytaire (Dp4271), myopathies de Duchenne et de Becker.

■P344 / 135. LARGES DÉLÉTIONS DU GÈNE *SHOX* ET DE LA RÉGION PARI CHEZ UN PATIENT PRÉSENTANT UNE PETITE TAILLE ASSOCIÉE À UNE ÉPILEPSIE ET RETARD MENTAL

L. Mutesa, J.F. Vanbellinghen, K. Segers, M. Jamar, A.C. Hellin, G. Pierquin, V. Bours

Centre de Génétique Humaine, CHU de Liège Belgique

L'haploinsuffisance du gène *SHOX* (short-stature homeobox gene on the X chromosome) est habituellement associée à une petite taille idiopathique mais aussi à des anomalies radiographiques diverses. Cependant, des délétions au niveau de ce gène (Xp22.32-Yp11.3) et de la région PARI (pseudoautosomal region 1) voisine ont été mises en évidence dans la majorité des cas de dyschondrostéose Leri-Weill mais également dans une proportion significative des patients présentant une petite taille. Nous rapportons ici le cas inhabituel d'un patient présentant une petite taille associée à une épilepsie et retard mental idiopathiques, chez qui des délétions totales du gène *SHOX* et de la région PARI ont été mises en évidence par les techniques de FISH (fluorescent *in situ* hybridization) et de MLPA (Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification).

Mots-clés : gène *SHOX*, région PARI, délétions.

■P345 / 139. DU SYNDROME DE STÜVE-WIEDEMANN (SWS) AU SYNDROME DE CRISPONI

N. Dagoneau (1), S. Bellais (1), B. Leheup (2), P. Blanchet (3), P. Sarda (3), L.I. Al-Gazali (4), M. Di Rocco (5), C. Le Goff (1), A. Munnich (1), V. Cormier-Daire (1) et Le groupe international collaboratif sur le Syndrome de Stüve-Wiedemann

(1) Département de Génétique et INSERM U781, Hôpital Necker-Enfants-Malades, Paris, France ; (2) Département de Génétique, Hôpital Universitaire, Nancy, France ; (3) Département de Génétique, Hôpital Arnaud-de-Villeneuve, Montpellier, France ; (4) Département de Pédiatrie, Université des Émirats Arabes Unis, Al Ain, Émirats Arabes Unis ; (5) Seconde unité de Pédiatrie, Institut G.-Gaslini, Gènes, Italie

Le syndrome de Stüve-Wiedemann (SWS) est un syndrome autosomique récessif sévère caractérisé par une incurvation des os longs, avec un épaississement de la corticale interne, des anomalies métaphysaires, une campodactylie, des difficultés alimentaires, un trismus, une détresse respiratoire et des épisodes d'hyperthermie responsables du décès dans les premiers mois de vie. Grâce aux prélèvements de 19 familles, nous avons localisé le gène responsable de la maladie en 5p13 puis identifié des mutations dans le gène *LIFR* (Leukemia Inhibitory Factor Receptor). Nous avons pu montrer dans les fibroblastes de patients SWS que la perte de fonction du *LIFR* entraîne une perturbation de la voie de signalisation JAK/STAT. Depuis, nous avons étudié 26 nouvelles familles SWS, et identifié 18 mutations dont 11 nouvelles dans 17 familles. Dans les 9 autres familles, une étude de liaison réalisée au sein de 4 familles consanguines nous a permis

d'exclure le locus *LIFR* (5p13). De plus, pour 4 d'entre elles, l'étude de l'activation de la voie JAK/STAT en présence du *LIF* montre une activation normale. Le syndrome de Crispini est proche du SWS caractérisé par les mêmes manifestations de dysautonomie mais distinct par l'absence de manifestation osseuse. Nous avons exclu une mutation *LIFR* dans ce syndrome pour trois familles comprenant 4 enfants atteints. Puis, nous avons considéré *CRLF1* (Cytokine Receptor-Like Factor 1) impliqué dans le CISS (Cold-Induced Sweating Syndrome), comme gène candidat. Par séquençage direct, nous avons identifié dans *CRLF1* une mutation faux sens (c.226T>G, p.W76G) et quatre mutations tronquantes (c.242G>A, c.527+5G>A, c.676dupA, c.707dupC) dans quatre familles à ce jour. L'ensemble de ces résultats nous permet de suggérer l'implication de la voie CNTFR dans les manifestations de dysautonomie alors que la voie *LIFR* aurait un rôle spécifique dans les manifestations osseuses.

Mots-clés : syndrome de Stüve-Wiedemann, syndrome de Crispini, *CRLF1*.

■P346 / 143. SYNDROME DE TREACHER-COLLINS : EXPLORATION MOLÉCULAIRE ET CARACTÉRISATION DE DEUX NOUVELLES MUTATIONS

C. Collet (1), C. Baumann-Morel (2), J. Callebort (1), A. David (3), J.M. Launay (1), M. Lenne (1), S. Marlin (4), D. Martin-Coignard (5), A. Verloes (2), J.L. Laplanche (1)

(1) Service de Biochimie et Biologie Moléculaire, Hôpital Lariboisière, Paris, France ; (2) Service de Génétique Clinique, Hôpital Robert-Debré, Paris, France ; (3) Unité de Génétique Clinique, Hôpital mère-enfants, Nantes, France ; (4) Service de Génétique Clinique, Hôpital Trousseau, Paris, France ; (5) Service de Génétique, CH du Mans, Le Mans

Le syndrome de Treacher-Collins (TCS) ou syndrome de Franceschetti-Klein (OMIM 154500) est une affection congénitale responsable de malformations cranio-faciales de transmission autosomique dominante avec une pénétrance de 90 % et une expressivité variable. Les principaux signes cliniques sont une hypoplasie des os malaïres bilatérales symétriques, avec une obliquité anti-mongoloïde des fentes palpébrales, un colobome des paupières inférieures, une microtie et une fente palatine. Son incidence est estimée à 1/50 000 naissances. Le gène responsable de TCS est *TCOF1*, localisé en 5q32-33.1. De nombreuses mutations chez des patients atteints de TCS ont été rapportées dans les 28 exons du gène *TCOF1*. Il apparaît que cette pathologie résulte de mutations privées qui, dans leur majorité, introduisent un codon de terminaison prématuré dans la protéine TREACLE. Cette protéine localisée dans le noyau joue un rôle dans la production d'ARNr en s'associant avec le facteur de transcription UBF (upstream binding factor) lors de la transcription des gènes de l'ADN ribosomal. Il est supposé que les mutations dans le gène *TCOF1*, pourraient entraîner une mauvaise localisation de la protéine tronquée et en conséquence, une perte des fonctions de TREACLE. Depuis la mise en place du diagnostic moléculaire au laboratoire en 2006, nous avons analysé l'ADN de 8 patients âgés de 4 ans à 26 ans (2 filles et 6 garçons), par dHPLC et séquençage direct bidirectionnel. Les 28 exons, incluant le 3'UTR, et la région promotrice ont été étudiés. Cinq mutations ont été détectées dans le gène *TCOF1* : c.305-1G>T, p.S617X, c.4135_4139del-GAAAA ou c.4138_4142delAAGAA, p.P446NfsX17, p.P517AfsX9. Les mutations c.305-1G>T (site accepteur de l'exon 3) et p.P517AfsX9 (exon 11 : NM_000356) sont nouvelles. Aucune mutation n'a été détectée chez trois patients, aussi la présence d'un polymorphisme dans les exons 21 et/ou 23 n'exclut pas une délétion hétérozygote de certains exons en amont, hypothèse actuellement en cours d'étude. Les cinq mutations que nous avons identifiées semblent toutes responsables de la production d'une protéine tronquée, résultats en accord avec les études précédemment publiées. L'intérêt de l'analyse moléculaire du gène *TCOF1* se justifie par l'importante variabilité intra familiale encore inexpliquée, la description d'un cas de mosaïcisme et les relations éventuelles avec le syndrome voisin de Goldenhar.

Mots-clés : syndrome de Treacher-Collins-Franceschetti-Klein, mutation, analyse moléculaire.

■P347 / 144. FORME PRÉCOCE D'HÉMOCHROMATOSE CHEZ DEUX PATIENTS PRÉSENTANT DE NOUVELLES MUTATIONS DE TFR2

A.M. Jouanolle (1), A. Mosser (1), V. David (2), S. Sauvion (3), M. Ropert (4), B. Turlin (5), O. Loréal (6), Y. Deugnier (6, 7, 8), P. Brissot (6, 8)

(1) Laboratoire de Génétique Moléculaire, IFR 140, CHU Pontchaillou-Rennes ; (2) UMR6061-IFR140, Université de Rennes 1 ; (3) Service de Pédiatrie, CHU Jean-Verdier, Bondy ; (4) Laboratoire de Biochimie, CHU Pontchaillou, Rennes ; (5) Département d'Anatomie et Cytopathologie, CHU Pontchaillou, Rennes ; (6) Inserm U 522, IFR140, Université de

Rennes 1 ; (7) CIC Inserm 0203, CHU Pontchaillou, Rennes ; (8) Service des Maladies du Foie-CHU Pontchaillou, Rennes, Université

Introduction L'hémochromatose de type 3 due à des mutations du gène codant le récepteur 2 de la transferrine (*TfR2*) est une pathologie de surcharge en fer dont la présentation clinique et l'évolution sont le plus souvent similaires à celles de l'hémochromatose de type 1 relevant de l'homozygotie pour la mutation p.Cys282Tyr. La prévalence de cette entité n'étant pas connue, une étude portant sur des patients suivis dans notre centre ou adressés pour avis a été mise en place afin d'évaluer l'implication de *TfR2* dans le développement d'une surcharge en fer. Patients et méthodes 31 patients non apparentés ont été inclus dans l'étude ; ils présentaient une élévation des paramètres sériques du bilan martial : coefficient de saturation de la transferrine supérieur à 60 %, taux de ferritine plasmatique compris entre 566 microgrammes/L et 7 460 microgrammes/L. Tous avaient une surcharge hépatique en fer avérée, évaluée par coloration de Perl's sur ponction de biopsie ou par IRM. La surcharge en fer ne relevait ni des gènes *HFE* et *SLC40A1* ni des gènes *HJV* et *HAMP*. L'analyse du gène *TfR2* a été réalisée par séquençage des exons et des régions introniques flanquantes. Résultats Deux patients présentant des mutations de *TfR2* ont été identifiés. – Un jeune homme de 27 ans originaire de Bretagne qui consultait pour asthénie, arthralgies de la main droite et perturbation du bilan martial : élévation du fer sérique (48 micromoles/L), du coefficient de saturation de la transferrine (64 %) et de la ferritine plasmatique (1 015 microgrammes/L). L'analyse de la ponction de biopsie hépatique a révélé une fibrose de stade IV et une concentration en fer massive. Deux mutations du gène *TfR2* ont été mises en évidence, l'une dans l'exon 17 (p.Met705HisfsX87) non rapportée dans la littérature, l'autre dans l'exon 18 (p.Gly792Arg) déjà décrite. – Une fillette âgée de 11 ans née de parents consanguins originaires d'Afrique du Nord. Le bilan biologique réalisé pour asthénie a révélé des anomalies du bilan martial : fer sérique 50 micromoles/L, coefficient de saturation de la transferrine 98 %, ferritinémie 560 microgrammes/L. La concentration hépatique en fer évaluée par IRM atteignait 200 micromoles/g de foie sec (N > 36). L'étude du gène *HFE* avait mis en évidence une hétérozygotie pour la mutation p.His63Asp, aucune mutation n'avait été identifiée dans les gènes *HJV* et *HAMP* impliqués dans l'hémochromatose juvénile. L'étude du gène *TfR2* a permis d'identifier une nouvelle mutation p.Arg678Pro retrouvée à l'état homozygote. Conclusion : Deux cas d'hémochromatose de type 3 relevant de mutations non décrites de *TfR2* ont été mis en évidence dans un groupe de 31 patients présentant une surcharge en fer inexpliquée. Le phénotype diffère d'une hémochromatose de type 1 puisque les 2 patients présentent très jeunes des signes de surcharge hépatique en fer et qu'il n'existe pas de différence d'expression phénotypique entre les 2 sexes. Cette étude confirme l'existence d'une corrélation génotype-phénotype majeure dans l'hémochromatose de type 3. En pratique, le diagnostic d'hémochromatose relevant de *TfR2* devrait être évoqué devant une surcharge en fer survenant chez un sujet jeune n'impliquant ni *HJV* ni *HAMP*.

Mots-clés : hémochromatose, *HFE*, *TfR2*.

■P348 / 146. LA LOCALISATION SUBCELLULAIRE DE L'HOMOLOGUE HUMAIN DE MUTS, HMSH4 EST RÉGULÉE D'UN PART, PAR UN EXPORT NUCLEAIRE ACTIF DÉPENDANT DE CRM1 ET D'AUTRE PART, PAR SA DIMÉRISATION AVEC SON PARTENAIRE HMSH5

F. Lespinasse (1), F. Lahaye (1), S. Neyton (1), P. Staccini (2), V. Paquis-Flucklinger (1), S. Santucci-Darmanin (1)

(1) UMR CNRS 6543, Faculté de Médecine, Nice ; (2) Stic, Faculté de Médecine, Nice

Les protéines MSH4 et MSH5 appartiennent à la famille des homologues de la protéine bactérienne MutS. Il s'agit d'une famille de protéines hautement conservées au cours de l'évolution et impliquées dans différents aspects du métabolisme de l'ADN tels que la réparation des mésappariements de paires de bases et la recombinaison homologue. Plusieurs études indiquent que MSH4 et MSH5 fonctionnent sous forme d'un hétérodimère lors des étapes précoces et tardives du processus de recombinaison méiotique chez les mammifères. Néanmoins, le rôle précis de ces protéines est encore mal compris et des travaux récents suggèrent que la protéine humaine MSH4 pourrait également exercer une fonction cytoplasmique. Nous montrons ici, que la protéine MSH4 est présente dans le cytoplasme et le noyau des cellules germinales et aussi de cellules somatiques transfectées, et nous démontrons, pour la première fois, que la localisation subcellulaire de MSH4 est régulée au moins en partie par un mécanisme d'export nucléaire actif. Nous observons en effet que la protéine MSH4 s'accumule dans le compartiment nucléaire après un traitement des cellules avec la leptomycine B, un inhibiteur spécifique de l'exportine CRM1. La construction de mutants de délétion et de mutants ponctuels de la protéine

MSH4 nous a permis d'identifier deux séquences d'export (NES) fonctionnelles dans la région C-terminale de cette protéine, ces deux séquences étant requises pour permettre un export nucléaire via la protéine CRM1. Nos résultats suggèrent que CRM1 est également impliquée dans l'export nucléaire de MSH5. Enfin, nous observons que la dimérisation des protéines MSH4 et MSH5 facilite la localisation nucléaire de ces protéines ce qui suggère que l'interaction entre MSH4 et MSH5 est potentiellement impliquée dans la régulation de leur trafic intracellulaire. La navette entre le cytoplasme et le noyau s'est avérée être un mécanisme important dans la régulation de protéines multifonctionnelles impliquées dans la réparation de l'ADN et le maintien de la stabilité génétique, telles que BRCA1, p53 et FANCA. Nos résultats suggèrent qu'une navette nucléocytoplasmique pourrait participer également à la régulation des fonctions des homologues de MutS, MSH4 et MSH5.

Mots-clés : gènes *MSH*, transport nucléocytoplasmique, recombinaison méiotique.

■P349 / 149. ANALYSE MOLÉCULAIRE DE 22 CAS ATTEINTS DE DYSTONIE DOPA-SENSIBLE SANS MUTATION PONCTUELLE DU GÈNE *GCHI*

F. Clot (1, 2, 3, 4), D. Grabli (1, 2, 3, 5), E. Roze (6), M. Vidailhet (1, 2, 3, 5, 7), A. Afenjar (4, 8), D. Doummar (8), A. Durr (1, 2, 3, 4), A. Brice (1, 2, 3, 4, 5, 7) et Réseau des Dystonies Françaises

(1) INSERM U679, Paris ; (2) Université Pierre-et-Marie-Curie, UMR S679, Hôpital de la Pitié-Salpêtrière, Paris ; (3) Institut Fédératif des Neurosciences (IFR70), Hôpital de la Pitié-Salpêtrière, Paris ; (4) AP-HP, Hôpital de la Salpêtrière, Département de Génétique, Cytogénétique et Embryologie, Paris ; (5) AP-HP, Hôpital de la Pitié-Salpêtrière, Fédération de Neurologie, Paris ; (6) AP-HP, Hôpital Saint-Antoine, Service de Neurologie, Paris ; (7) Université Pierre-et-Marie-Curie, École Médicale de la Pitié-Salpêtrière, Paris ; (8) AP-HP, Hôpital Armand-Trousseau, Service de Neuropédiatrie, Paris

La dystonie dopa-sensible (DRD pour Dopa-responsive dystonia) dans sa forme typique débute par des troubles de la marche pendant l'enfance dus à une dystonie des membres inférieurs pouvant s'étendre progressivement. Chez l'adolescent et le jeune adulte, un torticolis spasmodique ou une crampe de l'écrivain peut être la seule manifestation. La maladie se transmet sur le mode autosomique dominant ou récessif. Dans les formes à transmission autosomique dominante, de nombreuses mutations du gène de la GTP cyclohydrolase I (*GCHI*) ont été identifiées. Le gène code pour une enzyme limitante de la biosynthèse de la tétrahydrobioptérine (BH4) elle-même cofacteur important de la tyrosine hydroxylase responsable de la conversion de la tyrosine en L-dopa. La majorité des mutations décrites dans le gène sont des mutations ponctuelles, responsables de formes typiques de la maladie. Quelques grandes délétions exoniques ont été identifiées, mais leur fréquence reste probablement sous estimée car leur recherche n'est pas systématique. Récemment la technique MLPA (Multiplex Ligation-Dependent Probe Amplification), facilement réalisable et fiable, a été mise au point pour doser les exons du gène *GCHI*. De plus, deux autres gènes codant pour la sépiapérine réductase (*SPR*) et pour la tyrosine hydroxylase (*TH*) sont responsables de formes autosomiques récessives de DRD, dont l'expression clinique est hétérogène. Afin de préciser la fréquence des mutations de ces gènes causant les DRD, nous avons recherché des délétions du gène *GCHI* par MLPA chez 22 patients non porteurs d'une mutation ponctuelle. Nous avons également analysé par séquençage les gènes *SPR* et *TH* chez les patients pour lesquels le gène *GCHI* était exclu. Nous avons identifié 6 patients porteurs de 5 délétions différentes à l'état hétérozygote dans le gène *GCHI* (délétion complète du gène, de l'exon 1, de l'exon 6, des exons 2 à 6 et des exons 5 à 6). Trois des 6 patients étaient des cas « sporadiques » et 3 étaient des cas familiaux. L'âge de début moyen de la maladie était de 4,4 ans (+/- 2,9). La dystonie avait débuté aux membres inférieurs chez tous les patients et un des patients présentait un retard mental. L'analyse par séquençage des autres gènes a permis d'identifier deux mutations dans le gène *SPR* à l'état homozygote (c.596 - 2A > G et p.R150G) chez deux patients. L'un des patients présentait un retard mental et une dystonie qui a débuté au niveau des yeux et du tronc à l'âge de 6 ans. Le second patient présentait depuis la naissance des crises oculogyres et après quelques mois un syndrome parkinsonien. Enfin, nous avons détecté deux patients porteurs de mutations hétérozygotes composites dans le gène *TH* (p.F375L/S647G et p.R319P/G414R). Ces patients présentaient un tableau clinique à début précoce caractérisé par un retard moteur, un syndrome akinéto-rigide et une dystonie généralisée. Les 12 patients restants (9 cas isolés et 3 cas familiaux) pour lesquels aucune mutation n'a été identifiée dans les gènes étudiés, avaient un âge de début de la maladie de 6,7 ans (+/- 6,6). Trois des patients avaient une dystonie ayant débuté à un membre supérieur et à l'exception d'un patient



qui présentait un discret retard mental, aucune caractéristique clinique particulière n'a été observée. Dans notre cohorte de patients DRD, non porteurs d'une mutation ponctuelle du gène *GCH1*, l'utilisation de la MLPA a permis d'améliorer de 27 % l'identification des mutations dans le gène *GCH1*. D'autre part, le séquençage des gènes *SPR* et *TH* a permis d'identifier 4 patients supplémentaires porteurs de mutations. Ainsi sur les 22 patients DRD étudiés sans mutation ponctuelle du gène *GCH1*, 46 % ont une origine génétique identifiée.

Mots-clés : dystonie dopa-sensible, MLPA-GCH1, séquençage *TH-SPR*.

■P350 / 152. CDKL5 ET ENCÉPHALOPATHIES ÉPILEPTIQUES PRÉCOCES CHEZ LES FILLES : UN GÈNE À NE PAS NEGLIGER
L. Lambert (1), A. Saunier (1), F. Verneau (1), F. Giuliano (2), B. Doray (3), A. Goldenberg (4), M.A. Nguyen Morel (5), P. Jonveaux (1), C. Philippe (1)

1) Laboratoire de Génétique, CHRU Brabois, rue du morvan, Vandœuvre-lès-Nancy ; (2) Unité de Génétique Médicale, Hôpital de l'Archet II, CHU Nice ; (3) Service de Génétique Médicale, Hôpital Hautepierre, Strasbourg ; (4) Unité de Génétique Clinique, Hôpital C.-Nicolle, Rouen ; (5) Département de Pédiatrie, Hôpital A.-Michallon, Grenoble

Les mutations dans le gène *CDKL5/STK9* localisé en Xp22 sont responsables d'une encéphalopathie épileptique dominante liée à l'X. *CDKL5* a été impliqué dans des spasmes infantiles syndromiques (syndrome de West) ainsi que chez des jeunes filles présentant un phénotype recoupant celui du syndrome de Rett (variant Hanefeld). L'immense majorité des allèles délétères de *CDKL5* entraîne l'apparition de convulsions précoces (avant 2 mois) de type spasme infantile. Jusqu'à présent, des mutations ponctuelles (faux-sens, décalages du cadre de lecture, anomalies de l'épissage) ont été principalement décrites chez des filles bien que peu de garçons avec épilepsie précoce aient été explorés à ce jour. Suite à l'implication du gène *CDKL5* dans des encéphalopathies épileptiques précoces, nous avons mis en place le criblage de ce gène en 2005 chez les patientes présentant un syndrome de Rett avec épilepsie de caractère inaugural sans mutation délétère dans le gène *MECP2*. Par la suite, nous avons élargi notre recrutement aux encéphalopathies sévères et précoces (< 6 mois) ainsi qu'aux spasmes infantiles principalement chez la fille mais également chez le garçon. Au préalable, nous avions éliminé chez les sujets de sexe masculin les mutations récurrentes touchant les deux expansions de polyalanines dans le gène *ARX*. Nous avons mis en place un criblage du gène *CDKL5* par séquençage systématique des 23 exons (y compris les exons 1, 1A et 1B non codants) ainsi qu'une recherche de grands réarrangements (RGT) par QMPSF (une PCR multiplexe pour l'analyse des exons 2, 3, 8, 11, 12, 14, 20 et 21). Nous avons étudié une cohorte de 112 patients (22 garçons et 90 filles), dans la majorité des cas les deux gènes (*MECP2* et *CDKL5*) ont été analysés. Outre des polymorphismes connus (publiés dans la littérature ou répertoriés dans la base de données italienne <http://www.biobank.unisi.it/Elencorett.asp>) nous présentons des nouveaux variants polymorphes ou délétères du gène *CDKL5*. Toutes ces variations de séquences ont été mises en évidence par séquençage. Au total nous avons détecté un allèle délétère à l'état hétérozygote chez 7 filles sur 90 testées (7,8 %). Ces 7 patientes présentent toutes sans exception une épilepsie sévère très précoce (entre 2 semaines et 8 mois) et un profil d'inactivation de l'X aléatoire. L'analyse du gène *CDKL5* par QMPSF n'a révélé, à ce jour, aucun RGT. De la même façon, aucune mutation dans le gène *CDKL5* n'a été retrouvée chez des garçons avec encéphalopathie épileptique sévère précoce. Nous décrivons sept nouvelles mutations dans *CDKL5* : 5 mutations faux-sens (p.Ala40Val chez deux patientes, p.Asp153Gly, p.Arg178Pro, p.Leu227Arg), une mutation affectant le site donneur d'épissage de l'intron 7 (c.463+1G>A), une duplication d'un nucléotide entraînant un décalage du cadre de lecture (c.1311dupC). Toutes ces mutations sont des anomalies *de novo*. Les mutations faux-sens touchent des aa localisés dans le domaine serine-thréonine kinase (aa 13 à 297), elles sont sans effet sur l'épissage (tests *in vitro* sur ARN totaux extraits de sang prélevé sur tubes PAXgene). Notre étude démontre clairement qu'il est important de cribler le gène *CDKL5* chez les filles présentant une encéphalopathie épileptique sévère précoce avec ou sans signes cliniques évocateurs d'un syndrome de Rett, ce gène est sans doute beaucoup plus rarement impliqué dans l'étiologie moléculaire des épilepsies précoces chez les garçons. Nous n'avons pas détecté de grands réarrangements dans *CDKL5* par QMPSF, ce qui tend à démontrer que ce type de mutation n'est pas fréquent. Cependant nous n'avons analysé que 8 des 23 exons de *CDKL5* sur un panel de 90 filles et il sera nécessaire de cribler une plus large cohorte de patientes pour l'ensemble des exons afin d'évaluer la part des RGT dans les allèles délétères responsables de cette encéphalopathie épileptique dominante liée à l'X.

Mots-clés : *CDKL5*, encéphalopathie épileptique précoce, spectre mutationnel.

■P351 / 153. QUANTIFICATION RELATIVE DE LA TRANSCRIPTION DU GÈNE MECP2 CHEZ DES PATIENTES PRÉSENTANT UN SYNDROME DE RETT

L. Lambert, A. Saunier, C. Nemos, S. Yilmaz, P. Jonveaux, C. Philippe
Laboratoire de Génétique, Hôpitaux de Brabois, CHRU, Vandœuvre-lès-Nancy

Environ 10 % des formes typiques de syndrome de Rett restent inexpliquées au terme d'une stratégie de diagnostic moléculaire comprenant 1) un séquençage complet du gène *MECP2* (et de *CDKL5* pour la forme variante avec épilepsie sévère précoce) et 2) la recherche de grand réarrangement génomique touchant *MECP2* par une méthode quantitative. Des altérations affectant le taux de transcrits du gène *MECP2* pourraient être responsables d'une proportion des cas de Rett typiques sans mutation délétère touchant la séquence codante de *MECP2*. L'appréciation du niveau de transcription du gène *MECP2* chez ces patientes est une approche indirecte pour repérer des altérations touchant des éléments régulateurs de la transcription de ce gène (en cis : promoteur, enhancer, silencer ou en trans : facteur de transcription) ou des séquences introniques importantes pour un épissage correct de *MECP2*. Nous avons donc choisi de développer une nouvelle approche diagnostique, permettant d'évaluer le niveau de transcription du gène *MECP2* par quantification relative à l'aide du SYBR Green par la méthode des delta delta Ct en utilisant deux endogènes différents (β -actine et ESD). Nous avons tout d'abord testé l'efficacité et la spécificité de notre méthode à l'aide de témoins sains qui montrent une faible variabilité interindividuelle du niveau d'expression des 2 transcrits *MECP2_e1* et *MECP2_e2* lorsque les ARN sont extraits de sang frais prélevé sur tubes PAXgene. À l'inverse, les essais de RT-qPCR sur ARN extraits de lymphoblastes de témoins sains ou de patientes montrent une forte variabilité interindividuelle. Après cette étape de validation technique, nous avons appliqué ce protocole de RT-qPCR pour rechercher, chez des patientes atteintes d'un syndrome de Rett typique et non porteuses d'une mutation délétère dans *MECP2*, une variation du niveau de transcription de *MECP2_e1* et/ou *MECP2_e2*. Nous avons appliqué ce protocole de quantification relative sur des ARN totaux extraits du sang frais pour une série de 8 patientes Rett typiques. Nous avons détecté une diminution de 50 à 80 % du taux des transcrits *MECP2_e1* et *MECP2_e2* dans 3 cas sur 8. Pour ces trois patientes montrant une haploinsuffisance au niveau transcriptionnel, le profil d'inactivation de l'X au locus HUMARA est aléatoire. Des analyses complémentaires (Western blot, étude des séquences régulatrices de *MECP2*) sont en cours pour d'une part confirmer les résultats de RTqPCR au niveau protéique mais également pour rechercher une cause à cette diminution du taux de transcription, élément essentiel pour confirmer au niveau moléculaire le diagnostic clinique de syndrome de Rett chez ces trois patientes.

Mots-clés : syndrome de Rett, *MECP2*, RT qPCR.

■P352 / 155. EXPRESSION ET MÉTHYLATION DU GÈNE DU TRANSPORTEUR DE LA SÉROTONINE (SLC6A4) DANS DES LIGNÉES LYMPHOBLASTOÏDES DE PATIENTS AUTISTES

R. Tabagh (1, 2), S. Védrine (2), R.-A. Thépault (1), P. Vourc'h (1, 2), C. R. Andres (1, 2)

(1) INSERM 619 ; (2) Faculté de Médecine, 10, Bd Tonnellé, 37032 Tours Cedex, Université François-Rabelais de Tours, CHRU de Tours

Le gène *SLC6A4* (17q12), qui code le transporteur de la sérotonine (5-HTT), est un gène candidat dans l'autisme. En effet une augmentation du taux de sérotonine sanguine a été observée chez plus de 30 % des patients autistes. Des inhibiteurs de la recapture de la sérotonine agissant sur 5-HTT sont efficaces pour traiter l'anxiété et l'agressivité chez les patients autistes. Nous avons étudié quatre polymorphismes du gène *SLC6A4* (SNP A/G et 5HTTLPR dans le promoteur, VNTR dans l'intron 2, SNP dans l'UTR3') dans des populations françaises de patients autistes (n = 103), de patients avec déficience mentale (DM) non syndromique (n = 100) et d'individus contrôles (n = 164). Nous n'avons pas observé d'association entre la DM et les polymorphismes testés. Mais nous avons mis en évidence une association significative (2=13.38, p=0.00025) entre l'autisme et l'allèle court du polymorphisme 5HTTLPR situé dans le promoteur. (Odds ratio de 1,93 ; CI 95 % :1,35-2,75). Nous étudions actuellement les niveaux d'expression et la méthylation de la région promotrice du gène *SLC6A4* dans des lignées lymphoblastoïdes d'autistes portant différents génotypes de 5HTTLPR. Ces lignées sont cultivées avec ou sans BDNF (Brain derived neurotrophic factor), un facteur connu pour agir sur l'activité de 5-HTT. Nos résultats sont en faveur de l'implication du gène *SLC6A4* dans l'autisme, et suggèrent plus précisément qu'une forme particulière du promoteur de ce gène pourrait être un facteur de susceptibilité à l'autisme. Remerciements : INSERM, Région Centre.

Mots-clés : gène du transporteur de la sérotonine, expression et méthylation, autisme.

■P353 / 156. BASE DE DONNÉES MAROCAINE DES MUTATIONS HUMAINES – THE MOROCCAN HUMAN MUTATION DATA-BASE (MOHUMUDA)

I. Ratbi, A. Gati, A. Sefiani

Département de Génétique médicale, Institut National d'Hygiène, Rabat, Maroc

La population marocaine est hétérogène, composée notamment d'amazighs, d'arabes, de personnes d'origine negro africaines et d'une minorité de marocains de confession juive. Quelques millions de marocains vivent actuellement en dehors du pays en particulier suite aux immigrations de la deuxième moitié du siècle dernier. La population marocaine se caractérise par un taux de consanguinité élevé, près de 25 % et une natalité qui reste importante malgré une forte diminution ces dernières années. Les maladies génétiques représentent un vrai problème de santé au Maroc et leur importance relative va croître avec les progrès réalisés dans les domaines des maladies environnementales et infectieuses. Nous rapportons la construction d'une base de données marocaine des mutations humaines, initiée en 2007, et maintenue par l'équipe du Département de génétique médicale de l'Institut National d'Hygiène (Rabat, Maroc). Elle est hébergée par le site de l'Institut et librement accessible à l'adresse http://www.sante.gov.ma/Departements/INH/MoHuM_uDa/index.htm. La base de données répertorie les mutations humaines et les polymorphismes des maladies génétiques identifiés chez la population marocaine natale et chez les patients d'origine marocaine vivant à l'étranger rapportées dans la littérature (Pubmed et autres ressources en ligne), lors des réunions scientifiques, ainsi que des mutations non publiées, directement soumises au comité scientifique de la base de données par courrier électronique. Les études de marqueurs microsatellites ne sont pas rapportées. Le but de cette base de données est de rendre accessible aux généticiens, chercheurs et professionnels de la santé, grâce à l'outil Internet, des informations régulièrement mises à jour sur les mutations géniques détectées dans la population marocaine, et d'encourager les projets de collaboration entre différentes équipes.

Mots-clés : base de données, mutations, Maroc.

■P354 / 157. ÉTUDE DE L'IMPLICATION DU GÈNE *NF2* DANS LES SCHWANNOMES VESTIBULAIRES ET PROPOSITION D'UNE STRATÉGIE D'ÉTUDE

F. Petit (1), C.-M. Dhaenens (1), X.-N. Bonne (1), C. Piriou (1), C.-A. Maurage (2), C. Vincent (3), D. Allorge (1)

(1) Laboratoire de biologie moléculaire, Centre de biologie, CHRU de Lille ; (2) Service d'anatomopathologie, Centre de biologie, CHRU de Lille ; (3) Service d'Otologie et Otoneurologie, Hôpital Salengro, CHRU de Lille

Le schwannome vestibulaire est une tumeur bénigne, qui survient dans la grande majorité des cas de façon isolée et sporadique chez l'adulte ou le sujet âgé. Plus rarement, il survient dans un contexte de neurofibromatose de type 2 et se présente classiquement de façon bilatérale, en association avec d'autres tumeurs bénignes. Nous avons étudié l'implication du gène *NF2* dans le développement de schwannomes vestibulaires isolés sporadiques, ainsi que dans les formes atypiques de *NF2* ne répondant pas aux critères conventionnellement reconnus. En effet, les critères diagnostiques cliniques utilisés pour le *NF2* sont particulièrement non adaptés pour le diagnostic initial des patients se présentant sans schwannome vestibulaire bilatéral, notamment chez les patients à histoire familiale négative, et d'autant plus lorsqu'il s'agit d'une tumeur isolée. Chez ces patients, le pourcentage de mutations détectées dans l'ADN leucocytaire apparaît quasi-nul et seule l'analyse de l'ADN tumoral, quand elle est possible, semble apporter un bénéfice. Au total, les résultats de notre travail nous ont permis de redéfinir une stratégie d'étude du gène *NF2* en fonction de la présentation clinique.

Mots-clés : schwannome vestibulaire, neurofibromatose de type 2, *NF2*.

■P355 / 170. MISE EN PLACE D'UN TEST DE FONCTIONNALITÉ *IN VITRO* POUR LES MUTATIONS FAUX-SENS DU GÈNE *BMPR2* IMPLIQUÉ DANS L'HYPERTENSION ARTÉRIELLE PULMONAIRE PRIMITIVE

F. Coulet (1), S. Martin (1), K. Montagne (1), F. Lebrin (1), B. Sztrymf (2), G. Simonneau (2), M. Humbert (2), F. Soubrier (1)

(1) Laboratoire d'Oncogénétique et d'Angiogénétique Moléculaire, Groupe hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris ; (2) UPRES EA2705, Service de Pneumologie et Réanimation Respiratoire, Hôpital Antoine-Béclère, Clamart

L'hypertension artérielle pulmonaire (HTAP) (OMIM 178600) est une maladie progressive associant vasoconstriction, thrombose, prolifération et

remodelage des artères pulmonaires de petit calibre menant à une insuffisance cardiaque droite et à une diminution marquée de la survie. La forme familiale de la maladie est liée à des mutations hétérozygotes sur le gène *BMPR2* (Bone Morphogenetic receptor II) codant pour un récepteur de type II du BMP de la voie de signalisation de la superfamille du TGF-beta. La fixation du ligand BMP sur le récepteur BMPRII entraîne la formation d'un complexe avec le récepteur de type I qui est alors phosphorylé, et induit la phosphorylation des récepteurs de type Smads 1,5,8 qui se lient à Smad4 pour intégrer le noyau et activer ou inhiber des cibles transcriptionnelles de façon directe ou indirecte. Des mutations sur le gène *BMPR2* sont retrouvées dans 60 % des formes familiales et 20 à 30 % des formes sporadiques d'HTAP. Une grande variété de mutations ponctuelles a été rapportée sur le gène *BMPR2* (Lane, Nat Genet, 2000 ; Machado, Hum Mutat, 2006) : non-sens, avec décalage du cadre de lecture, ou faux-sens. L'interprétation clinique des mutations faux-sens est plus difficile que celle des mutations tronquantes. L'incidence sur la fonctionnalité des mutations faux-sens repose actuellement sur les arguments de conservation inter-espèces, d'identification de ces variations dans des populations de sujets sains, de caractères physico-chimiques des acides aminés concernés et de la description dans les bases de données de mutations identifiées. Pour une meilleure interprétation des mutations faux-sens, notre objectif est de mettre en place un test visant à caractériser *in vitro* la fonctionnalité de ces mutations. Le modèle cellulaire utilisé est un modèle de cellules endothéliales de souris « Mouse Embryon Endothelial Cells (MEEC) ». Nous avons mis en place un test fonctionnel mesurant l'effet sur les cibles transcriptionnelles de la voie de signalisation BMP passant par la voie des Smads par mesure de luminescence après cotransfection d'un plasmide contenant un élément de réponse aux BMP en amont du gène rapporteur luciférase. Les transfections transitoires sont réalisées par cotransfection du plasmide rapporteur contenant l'élément de réponse au BMP, de 2 vecteurs (pcDNA6.2-GW/EmGFP-miRNA) permettant l'invalidation du gène *BMPR2* murin d'une part et de l'Activine A receptor de type II (ACVR2) murin d'autre part, ainsi que du vecteur d'expression de *BMPR2* humain sauvage ou muté. Nous avons sélectionné 12 mutations d'intérêt réparties sur tout le gène *BMPR2*, qui ont été introduites dans le vecteur par mutagenèse dirigée. Après transfection et traitement par le ligand BMP4 (50 ng/ml), nous mesurons la restauration de la réponse au BMP4 en présence de *BMPR2* humain sauvage ou muté. Les mutations faux-sens que nous avons testées et qui sont situées dans le domaine kinase de la protéine (exons 5 à 11) ne permettent pas la restauration de la réponse au BMP, résultat permettant d'affirmer leur caractère délétère. En revanche, certaines mutations faux-sens ou tronquantes situées hors du domaine kinase, en c-terminal, ne compromettent pas la réponse au BMP suggérant la perte d'activité d'une autre voie de signalisation du récepteur, alternative aux Smads, dont l'invalidation peut prédisposer également à la maladie. Cette voie pourrait être celle des MAPkinases. En conclusion, d'une part, nous avons mis en place un test fonctionnel qui nous permettra de conclure sur l'aspect délétère ou non des mutations faux-sens situées dans le domaine kinase du gène *BMPR2*. D'autre part, nous avons démontré que l'effet de mutations tronquantes situées dans la queue cytoplasmique n'est pas médié par la voie des Smads mais par d'autres voies qu'il reste à explorer.

Mots-clés : *BMPR2*, HTAP, faux-sens.

■P356 / 180. DIAGNOSTIC MOLÉCULAIRE DES ANOMALIES CONSTITUTIVES DES PROTÉINES DU SURFACTANT PULMONAIRE : STRATÉGIE ET BILAN

D. Feldmann (1), L. Jonard (1), R. Abou Taam (2), M. Bahuau (3), M. Tredano (1), R. Couderc (1), A. Clément (4), J. de Blic (2), R. Epauld (4) (1)Service de Biochimie, AP-HP, Hôpital Armand-Trousseau, Paris ; (2) Service de Pneumologie Pédiatrique, AP-HP, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris ; (3) Unité Fonctionnelle de Génétique, AP-HP, Hôpital Henri-Mondor, Créteil ; (4) Unité de Pneumologie Pédiatrique, AP-HP, Hôpital Armand-Trousseau, Paris ; Inserm, UMR-S U719, Paris ; Université Pierre-et-Marie-Curie, Paris

Des anomalies constitutives des protéines du surfactant pulmonaire ont été récemment décrites. Elles constituent un ensemble phénotypiquement hétérogène. Le déficit en protéine B du surfactant (SP B), transmis sur le mode autosomique récessif (mutations du gène *SFTPB*), se caractérise par une détresse respiratoire gravissime du nouveau-né à terme, peu ou pas sensible au traitement par le surfactant exogène et à la ventilation assistée. Les anomalies de la protéine SP C (gène *SFTPC*), de déterminisme autosomique dominant, ont été décrites chez des patients pédiatriques ou adultes atteints de pathologies interstitielles et/ou alvéolaires chroniques. Enfin, des mutations récessives du gène *ABCA3*, codant pour une protéine membranaire de la famille ABC des transporteurs utilisant l'ATP, sont responsables de tableaux de détresse respiratoire relativement hétérogènes dans



lesquels le métabolisme du surfactant est globalement affecté avec des déficits non spécifiques en protéine SP B et/ou des tableaux éventuellement évocateurs de protéinose alvéolaire. L'étude moléculaire des gènes *SFTPB*, *SFTPC* et *ABCA3* constitue une aide diagnostique majeure pour cet ensemble hétérogène de pathologies pulmonaires et s'inscrit dans l'arbre décisionnel proposé. Cent-quarante-deux patients non apparentés atteints de détresse respiratoire néonatale inexplicable ($n = 42$), de pathologie respiratoire définie par une hypoxie chronique et/ou des signes de bronchopathie et/ou insuffisance respiratoire chronique (toux productive, crépitations, tirage intercostal), en association à une radiographie du thorax anormale ($n = 100$) ont été étudiés. La mutation prévalente de chacun des trois gènes (c.361C>GAA ou 121ins2 pour *SFTPB*, p.Ile73Thr pour *SFTPC* et p.Glu292Val pour *ABCA3*) a été recherchée en première intention. Ensuite, le choix du séquençage de l'un des trois gènes a été orienté par la symptomatologie clinique et les examens complémentaires (étude du lavage broncho-alvéolaire, biopsie pulmonaire). – 4 déficits en SP-B ont été identifiés : 3 patients étaient homozygotes pour la mutation c.361C>GAA et 1 patient était homozygote pour la mutation c.672+2delT-GAGG. – 13 pathologies liées à SP C ont été observées : la mutation p.Ile73Thr était présente chez 9 patients ; 4 nouvelles mutations c.325-1G>A, c.424delC soit p.His142ThrfsX26, c.563T>C soit p.Leu188Pro, c.566G>A soit p.Cys189Tyr ont été identifiées. L'effet délétère de chacune de ces nouvelles mutations est probable. Aucune n'était présente dans 100 chromosomes contrôles. La mutation c.325-1G>A affecte le site accepteur d'épissage de l'exon 4 et un effet délétère dominant négatif de la délétion de l'exon 4 a déjà été démontré. La mutation c.424delC dans l'exon 4 induit des modifications d'acides aminés dans la partie terminale de l'exon 4 et dans l'exon 5 qui sont des régions cruciales pour la maturation du précurseur protéique proSP-C. Les nouvelles mutations fautes sens observées sont situées sur des acides aminés conservés de la protéine, l'acide aminé 188 est un point chaud de mutation, alors que le résidu 189 est le siège d'un pont disulfure. Parmi les patients ayant une mutation du gène *SFTPC*, 9 avaient hérité la mutation d'un de leur parent et 4 présentaient probablement une néomutation. Une grande hétérogénéité phénotypique intrafamiliale a été observée. Un déficit en *ABCA3* a été identifié chez un patient porteur du génotype Q215K/R288K. 3 patients portaient la mutation p.Glu292Val à l'état hétérozygote et la séquence complète de *ABCA3* est en cours d'étude chez ces patients. Les atteintes dues à des mutations dans *SFTPB*, *SFTPC* ou *ABCA3* sont responsables de pathologies respiratoires suivant des mécanismes physiopathologiques qui commencent seulement à être élucidés. Cependant la complexité du métabolisme du surfactant, les familles de patients chez qui aucune anomalie moléculaire n'a encore été identifiée et les phénotypes intrafamiliaux variables suggèrent que de nombreux facteurs moléculaires restent encore à découvrir.

Mots-clés : surfactant, *SFTPB*, *SFTPC*.

■P357 / 183. DIAGNOSTIC MOLÉCULAIRE DES ALPHA-DYSTROGLYCANOPATHIES NON LIÉES À *FKRP*

C. Bouchet (1), S. Vuillaumier-Barrot (1), M. Gonzales (2), F. Encha-Razavi (3), A. Yanagisawa (4, 5), S. Maugendre (4, 5), F. Leturq (6), S. Quijano-Roy (4, 7), P. Guicheney (4, 5), N. Seta (1), SOFFOET et réseau Français DMC (GIS-MR)

(1) AP-HP, Hôpital Bichat Claude Bernard, Biochimie Métabolique, Paris, France ; (2) AP-HP, Hôpital Armand-Trousseau, Génétique et Embryologie Médicale, Paris, France ; (3) AP-HP, Hôpital Necker, Embryologie, Paris, France ; (4) INSERM U582, Institut de Myologie, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France ; (5) Université Pierre-et-Marie-Curie Paris 6, UMR S582, IFR14, Paris, France ; (6) AP-HP, Hôpital Cochin, Biochimie et Génétique Moléculaire, Paris, France ; (7) AP-HP, Hôpital Raymond-Poincaré, Pédiatrie, Biochimie Métabolique, Paris, France

Introduction : l'alpha-dystroglycan (alpha-DG) est une des protéines majeures du complexe de la dystrophine. Des anomalies de O-glycosylation (O-mannosylation) de cette protéine sont à l'origine de certaines dystrophies musculaires congénitales (DMC) et de formes plus sévères d'apparition fœtale, les lissencéphalies de type II (LIS II) ou syndrome de Walker Warburg (WWS). **Matériel et Méthodes :** Notre étude porte sur deux populations de patients : 58 familles présentant au moins un cas fœtal de LIS II inclus sur les critères suivants : hydrocéphalie, agyrie, leptoméniges épaissies, ectopie neurogliale, dysplasie cérébrale ; et 62 patients DMC de sévérités diverses mais présentant tous un défaut de glycosylation de l'alpha-DG sur muscle ou en western blot. Une famille comprend à la fois un cas LIS II et un cas DMC. Les gènes codant pour les glycosyltransférases potentiellement impliquées dans le processus de O-mannosylation (*POMT1*, *POMT2*, *POMGnT1*, *FCMD*, *LARGE*) ont été séquencés sur

ADN génomique. Le gène *LARGE* a été dans un second temps étudié au niveau du cDNA. **Résultats :** L'analyse de ces 119 familles d'alpha-dystroglycanopathies, nous a permis d'identifier le gène en cause pour 49 d'entre elles. 58 mutations différentes, dont 46 nouvelles ont été trouvées dans les 5 gènes étudiés. Le diagnostic moléculaire a pu être posé dans 52 % des cas de LIS II : 15 familles *POMT1*, 9 *POMGnT1*, 5 *POMT2*, 1 *LARGE*, 0 *FCMD*. Pour *POMT1*, 21 mutations ont été identifiées, pour *POMGnT1* 10 mutations, pour *POMT2* 8 mutations et une mutation homozygote dans *LARGE*. Dans 31 % des cas de DMC, le gène a été identifié, avec une prédominance de formes liées à *POMT2* : 10 *POMT2*, 3 *POMGnT1*, 3 *FCMD*, 2 *POMT1*, 1 *LARGE*. Huit familles *POMT2* présentent la même mutation p.Tyr666Cys pour laquelle un effet fondateur a été trouvé. Cinq mutations (4 faux sens et un codon stop) ont été identifiées chez trois patients non apparentés dans le gène *FCMD*. Au total 21 mutations différentes ont été retrouvées pour les patients DMC. **Discussion :** Nous présentons ici le bilan de l'étude moléculaire des alpha-dystroglycanopathies non liées à *FKRP* regroupant à la fois les LIS II et les DMC. Cette étude montre une bonne efficacité de diagnostic moléculaire notamment pour les formes cliniques les plus typiques. La corrélation phénotype/génotype dans les LIS II nous permet désormais de cibler le diagnostic moléculaire en fonction de l'examen foetopathologique. Les cas les plus graves de LIS II, ectopie neurogliale sévère et atteintes multisystémiques semblent plus souvent liés à *POMT1* et *POMT2* tandis que les formes plus modérées, sans atteintes multisystémiques sont liées à *POMGnT1*. Les mutations *POMT1* des LIS II se traduisent toutes par une protéine tronquée (codon stop, décalage du cadre de lecture ou mutation d'épissage) alors que les 2 patients atteints de DMC présentent au moins une mutation faux sens. La sévérité de la pathologie dépendrait donc non seulement du gène impliqué mais également du type de mutation. Chez les patients DMC, le gène *POMT2* doit être étudié en priorité mais on ne peut exclure l'étude de *POMT1*. Trois patients atteints de DMC liée à *FCMD* ont été diagnostiqués, indiquant que ce gène doit aussi être étudié chez des patients non originaires du Japon. L'identification d'une mutation *LARGE* dans un cas de LIS II montre qu'il est important de séquencer ce gène non seulement dans des formes peu sévères de DMC comme initialement décrit mais également dans les formes plus sévères de type LIS II ou WWS.

Mots-clés : alpha-dystroglycan, dystrophie musculaire congénitale, Lissencéphalie type II.

■P358 / 188. DOMINANT-NÉGATIVE *GCMB* MUTATIONS CAUSE HYPOPARATHYROIDISM

M. Mannstadt (1), G. Bertrand (2), M. Muresan (3), G. Weryha (3), B. Leheup (4), SR. Pulusani (1), B. Grandchamp (2), H. Jüppner (1, 5), C. Silve (2, 6)

(1) Endocrine Unit and (5) Pediatric Nephrology Unit, Massachusetts General Hospital and Harvard Medical School, Boston, MA, USA ; (2) AP-HP, Hôpital Bichat Claude Bernard, Service de Biochimie Hormonale et Génétique, Paris ; (3) Service d'Endocrinologie, CHU de Nancy-Brabois, Nancy ; (4) Service d'Endocrinologie Pédiatrique et Génétique Clinique, CHU de Nancy-Brabois, Nancy ; (6) INSERM U773, Faculté de Médecine Xavier-Bichat, Paris

Hypoparathyroidism (HP) is characterized by low parathyroid hormone (PTH) levels, hypocalcemia and hyperphosphatemia. Heterozygous mutations in preproPTH or the calcium-sensing receptor (CaSR) cause some forms of autosomal dominant HP (AD-HP), while homozygous mutations in glial-cell missing B (*GCMB*) have been implicated in autosomal recessive HP. Importantly, heterozygous carriers of these mutations were healthy. The transcription factor GCM, first described in the fruit fly as a master regulator of glial cell development, belongs in mammals to a small family of key regulators of the development of parathyroid glands. We now report the identification of heterozygous *GCMB* mutations as the cause of autosomal dominant hypoparathyroidism in two unrelated families with several affected members ; in both families, mutations in the genes encoding PTH and the CaSR were excluded. Because of the dominant mode of inheritance, we therefore considered the possibility of dominant negative *GCMB* mutations. Indeed, direct nucleotide sequence analysis of *GCMB* led to the identification of two novel, heterozygous mutations in genomic DNA of the affected, but not in the unaffected individuals in each family. Both heterozygous *GCMB* mutations are single nucleotide deletions within *GCMB* exon 5 (c1389delT and c1399delC) that introduce a frame-shift resulting in the truncation of the C-terminal *GCMB* region, which contains the putative second transactivation domain. To further elucidate the mechanism through which these heterozygous *GCMB* mutations cause autosomal dominant hypoparathyroidism, we tested in HEK and DF-1 cells whether the mutant *GCMB* inhibits the actions of the wild-type transcription factor using a *GCMB*-activated luciferase reporter. These experiments

demonstrated that both GCMB mutants impaired dose-dependently the transactivation capacity and thus the biological activity of wild-type GCMB ; when expressed alone, the mutants exhibited a reduced capacity to activate the reporter. These findings strongly indicate that the newly discovered GCMB mutants have dominant-negative properties. The identification of two similar heterozygous *GCMB* mutations and the dominant negative effect observed *in vitro* establish the molecular basis for this form of AD-HP and provide a plausible explanation for HP in both families. These results indicate that *GCMB* is a novel gene candidate to be tested in autosomal dominant HP, in addition to *PTH* and *CaSR*.

Mots-clés : hypoparathyroidisme, transcription factor, autosomal dominant.

■P359 / 190. X-LINKED MENTAL RETARDATION – FIVE YEAR EXPERIENCE

M. Nawara (1, 2), M. Jurek (1), K. Szczepanek (1), J. Bal (1), T. Mazurczak (1)

(1) *Département de Génétique Médicale, Institut de la Mère et de l'Enfant, Kasprzaka 17a, 01-211 Varsovie, Pologne*; (2) *Postgraduate School of Molecular Medicine, Pasteura 3, 02-093 Varsovie, Pologne*

Mental retardation is the main reason of referral to genetic counselling unit in the Institute of Mother and Child. Despite its high incidence, about 50 % of patients remain without the complete molecular and clinical diagnosis. Our laboratory is the only one in Poland offering full molecular analysis of Fragile X syndrome. Since 1992 we have collected in our database 2795 FraX negative patients. Out of this group we have selected patients for further investigations of X-linked mental retardation (XLMR). Selected families (204) were divided into two groups : a) 94 pXL (potentially X-linked) with at least two males affected in a family and one obligate female carrier ; b) 110 BP (brother pairs) with at least two brothers affected. In these BP families 26 had three or more affected brothers. In the group pXL we also included 10, and in the group of BP 3 families with less severely affected females. All probands were tested for mutations in the coding sequence of *ARX* and *MECP2*. We identified five duplications in *ARX*, and one mutation and seven polymorphic variants in *MECP2*. All patients with severe/moderate mental retardation were also analysed for *MECP2* duplications. The duplication was confirmed in three cases. In one patient we identified a deletion in *SLC6A8* gene by using the same MLPA kit. Additionally, *FRAXE* analysis was previously performed for total number of 842 patients (most of them sporadic, few with cytogenetic fragile site). No *FRAXE* expansion was found. We also recontacted many families from the group pXL and collected samples for linkage analysis of 181 individuals from 18 families. For two large families a lod score > 2 was calculated. For both probands known MRX (nonspecific XLMR) genes in the linkage intervals were analysed. In one family a partial deletion of *ILIRAPL1* was identified. For small families with lod score < 2 the exclusion mapping and mutation analysis is in progress. In total, causative mutations were identified in ten families.

Mots-clés : retard mental, analyse de liaison, *ARX*.

■P360 / 191. MUTATIONS DU GÈNE DE L'ANGIOGÉNINE DANS UNE POPULATION FRANÇAISE DE PATIENTS ATTEINTS DE SCLÉROSE LATÉRALE AMYOTROPHIQUE SPORADIQUE

A. Paubel (1, 2), P. Vourc'h (1, 2), J. Praline (1, 3), M. Amy (1), C. Cherpi-Antar (1, 2), W. Camu (4), P. Corcia (1, 3), C. Andres (1, 2), Groupe Français de Recherche de la SLA
(1) *INSERM U619-CHU de Tours*; (2) *Service de Biochimie-CHU de Tours*; (3) *Service de Neurologie, CHU de Tours*; (4) *Service de Neurologie-CHU de Montpellier*

La Sclérose Latérale Amyotrophique (SLA) est une affection neurodégénérative secondaire à une perte progressive des neurones moteurs du tronc cérébral, de la moelle épinière et/ou du cortex cérébral, dont l'évolution est fatale en 2 à 5 ans. En France, elle touche environ 1 000 personnes par an et les formes familiales représentent 10 % des cas.

Plusieurs facteurs intervenant dans la néovascularisation ont été impliqués dans la physiopathologie de la SLA. Des haplotypes corrélés à une faible concentration sanguine de VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor) ont été associés à un risque plus élevé de SLA. Des mutations du gène *ANG* (14q11.2) codant l'Angiogenine, un inducteur de la néovascularisation, ont récemment été identifiés dans des populations de SLA sporadique et familiale. Le gène *ANG* est composé d'un exon et code une protéine de 123 résidus d'acides aminés appartenant à la famille des ribonucléases A, dont le rôle physiologique exact reste méconnu. Nous avons séquencé la région codante du gène *ANG* chez 800 patients d'origine française atteints de SLA sporadique. Nous avons identifié trois mutations faux sens différentes chez quatre patients (K17R, I46V×2, R124H). La mutation

R124H (G434A), affectant une arginine située dans la région C-terminale correspond à une nouvelle mutation du gène de l'Angiogenine dans la SLA. Des tests fonctionnels permettront de montrer si ces mutations entraînent une perte de fonction de l'Angiogenine. Nos résultats sur une grande population française de patients atteints de SLA sporadique confirment l'implication possible du gène de l'Angiogenine dans l'étiologie de cette maladie neurodégénérative pour laquelle il n'existe encore aucun traitement curatif.

Mots-clés : sclérose latérale amyotrophique, angiogenine, maladie neurodégénérative.

■P361 / 196. RECHERCHE DE MUTATIONS PONCTUELLES DANS LE GÈNE *FMRI*

N. Boutry-Kryza (1), G. Lesca (1), P. Edery (2), V. Des Portes (3), M.P. Cordier (4), J. Lespinasse (5), A. Calender (1)

(1) *Laboratoire de Génétique Clinique et Moléculaire, Hôpital Edouard Herriot, Hospices Civils de Lyon*; (2) *Service de Cytogénétique Constitutionnelle, Centre de Biologie et de Pathologie Est, Hospices Civils de Lyon*; (3) *Service de Neuropédiatrie, Hôpital Debrousse, Hospices Civils de Lyon*; (4) *Consultation de génétique, pavillon K, Hôpital Edouard-Herriot, Hospices Civils de Lyon*; (5) *Service de Cytogénétique, hôpital de Chambéry*

Le syndrome de l'X fragile est la première cause de retard mental lié au chromosome X. Sa fréquence est estimée à 1/4 000 hommes et 1/6 000 femmes. Sur le plan clinique, les patients présentent un retard mental sévère à modéré, une dysmorphie caractéristique mais inconstante et une macro-orchidie présente après la puberté. La confirmation du diagnostic au niveau moléculaire est très importante pour le conseil génétique. La maladie est causée, dans sa forme courante, par l'expansion d'une répétition de triplets CGG située dans la partie 5' non traduite du gène *FMRI*, associée à une méthylation anormale du locus et aboutissant à l'absence de production de la protéine FMRP. À côté de plusieurs délétions de grande taille, seules trois mutations ponctuelles ont été décrites jusqu'à présent. Elles comprennent une insertion/délétion de 2 pb, une délétion d'une pb ainsi que la substitution I304N, située dans la région codant pour le domaine KH2 de la protéine. L'étude moléculaire du gène *FMRI* est indiquée chez la plupart des patients présentant un retard mental mais, compte tenu de la taille du gène, seule l'expansion de trinucéotides est recherchée dans le cadre du diagnostic de routine. L'objectif de notre étude était d'estimer la prévalence des mutations ponctuelles du gène *FMRI* dans une cohorte de 50 patients présentant un retard mental non syndromique sans cause identifiée et sans expansion CGG. Les patients ont été recrutés dans le cadre d'une consultation de génétique médicale ou de neuropédiatrie et ont bénéficié d'un bilan étiologique étendu. Nous avons séquencé les 17 exons du gène *FMRI*, ainsi que les jonctions intron-exon chez ces patients et dans un groupe de 100 témoins. Nous avons mis en évidence 7 variations de séquence. Cinq d'entre-elles correspondent à des polymorphismes et sont retrouvées avec une fréquence similaire chez les témoins et les patients. Elles comprennent deux substitutions exoniques isosémantiques (c.18G > T et c.144G > A) et trois mutations introniques (c.801+31C>T, c.990+14C>T et c.1654+59_60dupTG). La substitution c.1737+8C>A, située dans l'intron 16 est retrouvée chez un seul patient. L'étude de l'ARNm ne retrouve pas de conséquence au niveau de l'épissage. La substitution isosémantique c.651G>A, située dans l'exon 8 est présente chez deux patients mais absente chez les témoins. Nous ne disposons pas d'ARNm pour étudier un éventuel effet sur l'épissage. Bien que nous n'ayons pas mis en évidence de mutation pathogène dans le groupe de patients étudiés, le gène *FMRI*, de par sa fonction, reste un bon candidat chez les patients porteurs de retard mental potentiellement lié à l'X. Le développement de tests protéiques et de techniques de biologie moléculaire à haut-débit permettrait de mieux cibler les patients candidats à de telles études et de réévaluer la participation de ces mutations dans les retards mentaux liés à l'X.

Mots-clés : X-fragile, mutation ponctuelle, séquençage.

■P362 / 203. DÉLÉTION DU GÈNE DE LA PROGRANULINE : UNE NOUVELLE CAUSE DE DÉMENCE FRONTOTEMPORALE

A. Rovelet (1), S. Legallie (1), F. Pasquier (2), I. Leber (3), T. Frebourg (1), D. Campion (1)

(1) *Inserm U614, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Institut Hospitalo-Universitaire de Recherche Biomédicale de Rouen*; (2) *Service de Neurologie, CHU de Lille*; (3) *Inserm U679, Hôpital de la Pitié-Salpêtrière, Paris*

Ces dernières années, le développement de méthodes d'analyse des remaniements chromosomiques telles que la CGH-array a permis de mettre en



exergue l'importance des variations du nombre de copies (CNV) en génétique humaine, notamment dans le développement de pathologies sporadiques, dues à des altérations *de novo*. Par la suite, il a également été mis en évidence un rôle des CNVs dans la transmission de pathologies mendéliennes, notamment dans le cas de duplications segmentaires de gènes observées dans la maladie d'Alzheimer et la maladie de Parkinson. L'étude des réarrangements génomiques dans les maladies neurodégénératives à transmission autosomique dominante permet non seulement d'identifier des altérations causales, mais également de mieux comprendre les mécanismes physiopathologiques de ces maladies. Les démences frontotemporales (DFT) sont les démences les plus répandues chez les individus de moins de 65 ans, et sont transmises de façon mendélienne dans la moitié des cas. Plusieurs gènes ont été impliqués dans ces formes autosomiques dominantes : le gène *VCP* (Valosin-containing protein), situé en 9p21, le gène *CHMP2B* (Charged Multivesicular Protein 2B), situé en 3p13, le gène *MAPT* (Microtubule-associated Protein), situé en 17q21-22 et plus récemment le gène *PGRN* (Progranuline), également situé en 17q21-22, qui code pour un facteur de croissance. De nombreuses mutations ont été identifiées sur le gène *PGRN*, au niveau des régions exoniques ou introniques. Ces mutations de type non sens ou d'épissage ont pour conséquence commune d'aboutir à une perte d'expression de l'allèle muté. Dans ce cadre, nous avons émis l'hypothèse qu'une délétion du gène de la progranuline pourrait également être à l'origine de DFT. Afin de tester cette hypothèse, nous avons utilisé la technique de QMPFSF (Quantitative Multiplex of Short Fragments), une méthode basée sur l'amplification simultanée de courts fragments génomiques dans des conditions quantitatives et permettant la détection d'anomalies quantitatives hétérozygotes. Nous avons analysé 60 patients recrutés par le CHU de Lille présentant une DFT, ainsi que 120 sujets contrôles. Dans une famille présentant une forme autosomique dominante de DFT, nous avons identifié une délétion impliquant l'ensemble des exons du gène de la progranuline. L'exploration par QMPFSF des gènes adjacents a révélé que seul ce gène était délété, et par la suite les bornes de la délétion ont été déterminées par séquençage. Une délétion du gène de la progranuline est donc à l'origine d'une forme autosomique dominante de DFT. Ceci non seulement confirme le mécanisme d'haploinsuffisance de la progranuline dans la physiopathologie des DFT, mais est également une nouvelle preuve du rôle causal des CNVs dans les maladies neurodégénératives.

Mots-clés : Progranuline, CNV, QMPFSF.

■P363 / 204. SCREENING OF THE CHOROIDEREMIA GENE IN CANINE PROGRESSIVE RETINAL ATROPHY

L. Robert (1), A. Sénéchal (1), A. Thomas (2), C. André (3), C. Hamel (1)

(1) INSERM U583, Institut des Neurosciences de Montpellier ; (2) Société Antagène, Limonest ; (3) CNRS 6061, Université Rennes 1

Introduction : Choroideremia is an X-linked, inherited retinal dystrophy involving the choroid, the retinal pigment epithelium and the photoreceptors, leading patients to complete blindness. *CHM*, the gene for choroideremia, located on chromosome Xq21.2, is ubiquitously expressed. The *CHM* product is known as the Rab escort protein (REP)-1, which prenylates small Rab proteins in the eye. In choroideremia, all *CHM* mutations currently identified lead to C-terminal truncated proteins or to the loss of the protein. The clinical features and some genes of canine progressive retinal atrophies (PRA) still remain poorly described in many breeds. In particular, it is not known whether choroideremia exists in dogs. We therefore searched for mutations in a panel of dogs with PRA. Finding mutations on this gene could allow to potentially using dogs as models of gene therapy in choroideremia. Matériel et Méthodes. Genomic DNAs of dog representatives from 72 breeds and 4 crossed animals were randomly amplified. The 15 exons and flanking sequence of *CHM* were PCR-amplified and subjected to direct sequencing. The resulting sequence was compared with the *CHM* mRNA deposited in Genbank (XM_538092). Résultats : We first carried out a literature search of all the *CHM* mutations currently identified in humans since 1987. We found 89 nonsense, splice site or frameshift (deletion or insertion) mutations, 3 translocations and 40 exon skipping. These mutations are distributed along the gene with a majority situated in exons 5 and 6. We then sequenced *CHM* in 88 DNA samples from dogs. On the 5 exons sequenced so far, we detected three variants. Two of them, c.3144+64A>G (intron 4) and c.1411-9A>G (intron 11), were found in 18 and 20 % of the studied population, respectively. It is of note that the intron 11 variant is found in the consensus acceptor splice site of exon 12. The third variant, c.1478C>A was found in exon 12 and leads to Ser493Tyr. It was found in only one dog which is a male Gordon setter. Discussion : The finding of Ser493Tyr in one dog suggests that it could be a rare polymorphism or a mutation. Serine 493 is indeed conserved in

mammals, exposed and predicted as a functional residue (ConSeq program). In addition, the tyrosine at this position is not tolerated and is predicted to affect the protein function with a score of 0.05 (SIFT program). The sequencing of the other *CHM* exons and investigations on Ser493Tyr are undergoing.

Mots-clés : choroideremia, progressive retinal atrophy, canis familiaris.

■P364 / 217. LES DÉPLETIONS DE L'ADN MITOCHONDRIAL SONT UNE CAUSE MAJEURE DE DÉFICIT MULTIPLE DE LA CHAÎNE RESPIRATOIRE CHEZ L'ENFANT

E. Sarzi (1), A. Bourdon (1), D. Chrétien (1), M. Zarhrate (2), J. Corcos (2), A. Slama (3), V. Cormier-Daire (1, 2), P. de Lonlay (4), A. Munnich (1,2), Agnès Rötig (1)

(1) INSERM U781, Hôpital Necker-Enfants Malades, 149 rue de Sèvres, 75015 Paris ; (2) Service de Génétique, Hôpital Necker-Enfants Malades, 149 rue de Sèvres, 75015 Paris ; (3) Laboratoire de Biochimie 1, Hôpital Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre ; (4) Maladies du Métabolisme, Hôpital Necker-Enfants Malades, 149 rue de Sèvres, 75015 Paris

Les déplétions de l'ADN mitochondrial (ADNmt) consistent en une réduction importante du nombre de copies de l'ADN mitochondrial et conduisent à un déficit enzymatique de la phosphorylation oxydative. Elles sont dues à des mutations de gènes nucléaires impliqués dans le maintien de l'ADNmt. Les déplétions regroupent un ensemble cliniquement et génétiquement hétérogène de patients. Afin de déterminer l'incidence des déplétions de l'ADN mitochondrial dans les déficits multiples de la chaîne respiratoire, nous avons mis au point la quantification de l'ADNmt par PCR quantitative en temps réel. Cette quantification a été réalisée dans le foie et/ou le muscle de 300 patients présentant un déficit multiple de la chaîne respiratoire. Nous avons ainsi mis en évidence que 126 patients présentaient une diminution du nombre de copies de l'ADNmt (inférieure à 35 % d'ADNmt résiduel). Une grande majorité de ces patients (55 %) présente une forme néonatale avec une atteinte hépatique sévère, un second groupe présente une encéphalopathie convulsivante et une hyperlactacidémie (25 %). Un troisième groupe comprend les syndromes d'Alpers (13 %) et enfin un dernier groupe de patients présente des atteintes cliniques plus hétérogènes telles qu'encéphalopathies, myopathies, tubulopathies, retards psychomoteurs... Des mutations ont été mises en évidence majoritairement dans les gènes *DGUOK* et *POLG* pour le groupe des atteintes hépatocébrales et les syndromes d'Alpers respectivement. Cinq patients présentant une encéphalopathie et une tubulopathie ont des mutations dans un nouveau gène de déplétion *p53R2* et un seul patient atteint de myopathie présentait une mutation dans le gène *TK2*. Aucune mutation n'a été retrouvée pour le groupe de patients avec encéphalopathie convulsivante et hyperlactacidémie ou cardiomyopathie. Cette étude a permis de montrer que les déplétions de l'ADNmt sont une cause majeure de déficit multiple de la chaîne respiratoire en période néonatale. Cependant dans 70 % des cas, la mutation responsable n'a pu être identifiée. Publié dans The Journal of Pediatrics. 2007 May ;150(5) :531-4, 534.e1-6

Mots-clés : déplétions, *DGUOK*, *POLG*.

■P365 / 220. UNE NOUVELLE MUTATION DANS LE GÈNE MITOCHONDRIAL CODANT POUR LE CYTOCHROME B (*MTCYB*), RESPONSABLE D'UNE DÉFAILLANCE POLYVISCÉRALE NÉONATALE

K. Fragaki (1), S. Bannwarth (1), G. Augé (1), F. Casagrande (2), J.-C. Lambert (1), V. Paquis-Flucklinger (1)

(1) Service de Génétique Médicale, Centre de référence des pathologies mitochondriales, CHU de Nice ; (2) Service de Pédiatrie, CHU de Nice

Les déficits de la chaîne respiratoire sont extrêmement hétérogènes en termes de présentation clinique, de déficit biochimique et d'origine génétique. Néanmoins, les mutations identifiées dans le gène mitochondrial *MTCYB* sont presque toujours responsables d'un déficit en complexe III dans le muscle avec une présentation clinique de type intolérance à l'effort. Nous décrivons un enfant né à terme, eutrophique, qui a présenté une détresse respiratoire en salle de naissance. Les parents sont non consanguins et il n'existe aucun antécédent familial. L'examen retrouve une hypotonie avec une souffrance cérébrale diffuse et des convulsions infracliniques subintrantes focalisées à l'EEG. Le reste du bilan objective une acidose lactique majeure, une insuffisance hépatocellulaire et une myocardiopathie hypertrophique. L'enfant décède à 24 h de vie dans un tableau de défaillance polyviscérale. Le dosage des complexes de la chaîne respiratoire ne retrouve pas de déficit dans le muscle, mais un déficit isolé en complexe III est identifié à partir du prélèvement hépatique. Le séquençage du gène *MTCYB* a permis de retrouver une nouvelle transition T → C en position 15635 qui entraîne le remplacement d'un acide aminé hydrophile

par une proline (S297P) dans un domaine transmembranaire, très conservé, de la protéine. Cette transition est retrouvée à un haut niveau d'hétéroplasmie dans tous les tissus étudiés (muscle, foie, myocarde, leucocytes et fibroblastes) ; ceci pouvant expliquer la gravité du tableau clinique présenté. L'étude des ascendants maternels, sur différents types cellulaires, devrait permettre de vérifier si l'hypothèse d'une origine sporadique peut être envisagée. De plus, la mutation m.15635 n'est pas présente dans la base de données MITOMAP (www.mitomap.org/) alors qu'elle est retrouvée 1 seule fois dans mtDB (www.genpat.uu.se/mtDB/), indiquant que cette transition n'est pas retrouvée fréquemment dans la population générale. Tous ces éléments sont en faveur du caractère pathogène de cette mutation qui devrait être confirmé par les tests fonctionnels en cours.

Mots-clés : mutation dans le gène *MTCYB*, complexe III, déficit de la chaîne respiratoire.

■P366 / 222. TRANSLLECTURE DE CODONS STOP PRÉMATURÉS PAR LA GENTAMICINE : APPLICATION AU SYNDROME DE STÜVE-WIEDEMANN

Samuel Bellais, Nathalie Dagoneau, Carine Le Goff, Arnold Munnich, Valérie Cormier-Daire
Département de Génétique Médicale et INSERM U 781, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France

Le syndrome de Stüve-Wiedemann (SWS) est une chondrodysplasie sévère caractérisée par une incurvation des os longs associée à des accès d'hyperthermie responsables du décès dans les premiers mois de vie. Aucun traitement n'est actuellement disponible pour ce syndrome rare transmis sur un mode autosomique récessif et en rapport avec des mutations dans le gène *LIFR* (Leukemia Inhibitory Factor Receptor). Nous avons pu montrer que la perte de fonction du récepteur au LIF entraîne une perturbation de la voie de signalisation JAK/STAT. L'identification de mutations non sens chez les patients nous permet d'envisager une approche pharmacologique basée sur la capacité des aminoglycosides à favoriser la transllecture de codons stop prématurés. Nous disposons des fibroblastes de 6 patients SWS porteurs de mutations de type codon stop prématuré à l'état homozygote dans le gène *LIFR* et nous avons montré pour chacun une absence de phosphorylation de STAT3 en présence de LIF. Nous disposons également de fibroblastes contrôles et nous avons ainsi pu déterminer à l'aide de ce test fonctionnel, qu'après un traitement de 48 h par 200 ou 500 mg/l de gentamicine le taux de restauration du signal pouvait atteindre environ 5 % dans le cas d'un codon stop prématuré de type UGAc. L'efficacité de transllecture varie en effet en fonction de l'environnement nucléotidique proche du codon stop impliqué. Nous avons également étudié la stabilité des ARNm *LIFR* de fibroblastes de patients traités ou non par 200 mg/l de gentamicine. Les analyses préliminaires de RT-PCR quantitative révèlent que la gentamicine augmente d'un facteur trois la stabilité des ARNm *LIFR* présentant un codon stop prématuré de type UGAc chez deux de nos patients. Nous venons d'obtenir la molécule PTC124 auprès de la firme PTC Therapeutics permettant de poursuivre les essais de transllecture de codons stop prématurés sur nos fibroblastes de patients avec une molécule peu toxique et au potentiel supérieur à celui de la gentamicine dans l'optique de futurs essais cliniques.

Mots-clés : syndrome de Stüve-Wiedemann, transllecture de codons stop prématurés, aminoglycosides.

■P367 / 225. CARACTÉRISATION DE 25 NOUVELLES MUTATIONS CHEZ 94 PROBANDS DE GRANULOMATOSE SEPTIQUE CHRONIQUE

C. Kannengiesser (1), B. Gérard (1), J. El Benna (2), D. Henri (1), S. Chollet-Martin (2, 3), M.-A. Gougerot-Pocidallo (2, 3), C. Elbim (2, 3), B. Grandchamp (1)

(1) Service de Biochimie Hormonale et Génétique, Hôpital Bichat-Claude Bernard, 46 rue Henri Huchard, 75018 Paris, France ; (2) INSERM U773, Faculté Xavier Bichat, 16 rue Henri Huchard, 75018 Paris, France ; (3) Service d'Immunologie et d'Hématologie, Hôpital Bichat-Claude Bernard, 46 rue Henri Huchard, 75018 Paris, France

Introduction : La granulomatose septique chronique (chronic granulomatous disease, CGD) résulte de mutations inactivatrices constitutionnelles de l'un des 4 gènes *CYBB*, *CYBA*, *NCF1* et *NCF2* codant respectivement pour les sous-unités de la NADPH oxydase, gp91phox, p22phox, p47phox et p67phox. Les mutations de *CYBB*, gène localisé sur le chromosome X sont retrouvées dans la forme la plus fréquente transmise sur le mode récessif lié à l'X. Les autres formes sont transmises sur le mode autosomique récessif. Matériel et Méthodes : Une série de 94 cas index (88 hommes et 6 femmes) ont été diagnostiqués comme CGD sur des critères cliniques et biologiques (absence de production de formes réactives

de l'oxygène par les polynucléaires neutrophiles) ; l'identification de la sous unité manquante a été réalisée par immunoblot. En fonction des résultats, une recherche de mutations dans les séquences codantes, les jonctions exons-introns de *CYBB*, *CYBA*, *NCF1* ou *NCF2* a été réalisée par séquençage direct. Des marqueurs microsatellites furent étudiés pour certaines mutations récurrentes de *CYBB*. Résultats : l'exploration moléculaire de 93 probands sur 94 (88 hommes et 6 femmes) s'est révélée positive. Soixante seize (73 hommes et 3 femmes) étaient porteurs d'une mutation de *CYBB*. Les 3 femmes présentaient un biais d'inactivation de l'X. Douze patients portaient une mutation de *NCF1* : 9 hommes homozygotes pour la mutation récurrente delGT et 3 femmes (dont 2 homozygotes pour deux mutations non sens distinctes et 1 hétérozygote composite pour la delGT et une mutation non sens). Trois patients présentaient une mutation de *NCF2* et 2 patients une mutation de *CYBA*, tous à l'état homozygote. Parmi 67 mutations différentes identifiées, 30 n'ont jamais été rapportées à notre connaissance : 25 nouvelles mutations de *CYBB* dont 5 mutations faux sens, 5 mutations affectant les sites d'épissage, 9 mutations non sens, 3 délétions et 1 duplication décalant le cadre de lecture, 6 grandes délétions. Nous décrivons aussi une nouvelle mutation non sens de *NCF1*, une nouvelle mutation affectant les sites d'épissage et une délétion pour *NCF2*, de même que pour *CYBA*. Les données expérimentales (analyse fonctionnelle des polynucléaires neutrophiles et immunoblot) montrent que ces mutations diminuent fortement ou abolissent l'expression de la sous unité en cause et la fonction de la NADPH oxydase. L'analyse des microsatellites montrent que 5 mutations de *CYBB* qui constituent des mutations récurrentes, rapportées plusieurs fois dans les bases de données et plusieurs fois dans notre série (supérieur ou égal à 2) correspondent à des points chauds mutationnels. Discussion : Cette série confirme la grande hétérogénéité génétique des CGD. Pour les formes de CGD non liées à l'X, on retrouve une homozygotie vraie dans 16 sur 17 cas, traduisant une fréquence consanguinité dans ces formes. Les CGD liées à l'X sont les formes génétiques les plus fréquentes (82 %) dans notre série. Cette proportion est supérieure à celle de 70 % rapportée dans la plus grande série publiée (États-Unis : 368 patients, Winkelstein *et al.*, 2000). Notre recrutement comprend probablement moins de familles consanguines. Une autre observation est le faible nombre de cas index de sexe féminin dans les formes récessives (3/17 cas, $p = 0.012$), suggérant qu'il puisse exister un sous-diagnostic de la granulomatose septique chronique chez les filles. Il est intéressant à cet égard de noter que nous retrouvons chez 2 parmi les 3 filles ayant une forme récessive avec mutations de *NCF2* un tableau clinique atténué.

Mots-clés : granulomatose septique chronique, *CYBB*, NADPH oxydase.

■P368 / 226. DÉTECTION D'ÉLÉMENTS EXONIQUES RÉGULATEURS D'ÉPISSAGE ET IDENTIFICATION DES PROTÉINES IMPLIQUÉES DANS CETTE RÉGULATION : L'EXEMPLE DES GÈNES MMR DANS LE SYNDROME DE LYNCH

M. Vezain (1), J. Soret (2), J. Tazi (2), T. Frébourg (1, 3), M. Tosi (1) A. Martins (1)

(1) Inserm U614, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Institut Hospitalo-Universitaire de Recherche Biomédicale de Rouen ; (2) Institut de Génétique Moléculaire de Montpellier (IGMM), CNRS UMR 5535, Montpellier ; (3) Service de Génétique, CHU de Rouen

De nombreux variants de signification biologique inconnue sont identifiés chez les patients, dans le cadre de l'analyse de gènes impliqués dans les maladies mendéliennes. De tels variants ne peuvent pas être utilisés sur le plan médical. Certains de ces variants pourraient avoir un effet sur la maturation de l'ARN pré-messager en altérant des éléments exoniques de régulation d'épissage, tels que les ESE (Exonic Splicing Enhancers) ou les ESS (Exonic Splicing Silencers). Les prédictions informatiques de l'effet des mutations sur ces séquences régulatrices d'épissage ne sont pas fiables car ces séquences sont actuellement peu caractérisées. Grâce au développement d'un test d'épissage ex vivo, nous avons pu reclasser, en mutations d'épissage, certains variants identifiés dans les gènes *MLH1* et *MSH2* impliqués dans le cancer colorectal héréditaire non polyposique ou syndrome de Lynch (voir résumé d'I. Tournier et coll). En particulier, nous avons identifié dans les exons 10 et 11 de *MLH1* et dans l'exon 5 de *MSH2* des mutations situées à distance des sites d'épissage et provoquant des sauts d'exon, ce qui suggère qu'elles affectent des séquences ESE et/ou qu'elles créent des séquences ESS. Dans le but d'identifier les séquences ESE présentes dans les gènes *MLH1* et *MSH2* et de mieux comprendre le mécanisme des anomalies d'épissage associées au syndrome de Lynch, nous avons développé un test ex vivo indicateur d'ESE. Ce test est basé sur l'analyse des produits d'épissage d'un minigène portant un exon central ESE-dépendant dans lequel sont insérées de courtes séquences exoniques d'intérêt, de l'ordre de 30 pb. Les minigènes sont alors transfectés dans



des cellules HeLa et les produits d'épissage sont analysés par RT-PCR et séquençage. Nous avons utilisé ce test pour cribler toutes les régions exoniques de *MLH1* ou de *MSH2* soupçonnées de contenir des éléments régulateurs d'épissage. Nos résultats montrent que toutes les séquences testées induisent effectivement l'inclusion de l'exon central dans le transcrit du minigène et qu'elles correspondent effectivement à des ESE. Ainsi, nous avons défini 12 régions ESE, d'environ 30 nucléotides, dans les gènes *MMR* : 8 dans *MLH1* et 4 dans *MSH2*. Nous avons constaté que, parmi les 15 mutations d'épissage touchant ces séquences et détectées dans des familles présentant un syndrome de Lynch, 10 ont également un effet négatif sur l'épissage dans le contexte du test ESE-dépendant. Plusieurs facteurs agissant en trans ont été impliqués dans la régulation de l'épissage, notamment les protéines SR (serine-arginine rich) et les protéines hnRNP (heterogeneous nuclear ribonucleoproteins). Nous avons alors entrepris la recherche des protéines capables de reconnaître spécifiquement les 12 séquences exoniques régulatrices d'épissage de *MLH1* et *MSH2* et de moduler l'épissage. Nous analysons actuellement les interactions ARN-protéine qui se produisent lorsque des ARNs transcrits *in vitro* correspondant aux 12 séquences exoniques, sauvages ou mutées, sont incubés avec des extraits nucléaires de cellules HeLa. Les interactions ARN-protéine sont étudiées par des tests tels que le retard sur gel, le pontage UV, l'immuno-marquage ou la chromatographie d'affinité. Ces approches nous ont déjà permis de mettre en évidence certains complexes protéiques qui reconnaissent différemment les régions ESE en version sauvage et mutée. Nous envisageons de définir la composition de ces complexes et d'utiliser cette information pour développer des modèles de correction *in vitro* et en culture cellulaire de ces épissages défectueux.

Mots-clés : épissage, ESE, syndrome de Lynch.

■P369 / 228. NOUVELLE MUTATION DU GÈNE DE L'ENDOGLINE DANS LA MALADIE DE RENDU OSLER

M. Borsik (1), C. Gourme (2), J. Callebort (3), P. Tran Ba Huy (1), L. Drouet (2), J.-M. Launay (3), K. Peoc'h (2, 3)

(1) Service d'ORL, Hôpital Lariboisière, 2, rue Ambroise Paré, 75475 Paris cedex 10, France ; (2) Service d'Hématologie Biologique, Hôpital Lariboisière ; (3) Service de Biochimie et Biologie Moléculaire, Hôpital Lariboisière

La maladie de Rendu-Osler ou télangiectasie hémorragique héréditaire (HHT) se traduit par une dilatation permanente de petits vaisseaux de la peau et des muqueuses, appelées télangiectasies. Elle peut se compliquer d'hémorragies, d'anémie et de fistules artério-veineuses surtout hépatiques, pulmonaires ou au niveau du système nerveux central, et se manifeste fréquemment de manière initiale par des saignements de nez importants et répétés, parfois dès l'enfance. Cette maladie autosomique dominante touche moins de 10 000 personnes en France. La pénétrance est élevée et l'expressivité variable, même si la maladie est symptomatique chez presque tous les patients de plus de 40 ans. Elle est principalement associée à des mutations du gène de l'endogline (*HHT1*, chr 9q33-34, OMIM : 187300) ou de « l'activine-like kinase receptor » (*HHT2*, chr 12q13, OMIM : 600376). Ces deux protéines sont impliquées dans la transduction du signal du TGF β , qui joue un rôle important dans la formation du système vasculaire. Nous décrivons une famille de patients atteints de maladie de Rendu-Osler pour lesquels une insertion d'une base a été détectée à l'état hétérozygote dans l'exon 2 du gène de l'endogline (p. Val66Cys fs X148, c. ins 195-196 t). Le propositus, une femme de 37 ans, a présenté des épistaxis dès l'enfance puis des angiomes linguaux et labiaux, suivis de fistules artério-veineuses pulmonaires ayant nécessité des embolisations successives. Les patients de cette famille atteints de la maladie présentent la mutation, les sujets sains ne présentent pas cette anomalie. Cette insertion entraîne l'apparition d'une forme tronquée de la protéine qui passe de 625 à 147 acides aminés. Il a été montré dans la littérature que les formes tronquées de l'endogline étaient associées soit à des anomalies du signal liée à une dimérisation anormale, soit à une sécrétion dans le milieu extracellulaire de ces glycoprotéines transmembranaires. Plus de 140 mutations de l'endogline ont été décrites à ce jour ; il s'agit à notre connaissance de la première description de cette mutation.

Mots-clés : Rendu Osler, endogline, télangiectasie.

■P370 / 229. *VKORC1* ET *CYP2C9* DANS LA SENSIBILITÉ AUX ANTI-VITAMINE K : À PROPOS D'UN PATIENT

K. Peoc'h, C. Bal, S. Pruvot, C. Gourmel, S. Thomas, D. Paulin, L. Drouet
Service d'Hématologie Biologique, Hôpital Lariboisière, 2 rue Ambroise Paré, 75475 Paris cedex 10

Les antivitamines K (AVK) coumariniques (Warfarine, Acenocoumarol) ou indanedione (Fluidione) sont le seul traitement anticoagulant par voie

orale disponible dans le traitement et la prévention des récurrences thromboemboliques. Ces deux familles exercent leur activité anticoagulante en inhibant le complexe « vitamine K epoxide reductase multi-protein » (*VKORC1*). Ce complexe recycle la vitamine K 2,3-époxyde en vitamine K hydroquinone, un cofacteur essentiel pour la g-carboxylation et donc la fonctionnalité de plusieurs facteurs inhibiteurs de la coagulation. Le traitement est rendu difficile par la nécessité d'une adaptation rigoureuse des doses et par une très grande variabilité interindividuelle de réponse, sous tendue par des facteurs génétiques et environnementaux en particulier médicamenteux et nutritionnels. Des polymorphismes du gène d'un isoforme du cytochrome, notamment le *CYP2C9*2* (p.Arg144Cys), ont été associés à une faible métabolisation des coumariniques et des indanediones. Des polymorphismes du gène *VKORC1* ont été associés à une différence de sensibilité de *VKORC1* aux AVK. Les phénotypes par associations des polymorphismes de *VKORC1* et *CYP2C9* expliquent près de 50 % de la variabilité individuelle de sensibilité aux AVK. Plus récemment des mutations du gène *VKORC1* ont été découvertes chez des patients constitutionnellement résistants aux AVK. Il s'agit du mécanisme le plus fréquent de résistance aux coumariniques utilisés comme raticides chez les rongeurs. Nous rapportons l'histoire d'un patient antillais, âgé de 38 ans, présentant une résistance clinique et biologique aux AVK. Ce patient, hétérozygote pour la mutation du facteur V Leiden, a présenté un épisode de thrombose veineuse profonde compliquée d'une embolie pulmonaire. Son INR est resté proche de 1 malgré une augmentation des doses de fluidione puis de warfarine à plus de 4 fois les doses habituellement efficaces (> 40 mg/jour de warfarine). L'étude du gène *VKORC1* a permis d'identifier l'existence d'une mutation du codon 68 portée à l'état hétérozygote dans l'exon 2 (p.His68Tyr, c. 202 c>t). Cette mutation, vient d'être décrite dans une population suédoise, mais n'avait pas été associée à une résistance aux AVK (Osman *et al.*, J Thromb. Haemost., 2006). De manière surprenante, ce patient présentait également le polymorphisme *CYP2C9*2* à l'état hétérozygote. Ce polymorphisme est associé à un phénotype de faible métaboliseur de la Warfarine et par conséquent à un risque accru de surdosage aux AVK (Rettie *et al.*, Pharmacogenetics, 1994). Cette description met en évidence l'impact majeur des mutations de *VKORC1* sur la sensibilité aux AVK, et ce même en présence de polymorphismes *2 du *CYP2C9*. L'analyse combinée des gènes *VKORC1* et *CYP2C9* aide à identifier les sensibilités constitutionnelles aux AVK, même si d'autres gènes comme la g-carboxylase jouent également un rôle. La pharmacogénétique est très utile pour dépister les sensibilités et la résistance aux AVK et mieux prendre en charge le traitement des patients pour maladie thromboembolique.

Mots-clés : *VKORC1*, *CYP2C9*, pharmacogénétique.

■P371 / 234. HYPEROXALURIE DE TYPE I : IDENTIFICATION DE NOUVELLES MUTATIONS DU GÈNE *AGXT* DANS UNE COHORTE DE 111 MALADES

F. Chevalier-Porst, G. Souche, M.-O. Rolland, I. Maire, R. Froissart
Service Maladies Héréditaires du Métabolisme, Centre de Biologie et Pathologie Est-5^e étage Groupement Hospitalier Est BRON

Introduction : L'hyperoxalurie de type I (HPI) révélée par des urolithiases et/ou une néphrocalcinose est une maladie transmise selon le mode autosomique récessif. Elle est due à un déficit en Alanine glyoxylate amino transférase (AGT) localisée dans les péroxysomes du foie. Le diagnostic biologique repose sur la mise en évidence d'une excrétion constante d'oxalate associée dans 2/3 des cas à une excrétion de glycolate. Le gène *AGXT*, localisé sur le chromosome 2, comprend 11 exons. Chez la plupart des patients l'identification des mutations permet maintenant d'éviter la ponction d'une biopsie de foie pour mesurer l'activité de l'AGT. 55 altérations de ce gène ont déjà été identifiées ; 4 mutations fréquentes représentent environ 40 % des allèles mutés, la plupart des autres mutations sont peu fréquentes ou privées. Le polymorphisme P11L permet d'identifier un allèle majeur (P11) et un allèle mineur (L11) ; l'allèle mineur est retrouvé chez plus de 60 % des patients atteint d'HPI contre 15-20 % dans la population générale. Matériel et Méthode : L'étude mutationnelle du gène *AGXT* a été réalisée par séquençage des 11 exons et de leur jonctions intron exon chez 111 patients non apparentés. Le bornage de grandes délétions a été effectué par PCR en temps réel ou par études familiales (par séquençage) de zones introniques polymorphes. Résultat et Discussion : Le génotype complet de 96 des 111 patients a été déterminé. Parmi les 52 altérations différentes retrouvées, les mutations les plus fréquentes sont : G170R (17.6 %) et I244T (18 %) toujours associées à l'allèle mineur, c.33_34insC (7.6 %) toujours associée à l'allèle majeur. Vingt-trois altérations nouvelles, 2 polymorphismes exoniques ont été identifiés. Trois délétions de plusieurs exons (3 à 7 exons délétés) ont été bornées. Chez 5 patients, une seule mutation a été identifiée. Le diagnostic d'HP I a pu être confirmé

par la mise en évidence du déficit enzymatique dans le foie chez trois d'entre eux, dans les deux autres cas, seule la clinique et l'augmentation de l'excrétion urinaire d'oxalate orientent vers le diagnostic. Conclusion : Compte tenu de la petite taille du gène de l'AGXT, le séquençage est une méthode adaptée à la confirmation du diagnostic d'hyperoxalurie de type I. La détermination de l'activité enzymatique ne devient alors indispensable, pour confirmer ou exclure le diagnostic, que dans quelques rares cas. Enfin l'étude mutationnelle permet de proposer un diagnostic prénatal aux couples à risque.

Mots-clés : hyperoxalurie de type I, mutations, génotype.

■P372 / 236. SYNDROME DE TAYBI-LINDER : MAIS OÙ SE CACHE LE GÈNE ?

A. Labalme (1), P.S. Jouk (2), A. Toutain (3), E. Steichen (4), R. Touraine (5), A. L. Leutenegger (6), E. Genin (6), F. Clerget-Darpoux (6), P. Edery (1, 7)

(1) Service de Cytogénétique Constitutionnelle, CHU de Lyon ; (2) Service de Génétique Pédiatrique, CHU de Grenoble ; (3) Service de Génétique, CHU de Tours ; (4) Service de Génétique, CHU d'Innsbruck ; (5) Laboratoire de Biologie Moléculaire, CHU de Saint-Étienne ; (6) Laboratoire d'Epidémiologie Génétique, INSERM U535 ; (7) Service de Génétique Pédiatrique, CHU de Lyon

Le Nanisme Primordial Microcéphalique Ostéodysplasique de type I/III (MOPD type I/III, OMIM 210710), ou syndrome de Taybi-Linder, est un syndrome autosomique récessif très rare de cause encore inconnue. Il est caractérisé par un retard de croissance intra-utérin sévère, une hypotrophie, un nanisme et des anomalies osseuses. Les patients présentent également un faciès typique, avec une peau sèche et des cheveux et sourcils épars, une microcéphalie et de sévères malformations cérébrales (Taybi and Linder 1967 ; Majewski and Spranger 1976). Ils décèdent souvent dans la première année de vie. Nos premiers travaux sur le syndrome de Taybi-Linder ont permis de localiser le gène responsable sur le chromosome 2q14 (lod score $Z_{max} = 3.85$, Leutenegger *et al.* Am J Hum Genet 2006). Cependant, notre analyse n'incluait qu'un petit nombre de patients (4 patients appartenant à 3 familles non apparentées) ne permettant pas d'exclure totalement l'hypothèse d'une hétérogonéité génétique de ce syndrome. Aujourd'hui, l'étude d'une nouvelle patiente est en faveur de l'homogénéité génétique du syndrome de Taybi-Linder. Cette patiente, d'origine Marocaine, issue de parents cousins présente un phénotype très similaire à celui des autres patients inclus dans notre première étude. Après génotypage fin de cette patiente et de ses parents avec un grand nombre de marqueurs du chromosome 2q14, l'analyse des haplotypes a révélé une région autozygote sur 9 marqueurs microsatellites consécutifs permettant de réduire notre intervalle candidat à 3.2 Mb. Le séquençage direct des séquences codantes et des séquences introniques flanquantes de tous les gènes annotés de cette région (NCBI, Ensembl) s'est avéré normal et n'a donc pas permis, à ce jour, d'identifier le gène responsable. Ces résultats permettent maintenant de proposer un diagnostic prénatal moléculaire indirect de cette affection très sévère, dans les familles étudiées, sur la base de l'étude des haplotypes de la région critique du chromosome 2q14.

Mots-clés : Taybi-Linder, homogénéité génétique, diagnostic prénatal.

■P373 / 238. BASES MOLÉCULAIRES DES FORMES DOMINANTES ET RÉCESSIVES DES MYOPATHIES CONGÉNITALES STRUCTURALES À CORES ASSOCIÉES AU GÈNE RYR1

N. Monnier (1, 2), I. Marty (2, 3), J. Faure (1, 2, 3), C. Castiglioni (4), S. Sacconi (5), B. Estournet (6), A. Ferreira (7), N. Romero (7), A. Laquerrière (8), L. Lazaro (9), J.-J. Martin (10), E. Morava (11), A. Rossi (12), A. Van der Kooi (13), C. Verschuure (14), J. Lunardi (1, 2, 3)

(1) Laboratoire de Biochimie et Génétique Moléculaire et Centre de Référence des Maladies Neuro-Musculaires, CHU Grenoble, 38043, France ; (2) INSERM, U836, Grenoble Institut des Neurosciences, 38043, Grenoble, France ; (3) Université Joseph-Fourier, 38041, Grenoble, France ; (4) Servicio de Neurologia, Clínica Las Condes, Santiago, Chile (5) Fédération des Maladies Neuromusculaires, CHU Nice, France ; (6) Hôpital Raymond-Poincaré, Garches, France ; (7) Institut de Myologie et INSERM U582, Paris, France ; (8) Service d'Anatomie et Cytologie Pathologique, CHU Rouen, France ; (9) Département de Biochimie et Génétique Moléculaire, CHU Rennes, France ; (10) Instituut Born-Bunge, Universiteit Antwerpen, Belgium ; (11) Department of Pediatrics, University Children's Hospital, Nijmegen, The Netherlands ; (12) CHU-Rouen, France ; (13) Academisch Medisch Centrum, Amsterdam, The Netherlands ; (14) Clinical Genetics, University Medical Center, Groningen, The Netherlands

Introduction : Les myopathies congénitales structurales à cores regroupent de nombreuses entités cliniques dont les myopathies à central cores (CCD)

ou à multimincorés (MmD). Ces pathologies sont causées par des mutations du gène codant l'isoforme musculaire du récepteur de la ryanodine (RYR1) responsable d'un dysfonctionnement de l'homéostasie calcique dans la fibre musculaire squelettique. Ces pathologies sont caractérisées par une forte hétérogonéité clinique, histologique et génétique qui rend parfois difficile l'utilisation des critères nosologiques actuels définis essentiellement sur la base des observations morphologiques. Méthodes : Nous avons étudié un panel de 241 propositus originaires de familles indépendantes et inclus sur la base d'un diagnostic de myopathie à cores à l'exclusion des autres pathologies associées au gène RYR1 telles qu'hyperthermie maligne, hyperthermie d'effort... Le gène RYR1 a été exploré au niveau génomique par analyse ciblée des 15 exons du domaine C-terminal transmembranaire et par séquençage de la totalité du transcrypt lorsque cela a été possible (68 cas). La présence de la protéine dans le muscle des patients a été évaluée par immunodécoration. Résultats-Conclusions : L'analyse morphologique des biopsies musculaires a montré que les lésions de type cores se distinguaient par une variabilité en terme de localisation, taille, longueur, aspect et nombre. Cent-cinquante-cinq propositus étaient des cas sporadiques tandis que 74 cas se sont révélés être des formes dominantes et que 12 patients appartenaient à des formes récessives. Nous avons identifié une mutation dominante du gène RYR1 chez 65 patients, deux mutations récessives chez 30 patients et une seule mutation chez 20 autres cas de statut AR ou AD non déterminé. Les mutations dominantes sont des mutations faux-sens ou des délétions en phase principalement localisées dans la partie Cter de la protéine. Par contraste, les 60 mutations identifiées dans les formes récessives se répartissent tout au long de la séquence codante avec 25 % de mutations nulles. Deux patients présentant une forme néonatale sévère étaient porteurs de deux mutations conduisant à une perte quasi complète de l'expression de RYR1. Douze autres patients étaient porteurs d'une mutation nulle et d'une mutation faux sens. Dans ces situations la sévérité du phénotype clinique est vraisemblablement associée à la nature de la mutation faux-sens. De manière intéressante, nous avons mis en évidence un nouvel exon alternatif présent dans les formes récessives les plus sévères. Ces données seront discutées en terme de relation génotype-phénotype, elles montrent également que la présence d'une seconde mutation doit être recherchée dans les formes sporadiques ou dans les formes dominantes montrant une variabilité clinique intrafamiliale. Les données obtenues montrent clairement l'existence d'un continuum morphologique et clinique entre les formes dominantes classiques de type CCD et les formes récessives de type MmD.

Mots-clés : myopathies congénitales, récepteur de la ryanodine, calcium.

■P374 / 254. PRÉSENCE, DANS UNE LAM4, D'UN VARIANT INHABITUEL ISSU PROBABLEMENT D'UNE FUSION CBFB-MYH11 TYPE A PAR ÉPISSAGE ALTERNATIF SIMULTANÉ DE CBFB ET MYH11

A.N. Nguyen (1), B. Leotard (1), N. Perrard (1), C. Robquin (1), C. Bonmati (2), B. Witz (2), S. Salignac (3), M.J. Grégoire (1), P. Jonveaux (1) (1) Laboratoire de génétique, CHU Nancy ; (2) Hématologie médecine interne, CHU Nancy ; (3) Laboratoire d'hématologie-CHU Nancy

Le diagnostic de LAM M4FAB sans composante éosinophile est porté au myélogramme chez une patiente de 71 ans sans antécédent oncologique particulier, à la suite d'un hémogramme hypercytaire (GB 285G/l) largement infiltré par la lignée monocyttaire (blastes 25 %, monocytes et promonocytes 73 %). Le caryotype médullaire retrouve la présence d'une inversion du chromosome 16 récurrente dans ces LAM4 ; L'hybridation *in situ* confirme la cassure au locus CBFB résultant de cette inversion. L'analyse moléculaire par RT-PCR (BIOMED1) montre la bande attendue dans le réarrangement de type A (418 pb), ainsi qu'une bande supplémentaire plus grande (495 pb). L'une des séquences correspond au transcrypt de fusion CBFB nt474/MYH11 nt1921 de type A, retrouvé dans 85 % à 90 % des inversions du 16. La séquence du produit de PCR de 495 pb résulte, quant à elle, d'une fusion CBFB nt505/MYH11 nt1874, transcrypt non décrit à notre connaissance à ce jour. Le réarrangement sur MYH11 entre nt1874 et nt1921 (47nt) peut correspondre à un épissage alternatif de ce gène ; pour le passage de nt474 à nt505 de CBFB (31nt) un tel mécanisme est mis en cause ; il interromprait le cadre de lecture de la protéine CBFB ; celui-ci est rétabli par l'épissage de MYH11, comme cela est suggéré pour un autre variant inhabituel (van der Reijden BA, blood,1995,86,277-281). Il a été décrit que des variations de la protéine de fusion peuvent perturber l'efficacité de la formation du complexe hétérodimérique avec la protéine AML1 et peut être, son action leucémogène ainsi que la présentation diagnostique de la leucémie. (Schnitter S, Leukemia,2007,21,725-731) Il est à noter que notre patiente présentait une LAM4 *de novo*, hypercytaire sans composante éosinophile anormale, CD13,CD34,CD33,MPO,CD11c,CD14



positifs ; elle a bien répondu au traitement d'induction réalisé selon le protocole GOELAMS et est actuellement en rémission cytologique.

Mots-clés : variants CBBF/MYH11, épissage alternatif, inv(16).

■P375 / 258. MISE AU POINT D'UNE PUCE DE RESÉQUENÇAGE DE COL3A1 POUR LE DIAGNOSTIC DU SYNDROME D'EHRLERS DANLOS VASCULAIRE

S. Vonwill (1), N. Le Pottier (1), J.C. Haw-King-Chon (2), J. Perdu (1, 3), X. Jeunemaître (1, 3)

(1) Service de Génétique, Hôpital Européen Georges-Pompidou, Paris ; (2) Plate-forme de génomique fonctionnelle, Institut Curie, Paris ; (3) Centre de référence des Maladies Vasculaires Rares, Hôpital Européen Georges-Pompidou, Paris

Introduction : Le Syndrome d'Ehlers Danlos vasculaire (SEDv, OMIM #130050) est une pathologie héréditaire autosomique dominante du tissu conjonctif liée à des mutations du gène *COL3A1*, codant pour la chaîne alpha1 du collagène de type III. Il se caractérise par des complications vasculaires, gastro-intestinales et/ou obstétricales. Compte tenu de la variabilité du phénotype, seule la détection d'une anomalie du collagène III, au niveau biochimique et/ou génétique, certifie le diagnostic. Le test génétique classique consiste en l'analyse du cDNA de *COL3A1* après biopsie de peau et culture de fibroblastes. Cette analyse est relativement lourde et coûteuse. Le délai d'obtention des résultats (>3 mois) et sa sensibilité imparfaite (larges délétions non détectées) justifient le développement d'autres approches diagnostiques. Une stratégie alternative est le séquençage direct de l'ensemble des parties codantes de *COL3A1* (5490bp). Cette technique est lourde (n = 51 exons) et peut aussi manquer d'éventuelles délétions partielles ou des mutations dans les régions 5' et 3' du gène. Notre projet, financé par le Ministère de la Santé (DHOS, STIC 2006), a pour but d'évaluer et de comparer les performances de ces deux techniques à celle de l'utilisation d'une puce de reséquençage de *COL3A1* sur matériel Affymetrix. Cette méthodologie repose sur l'analyse directe de l'ensemble du gène *COL3A1* à partir de sang périphérique. Nous décrivons ici la mise en place de cette technologie et ses premiers résultats pour 24 patients. **Méthodes :** En collaboration avec le « Chip design » d'Affymetrix, nous avons configuré une puce de reséquençage (50 kb) à façon, telle que la séquence complète de *COL3A1* (ENSG00000168542) soit représentée. Afin d'éviter les hybridations aspécifiques, nous avons écarté les séquences homologues et répétées. Ainsi, 35 782 bp de *COL3A1* (dont 115 bases en 5' et 110 en 3'), réparties en 25 séquences indépendantes, peuvent être étudiées. Nous avons ajouté 19 séquences de 25 bp portant des SNPs de *COL3A1*. À partir de l'ADN périphérique, des protocoles PCR « long range » permettent d'obtenir trois amplicons de 10 kb et un de 8,9 kb, couvrant l'ensemble du gène. Ces amplicons sont traités à la DNaseI pour former des fragments de 20 à 200 bp, puis hybridés sur la puce une nuit à 49 °C, en conditions équimolaires. Après lavage, l'hybridation est traduite par les logiciels GCOS et GSEQ (Affymetrix) en séquences nucléotidiques. Nous avons développé un programme informatique permettant de réordonner les 25 séquences, afin de lire l'ensemble du gène *COL3A1* dans le sens 5'-3'. **Résultats :** Nos résultats préliminaires portent sur 7 patients sans mutations connues de *COL3A1*. Des données supplémentaires portant sur 16 individus mutés (contrôles positifs) seront présentées. L'analyse a été possible pour 6 patients sur 7. Elle a permis de lire en moyenne 92,6 % (« Call Rate » ou CR) de la séquence représentée sur la puce et 93,8 % des séquences exoniques. Par ailleurs, 207 SNPs répartis sur tout le gène *COL3A1* peuvent être étudiés. Après analyse, 10 SNPs sont indéterminés pour les 6 individus ; et la moyenne des CR des 207 SNPs est de 89 %. Toutefois, l'étude en parallèle des séquences adimensionnelles, qui renvoient à 19 de ces SNPs, révèle 2 discordances. **Conclusion :** Les résultats actuels montrent la faisabilité de cette technologie, mais des nécessités de mise au point et des difficultés techniques d'interprétation devront être résolues avant l'utilisation de cette puce en pratique courante. Par ailleurs, les coûts de la technologie seront estimés. En fonction du rapport coût/avantages, et de l'impact financier de la poursuite de la technologie, il sera possible, dans un second temps, d'élargir la population à tester.

Mots-clés : COL3A1, puces ADN, reséquençage.

■P376 / 265. CARACTÉRISATION DE DÉLÉTIONS DE SOX10 DANS LE SYNDROME DE WAARDENBURG-HIRSCHSPRUNG

N. Bondurand (1), F. Dastot-Le Moal (1, 2), V. Baral (1), N. Collot (1, 2), I. Giurgea (1, 2), P. Sarda (3), A. Echaieb (4), R. Touraine (5), J. Amiel (6), M. Goossens (1, 2), V. Pingault (1, 2)

(1) INSERM U841, IMRB, Département de génétique, Créteil, France ; (2) AP-HP, Groupe Henri-Mondor-Albert-Chenevier, Service de biochimie et génétique, Créteil, France ; (3) Department of Medical genetics, CHU Montpellier, France ; (4) Chirurgie pédiatrique, Hôpital

Pierre-Zobda-Quitman, Fort de France, France ; (5) CHU-Hôpital Nord Service de Génétique Saint-Étienne ; (6) INSERM U781 et département de Génétique, Hôpital Necker, Paris, France

Le facteur de transcription SOX10 joue un rôle essentiel au cours du développement de certains systèmes ou lignages dérivés de la crête neurale, et notamment du système nerveux entérique (SNE), des mélanocytes, et des cellules de Schwann impliquées dans la formation de la myéline du système nerveux périphérique. En accord avec ces observations, une trentaine de mutations de *SOX10* ont été décrites depuis 1998, chez des patients présentant une aganglionose intestinale plus ou moins étendue ainsi que des anomalies de pigmentation et une surdité, une association connue sous le nom de syndrome de Waardenburg-Hirschsprung ou syndrome de Waardenburg de type 4 (WS4). Des signes neurologiques associés ont également été rapportés dans certains cas, conduisant à la définition d'un syndrome appelé PCWH (Peripheral demyelinating neuropathy-Central dysmyelinating leukodystrophy-Waardenburg syndrome-Hirschsprung disease). Les mutations identifiées jusqu'à présent sont principalement des mutations ponctuelles tronquantes, et plusieurs arguments indiquent que la plus grande sévérité du phénotype PCWH survient lorsque l'ARNm mutant échappe au mécanisme de surveillance NMD (nonsense mediated decay). En plus de *SOX10*, des mutations au sein des gènes codant le récepteur à sept domaines transmembranaires EDNRB et son ligand l'endothéline 3 (*EDN3*) ont été observées chez 20 à 30 % des patients WS4. Cependant, tous les cas n'ont pas trouvé d'explication moléculaire, conduisant à penser que d'autres gènes puissent être impliqués ou que certaines mutations au sein des gènes connus ne sont pas détectées par les méthodes de génotypage usuelles. Nous avons utilisé les techniques de PCR quantitative multiplex fluorescente et d'hybridation *in situ* fluorescente pour rechercher des délétions de *SOX10*. Nous avons ainsi identifié les 3 premières délétions hétérozygotes de *SOX10* chez des patients présentant un WS4 ou un PCWH. La caractérisation de ces délétions a révélé différents événements, allant de la délétion d'un seul exon à une délétion de 220 Kb incluant *SOX10*. De façon remarquable, l'un des patients présente de plus une substitution d'une valine à l'état hémizygote (Val92Leu). Les conséquences fonctionnelles de la variation Val92Leu, ainsi que l'influence de la délétion d'autres gènes autour de *SOX10* sur la sévérité du phénotype, seront discutées.

Mots-clés : waardenburg-hirschsprung, *SOX10*, délétion.

■P377 / 266. VARIATIONS INTRONIQUES À DES POSITIONS PEU CONSERVÉES DANS LES GÈNES USH2A ET MYO7A : QUEL EFFET SUR L'ÉPISSAGE ?

S. Le Guédard-Méreuze (1), C. Vaché (2), J. Vaudaine (1), L. Larrieu (2), V. Faugère (2), F.O. Desmet (1), D. Baux (2), M. Claustres (1, 2), A.F. Roux (1, 2), S. Tuffery-Giraud (1, 3)

(1) INSERM, U827, Montpellier, France ; (2) CHU Montpellier, Montpellier, France ; (3) Université Montpellier 1, Montpellier, France

Introduction : L'interprétation de l'effet pathogène de variations de séquence touchant les sites d'épissage peut être difficile, en particulier lorsqu'elles impliquent des positions moins conservées que les dinucléotides obligatoires AG (site accepteur, 3'ss) et GT (site donneur, 5'ss) qui flanquent la plupart des exons. Cette étude a pour but d'élucider l'impact sur l'épissage de 7 variations introniques non classées identifiées dans le cadre du diagnostic du syndrome de Usher dans les gènes *USH2A* et *MYO7A*. Cinq d'entre elles sont situées aux positions -3, -6, -8, -14 et -17 du site 3'ss, et deux à la position +3 du site 5'ss. Toutes ces variations ont été trouvées en trans de mutations délétères et le séquençage complet du gène impliqué n'a révélé aucune autre variation potentiellement pathogène. Le but de cette étude est de déterminer la pathogénicité de ces variations. **Matériels et méthodes :** N'ayant pas accès aux transcrits spécifiques des gènes *USH2A* et *MYO7A* chez les patients, des tests fonctionnels ont été réalisés afin d'évaluer l'impact sur l'épissage de ces variations. Ces tests sont basés sur l'utilisation d'un minigène rapporteur fluorescent transfecté de façon transitoire dans des cellules HeLa. L'effet sur l'épissage est ensuite visualisé en microscopie à fluorescence et confirmé en RT-PCR et séquençage. L'impact de ces variations sur l'épissage a également été évalué grâce à différents algorithmes (Senapathy et Shapiro (CV), Maximum Entropy (MAXENT), Splice Site Prediction by Neural Network (SSPNN), Splice Sequence finder (SSF) d'une part et Free-Energy (Delta-G) et SD-Score pour les sites 5'ss). Les résultats des tests fonctionnels ont ainsi été comparés aux résultats obtenus *in silico*. **Résultats et discussion :** Les tests fonctionnels ont révélé une altération de l'épissage pour chacune des variations étudiées. Certaines sont à l'origine d'un skipping d'exon, d'autres impliquent l'utilisation de sites d'épissage de novo ou cryptiques. Nous avons par ailleurs observé que les algorithmes de prédiction donnant différents types d'informations, l'utilisation de

plusieurs d'entre eux est souvent nécessaire pour évaluer l'impact sur l'épissage de variations introniques. On constate que si les outils bioinformatiques permettent en général de prédire assez bien une altération de l'épissage par une mutation (défaut d'utilisation du site naturel), seules des études de transcrits (chez les patients ou via des constructions de minigènes) permettent d'en évaluer les conséquences (saut d'exon, utilisation de sites cryptiques...). Conclusion : Cette étude montre une fois de plus la difficulté de prédire *in silico* l'impact de mutations d'épissage et renforce l'intérêt et la nécessité de réaliser des tests fonctionnels afin d'assigner un caractère pathogène à de telles variations non classées. Nous avons pu confirmer le rôle pathogène de chacune des variations testées, ce qui représente une aide importante pour le diagnostic des patients et la prise en charge des familles.

Mots-clés : mutations d'épissage, tests fonctionnels, syndrome de Usher.

■P378 / 267. MISE EN ÉVIDENCE ET CARACTÉRISATION DE DÉLÉTIONS DE *SOX10* DANS LE SYNDROME DE WAARDENBURG DE TYPE 2

L. Stanchina (1), F. Dastot-Le Moal (1, 2), N. Collot (1, 2), V. Baral (1), S. Marlin (3), A. Toutain (4), W. Reardon (5), M. Lackmy-Port-Lis (6), R. Touraine (7), T. Attie-Bitach (8), M. Goossens (1, 2) V. Pingault (1, 2), N. Bondurand (1)

(1) INSERM U841, IMRB, Département de génétique, Créteil, France ; (2) AP-HP, Groupe Henri-Mondor-Albert-Chenevier, Service de biochimie et génétique, Créteil, France ; (3) Service de Génétique, INSERM U587, Hôpital Armand-Trousseau, APHP ; (4) Centre Hospitalo-Universitaire, Service de Génétique, Tours, France ; (5) Ladys Hospital for Sick Children, Dublin, Ireland ; (6) Service de Pédiatrie, CHU de Pointe-à-Pitre, France ; (7) CHU-Hôpital Nord Service de Génétique ; (8) Département de Génétique et INSERM U781, Hôpital Necker, Paris, France

Le syndrome de Waardenburg (WS) se caractérise par une surdité neurosensorielle et des anomalies de la pigmentation de la peau et des cheveux. Sur la base de l'association avec d'autres symptômes, le WS est divisé en quatre sous-types, WS1 à 4. L'absence de signes additionnels caractérise le WS2 tandis que l'association avec la maladie de Hirschsprung caractérise le WS4, également appelé syndrome de Waardenburg-Hirschsprung. Des mutations dans les gènes codant *MITF* et *SNAI2* ont été identifiées dans 15 % des cas de WS2 et des mutations de *EDN3*, *EDNRB* et *SOX10* ont été mises en évidence dans 60 à 80 % des cas de WS4. Cependant, tous les cas n'ont pas trouvé d'explication moléculaire, laissant penser que d'autres gènes sont impliqués ou que certaines mutations au sein des gènes connus ne sont pas détectées par les méthodes de génotypage usuelles. Le rôle crucial de *SOX10* au cours du développement mélanocytaire, et la variabilité phénotypique observée chez les patients présentant des mutations de ce gène, nous ont conduit à rechercher des mutations ou des délétions de *SOX10* dans 30 cas non expliqués de WS2. Nous avons identifié 5 délétions hétérozygotes de *SOX10*, ce qui en fait un nouveau gène impliqué dans le WS2. La caractérisation des délétions a révélé des événements moléculaires indépendants, allant d'une délétion d'un seul exon à une délétion de plus de 5 Mb. Cette étude a des conséquences directes sur le diagnostic moléculaire, et démontre un peu plus la complexité moléculaire et les relations étroites qui lient les différents sous-types du syndrome de Waardenburg.

Mots-clés : WS2, *SOX10*, délétion.

■P379 / 278. LE DIAGNOSTIC MOLÉCULAIRE DANS LA DYSTROPHIE FACIO-SCAPULO-HUMÉRALE : ÉTUDE D'UNE COHORTE DE 42 PATIENTS

K. Nguyen (1, 2), J. Gallard (1), Cathy Vo Van (1), Raffaëlle Bernard (1, 2), P. Malzac (1), B. Chabrol (3), J. Pouget (4), S. Attarian (4), N. Lévy (1, 2)

(1) Département de Génétique Médicale, laboratoire de génétique moléculaire, CHU Timone Marseille ; (2) UMR 910 Génétique Médicale et Génomique Fonctionnelle, faculté de Médecine Marseille ; (3) Service de Pédiatrie, CHU Timone-Enfants Marseille ; (4) Service de Neurologie, CHU Timone Marseille

Introduction : La dystrophie facio-scapulo-humérale (FSHD) est une dystrophie musculaire d'hérédité autosomique dominante associée à une délétion/contraction d'un nombre variable d'unités répétées (UR) en tandem de 3,3 Kb (D4Z4) dans la région sub-télomérique du chromosome 4q35. Le diagnostic de routine de la FSHD est réalisé par une technique de Southern-blot couplé à une électrophorèse linéaire (LGE) ou en champ pulsé (PFGE) utilisant la sonde p13e11 adjacente aux UR D4Z4 et une double digestion enzymatique EcoRI/BlnI. Un allèle constitué de 1 à 10 UR (moins de 35 Kb) sur l'un des 2 chromosomes 4 est considéré comme

pathogène, les allèles normaux étant porteurs de 11 à 100 UR. De plus, il existe un polymorphisme distal par rapport à la région D4Z4, bi-allélique, avec deux variants qA et qB. Seules les délétions/contractions couplées au polymorphisme qA sont associées à la FSHD. L'objectif de cette étude était d'explorer sur le plan moléculaire une large cohorte de patients atteints de FSHD et leurs apparentés sains afin de déterminer la taille des fragments D4Z4 et le typage qA/qB. Patients et Méthodes : les échantillons d'ADN de 42 sujets de 34 familles différentes ont été adressés au laboratoire de génétique moléculaire de Marseille pour diagnostic de FSHD. La technique de Southern-blot a utilisé plusieurs protocoles de digestion enzymatique : simple digestion EcoRI, double digestion EcoRI/BlnI, simple digestion HindIII et simple digestion XapI, le LGE et le PFGE. Résultats : 4 allèles distincts n'ont pu être visualisés chez 15 patients sur 42 (36 %). la visualisation des 2 allèles du chromosome 4 a été possible chez 33 patients sur 42 (80 %) et l'allèle délété a toujours été visualisé. La taille moyenne des allèles 4q contractés était de 28,69 kb ou 6,14 UR. De plus, nous avons mis en évidence des profils moléculaires atypiques et difficiles à interpréter : deux patients présentant des signes de FSHD avaient un profil normal avec des allèles de haut poids moléculaire (> 50 kb) en simple digestion EcoRI, et un fragment délété à 19 kb et 13 kb respectivement après double digestion EcoRI/BlnI, suggérant un remaniement complexe de la région D4Z4 sur un chromosome 4. Chez un patient, les signes de FSHD étaient associés à la présence d'une autre maladie musculaire génétiquement prouvée, la dystrophie myotonique de type I (800 répétitions CTG dans le gène DM1). Discussion : Le diagnostic moléculaire de routine de la FSHD est complexe avec un taux d'échec élevé dans notre série, du à des problèmes techniques concernant la manipulation de grands fragments d'ADN. Le LGE reste la technique la plus commune pour le diagnostic de FSHD, suffisante en général pour des allèles de moins de 30 kb (7 UR). Le PFGE est indispensable pour séparer les allèles de grande taille, limite entre la zone normale et pathologique. De plus, lorsque un allèle délété est mis en évidence, il est difficile de déterminer le variant associé qA/qB. Les réarrangements complexes de D4Z4 suspectés par les profils atypiques en southern blot mis en évidence chez quelques patients, résultent probablement des échanges chromosomiques entre les régions 4q et 10q. Avec les techniques de diagnostic classique, il est impossible de déterminer précisément la nature de ces réarrangements complexes de D4Z4. Les profils moléculaires atypiques pourraient apporter des éléments d'explication aux mécanismes physiopathologiques encore inconnus de la FSHD. Mais cela nécessite de nouveaux moyens d'exploration de la région 4q35, à la fois pour le diagnostic et la recherche fondamentale.

Mots-clés : dystrophie facio-scapulo-humérale, D4Z4, Southern-blot, PFGE.

■P380 / 279. COMMD1 UNE PROTÉINE DE L'INFLAMMATION ET DE L'ADRESSAGE LIÉ À CFTR

L. Drevillon (1, 2), G. Tanguy (1, 2), A. Hinzpeter (1, 2), N. Arous (1, 2), B. Saubamea (3), P. Fanen (1, 2)

(1) INSERM U841 Département de Génétique, Institut Mondor de Recherche Biomédicale, Créteil ; (2) Université Paris 12, Créteil ; (3) EA 362-Service de Biologie Cellulaire-Service Commun d'Imagerie Cellulaire et Moléculaire Faculté de Pharmacie, Paris

Chez plus de 90 % des patients, la mucoviscidose se caractérise par une absence quasi totale de la protéine mutée (F508del-CFTR) à la membrane apicale des épithéliums. Les malades présentent une symptomatologie variée, dominée par la gravité de l'atteinte pulmonaire et une réponse inflammatoire inadaptée. Afin d'identifier de nouvelles protéines qui interagissent avec la protéine CFTR durant son processus de maturation, nous avons utilisé la technique du criblage double-hybride de levure avec la troisième boucle cytoplasmique du CFTR comme proie. Nous avons ainsi mis en évidence COMMD1, une protéine impliquée dans le métabolisme du cuivre, comme un nouveau partenaire protéique de CFTR. Cette interaction a été tout d'abord vérifiée par des expériences de co-immunoprécipitation avec la totalité de la protéine CFTR (CFTR-wt ou F508del) exprimée de façon hétérologue dans les cellules HEK293 puis confirmée par la co-immunoprécipitation de CFTR et COMMD1 exprimés de façon endogène dans les cellules HT-29. La localisation sub-cellulaire de la protéine COMMD1 dans des cellules CF et non CF a montré une co-localisation partielle de CFTR avec COMMD1 dans le cytoplasme par des expériences d'immunocytochimie. La répartition de COMMD1 est cependant à la fois nucléaire et cytoplasmique où elle présente un aspect vésiculaire. Dans les cellules F508del, la forme nucléaire de COMMD1 est fortement augmentée par rapport aux cellules sauvages. Cette différence de localisation nucléaire et cytoplasmique dans les cellules CF et non CF a été confirmée par des expériences biochimiques de fractionnement nucléaires et cytoplasmiques. Par conséquent, l'expression de F508del-CFTR induit



une relocalisation de COMMD1 dans le noyau, suggérant un rôle nucléaire de COMMD1. Par des expériences de biotinylation des protéines de surface nous avons montré que l'adressage à la membrane plasmique du canal CFTR-wt est diminué de moitié lorsque l'expression de la protéine COMMD1 est éteinte de 90 % par ARN interférence. COMMD1 est donc impliquée dans l'adressage voire le recyclage du canal CFTR à la membrane apicale. La caractérisation plus précise de l'étape concernée est en cours d'évaluation à la fois par des méthodes biochimiques et d'immunocytochimie afin de déterminer le rôle de COMMD1 dans ce compartiment vésiculaire cytoplasmique. COMMD1 est le prototype d'une nouvelle famille de protéines inhibant NF-kappaB mais de nouvelles fonctions sont actuellement décrites qui permettent de cataloguer COMMD1 comme une protéine à effet pléiotrope au carrefour de nombreux processus inflammatoires et de régulation de la stabilité des protéines via la voie ubiquitine-protéasome. Nous avons montré que COMMD1 est un nouveau partenaire de la protéine CFTR, qu'il participe à son adressage membranaire et que l'expression de F508del-CFTR induit la redistribution COMMD1 dans le noyau. Nos perspectives visent à : 1) déterminer son rôle dans la réponse inflammatoire particulière à la mucoviscidose via les conséquences fonctionnelles de son expression nucléaire et 2) évaluer son rôle dans l'adressage d'autres canaux à la membrane des cellules épithéliales. Une connaissance approfondie de ces mécanismes contribuera à proposer des traitements novateurs pour lutter contre l'inflammation et/ou corriger le routage de CFTR chez les patients atteints de mucoviscidose. Ce travail fait l'objet d'un soutien par l'Association Vaincre la Mucoviscidose

Mots-clés : mucoviscidose, COMMD1, adressage.

■P381 / 281. APPLICATION DE LA CGH-ARRAY DÉDIÉE POUR LA MISE EN ÉVIDENCE DES GRANDS RÉARRANGEMENTS GÉNÉTIQUES

E. Rouleau (1), S. Tozlu (1), C. Andrieu (1), C. Lefol (1), V. Bourdon (2), T. Nogushi (2), C. Nogues (1), I. Bieche (1), S. Olschwang (2), H. Sobol (2), R. Lidereau (1)

(1) Laboratoire d'oncogénétique, centre René-Huguenin, Saint-Cloud, France ; (2) Département d'oncogénétique, Institut Paoli-Calmettes, Marseille, France

Introduction : Des grands réarrangements génétiques sont observés dans de nombreux gènes (*CFTR*, *DMD*, *BRCA1*, *FVIII*, *HPRT*, *BMP2*...). Nous avons utilisé notre expertise technique en CGH-array haute résolution pour mettre en place une nouvelle approche dans la détection et la caractérisation rapide des grands réarrangements génétiques. Matériel et méthode : Trois puces 11k de CGH-array Agilent® dédiées ont été développées et analysées par le Centre René Huguenin pour les gènes *BRCA1* (1679 oligonucléotides), *BRCA2* (1389), *MLH1* (1031), *MSH2* (789) et *APC* (1573). 10 échantillons *BRCA1/BRCA2*, et 3 échantillons *MLH1/MSH2* provenaient du Centre René Huguenin. 4 échantillons *APC* provenaient de l'Institut Paoli Calmettes. Un système standardisé d'analyse des puces a été développé au sein du Centre René Huguenin. Tous les échantillons ont été validés en MLPA. Résultats : Tous les grands réarrangements détectés par MLPA ont été confirmés par les puces dédiées. La technique de CGH-array a pu mettre en évidence des délétions de 500pb à plusieurs centaines de kb : *APC* (4 délétions), *BRCA1* (7 délétions), *MSH2* (2 délétions). Les duplications sont clairement observées : *BRCA1* (2 duplications), *BRCA2* (1 duplication), *MLH1* (1 duplication). Nous avons mis ainsi en évidence une délétion avec une insertion et une délétion de l'ensemble du gène *APC*. La plupart des altérations ont pu être caractérisées par une simple PCR. La résolution de la CGH-array haute résolution a été de 1 kb. Conclusion : L'application de la CGH-array dédiée pour les grands réarrangements génétiques semble prometteuse, soit en première approche, soit en confirmation. Elle permet d'avoir une vue panoramique des gènes. La quantité d'information limite les faux-positifs. Elle permet d'étudier les altérations dans les grands exons. Enfin, il est possible de caractériser rapidement les remaniements (délétion ou duplication) par une simple PCR. L'utilisation de cette technique nécessite néanmoins une sélection rigoureuse des oligonucléotides et un processus d'analyse dédié.

Mots-clés : CGH-array, grands réarrangements, points de rupture.

■P382 / 288. L'HYPERMÉTHYLATION DU GÈNE DU TISSUE FACTOR PATHWAY INHIBITOR-2 EST ASSOCIÉE À UNE DIMINUTION DE SON EXPRESSION DANS LA PLAQUE D'ATHÉROSCÉLÉROSE CAROTIDIENNE

C. Zawadzki (1), N. Chatelain (1), A. Vincentelli (1), B. Quesnel (2), S. Susen (1), E. Jeanpierre (1), A. Bauters (1), S. Haulon (3), D. Corseaux (1), G. Torprier (4), B. Staels (4), E. Van Belle (1), B. Jude (1)

(1) INSERM ERI-9 et Université de Lille 2 EA-2693, Lille, France ; (2) Service des Maladies du Sang, CHRU de Lille, France ; (3) Clinique de

Chirurgie Cardiovasculaire, CHRU de Lille, France ; (4) INSERM U545, Institut Pasteur de Lille, France

Introduction : Le Tissue Factor Pathway Inhibitor-2 (TFPI-2) est un inhibiteur de sérine-protéase de type Kunitz exprimé dans la plaque d'athérosclérose par le macrophage, la cellule endothéliale ou la cellule musculaire lisse. Le TFPI-2 y présenterait un effet stabilisant de la chape fibreuse superficielle en neutralisant l'activité des métalloprotéases matricielles (MMP) responsables de la dégradation de la matrice extracellulaire. Le promoteur du gène du TFPI-2 présente plusieurs îlots CpG dont l'hyperméthylation est associée à une diminution de son expression. Cette régulation épigénétique de l'expression du TFPI-2 a été mise en évidence dans de nombreuses tumeurs cancéreuses mais n'a pas à ce jour été étudiée dans l'athérosclérose. L'objectif de ce travail a été d'étudier la méthylation du gène du TFPI-2 dans l'athérosclérose avec ses conséquences sur l'expression du transcrit TFPI-2. Le statut de méthylation du gène du TFPI-2 a également été confronté aux données clinico-biologiques des patients. Matériel et méthodes. La méthylation du gène du TFPI-2 a été étudiée par Methylation Specific PCR (MSP) dans l'ADN de 59 plaques d'athérosclérose carotidienne et de 26 artères mammaires contrôles. Trois systèmes de MSP différents ont été développés pour étudier 17 des 29 motifs CpG localisés sur un fragment de 268 pb situé de part et d'autre du site d'initiation de la transcription (MSP1, 2 et 3 situés respectivement de l'extrémité 5' vers 3'). La bisulfitation de l'ADN a été réalisée par CpGenome DNA Modification kit®, Chemicon. Le transcrit TFPI-2 a été mesuré par PCR en temps réel (Taqman ABI Prism 7000®, Applied Biosystems). Résultats : Treize plaques (22 %) étaient méthylées avec MSP1, aucune avec MSP2 et 3 avec MSP3 (5 %). Aucune artère mammaire n'était retrouvée méthylée dans aucun des 3 systèmes. Ces résultats de MSP ont été validés par clonage et séquençage des ampligènes de MSP. Le niveau de transcrit TFPI-2 est significativement plus bas dans les plaques méthylées que dans les non méthylées et que dans les artères mammaires ($p = 0,03$ et $0,009$ respectivement). Plusieurs CpG étudiés par le système MSP1 sont localisés dans des motifs Sp1 et egr-1/Sp1 en -214 et -118 pb respectivement, impliqués dans l'inhibition d'expression du TFPI-2. La prévalence des facteurs de risque cardiovasculaire et des accidents ischémiques cérébraux n'était pas différente entre les plaques méthylées et non méthylées. Conclusion : Cette étude démontre pour la première fois que l'expression du TFPI-2 peut être régulée par hyperméthylation dans l'athérosclérose. Ce mécanisme de régulation épigénétique est mis en évidence dans environ un quart des plaques testées. L'hyperméthylation du gène du TFPI-2 y est associée à une diminution de l'expression de son transcrit. Son impact sur la régulation des MMP et sur la fragilité de la plaque d'athérosclérose reste à déterminer.

Mots-clés : TFPI-2, méthylation, athérosclérose.

■P383 / 289. ASSOCIATION GÉNÉTIQUE ENTRE DES POLYMORPHISMES DE CANAUX IONIQUES CARDIAQUES ET LA LONGUEUR DE L'INTERVALLE QTC CHEZ DES SUJETS SAINS

L. Gouas (1, 2), V. Nicaud (3), S. Chaouch (1), M. Berthet (1), A. Forhan (4) A. Pfeufer (5), L. Tiret (3), B. Balkau (4), P. Guicheney (1) et le groupe d'Étude DESIR

(1) INSERM U582, GH Pitié-Salpêtrière, Université Paris 6, Paris, F-75013, France ; (2) Univ. Clermont 1, UFR Médecine, CHU Clermont-Ferrand, Service de Cytogénétique Médicale, Clermont-Ferrand, F-63000, France ; (3) INSERM UMR S 525, GH Pitié-Salpêtrière – Université Paris 6, Paris, F-75634 France ; (4) INSERM U780, Villejuif, F-94807, France ; (5) Institute of Human Genetics, Munich, Allemagne

Introduction : L'intervalle QT, mesuré sur à l'électrocardiogramme et corrigé sur la fréquence cardiaque (QTc), reflète la durée de la repolarisation ventriculaire cardiaque. La durée de l'intervalle QTc au repos est très variable d'un individu à un autre dans la population (340-440 ms), mais relativement stable chez un même sujet et sous le contrôle de facteurs génétiques comme cela a été montré par des études de jumeaux mono- et dizygotes. Nous avons réalisé des études d'association génétique entre des polymorphismes de gènes codant des sous-unités de canaux ioniques cardiaques potassiques (*KCNQ1*, *KCNE1*, *KCNH2*, *KCNE2*) et sodique (*SCN5A*), une protéine régulatrice de la NO-synthase neuronale (*NOS1AP*), et la durée de l'intervalle QTc. Méthode : Vingt-quatre polymorphismes (11 *KCNQ1*, 4 *KCNE1*, 2 *KCNH2*, 1 *KCNE2*, 5 *SCN5A*, 1 *NOS1AP*) ont été génotypés par F.R.E.T (LightCycler) ou par séquençage dans deux groupes de 200 sujets présentant les intervalles QTc les plus courts (333-365 ms) et les plus longs (394-432 ms) d'une cohorte de 2008 assurés sociaux sains participant à l'étude prospective DESIR (Données Épidémiologiques sur le Syndrome de l'Insulino-Résistance). Résultats : Tous les polymorphismes étudiés étaient en équilibre de Hardy-Weinberg dans les deux groupes, excepté rs10494366 (*NOS1AP*) pour lequel on observe

un excès d'homozygotes GG (allèle mineur) dans le groupe de sujets présentant les QTc longs ($p=0,01$). Les allèles mineurs rs1805123 C de *KCNH2*, et rs1805126 T et IVS24+116 A de *SCN5A* étaient significativement plus fréquents dans le groupe de sujets présentant les intervalles QTc courts (OR[95 %CI]= 0,64 (0,46-0,88), $p=0,0055$; 0,65 (0,48-0,89), $p=0,0063$; 0,61 (0,40-0,92); $p=0,018$, respectivement). En revanche, les allèles mineurs rs757092 G de *KCNQ1*, 253 A de *KCNE1*, rs3815459 A de *KCNH2*, et rs1805124 G et IVS9-3 A de *SCN5A*, et rs10494366 G de *NOS1AP* étaient significativement plus fréquents dans le groupe de sujets présentant les intervalles QTc longs (OR[95 %CI]= 1,48 (1,10-2,01), $p=0,011$; 4,21 (1,17-15,16), $p=0,028$; 1,48 (1,05-2,10) $p=0,026$; 1,52 (1,11-2,10), $p=0,010$; 1,66 (1,18-2,35), $p=0,0039$; 1,72 (1,28-2,32), $p=0,0004$). Par ailleurs, une interaction entre les polymorphismes rs1805123 de *KCNH2* et 2031+932 A > G de *KCNQ1* a été mise en évidence. Conclusion : Notre étude montre ou confirme l'existence d'une association génétique de plusieurs polymorphismes de canaux ioniques cardiaques (*KCNQ1*, *KCNE1*, *KCNH2*, *SCN5A*) et de *NOS1AP* avec la durée de la repolarisation ventriculaire chez des sujets sains d'origine caucasienne. Ces associations, parfois validées sur de plus larges cohortes, suggèrent que ces polymorphismes pourraient moduler le risque d'arythmies chez des patients atteints d'une pathologie primaire de la repolarisation ventriculaire cardiaque ou d'une cardiomyopathie.

Mots-clés : intervalle QTc, polymorphismes, canaux ioniques cardiaques.

■P384 / 291. CINQ NOUVELLES MUTATIONS DANS LE GÈNE *EFNB1* RESPONSABLES DE DYSPLASIE CRÂNIO-FRONTO-NASALE

C. Collet (1), V. des Portes (2), P. Edery (3), H. Gaspard (4), M. Gerard-Blanluet (5), M. Holder (6), J.-M. Launay (1), M. Lenne (1), S. Marlin (7), G. Morin (8), G. Pierquin (9), M. Rajguru (10), D. Renier (11), J.-L. Laplanche (1)

(1) Service de Biochimie et Biologie Moléculaire, Hôpital Lariboisière, Paris, France ; (2) Service de Neuropédiatrie, Hôpital Debrousse, Lyon, France ; (3) Service de Génétique, Hôpital Debrousse, Lyon, France ; (4) Institute of Medical Genetics, Schwerzenbach, Switzerland ; (5) Service de Génétique Clinique, Hôpital Robert-Debré, Paris, France ; (6) Service de Génétique Clinique, Hôpital Jeanne-de-Flandre, Lille, France ; (7) Service de Génétique Clinique, Hôpital Trousseau, Paris, France ; (8) Département de Pédiatrie, Génétique Clinique, Hôpital Nord, Amiens, France ; (9) Service de Génétique, CHU de Liège, Belgique ; (10) Service de Gynécologie-Obstétrique, Hôpital Bichat-Claude Bernard, Paris, France ; (11) Service de Neurochirurgie pédiatrique, Hôpital Necker, Paris, France

Introduction : La dysplasie crânio-fronto-nasale (DCFN, MIM304110) est une maladie rare liée à l'X, qui montre de façon paradoxale une expression plus sévère chez les filles à l'état hétérozygote que chez les garçons à l'état hémizygote. Les signes cliniques majeurs retrouvés chez les filles sont un hypertélorisme, une asymétrie craniofaciale, une craniosténose coronale (inconstante) soit uni- ou bilatérale, un nez bifide, une arête nasale large, des cheveux secs, ondulés et crépus, une implantation basse sur la nuque, des ongles striés longitudinalement, un gros orteil large et un espace entre 1^{er} et 2^e orteil et une dysplasie thoracique. La plupart des garçons sont légèrement affectés (hypertélorisme seulement). Cette affection survient chez moins d'un nouveau-né sur 100 000 et ce syndrome peut être dû à des mutations du gène *EFNB1*. Ce gène, composé de 5 exons est localisé en Xq31.1, code pour un des membres de la famille ephrin. La protéine ephrin-B1 est une protéine transmembranaire de type I et un ligand pour le récepteur EphB1 tyrosine kinase qui est un des régulateurs de la morphogénèse des tissus embryonnaires, caractérisé par une région intracellulaire contenant de multiples résidus tyrosine et un PDZ domaine (B1). Après un contact cellule-cellule le récepteur EphB1 interagit avec le ligand éphrine-B1. Actuellement une cinquantaine de mutations ont été décrites dans les 5 exons du gène *EFNB1* avec une majorité des mutations retrouvées dans les exons 2 et 3 codants pour le domaine extracellulaire de la protéine. Nous avons analysé les 5 exons du gène *EFNB1* chez 9 patients atteints de DCFN et nous avons identifié 6 mutations dont 5 nouvelles. Méthodes : 9 prélèvements d'ADN de patients âgés de 1 mois à 45 ans atteints d'une DCFN (7 filles et 2 garçons) ont été analysés par séquençage direct bidirectionnel. Résultats : 6 mutations sur les 9 patients atteints d'une DCFN (3 formes familiales et 6 sporadiques) ont été retrouvées dans le gène *EFNB1* (c.129-2A>G, p.R66PfsX8, p.L80R, p.C89R, p.N120KfsX11 et p.K345RfsX46). En dehors de la mutation p.C89R, elles sont toutes non décrites. Les mutations sont toutes situées dans l'exon 2 à l'exception de p.K345RfsX46 (exon 5). Discussion : Les mutations amènent majoritairement à un décalage de lecture, voire à une modification de l'épissage et elles sont donc responsables de l'apparition d'un codon stop prématuré. Comme il a déjà été rapporté la grande diversité de mutations suggère une

prédominance des mutations privées que ce soit dans les formes familiales et sporadiques. Dans la littérature, une mutation dans le gène *EFNB1* est retrouvée dans environ 90 % des cas. Les non réponses sont dues : soit à la présence de grandes délétions non détectables par séquençage (en cours d'exploration), soit à des mutations dans des régions régulatrices du gène *EFNB1* ou encore à un mosaïcisme.

Mots-clés : dysplasie crânio-fronto-nasale, mutation, *EFNB1*.

■P385 / 292. BBS12, UNE NOUVELLE PROTÉINE VERTÉBRÉE SPÉCIFIQUE IMPLIQUÉE DANS LE SYNDROME DE BARDET-BIEDL

C. Stoetzel (1), J. Muller (2), V. Laurier (1), E. Davis (3), P. Sarda (4), C. Hamel (5), T. de Ravel (6), C. Thibault (2), J.M. Danse (1), V. Marion (1), S. Héllé (1), A. Verloes (7), D. Bonneau (8), N. Katsanis (3), O. Poch (2), J.L. Mandel (2, 9), H. Dollfus (1, 10)

(1) Laboratoire de Génétique Médicale EA3949, Université Louis-Pasteur, Faculté de Médecine, Strasbourg ; (2) Institut de Génétique et de Biologie Moléculaire et Cellulaire, INSERM, U596, CNRS, UMR7104, Illkirch, Strasbourg ; (3) McKusick-Nathans Institute John Hopkins University, Baltimore, Maryland, USA ; (4) Service de Génétique Médicale, CHU Arnaud-de-Villeneuve, Montpellier ; (5) Institut des Neurosciences, CHU Saint-Éloi, Montpellier ; (6) Centre of Human Genetics, University Hospital Gasthuisberg Belgique ; (7) Unité de Génétique Clinique, Hôpital Robert-Debré Paris ; (8) Service de Génétique, CHU d'Angers ; (9) Collège de France, chaire de génétique humaine, Illkirch Strasbourg ; (10) Service de Génétique Médicale et Centre de Référence pour les Affections Génétiques Ophtalmologiques, CHU, Strasbourg

Introduction : Le syndrome de Bardet-Biedl (BBS) (OMIM 209900) est une maladie autosomique récessive caractérisée principalement par : une rétinopathie pigmentaire précoce, une obésité, une polydactylie, un hypogonadisme, un déficit cognitif variable et des anomalies uro-néphrologiques. À ce jour, douze gènes (*BBS1* à *12*) ont été identifiés. Nous rapportons ici l'identification du gène *BBS12*. Méthode : La stratégie d'identification a combiné une approche par cartographie par homozygotie utilisant les puces SNP 10K (Affymétrie) et une approche *in silico* de génomique comparative et des outils de modélisation moléculaire. Cette approche a été complétée par des tests fonctionnels sur le poisson zèbre inhibant l'expression du gène d'intérêt à l'aide d'oligonucléotides de type morpholino spécifiques. Résultats : L'analyse de l'ADN de deux familles gitanes en puces 10K Affymétrie a montré une région d'homozygotie, haplo-identique de 6 Mb sur le chromosome 4q27. Un codon stop homozygote dans le gène *FLJ35630* a été identifié pour les patients des deux familles. L'analyse du reste de notre cohorte a révélé que au moins 5 % des patients BBS sont porteurs de mutations dans ce gène. Ce gène dénommé *BBS12* code pour une protéine vertébrée spécifique de type chaperonine-like. Les tests fonctionnels dans le poisson-zèbre par inactivation spécifique de *BBS12* ont démontré des défauts dosage-dépendant des processus précoces des mouvements de gastrulation similaires aux phénotypes d'inhibition des autres gènes BBS. Discussion : Le gène *BBS12* tout comme les gènes *BBS10* et *6* code une protéine ressemblant aux chaperonines de type II. Elles pourraient faire partie d'un complexe de type chaperonine qui serait impliqué dans des fonctions ciliaires. Corroborant cette hypothèse, les autres protéines BBS, notamment les *BBS1*, 2, 4, 5, 7, 8 et 9 forment un complexe multi protéique ne comportant pas les trois protéines chaperonnes. La caractérisation du rôle de *BBS12* avec les *BBS10* et le *BBS6* au niveau cellulaire devrait nous permettre de disséquer la physiopathologie du complexe ciliaire dans ce syndrome

Mots-clés : ciliopathie, syndrome de Bardet Biedl, identification *BBS12*.

■P386 / 297. BASES MOLÉCULAIRES ET CLINIQUES DU SYNDROME DE PITT-HOPKINS, UNE ENCÉPHALOPATHIE SYNDROMIQUE SÉVÈRE

L. De Pontual (1), M. Rio (2), Y. Mathieu (1), N. Boddaert (3), C. Soufflet (4), P. Plouin (4), C. Picard (5), A. Durandy (5), S. Lyonnet (1, 2), A. Munnich (1, 2), L. Colleaux (2), J. Amiel (1, 2)

(1) INSERM U-781 ; (2) Département de génétique ; (3) Service de radiologie pédiatrique et INSERM U-797 ; (4) Service de neurophysiologie et INSERM U-663 ; (5) INSERM U-429, Université Paris-Descartes, Faculté de Médecine ; AP-HP, Hôpital Necker-Enfant Malades, Paris, France

Le syndrome de Pitt-Hopkins (PHS) se caractérise par un retard psychomoteur sévère, une épilepsie et des accès d'hyperventilation ayant permis d'individualiser ce syndrome en 1978. Il s'y associe un retard de croissance et une microcéphalie post-natale, une dysmorphie faciale reconnaissable, ainsi que des anomalies à l'EEG et à l'IRM cérébrale. Tous les cas rapportés étant sporadiques, nous avons recherché un micro remaniement



chromosomique par hybridation génomique comparative pan génome chez 4 patients supposés atteints de PHS et identifié une délétion *de novo* de 1,8 Mb en 18q21.1 chez une patiente. La délétion incluait 4 gènes dont *TCF4*, un facteur de transcription à motif basic HLH de classe I. Le séquençage direct a permis d'identifier une mutation hétérozygote *de novo* de *TCF4* chez 5 patients. Le mécanisme le plus probable est une perte de fonction par haplo-insuffisance mais un effet dominant-négatif reste possible pour les mutations faux sens du domaine basique. L'étude de l'expression de *TCF4* au cours du développement embryonnaire humain révèle une expression ubiquitaire mais avec des niveaux d'expression extrêmement variables. Une étude plus fine du phénotype clinique, immunologique, de l'imagerie cérébrale et de l'EEG des patients atteints de PHS est en cours et sera détaillée. *Tcf4* participe à l'ontogénie des précurseurs lymphoïdes B et les souris *Tcf4*^{-/-} présentent une diminution de ces précurseurs de l'ordre de 50 %. Ces souris meurent dans les premiers jours de vie sans cause identifiée, le déficit immunitaire ne pouvant être responsable d'une mortalité si précoce. Nous avons entrepris l'étude de ces souris par pléthysmographie et électrophysiologie.

Mots-clés : syndrome de Pitt-Hopkins, encéphalopathie, *TCF4*.

■P387 / 299. QU'EST CE QUE LE SYNDROME COFS ? ÉTUDE CLINIQUE ET MOLÉCULAIRE DE TROIS NOUVEAUX CAS ET REVUE DE LA LITTÉRATURE

V. Laugel (1), C. Dalloz (1), M. Durand (1), E. Tobias (2), J. Tolmie (2), D. Martin-Coignard (3), V. Valayannopolous (4), V. Drouin-Garraud (5), H. Dollfus (1)

(1) Laboratoire de Génétique Médicale, EA 3949, HUS, Strasbourg ; (2) Génétique Médicale, Glasgow, UK ; (3) Service de Génétique Médicale, CHU du Mans ; (4) Service de Neuropédiatrie, Hôpital Necker, Paris ; (5) Génétique Médicale, CHU de Rouen

Le syndrome cérébro-oculo-facio-squelettique (COFS) [MIM214150], initialement identifié dans une population d'Indiens du Manitoba, est une maladie génétique autosomique récessive caractérisée par l'association microcéphalie, cataracte, microphthalmie, arthrogrypose et retard de croissance. Certaines de ces caractéristiques rapprochent le syndrome COFS du syndrome de Cockayne [MIM133540-216400] et les deux entités partagent le même défaut biochimique spécifique dans une voie de réparation de l'ADN, la voie TCR (« transcription-coupled repair »). Les patients de la description originale du syndrome COFS portent une même mutation homozygote dans le gène majeur du Cockayne (*CSB*), mais seulement cinq autres cas de COFS ont été étudiés sur le plan moléculaire en dehors de cet isolat. De nombreuses descriptions cliniques n'ont pas été confirmées sur le plan moléculaire et entretiennent la confusion sur la délimitation du cadre nosologique. Nous présentons les données cliniques et moléculaires de trois nouveaux patients COFS associés à des mutations dans le gène *CSB*. Les trois patients présentent les signes cardinaux du syndrome avec microcéphalie, cataracte congénitale, microphthalmie et arthrogrypose. Ils présentent aussi un retard de croissance essentiellement postnatal, un retard psychomoteur sévère, des difficultés alimentaires néonatales, une hypotonie axiale ainsi qu'une dysmorphie particulière distincte de celle du syndrome de Cockayne. Les fibroblastes issus de ces trois patients présentent une sensibilité particulière aux rayons ultraviolets et le défaut classique de réparation dans la voie TCR. L'étude moléculaire a mis en évidence des mutations dans le gène *CSB*. En fonction de ces données, nous proposons des critères cliniques de définition du syndrome COFS et nous discutons des liens avec le syndrome de Cockayne et avec d'autres syndromes apparentés.

Mots-clés : COFS, cockayne, *CSB*.

■P388 / 300. DIAGNOSTIC MOLÉCULAIRE DES ÉPILEPSIES MYOCLONIQUES PROGRESSIVES (EPM1 ET 2)

C.A. Bourdin (1), N. Boutry (1), P. Ryvlin (2, 3), F. Mauguère (3), P. Genton (4), A. Malafosse (5), A. Calender (1), G. Lesca (1, 2)

(1) Laboratoire de Génétique, Hôpital Édouard-Herriot, Lyon ; (2) *CTRS-Idée*, Lyon ; (3) Service d'Épileptologie, Hôpital Neurologique, Bron ; (4) Centre Saint-Paul, Marseille ; (5) Division de Neuropsychiatrie, Hôpital Belle-Idée, Genève

Les maladies de Lafora (EPM2) et d'Unverricht-Lundborg (EPM1) font parties des épilepsies myocloniques progressives dont la triade clinique comprend des myoclonies, une épilepsie généralisée de type tonico-clonique ou absence et une atteinte dégénérative du système nerveux central avec démence et ataxie de gravité variable. Elles sont transmises selon un mode autosomique récessif. La maladie de Lafora représente une forme fréquente et particulièrement grave d'EPM. L'âge de début se situe entre 6 et 19 ans et son évolution conduit à une démence en quelques années et

dans la plupart des cas, au décès du patient après 2 à 10 ans. Elle est causée par des mutations des gènes *EPM2A* et *NHLRC1/EPM2B*. À l'inverse, la maladie d'Unverricht-Lundborg débute entre 6 et 18 ans et son évolution se fait souvent vers une stabilisation des symptômes à l'âge adulte sans déficit cognitif progressif. Elle est très majoritairement liée à une expansion d'un dodécamère au niveau du promoteur du gène *CSTB*, bien que plusieurs mutations ponctuelles aient été également décrites. Nous avons mis en place le diagnostic moléculaire des EPM au CHU de Lyon, en collaboration avec le Pr. Alain Malafosse, pour répondre à la demande de la communauté des neurologues et des épileptologues. Le gène *CSTB* est étudié par Southern Blot pour détecter l'expansion du dodécamère puis par séquençage pour rechercher les mutations ponctuelles. L'étude des gènes *EPM2A* et *NHLRC1/EPM2B* est effectuée par séquençage, éventuellement complétée par l'étude de l'ADNc à la recherche de délétions des exons 2 ou 3. Dans un premier temps, nous avons complété les analyses de patients français débutées à Genève en séquençant la séquence codante du gène *CSTB* chez 98 patients et en effectuant également le Southern Blot chez 28 d'entre eux. Nous avons ensuite étudié une série de deux groupes de 22 et 20 cas index présentant, respectivement, un tableau évocateur de maladie d'Unverricht-Lundborg ou de maladie de Lafora. Pour le gène *CSTB*, nous avons confirmé le diagnostic chez 8 patients dont 6 homozygotes pour l'expansion du dodécamère et 2 hétérozygotes pour cette expansion et porteurs d'une mutation du site accepteur d'épissage de l'exon 2 (c.67-1G>C), sur l'autre allèle. Nous avons confirmé le diagnostic de maladie de Lafora chez 6 patients. Cinq d'entre eux sont porteurs de mutations du gène *EPM2A*, dont 2 porteurs d'une mutation non-sens à l'état homozygote (c.259A>T et c.834C>A), 2 porteurs d'une mutation non-sens et d'une délétion intra-exonique (c.721 C > T + c.102_133del32) ou une impliquant l'exon 2 dans sa totalité (c.721 C > T + c.302-?_476+?del) et un patient dont les mutations sont en cours de caractérisation. Un autre patient est hétérozygote composite pour des mutations du gène *NHLRC1/EPM2B* (c.940_943dupCTCT+c.1163_1164delAA). Chez un patient présentant des lésions histologiques typiques de la maladie de Lafora, nous n'avons pas mis en évidence de mutation. L'identification des mutations en biologie moléculaire est importante pour la confirmation du diagnostic et le conseil génétique mais également pour le pronostic et l'orientation thérapeutique des EPM, certains traitements pouvant avoir un effet délétère. L'absence de mutation ne remet pas forcément en doute le diagnostic de maladie de Lafora ou d'Unverricht-Lundborg, d'autres gènes étant vraisemblablement impliqués dans ces maladies.

Mots-clés : épilepsie myoclonique progressive, diagnostic, mutations.

■P389 / 315. DÉLÉTION DANS LE DOMAINE 5' UTR DU GÈNE *CSB*

C. Dalloz (1), V. Laugel (1), M. Durand (1), A. Stary (2), V. Cormier-Daire (3), I. Desguerre (4), M. Renouil (5), J.M. Egly (6), A. Sarasin (2), H. Dollfus (1)

(1) Laboratoire de Génétique Médicale, EA 3949, HUS, Strasbourg ; (2) FRE 2939, IGR, Villejuif ; (3) Département de Génétique Médicale, Hôpital Necker, Paris ; (4) Service de Neuropédiatrie, Hôpital Necker, Paris ; (5) Service de Pédiatrie, Hôpital St-Pierre, La Réunion ; (6) IGBMC, Illkirch

Situation du sujet : Le syndrome de Cockayne (CS) est une maladie génétique rare de transmission autosomique récessive, caractérisée par un retard de croissance statural associé à une maigreur extrême et progressive. Le tableau clinique comporte également une microcéphalie, un retard mental profond, une rétinopathie, une surdité neuro-sensorielle et une photosensibilité. Les enfants atteints décèdent en moyenne vers l'âge de 12 ans mais il existe une certaine variabilité à l'intérieur de ce syndrome avec des formes cliniques plus ou moins sévères. Les fibroblastes des patients CS présentent une anomalie dans une voie de réparation des lésions de l'ADN induites par les UV (ou voie TCR mis pour « transcription-coupled repair »), associée à des mutations des gènes *CSA* et *CSB*. Il a été proposé qu'il pourrait exister une corrélation inverse entre la gravité du tableau clinique et la quantité résiduelle de protéine *CSB*. Nous rapportons ici les données cliniques et moléculaires de deux cas en contradiction avec ce modèle. Approches expérimentales et résultats : Les examens cliniques des deux patients révèlent un retard de croissance sévère, une microcéphalie, un retard mental, une cataracte congénitale et une dégénérescence rétinienne pigmentaire conduisant à un décès prématuré (6 et 8 ans). Les expériences d'irradiation aux UV des fibroblastes montrent une anomalie de la voie de réparation de l'ADN couplée à la transcription, caractéristique du phénotype CS. L'analyse par western-blot et par RT-PCR montre l'absence totale de la protéine et du message de *CSB* dans les extraits fibroblastiques issus des patients. Le séquençage de l'ADN met en évidence une délétion génomique impliquant le domaine 5' UTR du gène *CSB*.

Discussion : Ces patients sont les premiers cas CS décrits présentant un spectre clinique sévère associé à une absence complète du messager et de la protéine CSB suite à une mutation située en dehors de la partie codante du gène. Le seul autre cas connu d'absence complète de la protéine CSB présentait un tableau clinique particulièrement peu sévère. La comparaison de ces études nous permet de remettre en cause l'hypothèse avancée de la corrélation inverse génotype-phénotype et suggère que d'autres voies restent à explorer afin de comprendre les mécanismes moléculaires et cellulaires conduisant à la variété des phénotypes CS observés.

Mots-clés : syndrome de Cockayne, CSB, réparation de l'ADN.

■P390 / 317. IDENTIFICATION D'UNE MUTATION FAUX-SENS DANS LE GÈNE *WFS1* IMPLIQUÉE DANS UN DIABÈTE AUTOSOMIQUE DOMINANT ASSOCIÉ À UNE SURDITÉ

S. Bannwarth (1), R. Valéro* (2), A. Figueroa (1), S. Roman (3), B. Viallettes (2), J.-C. Lambert (1), V. Paquis-Flucklinger (1), * Contribution égale (1) *Service de Génétique Médicale, Hôpital Archet 2, CHU Nice* ; (2) *Service de Nutrition, Maladies métaboliques, Endocrinologie, Hôpital La Timone, CHU Marseille* ; (3) *Service d'Oto-Rhino-Laryngologie, Hôpital La Timone, CHU Marseille*

Introduction : Des mutations dans le gène *WFS1* sont responsables du syndrome de Wolfram (WS) ou DIDMOAD (Diabetes Insipidus, Diabetes Mellitus, Optic Atrophy and Deafness) (MIM#222300). Il s'agit d'une affection rare, de transmission autosomique récessive qui se manifeste par l'association d'un diabète juvénile (DM) et d'une atrophie optique (AO). Les patients peuvent également développer un diabète insipide, une surdité neurosensorielle, des troubles urinaires, une atteinte neurologique et des troubles psychiatriques. Le gène *WFS1* comporte 8 exons et code pour une protéine transmembranaire appelée wolframine, dont le rôle reste à déterminer. Plus d'une centaine de mutations ont déjà été identifiées. La plupart sont dites « inactivatrices » (non sens ou avec décalage du cadre de lecture). Des mutations dans le gène *WFS1* sont également responsables de maladies autosomiques dominantes telles que des surdités neurosensorielles sur les basses fréquences (LFSNHI : Low Frequency SensoriNeural Hearing Impairment). Les mutations responsables de LFSNHI diffèrent de celles observées dans le DIDMOAD. Ce sont des mutations faux sens, localisées dans la région C-terminale de la wolframine. Récemment, une équipe danoise a montré que la mutation c.2590G > A (E864K) dans *WFS1* est responsable d'une association atrophie optique/surdité, de transmission autosomique dominante, dans une famille. Résultats : Nous avons retrouvé la mutation c.2590G>A (E864K) dans le gène *WFS1* chez un patient, âgé de 60 ans, qui est atteint de diabète et de surdité, sans atrophie optique. Cette mutation a également été identifiée chez sa mère qui présente un diabète non-insulino dépendant, une surdité et une atrophie optique. Elle est absente chez les sujets non atteints de cette famille. Dans cette étude, nous avons également identifié un nouveau variant (R228Q), présent chez le cas index mais absent chez sa mère. Le rôle de ce nouveau variant n'est pas connu et on ne peut exclure qu'il ait un rôle préventif dans le développement de l'atrophie optique. Conclusion : Cette étude démontre l'implication du gène *WFS1* dans une nouvelle forme de diabète monogénique de transmission autosomique dominante, pouvant être associé à une surdité neurosensorielle et une atrophie optique. Il est donc fortement recommandé d'étudier systématiquement le gène *WFS1* chez des patients présentant un diabète associé à une surdité et/ou une atrophie optique, surtout en présence d'antécédents familiaux.

Mots-clés : *WFS1*, diabète, surdité.

■P391 / 324. CARACTÉRISATION MOLÉCULAIRE DES TUMEURS DE PHÉNOTYPE BASAL-LIKE DE BAS GRADE HISTOPRONOSTIQUE

M. Kossai (1, 2, 5), L. Da Silva MD (1, 2), L. Reid (1, 2), P. Simpson (1, 2), P. Keith (1, 2), C. Clarke (1, 2), S. Manu (1, 2), A. Cayre (5, 6), S.R. Lakhani (1, 2, 3), F. Penault-Llorca (4, 5, 6)

(1) *Pathologie moléculaire et cellulaire, Université de Queensland, Brisbane, Australie* ; (2) *The Queensland Institute of Medical Research, Brisbane, Australie* ; (3) *The Royal Brisbane & Women's Hospital, Brisbane, Australie* ; (4) *Université Clermont 1, Clermont-Ferrand* ; (5) *Centre Jean-Perrin, Département de Pathologie, Clermont-Ferrand* ; (6) *INSERM UMR 484, Clermont-Ferrand*

Récemment, la découverte de profils moléculaires spécifiques a révolutionné l'approche diagnostique et thérapeutique du cancer du sein. Nous nous sommes intéressés à l'une des catégories agressives récemment démembrée, les tumeurs basal-like (15 % des tumeurs mammaires). Ce profil n'est retrouvé qu'au sein des tumeurs dites « triples négatives » soit

n'exprimant ni les récepteurs hormonaux (récepteur aux œstrogènes RE, récepteur à la progestérone RP), ni l'oncogène HER-2. Ce sont des tumeurs pour lesquelles les ressources thérapeutiques actuelles sont limitées. Si la plupart de ces tumeurs sont de phénotype agressif (haut grade nucléaire, nécrose), certaines tumeurs présentent un phénotype de bas grade, moins agressif. Nous avons voulu évaluer si cela correspondait sur le plan moléculaire à un profil particulier. Le premier temps consistait à la collection des prélèvements, à la microdissection des zones d'intérêt et à la préparation des acides nucléiques à partir de coupes en paraffine. Ensuite, des analyses des profils d'expression des gènes par la technologie DASL, géniques par hybridation génomique comparative et protéiques par immunohistochimie ont été réalisées. Nos résultats préliminaires sont en faveur de profils d'expression différentiels pour les tumeurs basales de bas grade qui les rapprocheraient des tumeurs de bas grade mais non basal-like (RE-positives). Ces travaux semblent montrer que le grade histopronostique est primordial dans la classification des tumeurs mammaires et dans le pronostic et qu'il serait plus déterminant que le statut hormonal. Ces travaux sont à confirmer sur une cohorte plus importante avant de poursuivre par des études fonctionnelles *in vitro* et *in vivo*.

Mots-clés : cancer du sein, basal-like de bas grade, analyse moléculaire.

■P392 / 328. RETARD MENTAL AVEC HYPOPLASIE CÉRÉBELLEUSE : DESCRIPTION DE 6 NOUVEAUX CAS PRÉSENTANT DES MUTATIONS DU GÈNE *OPHN1*

C. Lacoste (1), D. Bonneau (2), D. Lacombe (3), J.-M. Pedespan (4), N. Philip (5), N. Levy (1), C. Badens (1)

(1) *Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHU de la Timone, Marseille* ; (2) *Service de Génétique, CHU d'Angers* ; (3) *Service de Génétique Médicale, CHU Pellegrin, Bordeaux* ; (4) *Service de Neuropédiatrie, CHU Pellegrin, Bordeaux* ; (5) *Service de Génétique Clinique, CHU de la Timone, Marseille*

Le gène *OPHN1* (Oligophrénine 1) localisé en Xq12, code pour une protéine comportant un domaine Rho-GAP et exprimée dans le système nerveux. Des mutations de ce gène entraînent un retard mental modéré à sévère, des anomalies cérébelleuses, une dysmorphie faciale discrète, un strabisme et une épilepsie précoce. Toutes les mutations décrites à ce jour sont des mutations non-sens ou entraînant un décalage du cadre de lecture ou des anomalies d'épissage. Les femmes porteuses hétérozygotes ne présentent pas de biais d'inactivation du chromosome X et peuvent être symptomatiques. Le diagnostic de mutations dans le gène *OPHN1* est réalisé par criblage des 24 exons codant et des jonctions exon-intron par HPLC en conditions dénaturantes et séquençage des profils anormaux. Sur 56 cas index explorés récemment dans notre laboratoire, 3 patients présentaient une mutation pathogène dans *OPHN1* : une insertion d'un nucléotide (c.1738 dupC : p.Arg580Pro fs X30), une délétion de 11 nucléotides (c.1581 del(ACCTTAACACTG) fs) et une mutation faux-sens située sur l'ATG (c.1 A>T ; p.Met1Leu). Dans la famille de ce dernier patient, un frère et un cousin germain étaient également atteints et porteurs de cette mutation. Chez un sixième patient, une mutation faux sens a été identifiée dans l'exon 2, p.A45T, mutation non rapportée dans les bases de données ni retrouvée dans une cohorte de 80 individus témoins, mais dont le caractère pathogène reste à démontrer. Ce patient présente un retard mental léger, une épilepsie partielle peu sévère, une dysmorphie discrète et une hypoplasie du vermis. Plusieurs polymorphismes ont également été identifiés dont le plus fréquent est p.Val391Ile que nous avons retrouvé dans 6,3 % de la population générale et 10 % de nos patients. Le phénotype des 5 patients présentant les mutations à fort potentiel pathogène est homogène et caractéristique de ce qui a été rapporté précédemment dans la littérature, notamment avec une hypoplasie vermiennne, un retard global des acquisitions et une dysmorphie faciale caractéristique. Un strabisme est rapporté dans 2 cas et une épilepsie dans 3 cas sur 5. Des analyses complémentaires du patient présentant la mutation faux sens A45T et de sa famille permettront peut-être d'élargir le phénotype lié à des mutations d'*OPHN1* à des formes moins sévères d'hypoplasie cérébelleuse.

Mots-clés : retard mental, oligophrénine, hypoplasie cervelet.

■P393 / 331. NOUVELLES MUTATIONS DANS LE GÈNE *CLDN19* CHEZ TROIS FAMILLES AVEC HYPOMAGNÉSÉMIE FAMILIALE AVEC HYPERCALCIURIE ET NÉPHROCALCINOSE

A. Remenieras (1) ; A. Blanchard (2), N. Le Pottier (1), M. Godin (3), P. Houillier (2), X. Jeunemaître (1), R. Vargas-Poussou (1)

(1) *Département de Génétique, Hôpital Européen Georges-Pompidou, Paris* ; (2) *Département de Physiologie, Hôpital Européen Georges-Pompidou, Paris* ; (3) *Service de Néphrologie, Hôpital de Bois-Guillaume, Rouen*



Le syndrome hypomagnésémie familiale avec hypercalciurie et néphrocalcinose (FHHNC OMIM 248250) est une tubulopathie héréditaire à transmission récessive, caractérisée par une fuite rénale de calcium et magnésium. Les manifestations cliniques constantes sont l'hypomagnésémie, l'hypercalciurie, la néphrocalcinose et l'évolution vers l'insuffisance rénale mais il peut exister également des lithiases, un retard de croissance, une polyurie, des infections urinaires, une acidose tubulaire et des atteintes oculaires. Cette maladie est due à des mutations du gène de la Claudine 16 (*CLDN 16*) (OMIM 603959). La claudine 16 est localisée dans les jonctions serrées des cellules de la branche large ascendante de l'anse de Henle (BLAH) où elle assure le passage paracellulaire de cations divalents. La perte de fonction de cette protéine est responsable d'un défaut de réabsorption de calcium et magnésium. Récemment, le gène de la Claudine 19 (*CLDN 19*) (OMIM 610036), a été impliqué chez des patients ayant le même phénotype rénal mais avec des atteintes oculaires constantes et sévères (myopie, nystagmus, colobome maculaire). La Claudine 19 est exprimée dans les jonctions serrées des cellules de la BLAH et de l'épithélium pigmenté de la rétine. Nous avons analysé le gène de la *CLDN 19* dans neuf familles avec un tableau FHHNC pour lesquelles aucune mutation de la *CLDN 16* n'avait été identifiée. Le tableau phénotypique comprenait l'hypomagnésémie, l'hypercalciurie avec une néphrocalcinose ; ce phénotype était associé chez quelques patients à des troubles oculaires ainsi qu'à d'autres signes tels que la cassure de la courbe de croissance, une polyurie ou encore une acidose tubulaire distale. Des nouvelles altérations moléculaires de la *CLDN 19*, ont pu être mises en évidence chez trois familles : la délétion des exons 1 à 4 et la mutation non sens p.Q57X, dans des familles consanguines et la mutation faux-sens p.P28L dans une troisième famille non consanguine. Ces mutations sont présentes à l'état homozygote, ce qui est en accord avec la transmission récessive de la maladie. La mutation faux-sens est très probablement pathogène, elle touche une proline localisée dans le premier domaine transmembranaire de la protéine. De plus, cet acide aminé est hautement conservé dans la famille des claudines de différentes espèces. Une atteinte oculaire (myopie sévère et strabisme) est retrouvée dans le cas index de la famille consanguine porteuse de la mutation p.Q57X. Dans les deux autres familles il n'existe pas de manifestations cliniques oculaires mais un examen ophtalmologique approfondi n'a pas été effectué. Cette étude confirme l'implication des gènes *CLDN16* et *CLDN19* dans l'FHHNC. L'absence de mutation dans six familles ayant un phénotype rénal semblable, est en faveur d'un hétérogénéité génétique supplémentaire.

Mots-clés : hypomagnésémie, claudines, néphrocalcinose.

■P394 / 334. SPECTRE DES MUTATIONS ET CORRÉLATIONS PHÉNOTYPE-GÉNOTYPE ASSOCIÉS À LA PARAPLÉGIE SPASTIQUE SPG11

G. Stevanin (1, 2), H. Azzedine (1, 3), P. Denora (1, 4), A. Boukhris (1, 2, 5), M. Tazir (6), A. Hamri (7), C. Goizet (1, 8), S. Forlani (1), M. Anheim (9), C. Depienne (1, 2), J. Truchetto (1), G. Garrigues (10), J. Vale (11), P. Coutinho (12), C. Tallaksen (13), A.L. Rosa (14), M. Tada (15), A. Lossos (16), F. Pasquier (17), F.M. Santorelli (4), C. Mhiri (5), A. Durr (1, 2), A. Brice (1, 2) et le réseau SPATAX

(1) INSERM U679, Paris ; (2) Département de Génétique et Cytogénétique, CHU Pitié-Salpêtrière, Paris ; (3) Centre de Référence de Neurogénéétique, CHU d'Angers ; (4) Bambino Gesù Children's Hospital, Rome, Italie ; (5) Hôpital Habib Bourguiba, Sfax, Tunisie ; (6) Hôpital Mustapha, Alger, Algérie ; (7) Hôpital Benbadis, Constantine, Algérie ; (8) Hôpital Pellegrin, Bordeaux ; (9) Hôpital Civil, Strasbourg ; (10) CHU de Montpellier ; (11) Hospital De Egas Moniz, Lisbonne, Portugal ; (12) Hospital S. Sebastiao, Santa Maria da Feira, Portugal ; (13) Ullevål University Hospital, Oslo, Norvège ; (14) Fundacion and Sanatorio Allende, Cordoba, Argentine ; (15) Niigata University, Japon ; (16) Hadassah-Hebrew University Medical Center, Jerusalem, Israel ; (17) CHRU de Lille, France

Introduction : Les paraparésies spastiques héréditaires sont des affections neurologiques cliniquement et génétiquement hétérogènes caractérisées par une faiblesse et une spasticité progressive des membres inférieurs parfois associées à d'autres signes neurologiques. Une entité clinique fréquente parmi les formes autosomiques récessives (PSAR) associe un léger retard mental, une polyneuropathie et une atrophie du corps calleux (PSAR-ACC). La plupart des familles sont liées au locus SPG11 sur le chromosome 15 et nous avons récemment identifié 10 mutations tronquantes dans le gène *KIAA1840*, associées à ce phénotype. Matériel et méthodes : Afin de déterminer le spectre mutationnel et préciser le phénotype associé, nous avons analysé le gène *KIAA1840* par séquençage direct ou analyse de liaison dans une grande cohorte de patients avec PSAR (n = 76) associant variablement ACC, retard mental ou troubles cognitifs. Ces patients ont été collectés au sein du réseau européen et méditerranéen SPATAX.

Résultats : Nous avons identifié 22 mutations tronquantes transmises chez 7 (21 %) cas apparemment isolés et 13 (30 %) familles avec une transmission autosomique récessive. Dix-neuf de ces mutations sont nouvelles et incluent des mutations affectant l'épissage. Parmi les mutations connues, deux sont récurrentes et associées à des haplotypes partiellement conservés, suggérant des effets fondateurs au Portugal et en Afrique du Nord. La fréquence des mutations varie en fonction du phénotype des patients testés. La fréquence la plus élevée a été retrouvée chez les patients présentant une PSAR avec ACC (41 %), comme attendu. Ces mutations sont rares chez les patients avec retard mental sans ACC (4,5 %). L'âge de début des premiers signes (essentiellement troubles de la marche et/ou retard mental) varie de la première à la troisième décennie. Après $14,9 \pm 6,6$ ans d'évolution, le phénotype des 38 cas examinés est sévère puisque 53 % d'entre eux sont en chaise roulante ou confinés au lit. De plus, 80 % des patients présentent une détérioration cognitive et une neuropathie. L'IRM cérébrale montre une ACC chez 95 % des patients, une atrophie corticale chez 81 % d'entre eux et des anomalies de la substance blanche chez 69 %. Conclusion : Cette étude montre la fréquence importante des mutations du gène *SPG11* parmi les patients présentant une ACC avec retard mental ou troubles cognitifs, neuropathie et anomalies de la substance blanche. Bien que plus fréquente chez les cas avec transmission autosomique récessive, *SPG11* peut également rendre compte de cas apparemment sporadiques.

Mots-clés : paraplégie spastique, corps calleux, retard mental.

■P395 / 347. DUPLICATIONS D'EXONS DANS LE GÈNE *HSD17B3* : UN NOUVEAU TYPE DE MUTATION RESPONSABLE DE DÉFICIT EN 17BÉTA-HSD

L. Michel-Calemard (1), E. Charmandari (3), J. Acherman (4), N. Skordis (5), Y. Morel (1, 2)

(1) Hospices Civils de Lyon, Endocrinologie Moléculaire et Maladies Rares, Centre de Biologie et de Pathologie Est, Bron, F69677, France ; (2) Université Lyon 1, Faculté de médecine Laennec, Lyon, F69003, France ; (3) The Middlesex Hospital, London, UK ; (4) Paediatric & Adolescent Endocrinology, Institute of Child Health, London, UK ; (5) Paediatric Endocrine Unit, Makarios Hospital, Nicosia, Cyprus

Le déficit en 17bêta-Hydroxystéroïde déshydrogénase (17bêtaHSDde type 3) est une maladie génétique rare, de transmission autosomique récessive, responsable de « 46,XY DSD (Disorders of Sexual Development) » par anomalie testiculaire de la dernière étape de la biosynthèse de la testostérone. Seuls les sujets 46,XY sont atteints et présentent une hypo-masculinisation des organes génitaux externes pouvant aller jusqu'à un phénotype féminin. L'hormone anti-müllérienne est normale car les testicules sont bien différenciés. En l'absence de gonadectomie, une virilisation pubertaire survient grâce à la conversion périphérique de la delta4-androstènedione (delta4A) en testostérone (T) par une isoenzyme (17bêtaHSD de type V). Le gène *HSD17B3*, composé de 11 exons, code pour une enzyme purement testiculaire catalysant la réduction NADPH-dépendante de la delta4A en T. Population étudiée : Parmi notre grande cohorte comprenant plus de 500 patients « 46,XY DSD » avec AMH normale, tous les patients présentant un ratio delta4A/T > 1 après stimulation (à la naissance, la minipuberté ou après hCG), ont bénéficié d'un séquençage du gène *HSD17B3*. 49 patients présentant un déficit en 17bêtaHSD, ont ainsi été génotypés : 47 portaient 2 mutations (homozygotes ou hétérozygotes composées) et seuls 2 patients étaient simplement hétérozygotes. Matériel et méthodes : Pour l'un des 2 patients ci-dessus, l'ARNm testiculaire a pu être étudié à la suite d'une gonadectomie. Après RT-PCR et séquençage, une duplication hétérozygote de l'exon 2 était suspectée. Etant donné la difficulté d'obtention de l'ARNm, nous avons décidé de développer une technique permettant la détection des larges réarrangements à partir de l'ADN génomique. Une PCR multiplex fluorescente semi quantitative a été mise au point. Les 11 exons du gène *HSD17B3*, ainsi que des amplicons contrôles, ont été co-amplifiés et déposés sur un séquenceur capillaire ABI 3100 après 18 cycles de PCR. Un quotient de dosage, comparant la hauteur des pics de tous les exons du patient et d'un sujet contrôle, a été calculé. La duplication de l'exon 2 a ainsi pu être confirmée chez notre patient et retrouvée chez son père. Cette stratégie a été appliquée à notre 2^e patient avec une seule mutation identifiée sur son allèle maternel et a permis la détection d'une duplication hétérozygote s'étendant des exons 3 à 10 chez le patient et son père. Conclusion : Il s'agit de la première description de larges lésions du gène *HSD17B3*. Leur recherche devrait être proposée chez tous les patients ayant une seule mutation identifiée ou ayant un profil hormonal typique d'un déficit en 17bêtaHSD.

Mots-clés : déficit en 17bêtaHSD, PCR multiplex fluorescente semi-quantitative, duplications d'exons.

■P396 / 349. ANALYSE DU GÈNE CACNA1A CHEZ 25 INDEX SUSPECTS D'ATAXIE ÉPISODIQUE DE TYPE 2

F. Riant (1, 2), C. Ploton (1), E. Tournier-Lasserre (1, 2)

(1) Laboratoire de Génétique Moléculaire, APHP Hôpital Lariboisière, Paris ; (2) INSERM U740, Paris

Introduction : L'Ataxie Episodique est une pathologie rare, hétérogène génétiquement, caractérisée par la survenue de crises paroxystiques avec troubles de l'équilibre. L'Ataxie Episodique de type 2 (EA2) a une transmission autosomique dominante et se caractérise par des crises durant de quelques minutes à plusieurs heures. Un nystagmus intercritique est classiquement présent. Certains patients développent une ataxie progressive et une atrophie vermineuse. Les accès sont classiquement sensibles à l'acétazolamide. D'autres manifestations neurologiques paroxystiques (diplopie, épilepsie...) ou permanentes (retard mental...) peuvent s'y associer. Les premiers signes cliniques apparaissent généralement dans l'enfance mais peuvent survenir à l'âge adulte. Le diagnostic, basé sur la description clinique des crises peut être difficile en cas d'atypies. Des mutations ponctuelles du gène *CACNA1A*, le plus fréquemment de type perte de fonction, ont été identifiées dans de nombreux cas. Cependant, dans la littérature comme dans notre expérience, aucune mutation n'est identifiée chez certains patients malgré un séquençage complet du gène, soulevant l'hypothèse de l'existence de mutations d'une autre nature ou d'une hétérogénéité génétique. Objectifs : Déterminer la localisation et la nature des mutations sur une série de patients consécutifs avec suspicion d'EA2, en incluant la recherche de délétion, et comparer les cas avec et sans mutation. Matériel et méthode : 25 index non apparentés atteints d'EA2 ont été analysés, 8 cas familiaux et 17 cas sporadiques. Le criblage des 47 exons a été fait par séquençage et QMPSF. Cinq items cliniques ont été recueillis : le caractère familial ou sporadique, l'âge de début, la présence de nystagmus intercritique, les signes associés, la réponse à l'acétazolamide. Résultats : 13 mutations différentes ont été identifiées chez 14 index (6 familiaux, 8 sporadiques), incluant 12 mutations ponctuelles et 1 délétion emportant les exons 38, 39 et 40 ; il s'agit de la première mutation de ce type rapportée dans l'EA2. Parmi les mutations ponctuelles, 9 sont de type perte de fonction, les autres sont 2 mutations faux sens touchant des acides aminés conservés (G13R et E147K) et une délétion de 3 nucléotides (p.A1593_Y1594delinsD). Elles n'ont pas été retrouvées chez 200 chromosomes contrôles. La mutation E147K a déjà été rapportée dans une famille associant épilepsie-absence et épisodes ataxiques. L'analyse clinique des 9 cas avec mutation de type perte de fonction montre i) l'existence d'une non réponse à l'acétazolamide chez plusieurs cas, ii) la présence d'un nystagmus intercritique chez tous les sujets. Aucune atypie n'est présente chez ces cas hormis des épisodes d'hyperammoniémie post crise chez un index et son apparenté muté. L'âge de début moyen est de 24.5 ± 18.3 ans chez les cas mutés, (19.8 ± 14.4 pour les cas avec perte de fonction), et 39.5 ± 25.6 chez les non mutés. Trois cas sans mutation identifiée sont indistinguables des cas avec mutation perte de fonction, hormis 1 cas avec absence de nystagmus intercritique. La présence d'une atypie de type oscillopsie a été rapportée chez 2 cas non mutés. Conclusion - discussion : La découverte d'une délétion de grande taille rend nécessaire la recherche systématique de ce type de mutation en pratique diagnostique. La fréquence et la récurrence de ces délétions restent à déterminer sur une plus grande série. Une résistance à l'acétazolamide, un début tardif même chez des cas sporadiques peuvent être observés dans des cas avec mutation perte de fonction L'interprétation des mutations faux sens reste difficile à l'exception des cas de novo. Certaines mutations faux sens pourraient être plus souvent associées à un début tardif ou à des signes cliniques associés de type épilepsie-absence. Enfin, il existe des cas typiques sans mutation identifiée, en faveur d'anomalies régulatrices ou d'une hétérogénéité génétique.

Mots-clés : ataxie épisodique *CACNA1A* délétion.

■P397 / 351. SYNDROME D'AARSKOG-SCOTT : ÉTUDE CLINIQUE ET ANALYSE MOLÉCULAIRE CHEZ 11 PATIENTS

N. Ronce (1, 2), A. Paubel (1), B. Doray (3), N. Philip (4), S. Jacquemont (5), A. David (5), H. Journel (6), A. Dieux (7), C. Vincent-Delorme (7, 8), A. Moncla (4), D. Martin-Coignard (9), F. M'Bou (10), V. Biancalana (3), M.-P. Moizard (1, 2), C. Moraine (2), M. Raynaud (1, 2)

(1) CHRU de Tours, Laboratoire de Génétique Moléculaire, Service de Génétique, 37000 Tours, France ; (2) INSERM U619, 37000 Tours, France ; (3) CHRU de Strasbourg, Consultation de génétique et Laboratoire de Diagnostic Génétique, 67000 Strasbourg, France ; (4) CHU de Marseille, Département de Génétique Médicale, 13000 Marseille, France ; (5) CHU de Nantes, Génétique Médicale, 44000 Nantes, France ; (6) CH de Vannes, Génétique Médicale, 56000 Vannes, France ; (7) CHRU de Lille, Service de Génétique Clinique, 59000 Lille, France ; (8) CH d'Arras,

Génétique Médicale, 62000 Arras, France ; (9) CH de Le Mans, Génétique Médicale, 72000 Le Mans, France ; (10) CH du Lamentin, Service de Pédiatrie et Néonatalogie, 97292 Lamentin, Martinique, France

Le syndrome d'Aarskog-Scott ou dysplasie facio-digito-génitale se caractérise par une dysmorphie faciale, des anomalies des extrémités, des anomalies génitales et une petite taille. Ces signes peuvent être associés à un léger déficit intellectuel et/ou des troubles du comportement. Le gène en cause dans la forme liée à l'X (MIM# 305400), *FGDI* (faciogenital dysplasia type 1) code une protéine GEF (guanine nucleotide exchange factor) qui active la protéine p21 GTPase Cdc42, un membre de la famille Rho des GTPases. La voie de signalisation *FGDI/Cdc42* est impliquée dans l'organisation du cytosquelette d'actine et intervient dans la morphogénèse embryonnaire. La recherche de mutation du gène *FGDI* a été réalisée dans une population de 25 garçons non apparentés présentant un tableau clinique évocateur. 11 mutations différentes (dont 1 déjà décrite) ont été identifiées : 4 faux-sens, 1 non-sens, 5 petites délétions et 1 mutation d'épissage. 7 des 11 mutations aboutissent à un arrêt de la traduction de la séquence codante et probablement à une perte de fonction de la protéine *FGDI*. Les données phénotypiques de chaque patient ainsi que les mutations associées sont décrites.

Mots-clés : Syndrome d'Aarskog-Scott, *FGDI*, Retard mental.

■P398 / 352. DYSTONIE LIÉE AU GÈNE TORIA : BILAN DANS LA POPULATION FRANÇAISE

M.Y. Frédéric (1, 2), F. Clot (3, 4, 5, 6), L. Cif (7), A. Blanchard (1, 2), A. Dürr (3, 4, 5, 6), I. Vuillaume (8, 9), G. Lesca (10, 11), A. Kreisler (12, 13), C. Davin (1, 2), T. Besnard (1, 2), F. Rousset (1, 2), D. Thorel (14), C. Saquet (14), D. Mechlin (14), L. Ozellus (15), Y. Agid (13, 4, 5, 16, 17), B. Barroso (18), B. Chabrol (19), V. Chan (20), M. Clanet (21), C. Coubes (22), A. Destee (12, 13), K. Nguyen (23), C. Vial (24), M. Vidailhet (3, 4, 5, 16, 17), J. Xie (25), B. Sablonnière (8, 9), A. Calender (10, 11), A. Brice (3, 4, 5, 6, 16, 17), A. Roubertie (26), P. Coubes (5), M. Claustres (1, 2, 14), S. Tuffery-Giraud (1, 2), G. Collod-Beroud (1, 2) (1) INSERM, U827, Montpellier, F-34000 France ; (2) Université MONTPELLIER1, UFR Médecine, Montpellier, F-34000 France ; (3) INSERM, U679, Paris, F-75013 France ; (4) Université Pierre-et-Marie-Curie, Paris-6, UMR S679, Hôpital de la Pitié-Salpêtrière, Paris, F-75013 France ; (5) Institut Fédératif des Neurosciences (IFR70), Hôpital de la Pitié-Salpêtrière, Paris, France ; (6) AP-HP, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Département de Génétique cytogénétique et Embryologie, Paris, F-75013 France ; (7) CHU Montpellier, Hôpital Guy-de-Chauliac, Service de Neurochirurgie, Montpellier, F-34000 France ; (8) CHRU de Lille, Institut de Biochimie et Biologie Moléculaire, Lille, F-59037 France ; (9) INSERM, U837, Lille, F-59045 France ; (10) Hôpital Édouard-Herriot, service de Génétique Moléculaire et Clinique, Lyon, F-69437 France ; (11) Université Claude-Bernard Lyon-I, Villeurbanne, F-69622 France ; (12) CHRU de Lille, Service de Neurologie et pathologie du mouvement (EA2683), Lille, F-59037 France ; (13) Université de Lille-2 Droit et Santé, UFR Médecine, Lille, F-59045 France ; (14) CHU Montpellier, Hôpital Arnaud-de-Villeneuve, Laboratoire de Génétique Moléculaire, Montpellier, F-34000 France ; (15) Department of Genetics and Genome Sciences, Mount Sinai School of Medicine, New York, NY, United States ; (16) AP-HP, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Fédération de Neurologie, Paris, F-75013 France ; (17) INSERM, U289, Paris, F-75013 France ; (18) Université Pierre et Marie Curie, Ecole Médicale de la Pitié-Salpêtrière, Paris, France ; (19) CHU de Pau, Service de Neurologie, Pau, F-64046 France ; (20) CHU de Marseille, Service de Neuropédiatrie, Marseille, F-13385, France ; (21) CH de Valence, Service de Neurologie, Valence, F-26000 France ; (22) CHU de Toulouse, Hôpital Purpan, Service de Neurologie générale et Maladies inflammatoires du système nerveux, Toulouse, F-31059 France ; (23) CHU Montpellier, Hôpital Arnaud-de-Villeneuve, Service Génétique Clinique, Montpellier, F-34000 France ; (24) CHU de Marseille, Service de Génétique Médicale, Marseille, F-13385, France ; (25) Hospices Civils de Lyon, Hôpital Neurologique et Neurochirurgical Pierre-Wertheimer, Service d'Électroneuromyographie et Pathologies Neuromusculaires, Lyon, F-69394, France ; (26) Hospices Civils de Lyon, Hôpital Neurologique et Neurochirurgical Pierre-Wertheimer, Service de Neurologie C, Lyon, F-69394, France ; (26) CHU Montpellier, Hôpital Guy-de-Chauliac, Service de Neuropédiatrie, Montpellier, F-34000 France

La dystonie est une maladie neurologique rare qui se manifeste par des contractions involontaires et soutenues affectant une ou plusieurs parties du corps, et entraînant des mouvements répétitifs de torsion et des postures anormales. Les dystonies primaires ou idiopathiques constituent un groupe de pathologies cliniquement et génétiquement hétérogènes. Elles sont généralement de transmission autosomique dominante avec une pénétrance



réduite. La forme *DYT1*, bien caractérisée, correspond à une forme généralisée de la maladie avec une apparition précoce. Elle débute dans l'enfance en atteignant le plus souvent les membres inférieurs puis progresse jusqu'à la forme généralisée. La particularité de cette pathologie est que la majorité des cas identifiés dans différentes populations est due à une mutation unique et récurrente, correspondant à une délétion de trois paires de bases (c.907delGAG) au sein du gène *TOR1A* localisé sur le chromosome 9. En France, peu de données épidémiologiques sont rapportées dans la littérature quant aux porteurs de cette mutation. Une collaboration entre les 4 centres de référence pour le diagnostic moléculaire de la forme *DYT1* en France (Lille, Lyon, Paris et Montpellier) a été mise en place. Elle nous a permis de mettre en place le recensement de la population française porteuse de cette mutation et de caractériser l'haplotype associé à la délétion dans les différentes familles identifiées. Cette collaboration a permis d'identifier 53 cas index. Pour chacun, les données cliniques, moléculaires et l'ADN de l'ensemble des apparentés disponibles pour l'analyse ont été collectés. Au total, 108 individus porteurs de la mutation ont été identifiés dont 24 asymptomatiques. La fréquence de la mutation c.907delGAG a donc pu être estimée à au moins 0,17:100.000 dans la population française. Les haplotypes associés à la mutation ont été construits en analysant 5 microsatellites entourant le gène. L'haplotype particulier associé à un effet fondateur dans la population juive ashkénaze (JA) a été retrouvé dans 12 familles avec ou sans origine JA. Quatre familles présentent un second haplotype identifié dans la population JA. Parmi les 37 autres familles étudiées, seulement 2, sans aucun lien de parenté rapporté, partagent le même haplotype. Cette étude a permis de caractériser les porteurs de la mutation c.907delGAG du gène *TOR1A* responsable de la forme généralisée de dystonie dans la population française. Les résultats confirment l'absence d'effet fondateur et la rareté de cette maladie en France.

Mots-clés : *DYT1*, dystonie primaire précoce, *TOR1A*.

■P399 / 370. CHORÉE DE HUNTINGTON ASYMPTOMATIQUE ASSOCIÉE À UNE DÉGÉNÉRESCENCE CORTICO-BASALE

D. Caparros-Lefebvre (1), O. Kerdraon (2), C.M. Dhaenens (3, 4), C.A. Maurage (2), A. Delacourte (4), B. Sablonnière (3, 4)

(1) Service de Neurologie, CH de Valenciennes ; (2) Laboratoire de Neuropathologie, Centre de Biologie-Pathologie ; (3) UF de Neurobiologie, Centre de Biologie-Pathologie, CHRU de Lille ; (4) INSERM U837, Centre de Recherches Jean-Pierre-Aubert, Université de Lille 2

Présentation clinique. Une patiente de 71 ans, sans antécédent personnel ni familial notable, développa une dysarthrie rapidement progressive, associée à une dysphagie en rapport avec une apraxie oro-bucco-linguale. S'y associait un syndrome cérébelleux axial modéré et peu évolutif, avec hypotonie cérébelleuse et emardées au demi-tour. L'évaluation cognitive révélait de discrets troubles praxiques. Après 6 mois d'évolution, apparaissait un syndrome pyramidal qui restait limité aux muscles d'innervation bulbaire. Puis, la dysphagie devint prédominante alors que la patiente était anarthrique. Dans les dernières semaines de vie, le syndrome pyramidal s'étendait aux membres avec amyotrophie, fasciculations et déficit moteur. L'état cognitif était préservé. Tout au long de la maladie, la patiente n'a jamais présenté de mouvement choréique. Une détresse respiratoire survenait 22 mois après le début des manifestations cliniques et entraînait le décès. L'IRM encéphalique était normale et l'imagerie fonctionnelle par SPECT montrait une hypoperfusion fronto-pariéto-temporale bilatérale. Cliniquement, l'implication du cervelet, du cortex pariétal et des voies pyramidales dans un processus dégénératif rapidement progressif faisait évoquer en premier lieu une dégénérescence cortico-basale, en l'absence de syndrome frontal évident et de trouble de l'oculomotricité. Neuropathologie : Macroscopiquement, le cerveau présentait une atrophie cortico-sous-corticale modérée prédominant au niveau fronto-temporal et épargnant relativement les noyaux gris centraux. Les lésions microscopiques associaient une perte neuronale, une spongieuse laminaire corticale et une gliose astrocytaire, principalement au niveau temporel antérieur. L'immunohistochimie montrait des lésions de Tauopathie au niveau neuronal (dégénérescence neurofibrillaire hippocampique) et glial (corps bobinés), sans dépôt amyloïde, dont la distribution évoquait une dégénérescence cortico-basale. En plus de ces lésions de dégénérescence cortico-basale, les anticorps anti-huntingtine révélaient des agrégats caractéristiques de maladie de Huntington, de grade 1 selon la classification de Vonsattel. Biochimie. La présence de dégénérescence neurofibrillaire fut observée à partir d'homogénats de différentes aires cérébrales (noyau de Meynert, Hippocampe, cortex temporal, pallidum interne et noyau sous-thalamique) par la présence d'agrégats de protéines tau pathologiques révélées par l'anticorps AD2. Le profil électrophorétique indiquait la présence d'un doublet de protéines Tau (69 et 64 kDa), caractéristique du profil observé

dans la dégénérescence cortico-basale. Génétique : En présence d'une hypotonie, d'un syndrome cérébelleux associé à quelques mouvements anormaux erratiques, le test génétique de la chorée de Huntington était pratiqué. Une expansion de 40 motifs CAG fut observée. Ce résultat fut confirmé par la mesure de la taille de la répétition du motif CAG à partir d'un extrait de tissu cérébral. Discussion : Cette observation souligne la difficulté posée parfois par le diagnostic de maladies neuro-dégénératives dont la présentation clinique n'oriente pas vers une maladie héréditaire. En l'absence d'histoire familiale de chorée de Huntington dans la famille, cette présentation objective un cas de Huntington quasiment asymptomatique, chez une femme de 71 ans dont la taille de l'expansion correspond à un risque de 50 % de développer les signes cliniques à 60 ans et de 93 % à 70 ans. Il peut s'agir d'une association fortuite de deux maladies neuro-dégénératives. Cependant l'absence de signes d'appel francs en faveur d'une chorée de Huntington permet de supposer un retard de l'évolution de la pathogénie de l'huntingtine liée à une dégénérescence neurofibrillaire. Ainsi une intrication des mécanismes pathogéniques entre l'huntingtine mutée et les protéines tau n'est pas à exclure, mais reste à démontrer.

Mots-clés : Huntington atypique, dégénérescence neuronale, clinique.

■P400 / 372. COL4A1, UN NOUVEAU GÈNE IMPLIQUÉ DANS LES MALFORMATIONS D'AXENFELD-RIEGER SYNDROMIQUES

I. Coupry (1), I. Sibon (2), I. Orignac (1), I. Burgelin (1), J.-M. Orgogozo (2), D. Lacombe (1, 3), B. Arveiler (1, 3), C. Goizet (1, 3)

(1) Laboratoire de Génétique Humaine, Université Victor-Segalen, Bordeaux 2, 33076 Bordeaux ; (2) Fédération de Neurosciences Cliniques ; (3) Service de Génétique Médicale, Hôpital Pellegrin, CHU Bordeaux, 33076 Bordeaux

Introduction : Le terme « malformation d'Axenfeld-Rieger » (MAR) s'applique à une constellation de malformations de la chambre antérieure de l'œil appartenant au groupe hétérogène des dysgénésies du segment antérieur. Les MAR peuvent être isolées ou bien associées à d'autres malformations dans un cadre syndromique. À ce jour, seuls trois gènes codant pour des facteurs de transcription (*PITX2*, *PAX6* et *FOXC1*) avaient été impliqués dans les mécanismes moléculaires à l'origine de MAR Sujets et Méthodes Cinq apparentés, porteurs d'une MAR associée à une leucoencéphalopathie et répartis sur trois générations successives, ont été investigués sur le plan clinique et génétique. Résultats La leucoencéphalopathie traduit l'existence d'une vasculopathie cérébrale chez tous les sujets atteints, pouvant être à l'origine d'accidents vasculaires cérébraux, y compris du sujet jeune, mais pouvant également être asymptomatique. Les analyses de liaison dirigées sur plusieurs loci impliqués dans les MAR ou bien dans les vasculopathies cérébrales ont révélé une association possible avec les loci 11p13 (*PAX6*) et 13q34 (*COL4A1*). Le séquençage direct de *COL4A1* a révélé une nouvelle mutation faux-sens, p.Gly720Asp. Conclusion : Nous décrivons une nouvelle forme syndromique de MAR. Nos résultats confirment que les mutations de *COL4A1* peuvent causer des MAR chez l'homme conformément aux observations déjà faites chez la souris.

Mots-clés : Axenfeld-Rieger, *COL4A1*, leucoencéphalopathie.

■P401 / 374. MALADIE DE MENKES ET SYNDROME DES CORNES OCCIPITALES : IDENTIFICATION DE NOUVELLES MUTATIONS

M.P. Moizard (1, 2), N. Ronce (1, 2), N. Marmin (1), A. Paubel (1), S. Mercier (1), S. Blesson (1), A. Toutain (1), C. Moraine (2), M. Raynaud (1, 2)

(1) Service de Génétique, CHRU de Tours ; (2) INSERM U 619, Tours

La maladie de Menkes est un trouble sévère du métabolisme du cuivre, de transmission récessive liée à l'X, qui touche un garçon sur 250 000. Elle se caractérise cliniquement dès les premiers mois de vie par un retard de croissance, une détérioration neurologique progressive et une atteinte des tissus conjonctifs associés à un aspect caractéristique de la peau et des cheveux. Les taux de cuivre sérique et de céruloplasmine sont effondrés. Le décès survient dans la majorité des cas avant l'âge de 3 ans. Il existe des formes plus modérées dont le syndrome des cornes occipitales (OHS) qui se manifeste essentiellement par l'atteinte du tissu conjonctif. Ces différentes formes cliniques sont liées à des mutations du gène *ATP7A* qui comporte 23 exons et qui code pour une ATPase de type P de transport intracellulaire du cuivre de 1500 acides aminés. Un défaut de la protéine entraîne un déficit en cuivre libre et conduit à l'altération de la fonction des enzymes cuivre dépendantes, à l'origine les différents symptômes de la maladie. Les mutations décrites à ce jour sont majoritairement des mutations ponctuelles de tout type et des délétions qui emportent un à plusieurs exons du gène. L'absence de point chaud de mutation implique, pour

chaque patient, l'analyse de la totalité du gène (séquence codante de 8122 pb). Nous avons développé pour cela deux approches moléculaires complémentaires : l'une sur ADN génomique qui utilise les techniques de PCR – séquençage et PCR semi quantitative des 23 exons, l'autre sur ARNm extrait de lignée lymphoblastoïde ou de culture de fibroblastes. À ce jour, 39 patients (35 cas index dont 1 présentant un phénotype OHS, 2 sujets féminins présentant des signes cliniques et 2 apparentées de sujets masculins décédés, conductrices par la généalogie) ont été étudiés. L'analyse a permis de mettre en évidence une mutation chez 33 patients soit 32 mutations réparties en 3 petites mutations de décalage de phase, 4 mutations non-sens, 5 mutations d'épissage, 9 mutations faux-sens et 11 grands réarrangements exoniques. Pour les familles avec mutation identifiée, ces résultats ont permis de confirmer le diagnostic clinique, de proposer la réalisation d'un diagnostic prénatal par méthode directe (10 ont été réalisés) et de renseigner plusieurs apparentées à risque sur leur statut.

Mots-clés : Menkes, OHS, ATP7A.

■P402 / 376. UN ÂGE DE DÉBUT PRÉCOCE EST LE CRITÈRE CLINIQUE MAJEUR DE LA MALADIE DE PARKINSON LIÉE AUX MUTATIONS DU GÈNE *PARK2*

C. Cazeneuve (1), C. Sâh (1), E. Lohmann (2), E. Leguern (1, 2), A. Dürr (2, 3), A. Brice (1, 2, 3), et le groupe Parkinson Disease Genetics (1) Dpt de Génétique, UF de Neurogénétiologie Moléculaire et Cellulaire, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, AP-HP, 75013 Paris ; (2) Inserm U679, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, 75013 Paris ; (3) Dpt de Génétique, UF de Génétique Clinique, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, AP-HP, 75013 Paris

Introduction : La forme juvénile autosomique récessive de la maladie de Parkinson (JPD) associe les signes habituels de la maladie de Parkinson (akinésie, rigidité, tremblement de repos) à une bonne réponse à la L-DOPA, une évolution lente et un âge de début précoce (< 40 ans). Le gène le plus fréquemment en cause dans la JPD est le gène *PARK2*. Une recherche des mutations du gène *PARK2* est assez souvent proposée aux patients ayant développé la maladie entre 40 et 60 ans et se présentant comme des cas sporadiques ou compatibles avec une transmission autosomique récessive. **Patients et Méthodes :** Afin de préciser les critères cliniques de la JPD associée à *PARK2*, nous présentons ici le résultat de l'analyse moléculaire du gène *PARK2* chez 123 patients (soit 122 familles) ayant un âge de début compris entre 11 et 57 ans et un diagnostic clinique de maladie de Parkinson. La recherche de réarrangement a été réalisée par Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification (MLPA kits P051/P052, MRC-Holland ; ces kits détectent également la mutation p.Gly2019Ser du gène *LRRK2*, associée à des formes dominantes avec pénétrance incomplète de la maladie de Parkinson et les réarrangements du gène *SNCA*, également associé à des formes dominantes) ; les mutations ponctuelles ont été recherchées par séquençage direct des 12 exons du gène et de leurs régions introniques flanquantes. **Résultats-Discussion :** Au total, 52 % (23/44) des mutations identifiées du gène *PARK2* sont des réarrangements (délétion ou multiplication d'un ou plusieurs exons) ; les mutations ponctuelles sont des mutations faux-sens (n = 12) ou induisant un décalage de cadre de lecture (n = 9). Vingt patients, dont deux sœurs, portent deux mutations de *PARK2* (patients *PARK2*), quatre portent une seule mutation et 92 ne portent aucune mutation de *PARK2*. Un patient porte une duplication du gène *SNCA*. La mutation G2019S est retrouvée chez les 6 patients restant dont deux portent également une mutation de *PARK2*. La distribution des génotypes *PARK2* (2, 1 ou 0 mutation) diffère très significativement de la loi de Hardy-Weinberg, le groupe des patients portant une seule mutation identifiée étant très largement sous-représenté. Ce résultat suggère fortement que le phénotype de la très grande majorité des patients chez lesquels aucune mutation n'a pu être identifiée n'est pas lié au gène *PARK2* plutôt que lié à des mutations de *PARK2* siégeant dans des régions non explorées. L'âge de début est inférieur à 40 ans chez tous les patients *PARK2*, l'âge de début moyen (24,5 ans) étant plus précoce que celui des autres patients (36,1 ans, p < 0,001). Cependant, parmi les patients dont l'âge de début est inférieur à 40 ans, seuls 24 % (20/83) présentent deux mutations identifiées du gène *PARK2*, leur âge de début étant également inférieur à celui des autres patients (31,1 ans, p < 0,001). En revanche, le profil clinique des patients *PARK2* (rigidité, akinésie, tremblement, réponse à la L-DOPA, début asymétrique) n'est pas significativement différent de celui des autres patients. Enfin, la proportion de patients *PARK2* est plus élevée dans les familles autosomiques récessives (54 %, 7/13) que pour les cas sporadiques ou aux antécédents familiaux éloignés (11 %, 12/109) mais ces derniers représentent plus de 50 % des patients *PARK2*. **Conclusion** Au total, ces résultats montrent qu'un âge de début inférieur 40 ans est le critère clinique majeur pour l'indication de

l'analyse moléculaire du gène *PARK2* dans les formes de la maladie de Parkinson compatibles avec un mode de transmission autosomique récessif.

Mots-clés : Parkinson, critère clinique, *PARK2*.

■P403 / 377. RÉDUCTION DE L'INTERVALLE CANDIDAT ET PHÉNOTYPE ASSOCIÉ À LA PARAPLÉGIE SPASTIQUE SPG15 : ÉTUDE DE 8 FAMILLES

P. Denora (1, 2), A. Boukhris (1, 3), N. Elleuch (1, 3), N. Bouslam (1, 4), S. Hanein (1), A. Lossos (5), A. Hamri (6), I. Feki (3), E. Denis (7), A. Benomar (4), C. Mhiri (3), C. Goizet (1), F.M. Santorelli (2), A. Brice (1, 7), G. Stevanin (1, 7) (1) INSERM/UPMC UMR679 ; (2) Bambino Gesù Children's Hospital, Rome, Italie ; (3) Hôpital Habib Bourguiba, Sfax, Tunisie ; (4) Hôpital des Spécialités, Rabat, Maroc ; (5) Hadassah-Hebrew University Medical Center, Jerusalem, Israël ; (6) Hôpital Benbadis, Constantine, Algérie ; (7) Département de Génétique et Cytogénétique du CHU Pitié-Salpêtrière, Paris

Introduction : La paraplégie spastique héréditaire (PSF) de type 15 est une forme rare de PSF récessive autosomique (RA) complexe, qui présente des caractéristiques phénotypiques très hétérogènes s'intégrant initialement au syndrome de Kjellin. Les signes les plus courants sont : paraplégie spastique de progression lente, retard mental suivi par une détérioration intellectuelle, amyotrophie distale, maculopathie et légers signes cérébelleux. Le locus responsable (SPG15) a été localisé sur le chromosome 14q22-q24, dans un intervalle de 19 cm. Matériels et Méthodes : Huit familles, dont deux sont apparentées, ont été incluses dans notre étude. Ces familles présentaient un phénotype complexe comprenant une atteinte cognitive et certains signes associés au syndrome de Kjellin. Après exclusion par analyse de liaison des autres loci de RA-PSF connus (dont SPG11), nous avons réalisé une cartographie primaire dans trois grandes familles consanguines d'origine Arabe et l'analyse du locus SPG15 a été réalisée directement sur les cinq autres familles d'origine tunisienne et italienne en utilisant des marqueurs microsatellites flanquants. **Résultats :** Les huit familles se sont avérées liées au locus SPG15 (2.0 > Zmax > 4.3) et la reconstitution des haplotypes nous a permis de réduire la taille de la région candidate de ~16 à ~5 Mb, entre les markers D14S981 et rs8688. Les vingt individus atteints de ces huit familles montraient une paraplégie spastique (20/20) associée à une détérioration cognitive de progression sévère (15/20), des légers signes cérébelleux (3/20) et une neuropathie axonale et démyélinisante (7/20). Un corps calleux fin n'a été retrouvé que dans quatre familles, et seulement deux patients présentaient des anomalies au fond de l'œil. L'âge de début variait de 8 à 19 ans. Le séquençage direct de deux des 50 gènes candidats contenus dans cette région (*GPHN* et *SLC8A3*, qui codent respectivement pour une protéine associée aux microtubules et pour un échangeur Na⁺/Ca⁺⁺) n'a mis en évidence aucune mutation dans leurs exons et dans les régions UTRs. **Conclusion :** Nous rapportons la plus grande cohorte de patients SPG15, qui nous a permis de réduire la taille de l'intervalle candidat et de démontrer que ce locus peut être associé à des formes différentes du syndrome de Kjellin.

Mots-clés : paraplégie spastique, corps calleux, retard mental.

■P404 / 382. LE DIAGNOSTIC GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE DU SYNDROME DU QT LONG CONGÉNITAL

V. Fressart (1), A. Le Hen (1), N. Benammar (1), I. Denjoy (2), J.M. Lupoglazoff (2), P. Charron (2), M. Berthet (3), P. Guicheney (3), B. Hainque (1, 3)

(1) UF de Cardiogénétiologie et Myogénétiologie, Service de Biochimie Métabolique, Hôpital Pitié-Salpêtrière (AP-HP), Paris ; (2) Centre de Référence pour les Maladies Cardiaques Héréditaires, Paris ; (3) INSERM U582, Institut de Myologie, Hôpital Pitié-Salpêtrière (AP-HP), Paris

Introduction : Le syndrome du QT long congénital (QTL) est une pathologie rythmique ventriculaire rare. Ce syndrome se caractérise à l'électrocardiogramme (ECG) de surface par un allongement de l'intervalle QT. La prévalence serait supérieure à 1/5 000. Le syndrome du QTL congénital est cliniquement hétérogène : bradycardie sinusale, lipothymies, syncopes et aussi morts subites qui en font toute la gravité. Le diagnostic est porté classiquement chez des sujets jeunes. La transmission est habituellement autosomique dominante. En plus des formes dites congénitales, il existe des formes dites acquises, médicamenteuses ou liées à des désordres hydro-électrolytiques. **Aspects génétiques.** Le syndrome du QTL congénital se caractérise par une grande hétérogénéité génétique. Ainsi à ce jour, 8 gènes différents sont rapportés dans ce syndrome. Parmi eux, 3 gènes sont plus fréquemment impliqués, les gènes *KCNQ1* et *KCNH2* qui codent des canaux potassiques et le gène *SCN5A* codant un canal sodique. De rares mutations ont été identifiées dans les gènes *KCNE1* et *KCNE2* qui codent



des sous-unités  ; de canaux potassiques. Seul le gène *ANK2* ne code pas pour un canal, mais pour une protéine intracellulaire, l'Ankyrine B, dont la fonction serait l'ancrage de protéines à la membrane. Enfin, 2 autres gènes ont plus rarement été impliqués dans le syndrome du QTL. L'allongement de l'intervalle QT est alors associé à des dysmorphies ou des malformations. Il s'agit du gène *KCNJ2*, codant un canal potassique impliqué dans le syndrome d'Andersen et du gène *CACNA1C*, codant un canal calcique, impliqué dans le syndrome de Timothy. But de l'étude. Le but de cette étude était d'évaluer l'efficacité de l'analyse des gènes les plus fréquemment impliqués dans le syndrome du QTL congénital. Méthodes : Nous avons reçu au laboratoire 1 419 prélèvements dont 416 patients index et 1 003 apparentés. Nous avons analysé les patients index sur 1 ou 2 ou 3 des gènes les plus fréquemment impliqués dans le syndrome du QTL. En effet, en l'absence de mutation sur le premier gène étudié, l'analyse se poursuit sur le second puis en dernier lieu sur le troisième (l'ordre de priorité est fonction du tableau clinique). Résultats. Nous avons identifié à ce jour des mutations chez 145 cas index, mais toutes les analyses ne sont pas terminées. 72 familles sont porteuses de 54 mutations dans *KCNQ1*. Ces mutations sont des mutations faux sens (72 %), des délétions et/ou insertions (16 %), des non sens (8 %) et des mutations d'épissage (4 %). 67 familles sont porteuses de 59 mutations dans *KCNH2*. Parmi ces mutations, 64 % sont des faux sens, 22 % des délétions et/ou insertions, 12 % des non sens et 2 % des mutations d'épissage. 6 familles présentent une mutation unique dans *SCN5A* (5 faux sens et 1 délétion de 3 nucléotides). En plus des cas index, l'analyse des apparentés a permis de rendre le diagnostic génétique à 799 patients (145 cas index et 654 apparentés) dans ces 145 familles. La présence d'une mutation a été mise en évidence chez 394 sujets (221 porteurs de mutation dans *KCNQ1*, 146 mutés dans *KCNH2* et 27 mutés *SCN5A*). Les mutations n'ont pas été retrouvées chez 405 sujets (190 indemnes issus de familles présentant une mutation *KCNQ1*, 184 sujets issus de familles atteintes de mutation *KCNH2* et 31 au sein des familles mutées dans *SCN5A*). Conclusions : En accord avec la littérature, les mutations causales identifiées dans le cadre du syndrome du QTL, le sont majoritairement dans *KCNQ1* (50 %) et *KCNH2* (46 %). Dans notre cohorte de familles mutées, les mutations dans *SCN5A* sont rares et représentent moins de 5 % des mutations responsables du syndrome du QTL. L'indication de la recherche de mutation dans *SCN5A* doit donc être étayée par des renseignements cliniques suggérant fortement l'implication de ce gène comme des syncopes au repos associées à un allongement marqué du segment ST. Au total, le diagnostic moléculaire a permis de confirmer le diagnostic de syndrome de QTL chez 49 % de notre population.

Mots-clés : syndrome du QTL, diagnostic génétique, arythmie ventriculaire.

■P405 / 385. SPECTRE MUTATIONNEL DE LA MALADIE DE GAUCHER EN TUNISIE

W. Cherif (1, 2), R. Kefi-Ben Atig (1), H. Ben Turkia (2), N. Tebib (2), O. Amaral (3), F. Ben Rhouma (1), M. S. Abdelmoula (2), H. Azzouz (2), C. Caillaud (3), M.C. Miranda (4), S. Abdelhak (1), M.F. Ben Dridi (2) (1) Unité 26/04 d'Exploration Moléculaire des Maladies Orphelines d'Origine Génétique, Institut Pasteur de Tunis, Tunisie ; (2) Unité 25/04 de Dépistage et de Prise en charge des Maladies Hérititaires du Métabolisme, Service de Pédiatrie du CHU la Rabta Tunis, Tunisie ; (3) Laboratoire de Génétique Métabolique, Faculté de Médecine de Cochin, France ; (4) Département de Neurobiologie Génétique, Institut de Biologie Moléculaire et Cellulaire, université de Porto, Portugal

Introduction : La maladie de Gaucher est la maladie métabolique la plus fréquente parmi les affections de surcharge lysosomale. Sa transmission est autosomique récessive. Elle est due à un déficit enzymatique en bétaglucosidase entraînant l'accumulation pathologique du glucosylceramide dans les lysosomes. Depuis la découverte du gène *GBA* qui code pour la bétaglucosidase, plus de 200 mutations ont été rapportées parmi lesquelles les mutations récurrentes N370S, L444P et C.84insG. Leurs fréquences et leurs distributions sont variables selon les populations étudiées. Objectif : Les maladies héréditaires métaboliques sont des maladies rares mais en Tunisie, elles sont relativement fréquentes à cause du taux élevé de la consanguinité. Notre but est de déterminer le spectre mutationnel de la maladie de Gaucher en Tunisie et de développer un outil moléculaire de diagnostic pour cette pathologie. Matériel et méthodes : Nous avons recherché, par PCR / RFLP et séquençage direct, les mutations N370S, L444P, chez 11 enfants tunisiens, atteints de la maladie de Gaucher, appartenant à 10 familles non apparentées. Résultats : Chez les patients tunisiens, la mutation N370S est la plus fréquente (6/20 allèles mutés, 30 %), suivie par l'allèle recombinant (RecNciI) (5/20 allèles mutés, 25 %). La mutation L444P présente une fréquence de l'ordre de 20 % (4/20 allèles

mutés). Parmi les patients étudiés, cinq sont hétérozygotes composés N370S/RecNciI. Conclusion : La recherche des mutations N370S et L444P par PCR/RFLP fournit un outil de diagnostic moléculaire simple, non invasif permettant un dépistage des hétérozygotes indispensable pour le conseil génétique.

Mots-clés : maladie de Gaucher, diagnostic moléculaire, gène *GBA*.

■P406 / 389. IDENTIFICATION D'UN CINQUIÈME GÈNE DE L'HYPERCHOLESTÉROLÉMIE FAMILIALE

M. Marduel, M. Abifadel, A. Marques, J. Bonneau, M. Devillers, D. Erlich, A. Munnich, J.P. Rabès, C. Boileau et M. Varret
INSERM UR781, Paris, France

L'hypercholestérolémie familiale est un facteur de risque majeur de l'athérosclérose dont les complications cardio-vasculaires sont la principale cause de morbidité et de mortalité dans les pays industrialisés. Les facteurs génétiques intervenant dans l'homéostasie du cholestérol sont certainement nombreux, mais l'identification des gènes dont les altérations sont associées à l'Hypercholestérolémie Familiale (HCF) a contribué à une meilleure compréhension des mécanismes de régulation du taux plasmatique de cholestérol. L'hypercholestérolémie à transmission autosomique dominante (ADH) est l'une des maladies génétiques les plus fréquentes, touchant un sujet sur 500 sous sa forme hétérozygote. Elle se traduit par des concentrations élevées en LDL (Low Density Lipoprotein), lipoprotéines riches en cholestérol. L'excès de cholestérol provoque des dépôts extra-vasculaires entraînant la formation de xanthomes tendineux ou cutanés, de xanthélasmas, d'arcs cornéens, mais aussi des dépôts vasculaires au niveau de l'aorte, des artères coronaires, carotidiennes et fémorales à l'origine des plaques d'athérosclérose et des complications cardiovasculaires. Le premier gène impliqué dans l'HCF fut le gène codant le récepteur des LDL (*LDLR*), mis en évidence par Brown et Goldstein en 1986. En 1987, les travaux de l'équipe d'Innerarity révélèrent le deuxième gène, *APOB*, codant l'apolipoprotéine B-100 portée par les LDL et ligand des récepteurs des LDL. Puis, notre équipe a mis en évidence deux locus supplémentaires impliqués dans la maladie. Un troisième gène, *PCSK9* (Proprotein Convertase Subtilisin/kexin type 9), codant une sérine protéase, fut alors découvert en 2003. L'identification du quatrième gène, *HCHOLA4*, est en cours : il est localisé en 16q22.1 dans un intervalle de 5,31 cm et coderait une protéine impliquée dans le catabolisme des LDL. Grâce au Réseau de Recherche National de l'HCF, notre équipe a collecté du matériel génétique d'une grande famille, appelée HC126. Vingt-six échantillons furent obtenus de cette famille multiplexe, dont 16 provenant de sujets atteints, et 10 provenant de sujets normocholestérolémiques. Des analyses par haplotypage et séquençage de la famille HC126 ont permis d'exclure l'implication des gènes *LDLR*, *APOB* et *PCSK9*. De plus, l'étude de 6 marqueurs microsatellites recouvrant l'intervalle *HCHOLA4* a permis d'exclure clairement cette région pour la famille HC126. Ces résultats démontrent l'existence d'un cinquième gène de l'HCF : *HCHOLA5*. Pour évaluer la puissance de la famille HC126 pour le linkage, 500 simulations furent effectuées avec les génotypes grâce au logiciel SLINK en utilisant des paramètres compatibles avec l'ADH. L'espérance de LOD score obtenue fut de 2,08 et le maximum de LOD Score attendu fut de 3,96, ce qui signifiait que le seuil statistiquement significatif de 3 pouvait être atteint avec cette famille unique. Le tour du génome effectué en collaboration avec le Centre National de Génotypage a fait ressortir 5 régions à forts LOD score. Sur l'une d'elles, une étude par haplotypage a permis de réduire une zone de 6,4 mégabases comprenant environ 160 gènes, dont un, particulièrement intéressant de part son implication dans le métabolisme du cholestérol, qui est en cours d'étude par séquençage. Pour valider cette région comme contenant effectivement *HCHOLA5*, nous avons accès à du matériel génétique provenant de petites familles présentant une HCF non liée aux gènes *LDLR*, *APOB* et *PCSK9*. Nous effectuons l'haplotypage de ces petites familles afin de réduire encore plus la zone d'intérêt. L'identification du gène *HCHOLA5* devrait permettre de comprendre encore plus précisément le métabolisme du cholestérol, voire d'en révéler un aspect nouveau, ce qui pourrait permettre le développement de nouvelles méthodes préventives, ou de médicaments mieux ciblés.

Mots-clés : hypercholestérolémie, linkage, gène candidat.

■P407 / 391. PERTURBATIONS DES PROCESSUS BIOLOGIQUES SUITE À L'ACTIVATION CONSTITUTIVE DE *FGFR3* : ANALYSE TRANSCRIPTOMIQUE DE CULTURES PRIMAIRES DE CHONDROCYTES HUMAINS

L. Schibler (1), L. Gibbs (1), C. Benoist-Lasselin (1), C. Decraene (2), A. Lise Delezoide (3), M. Gonzales (4), J. Martinovic (5), P. Loget (6), A. Munnich(1), L. Legeai-Mallet (1)

(1) INSERM U781-Département de génétique, Hôpital Necker, Paris ; (2) Plateforme de Génomique Fonctionnelle Curie, Hôpital Saint-Louis, Paris ; (3) Service d'Anatomopathologie, Hôpital Robert-Debré, Paris ; (4) Service de Génétique et d'Embryologie Médicale, Hôpital Trousseau, Paris ; (5) Service de Fœtopathologie, Hôpital Necker, Paris ; (6) Centre Pluridisciplinaire de Diagnostic Prénatal de Rennes, CHU de Rennes

L'achondroplasie, le nanisme le plus fréquent chez l'homme, fait partie d'un groupe de chondrodysplasies de sévérité variable incluant l'hypo-chondroplasie, la forme modérée et le nanisme thanatophore, la forme létale. Ces dysplasies squelettiques dont le mode de transmission est autosomique dominant se caractérisent par des membres courts, des anomalies vertébrales et une macrocéphalie plus ou moins marquée. Le gène responsable, *FGFR3*, est un récepteur transmembranaire à activité tyrosine kinase qui régule négativement la croissance osseuse. Les diverses mutations décrites dans ce gène entraînent son activation constitutive, se traduisant par une maturation accélérée et défectueuse des chondrocytes de la plaque de croissance. À l'heure actuelle, le rôle exact de *FGFR3* au niveau moléculaire est encore mal compris. *FGFR3* utilise préférentiellement la voie des MAPKines, le récepteur muté active également la voie de signalisation des STATs. L'activation constitutive du récepteur provoque un arrêt prématuré du cycle cellulaire des cellules prolifératives, qui se différencient précocement en chondrocytes préhypertrophiques. D'autres voies interviennent probablement et différentes molécules telles *Ihh*, *PTHrP* ou *BMP* sont potentiellement impliquées dans le contrôle de la différenciation et la prolifération chondrocytaires. Afin de préciser les mécanismes moléculaires et cellulaires perturbés par les mutations de *FGFR3*, nous avons analysé le transcriptome de chondrocytes humains fœtaux à l'aide de puces Affymetrix U133-2. L'étude a porté sur une série de 8 cultures chondrocytaires primaires contrôles et 7 pathologiques, obtenues à partir de fœtus interrompus entre 18 et 25 semaines d'aménorrhée. Les chondrocytes pathologiques provenaient de fœtus atteints de nanisme thanatophore, portant les mutations activatrices gain de fonction Y373C, Y371C, R248C, X807R. Les échantillons contrôles ont été obtenus à partir de fœtus sans atteinte osseuse. Une normalisation GC-RMA et une correction des effets série a été réalisée à l'aide de la suite Partek. Les gènes présentant la plus forte variabilité d'expression ont été identifiés par la méthode d'Interquartile Range (IQR). Au total, 760 gènes ont été retenus et le rapport des niveaux d'expression moyens entre les deux groupes d'échantillons a été calculé. L'analyse fonctionnelle de ces gènes à l'aide d'Ingenuity Pathways Analysis est en accord avec les observations d'histologie et d'immunohistochimie montrant une diminution de la prolifération chondrocytaire dans la plaque de croissance pathologique. Elle confirme l'activation de la voie STAT et montre une perturbation de la synthèse de matrice extracellulaire, avec une réduction de l'expression de la plupart des collagènes et une surexpression des gènes de laminine et d'ostéopontine. De façon plus surprenante, nous avons observé une surexpression d'une centaine de gènes impliqués essentiellement dans l'adhésion et la motilité cellulaire. Ces premiers résultats semblent indiquer que la désorganisation de la structure de la plaque de croissance dans cette pathologie résulterait à la fois d'un défaut de synthèse de la matrice extracellulaire et de motilité des chondrocytes.

Mots-clés : *FGFR3*, achondroplasie, transcriptome.

■P408 / 400. FRÉQUENCE, SPECTRES PHÉNOTYPIQUE ET MUTATIONNEL DE SPG10 ET SPG31, DEUX NOUVELLES FORMES DE PARAPLÉGIE SPASTIQUE DOMINANTE AUTOSOMIQUE

C. Goizet (1), A. Durr (1, 2), E. Mundwiller (1), E. Ferdiko (2), S. Forlani (1), A. Toutain (3), P. Charles (2), D. Hannequin (4), B. Carlander (5), N. Carrière (6), M. Herbreteau (7), I. Le Ber (1), J.-F. Pinel (8), C. Tallaksen (1), J. Yaouanq (8), C. Depienne (1, 2), A. Brice (1, 2), G. Stevanin (1, 2)

(1) INSERM U679 ; (2) Département de Génétique et Cytogénétique, Hôpital de la Salpêtrière, 75651 Paris cedex 13 ; (3) Service de Génétique, CHU Tours ; (4) Service de Neurologie, CHU Rouen ; (5) Service de Neurologie B, CHU Montpellier ; (6) Service de Neurologie B, CHU Clermont-Ferrand ; (7) Service de Neurologie, CH Lorient ; (8) Services de Neurologie et de Génétique, CHU Rennes

Introduction : Les paraplégies spastiques héréditaires (PS) constituent un groupe hétérogène de maladies neurodégénératives se caractérisant par une spasticité des membres inférieurs de sévérité très variable, souvent associée à une faiblesse musculaire. L'absence ou la présence d'autres signes cliniques distingue les formes pures des formes complexes de PS. L'hétérogénéité génétique est très importante puisque 38 loci ont déjà été identifiés. Dans les formes de transmission autosomique dominante (AD), les mutations dans SPG4 et SPG3A expliquent la moitié des familles en France.

SPG10 et SPG31 sont deux formes de PS AD pure, récemment décrites. Matériel et Méthodes Nous avons recherché des mutations dans les gènes *KIF5A* (SPG10) et *REEP1* (SPG31) chez 193 cas index non apparentés par séquençage direct. L'ensemble de la région codante et des jonctions intron-exon a été étudié pour *REEP1* (7 exons) tandis que l'analyse s'est limitée aux 11 premiers exons du gène *KIF5A* (qui comporte 50 exons), correspondant au domaine moteur où sont essentiellement retrouvées les mutations décrites. L'analyse du gène *REEP1* est actuellement complétée par la recherche de réarrangements en utilisant la technique MLPA (MRC-Holland). Résultats Nous avons identifié 8 mutations dans *KIF5A* (SPG10) et 5 mutations dans *REEP1* (SPG31). À l'exception d'une délétion intragénique dans *REEP1*, la plupart de ces mutations sont toutes des faux-sens touchant des acides aminés très conservés au cours de l'évolution ou bien affectent l'épissage. Cinq mutations (4 pour SPG10 et une pour SPG31) sont associées à des formes complexes de PS essentiellement en raison de la présence d'une neuropathie axonale ou d'un retard mental. Discussion Nos résultats révèlent que SPG10 et SPG31 représentent des formes rares de PS AD, 2 et 1 % respectivement. L'âge de début est variable, de l'enfance à un âge avancé. Si la PS apparaît pure dans la majorité des cas, l'observation d'une forme complexe est possible aussi bien pour SPG10 que pour SPG31. Les mutations sont réparties sur toute la longueur du gène *REEP1*. Au contraire, un point chaud de mutations est observé dans les exons 8 à 10 du gène *KIF5A*, particulièrement au niveau du codon R280 (3 mutations faux-sens différentes identifiées). La recherche de réarrangements du gène *REEP1*, actuellement en cours, pourrait révéler une fréquence plus élevée des mutations de ce gène.

Mots-clés : paraplégies spastiques héréditaires, SPG10, SPG31.

■P409 / 402. ÉVALUATION DE L'IMPLICATION DES DIFFÉRENTS GÈNES DU DESMOSOME ET D'AUTRES GÈNES CANDIDATS DANS LA DYSPLASIE ARYTHMOGÈNE VENTRICULAIRE DROITE

V. Fressart (1), F. Simon (1), E. Delacretaz (2), F. Hidden Lucet (1), C. Coirault (3), D. Keller (4), P. Cosnay (5), D. Klug (6), O. Cesari (7), R. Frank (1), B. Hainque (1) P. Charron (1)

(1) Hôpital Pitie-Salpêtrière, Paris, France ; (2) Hôpital de Berne, Switzerland ; (3) Hôpital Bicêtre, Paris, France ; (4) Hôpital de Bale, Bale, Switzerland ; (5) Hôpital Bretonneau de Tours, France ; (6) Hôpital cardiologique de Lille, France ; (7) Hôpital de Rennes, France

Introduction : La cardiomyopathie (ou dysplasie) arythmogène du ventricule droit (CVDA) est une maladie rare caractérisée par le remplacement du tissu myocardique par du tissu fibre adipeux prédominant dans le ventricule droit. C'est une maladie familiale dans 30 % des cas à transmission classiquement autosomique dominante, causée par des mutations dans les gènes codant les protéines du desmosome. Des études préliminaires montrent que les mutations dans la plakophiline2 (*PKP2*) sont impliquées dans 11 à 47 %, dans la desmogleine2 (*DSG2*) dans 10 % des cas. Les mutations dans la Desmoplakine (*DSP*) représentent 5-16 % des mutations causales. Les rares mutations (toutes récessives) dans le gène de la Plakoglobine (*JUP*) ont toutes été rapportées dans la maladie de Naxos (forme rarissime d'atteinte cardiaque et des phanères). But de l'étude : Notre but est d'identifier la fréquence des mutations dans les gènes du desmosome dans une population de patients indépendants présentant une CVDA et d'analyser cette fréquence selon le contexte familial et la sévérité. Notre but était également de tester de nouveaux gènes candidats, Desmine et *SCN5A*. Méthodes : Nous avons analysé chez 57 patients atteints de forme classique de CVDA par séquençage direct, après extraction de l'ADN, les gènes *PKP2*, *DSG2*, *DSC2*, *JUP* et *DSP*. Nous avons analysé *SCN5A* chez 17 patients, dont 10 chez qui la recherche de mutation sur les gènes du desmosome s'est avérée négative. L'analyse du gène codant le Desmine a été réalisée sur 11 patients dont la recherche de mutation dans les gènes du desmosome s'était révélée négative. Résultats : Nous avons identifié : 16 mutations dans *PKP2* (5 frame shift, 5 délétions, 3 insertions, 2 faux sens) et 3 variants de signification incertaine chez 18 des 57 patients index ; 6 mutations dans *DSG2* (une mutation d'épissage, une délétion et une insertion ainsi que 3 mutations faux sens) chez 8 des 57 patients ; 3 mutations dans *DSP* (2 mutations faux sens et une mutation d'épissage) chez 3 patients ; 2 mutations dans *DSC2* chez un même patient (une délétion, un variant faux sens) ; aucune mutation dans *JUP*. La recherche de mutation dans *SCN5A* et dans la Desmine s'est avérée négative. Conclusions : Nous avons trouvé une fréquence élevée de mutations dans *PKP2* et *DSG2* parmi les patients atteints de DVDA (respectivement de 32 % et 14 %). Plus rarement, nous avons mis en évidence des mutations dans le gène de la desmoplakine (5 %) et dans *DSC2* (2 %). Ces résultats préliminaires montrent que les mutations causales de CVDA sont identifiées dans 50 % des cas dans notre population étudiée, quelque soit



le contexte (forme familiale ou sporadique). Ceci suggère l'utilité d'un génotypage des patients en routine de façon à améliorer la stratégie diagnostique et le conseil génétique des patients et des apparentés

Mots-clés : CVDA, diagnostic génétique, arythmie ventriculaire.

■P410 / 409. DÉFICIT ANTEHYPOPHYSIAIRE MULTIPLE ASSOCIÉ À UNE SURDITÉ, UN NOUVEAU SYNDROME EN RAPPORT AVEC DES MUTATIONS DU FACTEUR DE TRANSCRIPTION *LHX3*

M.-L. Sobrier (1), C. Heinrichs (2), M.-P. Luton (1), S. Rose (1), S. Amselem (1)

(1) Inserm U654, Hôpital Trousseau, Paris ; (2) Unité d'Endocrinologie Pédiatrique, Hôpital Universitaire des Enfants Reine-Fabiola, Bruxelles

Introduction : *LHX3* code un facteur de transcription à domaine LIM jouant un rôle primordial pour le développement pituitaire et la spécification des motoneurones. Seulement 7 mutations de *LHX3* ont été rapportées chez l'homme. Toutes ont été trouvées à l'état homozygote chez des patients consanguins présentant un déficit pituitaire combiné (CPHD, déficit en GH, TSH, PRL, FSH/LH, et parfois ACTH) ; à l'exception d'un cas, une rigidité cervicale est retrouvée chez tous ces patients, un trait phénotypique résultant probablement du défaut d'expression de *LHX3* au niveau des motoneurones. **Résultats :** Nous décrivons deux nouvelles mutations du gène *LHX3* à l'état hétérozygote composite identifiées chez un patient présentant non seulement un CPHD et une rigidité cervicale, mais également une surdité de perception profonde. Une mutation (c.252-3 C>G) affecte le site accepteur d'épissage de l'exon 3, l'autre, faux-sens (p.C123Y), implique un acide aminé très conservé du domaine LIM2. Dans le but d'étudier l'effet de la mutation c.252-3C>G sur l'épissage des transcrits *LHX3*, des cellules HEK293 ont été transfectées avec des vecteurs d'expression contenant le minigène *LHX3* (s'étendant de l'exon 1b à l'exon 5) normal ou muté. Cette mutation est responsable d'un épissage anormal, conduisant à la synthèse d'une protéine extrêmement tronquée. L'étude du retentissement fonctionnel de la mutation faux-sens (p.C123Y), par des tests luciférase sur différents promoteurs pituitaires, montre une perte partielle d'activation transcriptionnelle de la protéine *LHX3* mutée. **Discussion :** Ces données démontrent le caractère pathogène de ces deux nouvelles variations moléculaires de *LHX3*. La surdité décrite chez ce patient non consanguin, nous incite à étudier le rôle possible de *LHX3* dans le développement du système auditif chez l'homme.

Mots-clés : déficit pituitaire multiple, *LHX3*, syndrome.

■P411 / 411. DÉFICIT GH ISOLÉ ET MALFORMATION DE CHIARI I CHEZ UN PATIENT PRÉSENTANT UNE NOUVELLE MUTATION D'ÉPISSAGE DU *GHRHR*

L. Hilal (1), Y. Hajaji (1), M.-P. Luton (2), Z. Ajaltouni (1), B. Benazzouz (1), M. Chana (3), A. Chraïbi (3), A. Kadiri (3), S. Amselem (2), M.-L. Sobrier (2)

(1) Laboratoire de Génétique et de Physiologie Endocrinienne, Faculté des Sciences, Kenitra, Maroc ; (2) Inserm U654, Hôpital Trousseau, Paris ; (3) Service d'Endocrinologie, CHU Ibn Sina, Rabat, Maroc

Introduction : Le déficit isolé en hormone de croissance (IGHD) peut être d'origine génétique. Un des rares gènes impliqués dans cette pathologie est celui codant pour le récepteur du GHRH (Growth Hormone Releasing Hormone). **Résultats :** Deux enfants marocains issus d'une union consanguine présentent un retard de croissance sévère (> -5SD) et une hypoplasie antéhypophysaire. En plus de ce phénotype classique de l'IGHD, un des patients a une malformation de Chiari I, un kyste arachnoïdien et une antéhypophyse de morphologie atypique. Aucune anomalie n'a été trouvée dans le gène *GH-N*. En revanche, le séquençage du gène *GHRHR* (exons et régions introniques flanquantes) a conduit à l'identification, chez les deux patients, d'une variation homozygote au site consensus d'épissage de l'intron 1 (c.57+2T>G). Par des expériences de transcription *in vitro*, nous montrons que cette mutation entraîne l'épissage anormal des transcrits du *GHRHR*, pouvant conduire à la synthèse d'une protéine sévèrement tronquée, déletée des domaines transmembranaires et intracellulaires. **Discussion :** Les anomalies de développement décrites pour un des patients, suggèrent un rôle possible du *GHRHR* dans le développement des structures extrapituitaires, par un mécanisme à élucider qui pourrait être direct ou secondaire au déficit sévère en GH.

Mots-clés : mutation *GHRHR*, malformation Chiari I, épissage.

■P412 / 413. PHÉNOCOPIES DE LA MALADIE DE HUNTINGTON : INTÉRÊT DE L'EXAMEN NEUROPSYCHOLOGIQUE

L. Freeman (1), V. Hahn-Barma (2), C. Cazeneuve (1), O. Russaouen (1), S. Humbert (3), P. Charles (1, 2), C.-M. Vincitorio (1), A. Brice (1, 2, 4), A. Dürr (1, 4)

(1) AP-HP, Hôpital de la Pitié-Salpêtrière, Département de Génétique et Cytogénétique, Paris, France ; (2) AP-HP, Hôpital de la Pitié-Salpêtrière, Fédération des Maladies du Système Nerveux, Paris, France ; (3) Institut Curie, CNRS UMR 146, Orsay, France ; (4) INSERM U679, Paris, France

La maladie de Huntington est une affection de transmission autosomique dominante dont les manifestations cliniques sont dominées par l'existence de mouvements anormaux de type choréique, de troubles du comportement et d'une détérioration cognitive. Dans 90 % des cas, elle est causée par une expansion anormale de triplets CAG dans le gène *IT15/HD1* situé en 4p16. Cependant, une hétérogénéité génétique existe : HDL1 (PrP), HDL2 (JPH3), SCA17 (TBP) et DRPLA (atrophine). La neuro-acanthocytose de transmission autosomique récessive et certaines affections acquises, comme le neuro-lupus, le syndrome des anti-phospholipides et certains cas de dysthyroïdie auto-immune, ont été décrites comme pouvant donner des manifestations identiques. Huit cas index cliniquement diagnostiqués comme ayant une maladie de Huntington par des neurologues et neurogénétiens spécialisés et chez qui la mutation classique n'a pas été retrouvée ont été sélectionnés. Ils présentaient un tableau clinique associant chorée, et troubles cognitifs d'évolution chronique. Certains présentaient des troubles du caractère et du comportement (n = 5), une dystonie (n = 4), un syndrome cérébelleux (n = 1), un syndrome pseudo-bulbaire (n = 1), des troubles sensitifs péri-buccaux, avec dysgueusie et perte de l'odorat (n = 1), une abolition des ROT avec amyotrophie distale des membres inférieurs (n = 1). Une histoire compatible chez des apparentés au premier degré a été retrouvée chez 3 patients sur 8. L'âge de début des symptômes était de 48 ans ± 20 ans. Une expansion de triplet dans les gènes *JPH3*, *TBP* et *DRPLA* a été exclue. Un bilan auto-immun comprenant au moins : facteurs anti-nucléaires, anti-DNA natifs, anticardiolipines, ainsi qu'un bilan thyroïdien avec dosage des anticorps anti-thyroïdiens et un frottis sanguin à la recherche d'acanthocytes. Nous avons identifié un patient avec un diagnostic de syndrome primaire des antiphospholipides, amélioré considérablement sous traitement. Des tests neuropsychologiques ont été réalisés chez 6 des 7 cas index restant. Trois patients présentaient un syndrome dysexécutif avec d'importants troubles du maintien attentionnel et de la mémoire de travail correspondant au tableau habituellement décrit dans la maladie de Huntington. Chez 2 patients, le syndrome sous-cortico-frontal semble plus sévère que celui habituellement rencontré dans cette pathologie. Chez une patiente, il a été retrouvé seulement un discret déficit attentionnel, sans éléments de dysfonction exécutive. La réalisation de tests neuropsychologiques a permis d'identifier un sous-groupe de trois patients présentant un profil typique de maladie de Huntington qui correspond à une phénocopie véritable sans la mutation par expansion CAG dans le gène HD1. Le séquençage complet du gène HD1 est en cours.

Mots-clés : maladie de Huntington, phénocopies, examen neuropsychologique.

■P413 / 415. NOUVELLES MUTATIONS DE NOVO DE *SOX2* CHEZ DES PATIENTS PRÉSENTANT UNE ATTEINTE OPHTALMIQUE SÈVÈRE ASSOCIÉE À D'AUTRES ANOMALIES CÉRÉBRALES DU DÉVELOPPEMENT

M.-P. Vié-Luton (1), M.-L. Sobrier (1), C. de Barace (2), E. Feigerlova (3), S. Rose (1), N. Idres (2), S. Odent (4), M. Tauber (3), S. Amselem (1)

(1) Inserm U654, Hôpital Trousseau, Paris ; (2) Unité Pédiatrique, CH Saint-Brieuc ; (3) Hôpital d'Enfants, Toulouse ; (4) Génétique Médicale, CHU Rennes

Introduction : *SOX2* est un facteur de transcription impliqué dans la régulation du développement et de la détermination cellulaire. Les souris hétérozygotes pour l'inactivation de *Sox2* présentent un développement antéhypophysaire anormal avec des taux de GH, LH et TSH diminués, sans aucun défaut oculaire associé. Chez l'homme, les quelques mutations *SOX2* hétérozygotes identifiées peuvent provoquer une anophthalmie/microphthalmie bilatérale et/ou un retard de développement, des anomalies du corps calleux, une atrophie œsophagienne, une surdité d'origine neuro-sensorielle. **Résultats :** Nous avons étudié deux patients indépendants présentant de sévères anomalies oculaires ; le premier a une anophthalmie droite et une hypoplasie du nerf optique gauche ; le second, issu d'une union consanguine, présente une anophthalmie bilatérale ainsi qu'un hypogonadisme hypogonadotrope et une petite taille. L'IRM du premier patient montre un corps calleux mince et, celle du deuxième un kyste du septum-pellucidum. Ces deux patients sont porteurs de nouvelles mutations de novo de *SOX2* à l'état hétérozygote : le patient #1 est porteur d'une mutation faux-sens (p.W51R) impliquant un résidu très conservé au cours de l'évolution situé dans le domaine HMG de la protéine. Une délétion d'une base (c.540delC) a été identifiée chez le patient #2 entraînant un décalage du cadre de lecture de la protéine *SOX2* : 21 nouveaux acides aminés sont insérés en amont

d'un codon STOP prématuré à la position 202, conduisant à une protéine tronquée. Discussion : Des études complémentaires sont en cours afin d'évaluer les conséquences fonctionnelles de ces deux nouveaux défauts de *SOX2*.

Mots-clés : *SOX2*, mutations, développement.

■P414 / 420. DES MUTATIONS DU GÈNE *OPA1* SONT RESPONSABLES DE FORMES SYNDROMIQUES D'ATROPHIE OPTIQUE ASSOCIÉES À DES DÉLÉTIONS MULTIPLES DE L'ADN MITOCHONDRIAL

P. Amati-Bonneau (1, 2), P. Labauge (3), P. Marcorelles (4), D. Figarella-Branger (5), A. Furby (6), F. Letournel (7), B. Wissinger (8), C. Verny (9), C. Ayuso (10), R. Garesse (11), G. Lenaers (12), V. Carelli (13), P. Reynier (1, 2), D. Bonneau (1, 2)

(1) Département de Biochimie et Génétique, Centre Hospitalier Universitaire d'Angers ; (2) INSERM U694, Angers, France ; (3) Service de Neurologie, Centre Hospitalier Universitaire, Nîmes, France ; (4) Service d'Anatomie Pathologique, Centre Hospitalier Universitaire, Brest, France ; (5) Service d'Anatomie Pathologique et Neuropathologie, Centre Hospitalier Universitaire, Hôpital de la Timone, Marseille, France ; (6) Service de Neurologie, Centre Hospitalier de Saint-Brieuc, Saint-Brieuc, France ; (7) Laboratoire de Neurobiologie et Neuropathologie, Centre Hospitalier Universitaire d'Angers, Angers, France ; (8) Molecular Genetics Laboratory, University Eye Hospital Tuebingen, Germany ; (9) Département de Neurologie, Centre Hospitalier Universitaire d'Angers, Angers, France ; (10) Departamento de Bioquímica Instituto de Investigaciones Biomedicas "Alberto Sols" CSIC-UAM, Facultad de Medicina, Universidad Autonoma de Madrid, CIBERER, ISCIII, Madrid, Spain ; (11) Centro de Investigación, and Servicio de Neurología, Hospital Universitario 12 de Octubre, CIBERER, ISCIII, Madrid, Spain ; (12) INSERM U583, Institut des Neurosciences de Montpellier, Universités de Montpellier I et II, Montpellier, France ; (13) Dipartimento di Scienze Neurologiche, Università di Bologna, Bologna, Italy

La protéine *OPA1* est une dynamine-GTPase codée par un gène nucléaire et localisée dans la membrane interne de la mitochondrie. Elle est impliquée dans le processus de fusion des mitochondries, l'organisation des crêtes mitochondriales et le contrôle de l'apoptose. Les mutations du gène *OPA1* sont responsables de 60 à 70 % des atrophies optiques autosomiques dominantes (AOD). Il s'agit, en général, de mutation tronquantes responsables d'atrophies optiques isolées. Nous rapportons ici des mutations du gène *OPA1* chez des patients ayant une atrophie optique associée à d'autres signes neurologiques et à une atteinte musculaire avec délétions multiples de l'ADN mitochondrial (ADNmt) suggérant qu'*OPA1* est également impliqué dans la maintenance de l'ADNmt. Patients, méthodes et résultats : Huit patients appartenant à six familles ont été étudiés. Les signes cliniques étaient les suivants : atrophie optique (8/8), ophtalmoplégie externe (2/8), Ptosis (2/8), surdité neurosensorielle (7/8), ataxie (3/8), signes musculaires cliniques (2/8) et neuropathie axonale (4/6 testés). Des mutations faux sens du gène *OPA1* ont été mises en évidence à l'état hétérozygote chez tous les patients. Toutes ces mutations entraînaient une substitution d'un acide aminé très conservé dans le domaine GTPase d'*OPA1* et n'ont pas été retrouvées sur 460 chromosomes contrôlés. Une mutation était de novo, les cinq autres étaient héritées. Les biopsies musculaires ont montré la présence de ragged red fibers (RRF) et de fibres Cytochrome c Oxidase (Cox) négatives chez 5 des 6 patients. Le dernier patient présentait des signes de myopathie non spécifique. Des délétions multiples de l'ADNmt ont été identifiées dans le muscle de tous les patients par Southern-blot et/ou par LINK Word.Document.8 C:\w\WRL2564.tmp.doc OLE_LINK2 \a \r PCR longues de l'ADNmt. Le réseau mitochondrial était fragmenté sur les fibroblastes de 4 des patients. Le séquençage des gènes classiquement impliqués dans les délétions multiples de l'ADNmt (POLG1, Twinkle et ANT1) s'est avéré normal. Discussion : Nous montrons que des mutations faux sens du gène *OPA1* sont associées à une instabilité de l'ADNmt et entraînent des phénotypes cliniques complexes pour lesquels nous proposons le terme d'*OPA1* « plus ». Ces phénotypes comprennent de façon constante une atrophie optique et atteinte musculaire allant de formes non spécifiques de myopathie jusqu'à des myopathies mitochondriales classiques avec ophtalmoplégie externe, RRF et fibres Cox négatives à l'histologie. A ces signes, sont souvent associées une surdité neurosensorielle, une ataxie cérébelleuse et une neuropathie périphérique axonale. L'anomalie moléculaire la plus marquante est la présence constante de délétions multiples de l'ADNmt dans le muscle. Ces données suggèrent un nouveau rôle pour *OPA1* dans le maintien de l'intégrité de l'ADNmt faisant de ce gène le cinquième gène responsable de délétions multiples de l'ADNmt après ceux codant pour les polymérases gamma 1 et 2 (POLG1, POLG2) et pour les protéines Twinkle,

et ANT1. Le mécanisme par lequel *OPA1* intervient dans la maintenance de l'ADNmt est spéculatif. Le fait que l'on observe chez tous nos patients des mutations faux-sens écarte un mécanisme d'haplo-insuffisance souvent impliqué dans les mutations d'*OPA1* responsables d'atrophie optique isolée. *OPA1* est une protéine de la membrane interne de la mitochondrie ayant un rôle crucial dans la conformation des crêtes et du réseau des mitochondries. Il est tentant de spéculer que la désorganisation des crêtes et la fragmentation du réseau mitochondrial (observé sur les fibroblastes de quatre de nos patients) pourraient interagir avec les nucléoïdes qui sont les organelles contenant l'ADNmt. En conclusion, nous rapportons l'implication d'*OPA1* dans la maintenance de l'ADNmt et dans des manifestations cliniques similaires à ce que l'on observe dans les encéphalo-myopathies mitochondriales classiques.

Mots-clés : mitochondrie, délétion multiple, *OPA1*.

■P415 / 423. ÉTUDE DU GÈNE *SF1* CHEZ 25 FILLES ATTEINTES D'AMÉNORRÉE PRIMAIRE À CARYOTYPE NORMAL

B. Lakhal (1), R. Braham (2), P. Philipert (3), M. Chaieb (2), S. Hidar (4), M. Zaouali (5), C. Sultan (3), A. Saad (1), H. Elghezal (1)

(1) Service de Cytogénétique et de Biologie de Reproduction, Hôpital Farhat-Hached, Sousse, Tunisie ; (2) Service d'Endocrinologie, Hôpital Farhat-Hached, Sousse, Tunisie ; (3) Service d'Hormonologie du Développement et de la Reproduction, Hôpital Lapeyronie, Montpellier, France ; (4) Service de Gynécologie Obstétrique, Hôpital Farhat-Hached, Sousse, Tunisie ; (5) Service de Physiologie et des Explorations Fonctionnelles, Faculté de Médecine de Sousse, Tunisie

Introduction : *SF1* (Steroidogenic factor 1) est un récepteur nucléaire qui régule plusieurs gènes impliqués dans le développement et le fonctionnement des gonades. Des mutations du gène *SF1* ont été retrouvées chez des femmes XY atteintes d'insuffisance gonadique et surrénalienne. Des mutations de ce gène à l'état hétérozygotes sont récemment retrouvées associées à des dysgénésies gonadiques partielle ou totale, sans insuffisance surrénalienne, témoignant de l'hétérogénéité clinique des mutations touchant ce gène. L'objectif de ce travail est de rechercher des éventuelles mutations du gène *SF1* chez les femmes atteintes d'aménorrhée primaire en dehors du syndrome de Turner. Matériel et méthodes : 25 aménorrhées primaires, sans auto-immunité personnelle et à caryotype normal, sont explorées par la technique de séquençage direct de la partie codante du gène *SF1*. Un groupe de 50 femmes témoins a été également étudié par séquençage de l'exon 4 du gène *SF1*. Résultats : 48 % des patientes présentent le variant G146A au niveau de l'exon 4 du gène *SF1*. Chez le groupe témoin, ce variant est retrouvé seulement chez 4 % des femmes. Discussion et conclusion Le variant G146A a été retrouvé chez un garçon atteint d'un hypogonadisme périphérique mais non encore décrit associé aux insuffisances ovariennes prématurées. Deux études ont montré que G146A réduit de 20 % la fonction de transactivation de *SF1*. Notre étude montre que le retentissement phénotypique de ce variant touche aussi les filles et se traduit par un tableau d'insuffisance ovarienne prématurée avec aménorrhée primaire.

Mots-clés : *SF1*, aménorrhée primaire, variant G146A.

■P416 / 425. MUTATIONS DES GÈNES *HADHA* ET *HADHB* : L'EXPERIENCE FRANÇAISE À PARTIR D'UNE COHORTE DE 46 PATIENTS

M. Brivet (1), C. Acquaviva (2), A. Boutron (1), C. Vianey-Saban (2), M.T. Zabet (3), A. Legrand (1)

(1) Laboratoire de Biochimie, AP-HP hôpital de Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre ; (2) Service des Maladies Métaboliques ; (3) Centre de Biotechnologie Cellulaire, Centre de Biologie Est, Lyon

Introduction : Les gènes *HADHA* et *HADHB* codent les deux sous-unités d'une protéine mitochondriale impliquée dans trois réactions enzymatiques successives de l'oxydation des acides gras à longue chaîne. La sous-unité alpha (*HADHA*) porte une fonction hydratase et une fonction deshydrogénase (3-hydroxy AcylCoA deshydrogénase ou LCHAD) et la sous-unité bêta (*HADHB*) une fonction thiolase. Les mutations de *HADHA* ou *HADHB* se transmettent sur le mode autosomique récessif, entraînant chez le sujet homozygote des anomalies sévères et précoces du métabolisme énergétique, avec une intolérance au jeûne prolongé et un dysfonctionnement cardiaque et musculaire. Certaines mutations sont aussi responsables d'une stéatose aigüe gravidique chez les femmes enceintes hétérozygotes porteuses d'un fœtus atteint. Méthodes : L'orientation initiale du diagnostic est biochimique : elle se fait par la mise en évidence de métabolites anormaux qui s'accumulent en amont du bloc enzymatique (acides organiques urinaires ou acylcarnitines sanguines). Le diagnostic enzymatique direct n'est plus réalisable car les réactifs nécessaires ne sont plus



commercialisés. La recherche de mutations reste donc la seule solution actuelle pour confirmer le diagnostic. Notre stratégie de recherche des mutations est la suivante : nous recherchons d'abord la mutation fréquente du gène *HADHA* à partir de l'ADN génomique, puis nous complétons l'étude par le séquençage direct des 2 ADNc *HADHA* et *HADHB* obtenus par RT-PCR à partir de l'ARN extrait d'une culture de fibroblastes pré-traitée par l'émétine. Nous confirmons la présence des mutations ainsi identifiées sur l'ADN génomique du cas index et de ses parents. Le séquençage de l'ADN génomique du cas index en première intention (20 exons pour *HADHA* et 16 exons pour *HADHB*) n'est réalisé que si aucun matériel cellulaire ne peut être mis en culture. Patients : La cohorte de patients que nous présentons représente l'ensemble des patients diagnostiqués en France depuis la première description biochimique du déficit en LCHAD en 1989. Résultats et discussion : La mutation fréquente c.1528G>C du gène *HADHA* a été retrouvée sur 53 % des allèles étudiés (49/92), 18 fois à l'état homozygote, 13 fois à l'état hétérozygote. Seize autres mutations du gène *HADHA* ont été identifiées (dont 12 nouvelles) et 7 mutations du gène *HADHB* (dont 6 nouvelles) : mutations faux sens, non-sens, insertions ou délétions de quelques nucléotides, anomalies d'épissage et une grande délétion hétérozygote de 5.9 Kb éliminant les exons 2 et 3 du gène *HADHB* par recombinaison homologue entre 2 séquences Alu. Les mutations des 2 allèles ont été identifiées chez tous les patients étudiés. Il est à noter que 12 mutations sur 23 provoquant l'apparition directe ou indirecte d'un codon-stop susceptible d'induire la dégradation de l'ARN messager par le phénomène de nonsense mediated mRNA decay (NMD) ; grâce au pré-traitement du matériel cellulaire par un inhibiteur de la traduction (émétine) avant d'extraire l'ARN, nous avons néanmoins pu mettre en évidence l'ensemble de ces mutations au niveau de l'ADNc. Conclusion : Le séquençage de l'ADNc n'avait pas encore été utilisé de manière systématique pour rechercher les mutations des gènes *HADHA* et *HADHB*. Il nous a permis d'identifier les mutations sur 100 % des allèles étudiés à la différence des séries précédentes de la littérature, explorées à partir de l'ADN génomique. Nous rapportons en particulier pour la première fois, l'existence d'une grande délétion hétérozygote du gène *HADHB*, qui serait passée inaperçue au séquençage de l'ADN génomique exon par exon.

Mots-clés : nonsense mRNA mediated decay (NMD), émetine, gènes *HADHA* et *HADHB*.

■P417 / 431. ÉTUDE GÉNÉTIQUE DE 16 FAMILLES AVEC ÉPILEPSIE AUTOSOMIQUE DOMINANTE DU LOBE TEMPORAL LATÉRAL

E. Chabrol (1), I. Gourfinkel-An (1, 2), P. Couarch (1), O. Trouillard (3), T. Sanchis (4), M. Baulac (2), E. Le Guern (1, 3), S. Baulac (1)
(1) INSERM, UMR 679, Neurologie & Thérapeutique Expérimentale, Université Pierre et Marie Curie-Paris 6, Faculté de Médecine, Hôpital de la Pitié-Salpêtrière, Paris ; (2) Unité d'Epileptologie, AP-HP, Hôpital de la Pitié-Salpêtrière, Paris ; (3) Laboratoire de Neurogénétique, Département de Génétique, Cytogénétique et Embryologie, AP-HP, Université Pierre-et-Marie-Curie, Paris 6, Faculté de Médecine, Hôpital de la Pitié-Salpêtrière, Paris ; (4) UB de Génétique, Centre d'Investigations Biologiques (CIB), GH Pitié-Salpêtrière, DRC, AP-HP, Paris

L'épilepsie autosomique dominante du lobe temporal (ADLTE pour autosomal dominant lateral temporal epilepsy) est une épilepsie idiopathique qui débute dans l'adolescence et qui est caractérisée par des crises focales avec des auras auditives (signes auditifs déclencheurs ou hallucinations auditives lors des crises) et/ou des symptômes évoquant un foyer temporal latéral des crises. En 2002, le gène *LGII*/Epitempine (Leucine-rich, glioma inactivated 1) a été impliqué dans cette épilepsie. À ce jour les mutations dans ce gène sont identifiées chez ~ 30 % des familles ADLTE ; ce qui suggère une hétérogénéité génétique. L'identification de mutations non-sens, de mutations modifiant le cadre de lecture de *LGII* et de mutations faux sens conduisant à une perte de fonction de la protéine mutée est compatible avec un mécanisme d'haplo-insuffisance. Récemment, le récepteur de *LGII*, ADAM22 (A Disintegrin And Metalloproteinase Domain 22), une protéine transmembranaire, a été identifié. La liaison de *LGII* à ADAM22 entraîne une potentialisation de la transmission glutamatergique médiée par les récepteurs AMPA. Il a été également démontré que *LGII* se lie à ADAM23, une autre protéine transmembranaire de la famille ADAM. L'objectif de notre étude est de rechercher le gène responsable du syndrome épileptique dans 16 familles avec ADLTE. Nous avons dans un premier temps recherché les mutations dans le gène *LGII* et avons identifié deux nouvelles mutations, p.Leu232Pro et c.431+1 G>A chez deux d'entre elles. Les études fonctionnelles ont permis de démontrer l'implication des mutations dans le phénotype et déterminer leurs conséquences : une perte de fonction des protéines mutantes. Nous avons aussi exclu la présence d'un réarrangement du gène *LGII* (délétions ou

duplications exoniques) par dosage génique en Q-PCR et celle d'une mutation dans la région promotrice du gène. Dans les familles atteintes d'ADLTE pour lesquelles aucune mutation de *LGII* n'avait été identifiée, nous avons ensuite séquençé les gènes *ADAM22* et *ADAM23* par séquençage direct des parties codantes et flanquant les exons et avons montré que ce ne sont pas des gènes majeurs pour les ADLTE.

Mots-clés : *LGII*, épilepsie, ADAM22.

■P418 / 432. DYSGÉNÉSIE TUBULAIRE RÉNALE AUTOSOMIQUE RÉCESSIVE ET MUTATIONS DES GÈNES DU SYSTÈME RÉNINE-ANGIOTENSINE

O. Gribouval (1), V. Morinière (1, 2), A. Pawtowski (1, 2), C. Loirat (3), J. Bachetta (4), P. Cochat (4), F. Dijoud (5), R. Bouvier (6), G. Viot (7), J. Tantau (8), T. Neuhaus (9), J. Aziza (10), P. Corvol (11), J.-M. Gasc (11), C. Antignac (1, 2), M.-C. Gubler (1)
(1) Inserm U574, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris ; (2) Service de Génétique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris ; (3) Service de Néphrologie Pédiatrique, Hôpital Robert-Debré, Paris ; (4) Service de Néphrologie Pédiatrique, Hôpital Édouard-Herriot, Lyon ; (5) Laboratoire d'Anatomie Pathologique, Hôpital Édouard-Herriot, Lyon ; (6) Laboratoire d'Anatomie Pathologique, Hôpital Debrousse, Lyon ; (7) Service de Génétique Médicale, Hôpital St-Vincent-de-Paul, Paris ; (8) Service d'Anatomie Pathologique, Hôpital St-Vincent-de-Paul, Paris ; (9) University Children's Hospital, CH-8032 Zurich ; (10) Laboratoire d'Anatomie Pathologique, Hôpital Purpan, Toulouse ; (11) Inserm U833, Collège de France, Paris

La dysgénésie tubulaire rénale (DTR) autosomique récessive est une anomalie sévère du développement rénal. Elle se manifeste par une anurie fœtale persistante responsable d'oligoamnios et le plus souvent, de mort périnatale. Il s'y associe une hypotension réfractaire observée chez les nouveau-nés survivants et un retard d'ossification de la voûte crânienne. La néphropathie est caractérisée histologiquement par l'absence ou la présence d'un nombre très réduit de tubes proximaux différenciés. Les reins sont normaux ou peu modifiés à l'échographie. Nous avons récemment montré, à partir de l'étude de patients appartenant à 9 familles, que cette néphropathie était génétiquement hétérogène et liée à des mutations des gènes *AGT*, *REN*, *ACE* et *AGTRI* codant les différentes protéines du système rénine-angiotensine (SRA). Au cours des deux dernières années, 31 nouveaux patients (fœtus, nouveau-nés et jeunes enfants) appartenant à 19 familles nous ont été adressés pour confirmation du diagnostic et étude moléculaire. Globalement, 15 des 28 familles étudiées étaient consanguines et des mutations ont été identifiées dans 26 d'entre elles, permettant de réaliser un diagnostic prénatal dans 3 familles. Des mutations du gène *REN* étaient présentes dans 8 familles à l'état homozygote (6 familles) ou hétérozygote composite (2 familles) : mutations perte de fonction dans 5 cas, caractérisées par l'absence de production de rénine ; mutations faux-sens dans 3 cas aboutissant à l'hyperproduction de la protéine mutée non fonctionnelle. Des mutations des gènes *AGT*, *AGTRI* et *ACE*, ont été détectées dans respectivement 2, 2 et 14 familles. Elles étaient présentes à l'état homozygote dans 9 familles. Leur conséquence est l'absence de génération d'angiotensine II (mutations des gènes codant l'angiotensinogène ou l'enzyme de conversion de l'angiotensine) ou la production d'une angiotensine II inefficace (mutations du gène *AGTRI* codant le récepteur de type 1 de l'angiotensine II). Toutes étaient associées à une hyperexpression rénale de rénine témoignant de la perte de sa régulation négative par l'angiotensine II. Aucune mutation n'a été détectée dans 2 familles. L'atteinte de fœtus de sexe féminin dans chacune de ces familles a permis d'exclure les gènes codant le récepteur de type 2 de l'angiotensine II ou le récepteur de la rénine, localisés sur le chromosome X. Quel que soit le gène muté, l'évolution de la maladie a presque toujours été défavorable : mort in utero, interruption médicale de grossesse du fait de la sévérité et de la précocité ou de la récurrence de l'anamnios dans la fratrie, mort rapide post-natale liée à la persistance de l'anurie et à la détresse respiratoire, malgré la prise en charge thérapeutique. Parmi les 4 enfants survivants, un a été transplanté à l'âge de 4 ans, un autre, âgé de 2 ans est dialysé depuis la naissance. Une patiente âgée de 15, ayant à l'état homozygote une mutation faux-sens de l'*AGT*, a une insuffisance chronique modérée. Un patient, âgé de 8 ans a une fonction rénale normale. Il est porteur de mutations hétérozygotes composites de l'*ACE*, l'une d'elles étant une mutation faux-sens. Aucune anomalie n'a été observée chez les parents porteurs de mutations à l'état hétérozygote. En conclusion, la DTR récessive autosomique est une cause significative d'anurie fœtale. Ce diagnostic doit être discuté devant toute anurie fœtale à reins normaux ou peu modifiés à l'examen échographique. Des mutations des gènes codant les différentes protéines du SRA sont mises en évidence dans la majorité des cas. Elles s'accompagnent constamment d'une dérégulation de l'expression rénale et

systémique de la rénine. Contrairement à nos premiers résultats, les mutations de l'ACE semblent les plus fréquentes. Le phénotype est le même quels que soient le gène muté et l'expression de rénine, montrant qu'il n'existe pas de redondance *in vivo* dans le SRA.

Mots-clés : Mutations, Système rénine-angiotensine, Dysgénésie tubulaire rénale.

■P419 / 433. ANALYSE DÉTAILLÉE DE LA RÉGION 17P11.2 CHEZ 59 PATIENTS ATTEINTS DE SYNDROME DE SMITH-MAGENIS

C. Bendavid (2), M. Huizing (1), H. Edwards (1), C. Ciccone (1), M.P. Jones (1), S.C. Chandrasekharappa (1), J. Blancato (3), W.A. Gahl (1), A.C.M. Smith (1)

(1) NHGRI/NIH, Bethesda, MD, USA ; (2) UMR 6061 CNRS, Université de Rennes-1, Rennes, France ; (3) Georgetown University, Washington, DC, USA

Le Syndrome de Smith Magenis (SMS) est caractérisé par des anomalies craniofaciales et squelettiques particulières, des retards de langage, de développement psychomoteur et de croissance, un phénotype comportemental avec des troubles chroniques du sommeil et un rythme circadien inversé de sécrétion de la mélatonine. La plupart des cas sont dus à une délétion interstitielle en 17p11.2. Cependant, de rares cas non délétés ont été rapportés à des mutations de *RAI1*. Nous avons effectué une corrélation génotype-phénotype sur 59 patients SMS. Les études phénotypiques ont révélé des caractéristiques cliniques uniques ou inconstantes incluant : déficit auditif, faibles taux d'IgA, cholestérol élevé et anomalies squelettiques. Nous avons employé des marqueurs polymorphes de la région 17p pour déterminer l'origine parentale de l'allèle délété et mis en évidence plutôt une origine maternelle dans 63 % des cas ce qui n'est pas statistiquement significatif. Des analyses par FISH et PCR quantitative en temps réel (qPCR) ont été réalisées pour déterminer le statut en nombre de copies de la région 17p11.2. Les analyses en qPCR pour six gènes d'intérêt de la région minimale critique du SMS ont été réalisées, incluant *RAI1* et *RASD1* (impliqués dans le rythme circadien), *MYO15A* (impliqué dans des déficits auditifs), *FLII* (en relation avec la réponse immunitaire), *PEMT* (jouant un rôle dans le métabolisme des choline) et *TNFRSF13B* (impliqué dans le déficit en IgA). La majorité (56 %) des patients avait la délétion la plus commune de 17p11.2 couvrant 3,5 Mb. 11 patients (19 %) avaient une délétion de taille atypique mais sans différences concernant l'atteinte des 6 gènes d'intérêt. 15 patients (25 %) ne montraient pas de délétion par FISH ni qPCR, et le séquençage de *RAI1* n'a à ce jour révélé qu'une mutation (P242L) parmi ce groupe. L'étude en CGH array (Agilent 44K) de ces patients non délétés a permis chez 4 patients d'identifier de possibles réarrangements chromosomiques responsables de « SMS like ». Cette étude montre à nouveau la difficulté que l'on peut avoir à établir de fortes corrélations génotype-phénotype dans certaines pathologies génétiques. L'identification plus précise des points de cassure et des groupes de gènes dont le nombre de copies varie permettra peut être à l'avenir d'affiner nos connaissances sur les phénotypes associés.

Mots-clés : syndrome de Smith Magenis, syndrome délétionnel, cytogénétique moléculaire.

■P420 / 449. MUTATION M.10191T>C DE L'ADNMT RESPONSABLE D'UNE ENCÉPHALOPATHIE CHEZ 2 ENFANTS : SURVENUE DE NOVO ?

S. Bannwarth (1), K. Fragaki (1), S. Mutz (1), V. Procaccio (2), B. Chabrol (3), D. Figarella-Branger (4), J.-C. Lambert (1), V. Paquis-Flucklinger (1) (1) Service de Génétique Médicale, Centre de Référence des maladies mitochondriales, Hôpital Archet 2, CHU Nice ; (2) Center for Molecular and Mitochondrial Medicine and Genetics, Université de Californie, Irvine, USA ; (3) Service de neuropédiatrie, Hôpital Timone, CHU Marseille ; (4) Service d'anatomopathologie et neuropathologie, Hôpital Timone, CHU Marseille

Les déficits isolés en complexe I sont les défauts les plus fréquemment retrouvés dans les pathologies mitochondriales. Ils sont liés dans plus de 90 % des cas à des mutations siégeant dans des gènes nucléaires. Nous décrivons 2 enfants présentant un déficit en complexe I secondaire à une mutation (m.10191T>C) dans le gène *ND3* de l'ADNmt. Dans les 2 cas, il n'existe aucun antécédent familial. Le premier enfant est né à 31 SA par césarienne. La grossesse avait été marquée par un RCIU et un oligoamnios. Un retard des acquisitions est noté au cours des premiers mois. La marche est acquise à l'âge de 2 ans. Peu après, survient un épisode de déficit au niveau facial. L'IRM montre des lésions à type de gliose périventriculaire. Une régression apparaît à l'âge de 3 ans avec des difficultés à la marche et une perte du langage. L'examen objective une hypotonie buccale, une

ataxie, un syndrome pyramidal bilatéral et une hémiparésie droite. L'IRM met alors en évidence des lésions diffuses corticales avec une atteinte des noyaux gris et un pic de lactate en spectroscopie. Le second enfant est né à terme de parents non consanguins. À l'âge de 4 mois, il présente une hypotonie avec un retard des acquisitions et plusieurs épisodes convulsifs. L'IRM cérébrale est en faveur d'un syndrome de Leigh. Chez ces 2 enfants, nous avons retrouvé un déficit isolé en complexe I de la chaîne respiratoire à partir d'une biopsie musculaire. Une étude par Surveyor nous a permis d'identifier la mutation m.10191T>C, à l'état hétéroplasmique, dans le gène *ND3* de l'ADNmt. Cette mutation (p.S45P) entraîne le remplacement d'un acide aminé Sérine hydrophile par une Proline hydrophobe dans un domaine très conservé de la protéine. Elle est présente, dans le muscle et les leucocytes de ces 2 enfants, à un haut niveau d'hétéroplasmie. Dans les 2 familles, la mutation m.10191T>C n'a pas été retrouvée à partir de l'ADN extrait des leucocytes chez les mères et chez des apparentés maternels. Ce résultat peut être en faveur d'une survenue de novo, qui a déjà été évoquée dans un petit nombre de cas rapportés dans la littérature. L'étude des ascendants maternels, sur d'autres types cellulaires, est en cours dans la première famille afin de tenter de conforter cette hypothèse. Néanmoins, la discussion insistera sur la nécessité de rester extrêmement prudent en termes de conseil génétique et de conduite à tenir en cas de future grossesse.

Mots-clés : ADNmt Déficit Complexe I Pathologie mitochondriale.

■P421 / 454. ANALYSES MUTATIONNELLE ET TRANSCRIPTIONNELLE DU GÈNE, IMPLIQUÉ DANS CMT4H, UNE FORME DÉMYÉLINISANTE DE CMT À TRANSMISSION AUTOSOMIQUE RÉCESSIVE

C. Baudot (1), Y. Poitelon (1), S. Stora (1), T. Hamadouche (1, 2), I. Boccaccio (1), M. Chaouch (3), N. Kassouri (3), R. Bernard (4), A. Megarbané (5), N. Lévy (1, 4), V. Delague (1)

(1) INSERM U491, « Génétique Médicale et Développement », Université de la Méditerranée, Faculté de Médecine de la Timone, 13385 Marseille, France ; (2) Laboratoire de Biologie Moléculaire, Institut Pasteur, Alger, Algérie ; (3) Service de Neurologie, Centre Hospitalier Universitaire Ben Aknoun, Algiers, Algeria ; (4) AP-HM, Département de Génétique Médicale, Hôpital d'enfants Timone, Marseille, France ; (5) Unité de Génétique Médicale, Université Saint-Joseph, Beyrouth, Liban

Introduction : La maladie de Charcot-Marie-Tooth (CMT) constitue un groupe de maladies, hétérogène à la fois sur le plan clinique et génétique. Elles sont divisées en deux groupes : le CMT démyélinisant (CMT1) et le CMT axonal (CMT2). Elles se caractérisent par une faiblesse musculaire, des déformations des pieds et des mains et un abaissement des vitesses de conduction nerveuse. Delague *et al.* (2007), ont identifié un gène impliqué dans une forme démyélinisante autosomique récessive : CMT4H. Il s'agit du gène *FGD4* sur le chromosome 12, qui code pour FGD4/FRABIN (FGD1-related F-Actin Binding protein). Deux mutations ont été identifiées dans deux familles consanguines d'origine Méditerranéenne : une mutation d'épissage c.893T>G (p.298MetfsX8) dans une famille libanaise et une mutation faux-sens c.893T>C (p.Met298Thr) dans une famille algérienne. Par ailleurs, trois autres mutations non-sens ou frame-shift ont été identifiées par une autre équipe (Stendel *et al.*, 2007). Nous avons mené des études transcriptionnelles, à la fois chez des patients, des individus sains, ainsi que sur différents tissus humains. Par ailleurs, nous avons recherché des mutations dans la séquence codante de *FGD4* dans une cohorte de 96 patients atteints de formes sévères de CMT démyélinisant à transmission autosomique récessive ou sporadiques, et pour lesquels aucune mutation dans les gènes connus n'a pu être identifiée. Résultats : Chez le patient libanais, nous avions caractérisé un transcrit anormal utilisant un site donneur d'épissage dans l'exon 7, dont l'utilisation est favorisée par la mutation C.893T>G, et qui entraîne la délétion de quatre des cinq domaines fonctionnels de la protéine FRABIN, en particulier le domaine DH, responsable de l'activité RhoGEF. L'analyse transcriptionnelle chez des individus sains a permis de montrer l'existence de nombreux autres transcrits alternatifs, dont certains codent des protéines dépourvues de certains domaines fonctionnels. Par exemple, nous avons pu identifier un transcrit délété de l'exon 3, contenant le codon ATG initiateur, qui selon les prédictions, utiliserait un ATG putatif 94 codons en aval, entraînant la production d'une protéine déletée de son domaine de liaison à l'actine. Au total, nous avons identifié 17 transcrits alternatifs différents, dont certains jamais décrits dans les banques de données. Le criblage mutationnel de *FGD4* dans notre cohorte de patients a permis d'identifier deux nouveaux variants génomiques chez deux patients issus d'unions consanguines : la variation de séquence c.1698G>A (p.Met566Ile) à l'état homozygote dans l'exon 14 chez un patient libanais et la transition c.2149G>A (p.Val717Met) dans l'exon 17 à l'état hétérozygote chez un patient



algérien. L'absence de la variation de séquence dans des populations témoins, ainsi que la ségrégation des mutations dans les pedigrees sont en faveur de mutations faux-sens. Chez le patient algérien, il est probable qu'une seconde mutation composite reste à identifier dans les régions UTR, promotrices ou introniques. Discussion : *FGD4* vient s'ajouter au large panel de gènes mutés dans la famille des CMT. L'identification de deux nouvelles mutations dans *FGD4* porte à 7 le nombre de mutations décrites dans ce gène nouvellement rapporté. Ce résultat confirme que les mutations dans *FGD4* sont probablement fréquentes et à rechercher en priorité chez des patients atteints de CMT4. Par ailleurs, il semble que les mutations affectent tous les domaines fonctionnels de la protéine, et pas seulement son domaine à activité catalytique RhoGEF (domaine DH). Ceci est à mettre en relation avec les résultats de nos analyses transcriptionnelles qui montrent que de nombreux transcrits alternatifs existent, codant des protéines similaires, mais présentant des combinaisons différentes des divers domaines fonctionnels. Ces résultats laissent penser que cette protéine pourrait avoir des fonctions et des localisations diverses au sein de la cellule.

Mots-clés : Charcot-Marie-Tooth, mutations, transcriptionnel.

■P422 / 462. MYOPATHIE MYOTUBULAIRE DUE À L'INSERTION D'UNE SÉQUENCE ALU DANS L'EXON 13 DU GÈNE *MTM1* P. Hilbert (1), J. Jaumotte (1, 2), P. Van den Bergh (3), Ch. Debauche (4), Ch. Verellen-Dumoulin (1, 3)

(1) Centre de Génétique Humaine, Institut de Pathologie et de Génétique, Gosselies, Belgique ; (2) Département de pédiatrie, Cliniques Universitaires Saint-Luc, Bruxelles, Belgique ; (3) Centre neuro-musculaire, Cliniques Universitaires Saint-Luc, Bruxelles, Belgique ; (4) Unité de néonatalogie, Cliniques Universitaires Saint-Luc, Bruxelles, Belgique

La myopathie myotubulaire liée au chromosome X (XLMTM) est une myopathie congénitale caractérisée par une faiblesse musculaire modérée à sévère. La forme classique (sévère) observée chez les nouveau-nés est caractérisée par une hypotonie importante conduisant à un décès précoce ou nécessitant une ventilation assistée chronique. La maladie est héritée selon le mode récessif lié à l'X. Le gène responsable code pour une protéine de 603 acides aminés, la myotubularine. Plus de 200 mutations différentes (faux-sens, non-sens, délétions, mutations d'épissage...) ont actuellement été décrites. Nous présentons ici le cas d'un nouveau-né atteint d'une forme sévère de la maladie. Les parents d'origine turque sont consanguins. Un léger hydramnios est constaté en fin de grossesse. L'accouchement a lieu par césarienne à 38 semaines. Le score d'APGAR est 0/0/6. L'enfant est intubé et nécessite ensuite une ventilation assistée avec de multiples essais de sevrage. On observe une hypotonie généralisée majeure avec absence de réflexes ostéo-tendineux. La biopsie musculaire est compatible avec le diagnostic de myopathie myotubulaire. L'enfant décède à 6 mois dans un contexte d'infection respiratoire et de malaises cardiaques récidivants. Lors de l'analyse moléculaire du gène, l'amplification de l'exon 13 donne un fragment de taille anormalement élevée par rapport à la taille attendue. La séquence de l'amplicon montre que l'exon 13 est interrompu par une séquence Alu Ya5. La duplication typique au site d'insertion ainsi que la taille de la queue polyA de la séquence Alu permettent de conclure que cet élément provient d'une rétrotransposition. L'étude du cDNA montre que l'insertion provoque un épissage anormal avec perte complète de l'exon 13. Nous décrivons ici le premier cas de myopathie myotubulaire dû à l'insertion d'une séquence Alu dans la région codante du gène *MTM1*.

Mots-clés : *MTM1*, alu, myopathie myotubulaire.

■P423 / 467. ANALYSE DES GÈNES *PHD*, *HIF* ET *FIH* DANS UNE SÉRIE DE PATIENTS ATTEINTS DE POLYGLOBULIE « IDIOPATHIQUE »

R. Carcenac (1), B. Gardie (1), C. Ladroue (1), S. Gad (1), O. Hermine (2), J.D. Rain (3), A. Baruchel (4), P. Boivin (5), A. Hummel (6), F. Fakhouri (6), S. Giraud (7), J. Pouyssegur (8), S. Richard (1, 9)

(1) Génétique Oncologique EPHE, CNRS FRE-2939, Institut de cancérologie Gustave Roussy, Villejuif, et Faculté de Médecine Paris-Sud, Le Kremlin-Bicêtre, France ; (2) Service d'Hématologie Adultes, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris ; (3) Laboratoire d'Hématologie, Hôpital Saint-Louis, Paris ; (4) Service de Pédiatrie Hématologique, Hôpital Saint-Louis, Paris ; (5) Consultation d'Hématologie Clinique, Hôpital Beaujon, Clichy ; (6) Service de Néphrologie, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris ; (7) Laboratoire de Génétique, Hôpital Herriot, Lyon ; (8) Laboratoire de Signalisation, Biologie du développement et cancer, CNRS UMR 6543, Centre A.-Lacassagne, Nice ; (9) Consultation d'Oncogénétique Spécialisée AP-HP INCa, Service d'Urologie, CHU de Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre et Service de Néphrologie, Hôpital Necker, Paris, France

Introduction : Le nombre de globules rouges dans le sang est étroitement régulé par un mécanisme de détection du taux d'oxygène circulant. Lorsque le rein perçoit une baisse d'oxygène, il induit une production d'érythropoïétine (EPO) qui augmente la production de globules rouges. Des études sur la régulation de l'EPO ont permis d'identifier le facteur de transcription inductible par cette baisse d'oxygène, HIF (Hypoxia Inducible Factor), qui joue un rôle clé dans la réponse cellulaire à l'hypoxie (érythropoïèse, glycolyse, angiogenèse). En condition de normoxie, la sous-unité 1-alpha de HIF est hydroxylée par les Prolyl Hydroxylases (PHD) au niveau des résidus Proline 402 et 564 sur son domaine sensible à l'oxygène (ODD, Oxygen Degradation Domain). Cette hydroxylation permet sa fixation à la protéine VHL (pVHL) qui va entraîner son ubiquitination. HIF1-alpha est ensuite rapidement dégradé dans le protéasome et sa quantité reste indétectable dans le cytoplasme. HIF1-alpha est également hydroxylé au niveau d'une asparagine (Asn 803) par le facteur FIH (Factor Inhibiting HIF) qui inhibe son activité transcriptionnelle. En situation d'hypoxie, PHD et FIH n'hydroxylent plus HIF1-alpha qui n'est plus reconnu par pVHL, n'est donc pas ubiquitiné et se retrouve stabilisé. Il passe dans le noyau où il se conjugue à HIF1-beta pour former un facteur de transcription actif qui va transactiver les éléments de réponse à l'hypoxie (HRE) présents sur les promoteurs des gènes cibles dont l'EPO. Ainsi HIF peut réguler la transcription de l'EPO et donc sa production, en relation étroite avec la concentration en oxygène. Récemment il a été décrit que des membres d'une famille atteints de polyglobulie due à un excès de production d'EPO présentaient une mutation germinale faux-sens du gène *PHD2* (p.Pro317Arg). Cette protéine PHD2 mutée a perdu la capacité d'hydroxyliser HIF1-alpha. Des mutations particulières du gène *VHL* ont également été décrites dans ce même type de pathologie. Des anomalies dans la voie de régulation de HIF peuvent donc entraîner une surproduction d'EPO et une polyglobulie. Nous nous sommes intéressés à tous les acteurs de régulation de la voie HIF dans une série de patients atteints de polyglobulie inexplicée. Matériel et Méthodes : Nous avons analysé une série de 23 patients suivis en Hématologie dont les prélèvements ont été effectués après recueil du consentement. Des mutations ont été recherchées par séquençage direct des gènes *PHD1*, *PHD2*, *PHD3*, *FIH* dans leur totalité, et *HIF1-alpha* (exons 9, 12 et 15) ainsi que *HIF2-alpha* (exons 9, 12 et 16). Par mutagenèse dirigée nous avons ensuite produit des mutants de *PHD2* dont nous avons étudié la fonctionnalité *in vitro* à l'aide d'un gène rapporteur luciférase sous contrôle du promoteur de l'EPO. Résultats-Discussion : Nous avons identifié 5 variants nucléotidiques dans le gène *PHD2* : c.471G>C (p.Gln157His), c.599C>A (p.Pro200Gln), c.760G>C (p.Asp254His), c.1112G>A (p.Arg371His) et c.1192C>T (p.Arg398X) que nous nommons respectivement Q157H, P200Q, R371H, D254H et R398X. Aucune anomalie n'a été mise en évidence dans les autres gènes analysés. Le test luciférase montre que les protéines PHD2 qui portent la substitution D254H ou le codon stop en R398 ont perdu la capacité de réguler HIF et sont donc clairement délétères. Les codons 254 et 398 étant impliqués dans la stabilisation de PHD2 sous forme d'homotétramère, une mutation à leur niveau entraîne de façon compréhensible une perte de fonction de la protéine. À l'inverse, les mutants Q157H, P200Q et R371H ne semblent pas être délétères car ils entraînent une inactivation de HIF comparable à la protéine PHD2 sauvage avec le test luciférase. Les codons 200 et 371 sont très conservés et il ne s'agit pas de polymorphismes, contrairement au variant Q157H que nous avons retrouvé dans une population contrôle avec une fréquence de 3 %. Nous allons donc affiner nos tests de fonctionnalité afin de déterminer ce qui différencie ces mutants.

Mots-clés : polyglobulie, *PHD2*, mutation.

■P424 / 473. NOUVELLES MUTATIONS DU GÈNE *LMNA* DANS DES CAS SPORADIQUES OU FAMILIAUX DE SYNDROMES PROGÉROÏDES

V. Esteves-Vieira (1), A. Boyer (1), D. Renard (2), D. Bessis (2), M. Chaouch (3), I. Boccaccio (4), P. Roll (5), C. Navarro (4), A. Munnich (6), M. Lemerrer (6), A. Chauvat (7), P. Bourgeois (1), N. Levy (1, 4), A. De Sandre-Giovannoli (1, 4)

(1) Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHU de la Timone, Marseille ; (2) Département de Neurologie, Hôpital Guy-de-Chauliac, CHU Montpellier ; (3) Neurologie, Hôpital Ben-Aknoun, Alger, Algérie ; (4) UMR910, Faculté de Médecine de Marseille ; (5) Service de Biologie Cellulaire, CHU La Conception, Marseille ; (6) Département de Génétique, Hôpital Necker, Paris ; (7) Service de Cardiologie, CH Victor-Dupouy, Argenteuil

Introduction : Différents syndromes progéroides segmentaires ont été inscrits dans le cadre nosologique des laminopathies systémiques au cours des dernières années. Dans le contexte d'un PHRC National visant à étendre le nombre de mutations et de syndromes inscrits dans ce cadre, nous avons testé des patients évoquant cliniquement une laminopathie

systémique de manière plus ou moins marquée. Nous rapportons l'identification de 3 cas sporadiques ou familiaux, porteurs de nouvelles mutations dans le gène *LMNA*. Matériel et Méthodes : Les parties codantes du gène *LMNA* ont été amplifiées à partir d'ADN leucocytaire et analysées par dHPLC et/ou séquençage direct. Les mutations sont décrites selon les règles proposées par la Human Genome Variation Society. Résultats : Le patient 1 est un homme de 31 ans, sans facteurs de risque cardiovasculaire, se présentant avec une aphasie et une hémiparésie droite. Il présente une lipoatrophie, des hyperkératoses localisées, et un nez fin et long. Une lésion ischémique cérébrale étendue associée à des calcifications thalamiques, a été documentée. Le père du patient, atteint d'artériopathies oblitérantes des membres inférieurs, était décédé à 52 ans suite à un infarctus du myocarde. L'analyse du gène *LMNA* chez le patient, puis chez le père, a mis en évidence la mutation hétérozygote c.898G>A (p.D300N). Les transcrits n'ont pas montré d'anomalies de l'épissage. Le patient 2 est un homme de 35 ans présentant une petite taille, des acroostéolyses, une lipoatrophie, un nez fin, une peau fine, une hypertriglycéridémie, une stéatose hépatique et une athérosclérose disséminée. La mutation hétérozygote c.1968G>A, prédite pour être synonyme (p.Q656Q) a été identifiée. Au contraire, des transcrits délétés identiques à ceux retrouvés chez les patients atteints de Progeria typique (p.G608G) ont été observées. L'analyse en Western Blot a permis de confirmer la présence de faibles quantités de progerine. Le patient 3 est un enfant de 3 ans issu d'une union consanguine, présentant une alopecie, une peau fine, des acroostéolyses, des déformations thoraciques, des ROT abolis, une insuffisance staturale, une lipoatrophie et une intelligence normale. La mutation homozygote c.1583C>T (p.T528M) a été observée. L'analyse immunocytochimique de ses fibroblastes montrait des noyaux polylobulés avec parfois des anomalies de marquage des Lames A/C et de l'emerine. L'analyse en RT n'a pas montré d'anomalies d'épissage et le western blot a confirmé la présence de Lames A/C conservées en taille et quantités. Discussion : Une différente substitution hétérozygote du codon 300, localisée au niveau d'une partie très conservée du domaine coiled-coil, avait été rapportée au préalable dans une famille atteinte de progeria cardiocutanée. La mutation p.D300N ségrège avec le phénotype familial Werner-like, seulement partiellement évocateur chez le patient 1. Le patient 2 démontre que des mutations autres que la p.G608G peuvent activer de manière substantielle le site cryptique d'épissage impliqué dans la Progeria. Une production de progerine à des faibles niveaux semble conduire à la forme atténuée de Progeria observée chez le patient. La mutation T528M avait été décrite à l'état hétérozygote composite chez des patients présentant une Progeria ou une lipodystrophie. Le résidu T528 se situe au niveau du domaine Ig-like et est très conservé entre les lames de type A et B. Sa mutation est supposée avoir des conséquences sur la dynamique de polymérisation des Lames. Nos résultats montrent une fois de plus l'hétérogénéité clinique et allélique des laminopathies systémiques. Nous souhaitons souligner aussi le risque élevé d'affections ischémiques aiguës chez les patients mutés, en l'absence des facteurs de risque et en présence d'un phénotype clinique seulement partiellement évocateur. La recherche de mutations de *LMNA* est donc souhaitable devant tout soupçon diagnostique pour conseil génétique et prise en charge précoce.

Mots-clés : *LMNA*, lamine, progeria.

■P425 / 475. DES MUTATIONS DU GÈNE CODANT LA MYOPALLADINE, UNE PROTÉINE DE LA BANDE Z DU SARCOMÈRE, SONT RESPONSABLES DE CARDIOMYOPATHIE DILATÉE

L. Duboscq-Bidot (1), P. Xu (2), P. Charron (1,3), N. Neyroud (1), G. Dilanian (1), A. Millaire (4), M. Komajda (1, 5), E. Villard (1, 6)
(1) INSERM/UPMC, UMR S621, Paris ; (2) Centre National de Génétique, Evry ; (3) Département de Génétique, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris. (4) Service de Cardiologie, hôpital cardiologiques, Lille. (5) Département de Cardiologie, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris ; (6) Centre d'Investigation Biomédicale Pitié-Salpêtrière, AP-HP, Paris

Introduction : La cardiomyopathie dilatée (CMD) est une maladie cardiaque caractérisée par une dilatation ventriculaire et une altération de la fonction contractile. C'est une cause majeure d'insuffisance cardiaque et de transplantation. La CMD est d'origine génétique dans environ 30 % des cas et très hétérogène génétiquement avec plus de 10 gènes impliqués dans la maladie identifiés à ce jour et aucun gène majeur. Malgré ce nombre, beaucoup de gènes restent encore à identifier dans cette pathologie. Du fait de la grande morbidité associée à la CMD et de la petite taille des familles atteintes l'analyse de liaison génétique est peu adaptée. L'identification des gènes est donc le plus souvent basée sur une approche gène candidat et un criblage mutationnel. Parmi les gènes connus à ce jour, la majorité code pour des protéines de structure du cardiomyocyte. Matériel et Méthodes : L'analyse des composants structuraux du sarcomère

cardiomyocytaire nous a permis d'identifier le gène codant la myopalladine (OMIM 608517), une protéine associée à la bande Z sarcomérique, comme candidat potentiel. Nous avons criblé, par séquençage direct, l'ensemble des exons et jonctions introns-exons du gène chez 114 sujets indépendants d'origine européenne (65 cas familiaux et 49 cas sporadiques) présentant une CMD. Les mutations ont été analysées sur les plans génétique (conservation inter-espèce, fréquence allélique, coségrégation, liaison génétique) et fonctionnel (immunohistochimie, expression cellulaire hétérologue). Résultats : Nous avons identifié 4 mutations à l'état hétérozygote dans deux familles (R1088H et I83fsX105) et 2 cas sporadiques (V1195 et P1112L). Pour les 3 mutations faux-sens, l'acide aminé substitué est conservé entre les espèces. Aucune des mutations n'est retrouvée dans une population de 400 contrôles sains. Les sujets atteints sont tous porteurs d'une des mutations et la pénétrance chez les porteurs est incomplète, une caractéristique fréquente dans cette pathologie. Enfin, dans la plus grande famille (mutation 1088H) un lod-score significatif ($Z = 2,3$; $\theta = 0$) est obtenu pour le calcul de liaison génétique entre la mutation considérée comme marqueur unique et la maladie. L'immunomarquage spécifique de la myopalladine dans le cœur transplanté d'un patient porteur de la mutation R1088H indique une perte de localisation de la protéine à la bande Z sarcomérique, suggérant un défaut d'interaction ou d'adressage de la protéine mutante. L'expression hétérologue des mutations P1112L et V1195M dans le modèle des cardiomyocytes de rats nouveaux-nés en culture primaire induit une désorganisation structurale rapide des sarcomères associées à une mort cellulaire importante et précoce comparée aux cellules exprimant la myopalladine humaine sauvage. Enfin, la quantification de la fuite transcriptionnelle lymphoblastique des ARNm issus des deux allèles codant la mutation I83fsX105 indiquent une absence presque totale du transcrit porteur de la mutation et suggère un mécanisme d'haploinsuffisance associé à cette mutation. Conclusion : Nos résultats expérimentaux, tant génétiques, histologiques, que fonctionnels, indiquent que des mutations du gène codant la myopalladine sont responsables de cardiomyopathie dilatée. Ce nouveau gène est impliqué dans 3 à 4 % des cas dans une population d'origine européenne.

Mots-clés : cardiomyopathie, myopalladine, mutation.

■P426 / 478. IMPLICATION DES RÉGIONS 5' ET 3'UTR DE *GJA12* CHEZ LES PATIENTS ATTEINTS DE LA MALADIE DE PELIZAEUS-MERZBACHER SANS MUTATION *PLP1* (PMLD)

P. Combes (1, 2), H. El-Hajj (1, 2), E. Bertini (3), O. Boespflug-Tanguy (1, 2, 4), C. Vaur-Barrière (1, 2)
(1) INSERM, U 384, Faculté de Médecine de Clermont-Ferrand, F-63003 Clermont-Ferrand, France ; (2) Univ Clermont 1 UFR Médecine, Génétique Médicale, F-63001 Clermont Ferrand, France ; (3) Department of Molecular Medicine, Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, Scientific Institute, IRCCS, Rome, Italy ; (4) CHU Clermont-Ferrand, Centre de référence des leucodystrophies, Service de Génétique Médicale, F-63003 Clermont Ferrand, France

La maladie de Pelizaeus-Merzbacher (OMIM 312080) est une leucodystrophie due à un défaut primitif de myélinisation du système nerveux central (SNC) de transmission liée à l'X impliquant des mutations du gène *PLP1*. Elle se caractérise par l'apparition précoce de troubles du développement moteur (nystagmus, hypotonie, ataxie, spasticité) associés à un allongement des conductions nerveuses intracérébrales et des signes d'hypomyélinisation sur l'IRM cérébrale. Cependant 20 % des patients ne présentent aucune anomalie du gène *PLP1* et sont définis comme atteints de Pelizaeus-Merzbacher Like Disease (PMLD). Une hétérogénéité génétique a été démontrée avec l'identification de mutations du gène Gap jonction alpha 12 (*GJA12*), codant pour la connexine 47 dans un phénotype PMLD de transmission autosomique récessive (OMIM 608804) (Uhlenberg et al., 2004). Les connexines sont des protéines à 4 domaines transmembranaires exprimées à la surface de deux cellules voisines où elles participent à la formation de jonctions communicantes permettant l'échange d'ions et de petites molécules. Dans le SNC, la connexine 47 est exprimée par les oligodendrocytes et permet l'échange de molécules entre les cellules gliales ainsi que le transport radial au sein de la myéline compacte. Nous avons montré que seulement 7.7 % des patients PMLD sont mutés pour le gène *GJA12* (Combes et al., in press). Suite à l'étude de l'unique exon codant de *GJA12* (exon 2), 36 patients porteurs de mutations *GJA12* sont décrits dans la littérature : 29 patients sont porteurs d'une mutation à l'état homozygote, 2 patients sont porteurs de deux mutations hétérozygotes (hétérozygotes composites) et 5 patients ne sont porteurs que d'une seule mutation à l'état hétérozygote. Dans l'hypothèse d'un mode de transmission autosomique récessif pour l'ensemble des patients mutés pour *GJA12*, nous avons séquençé les régions 5' et 3' UTR de *GJA12* chez les 5 patients porteurs d'une seule mutation hétérozygote dans



la séquence codante. Cette analyse a permis de mettre en évidence une variation à l'état hétérozygote dans la région 5'UTR chez deux patients d'origine italienne (G588 et mt3550) porteurs sur l'autre allèle d'une mutation conduisant à un décalage du cadre de lecture (respectivement c.392delC et c.292_293insGTA). Cette nouvelle variation identifiée dans le 5'UTR n'a pas été retrouvée dans une population de 112 individus sains italiens non apparentés et l'analyse de la ségrégation des deux mutations identifiées dans la famille de la patiente G588 est en accord avec un mode de transmission autosomique récessif. Ce changement nucléotidique est localisé dans une région hautement conservée correspondant au site distal de fixation du facteur de transcription SOX10 qui a récemment été impliqué dans l'activation de la transcription de *GJA12* chez la souris. Ceci est à rapprocher des mutations décrites au niveau du site distal de fixation de SOX10 situé sur le promoteur du gène *GJB1* (codant pour la connexine 32) et responsables de la neuropathie périphérique de Charcot-Marie (CTX1). Des études fonctionnelles de l'effet de cette mutation sur la transcription de *GJA12* sont en cours pour conclure définitivement à l'implication de celle-ci dans l'expression du phénotype PMLD afin de déterminer l'intérêt d'analyser de façon systématique chez les patients PMLD, non seulement la région codante mais également la région 5'UTR de *GJA12*.

Mots-clés : GJA12, Pelizaeus-Merzbacher, leucodystrophie.

■P427 / 481. DÉLÉTION DU GÈNE SACS IDENTIFIÉE PAR ARRAY-CGH DANS UN CAS DE SPASTIC ATAXIA DE CHARLEVOIX-SAGUENAY (ARSACS)

J. Breckpot (1), Y. Takiyama (2), B. Thienpont (1), E. Ortibus (3), K. Devriendt (1)

(1) Centre for Human Genetics, K.U.Leuven, Belgique ; (2) Division of Neurology, Department of Internal Medicine, Jichi Medical University, Tochigi, Japan ; (3) Department of Pediatrics, University Hospital Leuven, Belgique

Nous rapportons le cas d'un patient Belge présentant une ataxie cérébelleuse précoce, une spasticité progressive, une hypotrophie musculaire des membres inférieurs, des difficultés d'apprentissage et une surdité modérée. Un caryotype moléculaire effectué par Comparative Genomic Hybridisation (aCGH), démontre une délétion de 1.49 Mb au chromosome 13q12.12, comprenant le gène SACS. La microdélétion 13q12.12 était de novo et d'origine maternelle. Le séquençage du gène SACS a révélé une nouvelle mutation hemizygote c.10517T>C dans l'exon 9, résultant dans une substitution du résidu 3506 phénylalanine par sérine (p.F3506S). Le père est porteur de cette mutation, qui est absente chez 100 contrôles belges. Ceci présente le premier cas de la maladie ARSACS avec une délétion de novo du gène SACS. À part des implications pour le diagnostic de cette maladie, cette observation montre la contribution potentielle des microdélétions dans l'origine des maladies autosomiques récessives.

Mots-clés : microdélétion, ataxie spastique, micropuces.

■P428 / 482. SCORES CLINIQUES DE DÉPISTAGE DE L'HYPERCHOLESTÉROLÉMIE FAMILIALE CHEZ L'ADULTE ET L'ENFANT. INTÉRÊT POUR LE DIAGNOSTIC PAR GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE DANS LA POPULATION FRANÇAISE

P. Benlian (1), C. Bernard (1), K. Morel (1), K. Belabbas (1), W. Auriol (1), A. Fredenrich (2), M. Krempf (3), P. Moulin (4), Y. Reznik (5), B. Vialettes (6), J.-F. Labarthe (7), F. Feillet (8), F. Carrat (9), J.-P. Girardet (10)

(1) Laboratoire de Référence pour le Diagnostic Génétique des Maladies Rares, APHP, INSERM UMRS 538, UPMC Paris ; (2) Diabétologie-Endocrinologie, CHU de Nice ; (3) Endocrinologie, CHU de Nantes ; (4) Endocrinologie, Hôpital Louis Pradel, Lyon ; (5) Endocrinologie, CHU de Caen ; (6) Nutrition, Maladies Métaboliques et Endocrinologie, CHU Timone, Marseille ; (7) Pédiatrie, CHRU de Tours ; (8) Médecine Infantile, CHU de Nancy ; (9) UMR-S 707 ; INSERM, Université Paris 6 ; (10) Gastroentérologie et Nutrition Pédiatrique, Hôpital Armand-Trousseau, APHP, Paris

Introduction : L'hypercholestérolémie familiale (HCF) justifie d'un dépistage chez le sujet jeune avant la survenue des premières manifestations cardiovasculaires, souvent mortelles d'emblée. Bien que le risque cardiovasculaire de l'HF hétérozygote soit multiplié par plus de 50, il reste difficile de distinguer en pratique les formes sévères d'HCF de formes d'hypercholestérolémie plus banales ou multifactorielles. De plus, si le diagnostic par génétique moléculaire offre des arguments de certitude par analyse des trois gènes connus (*LDLR*, *APOB*, *PCSK9*), son rendement en pourcentage de porteurs identifiés « mutés » est réduit (de 80 % à 25 %) par un dépistage clinique peu discriminant. Des scores diagnostiques basés

sur des critères clinico-biologiques ont été développés de manière intuitive ou statistique chez l'adulte (Simon Broome, UK ; Dutch Lipid Clinics, NL ; Med Ped, USA), sans équivalent pour l'enfant qui est asymptomatique. Objectifs. Valider par la génétique moléculaire chez 300 adultes et élaborer chez 150 enfants hypercholestérolémiques issus de différentes régions françaises, des scores diagnostiques discriminants basés sur un ensemble de critères clinico-biologiques pondérés. Sujets et Méthodes : Les adultes (*LDLC* > 1,60 g/L) et les enfants (*LDLC* > 1,30 g/L) hypercholestérolémiques, et/ou présentant des dépôts vasculaires ou extravasculaires de cholestérol et/ou une histoire familiale évocatrice d'HCF ont été génotypés aux loci *LDLR*, *APOB* et *PCSK9* par séquençage (Big Dye Terminator, Applera, France) sur produits de PCR (en aval ou non de la DGGE, BioRad). Les gros réarrangements géniques du *LDLR* ont été recherchés par Southern Blot ou MLPA (Multiple Ligation-dependent Probe Amplification, MRC-Holland). Les séquences ont été analysées en double à l'aide du logiciel SeqScape v2.5 (Applera, France) pour la détection de variants et du logiciel GenSearch v3.34 (Phenosystems, Belgium) pour l'aide à l'interprétation fonctionnelle ; les logiciels Gene Mapper v4.0 (Applera, France) et Coffalyser v2 (MRC-Holland) ont été utilisés pour le dosage allélique. La validation des scores cliniques a été effectuée par analyse de régression logistique multivariée (SAS Institute, USA). Résultats : Le score Dutch Lipid Clinics basé sur 10 critères clinico-biologiques pondérés a été appliqué chez 220 adultes porteurs et 80 adultes non porteurs de mutations causales d'HCF. Les sujets porteurs de mutations causales de formes dominantes d'HCF ont été détectés avec une sensibilité de 84 % au seuil de « Score >8 » (aire sous la courbe ROC = 0,82). Le score moyen des adultes non mutés (Score = 8) était très inférieur au score des adultes mutés (Score = 13, $p < 0,0001$), offrant une précision diagnostique comparable à celle observée dans la population Hollandaise. Un score spécifique a été élaboré chez 50 enfants porteurs et 50 enfants non porteurs de mutations causales sur la base de trois critères indépendants identifiés parmi 80 testés : *LDLC* avant et après régime, et notion de traitement parental par statine. Ce score a ensuite été appliqué sur un groupe de 50 autres enfants dont le génotype n'était pas connu. La sensibilité de détection des porteurs était de 90 % avec une aire sous la courbe ROC = 0,92. Les sujets identifiés comme mutés étaient porteurs de mutations ponctuelles du *LDLR* dans 90 % des cas, de gros réarrangements géniques du *LDLR* dans 5 % des cas, de mutations de l'*APOB* dans 4 % des cas et de mutations de *PCSK9* dans 1 % des cas. Conclusion : Sachant qu'en pratique l'HCF relève de traitements préventifs efficaces si débutés précocement, ces scores cliniques testés et validés par la génétique moléculaire, offrent aux praticiens un outil décisionnel précis tant chez l'adulte que chez l'enfant encore indemne de toute pathologie cardiovasculaire. De plus, l'efficacité du diagnostic moléculaire est augmentée par un dépistage clinique mieux ciblé sur les individus porteurs d'HCF monogéniques à très haut risque.

Mots-clés : hypercholestérolémie familiale, dépistage, MLPA.

■P429 / 483. PRÉVALENCE DE LA MUTATION MITOCHONDRIALE A1555G EN FRANCE

D. Feldmann (1), L. Jonard (1), A.F. Roux (2), C. Lemarechal (3), K. Olszewski (1), C. Francannet (4), R. Couderc (1), F. Denoyelle (5), S. Marlin (6)

(1) Laboratoire de Biochimie, INSERM U587, Hôpital Armand-Trousseau, AP-HP, Paris ; (2) Laboratoire de Génétique Moléculaire-IURC, CHU de Montpellier ; (3) Laboratoire de Génétique Moléculaire, Unité INSERM U613, CHU de Brest ; (4) Génétique Médicale, Hôtel-Dieu, Clermont-Ferrand ; (5) Service d'ORL et de Chirurgie Cervico-Faciale, Inserm U587, Hôpital Armand-Trousseau, AP-HP, Paris ; (6) Unité de Génétique Médicale, Inserm U587, Centre de Référence des Surdités Génétiques, Hôpital Armand-Trousseau, AP-HP, Paris, France

La surdité est l'handicap neurosensoriel le plus fréquent de notre population. En effet 1 enfant sur 1 000 naît avec un déficit auditif. La surdité est largement hétérogène génétiquement. Des mutations de l'ADN mitochondrial sont responsables de surdités isolées ou syndromiques. Parmi ces mutations, la mutation A1555G dans l'ARN12S se caractérise par son aptitude à potentialiser l'effet ototoxique des aminosides, médicaments largement utilisés. Depuis la mise en évidence de la mutation, celle-ci a été identifiée dans de nombreuses familles de patients atteints de surdité non syndromique. Le phénotype associé à A1555G est extrêmement variable même parmi les membres d'une même famille et la surdité peut s'observer en l'absence de traitement par les aminosides. Enfin les études familiales ont montré la présence de porteurs sains. Cependant l'administration d'aminosides chez des porteurs de la mutation A1555G est toujours suivie de surdité. La pénétrance incomplète ainsi que l'expressivité variable du déficit auditif associées à A1555G suggère qu'en plus des facteurs

environnementaux comme la prise d'aminosides, des gènes modificateurs nucléaires ou mitochondriaux modulent le phénotype. Cette mutation a été décrite dans de nombreuses populations et des études récentes en Espagne ont montré que cette mutation était présente chez 15 % des patients atteints de surdité non syndromique et chez 61 % des familles où la surdité était transmise par un ascendant maternel. Une fréquence élevée a aussi été observée en Chine (5,4 % des patients atteints de surdité NS). En conséquence une recherche systématique de cette mutation peut être justifiée dans ces populations. La prévalence de A1555G en France n'étant pas connue, nous avons voulu l'établir dans une large cohorte de patients sourds. Parmi une cohorte de 1880 patients atteints de surdité, 156 patients non apparentés avec une surdité ayant un mode de transmission maternelle et 124 cas sporadiques ayant reçu des aminosides, ont été étudiées. La surdité a été évaluée et d'éventuelles atteintes associées ont été éliminées. La mutation A1555G a été analysée par électrophorèse en gradient dénaturant puis séquençage. La mutation A1555G a été observée à l'état homoplasmique dans seulement 7 familles parmi les 156 avec transmission maternelle soit 4,5 % ce qui est statistiquement différent de la population espagnole (7/156 *versus* 65/107). Aucun des cas sporadiques ne portait la mutation (0/124 *versus* 5/98). L'origine des patients porteurs de A1555G était variée et jamais française : Chine, Martinique, Arabe/Israël, Portugal, Iran, Madagascar, Espagne. La surdité était de profonde à légère, le début d'apparition de congénital à 30 ans. Le pourcentage de patients atteints parmi les apparentés maternels était de 50 % (51/102). La faible fréquence de la mutation A1555G observée en France ne justifie pas un screening systématique de cette mutation. La recherche de la mutation devra être réservée aux patients avec un ou plusieurs apparentés maternels atteints, aux patients originaires de pays où la mutation a une forte prévalence et aux enfants de recevoir fréquemment des aminosides.

Mots-clés : A1555G, mutation mitochondriale, surdité.

■P430 / 490. ÉVALUATION DES SITES WEB DE PRÉDICTION *IN SILICO* DES MUTATIONS D'ÉPISSAGE COMME OUTIL D'AIDE DÉCISIONNELLE EN DIAGNOSTIC GÉNÉTIQUE

D. Michaux*, C. Dehainault*, C. Mattler, V. Caux-Moncoutier, S. Pagès-Berhouet, D. Stoppa-Lyonnet, M. Gauthier-Villars, C. Houdayer, *D. Michaux et C. Dehainault ont contribué de façon égale à ce travail
Génétique oncologique, Direction des Systèmes d'Information et de l'Informatique Institut Curie, Paris, France

L'épissage est le processus complexe par lequel les cellules eucaryotes produisent un ARN messager (ARNm) mature à partir d'un pré-ARNm. Il nécessite la reconnaissance des exons, l'excision des introns puis la ligation des exons pour former un transcrit mature. Cette reconnaissance est assurée par des séquences génomiques consensus en cis, dont les plus connues sont les sites donneurs, accepteurs d'épissage et le site de branchement. D'autres séquences consensus ont été décrites, principalement les Exonic Splicing Enhancers (ESE) et les Exonic Splicing Silencers (ESS). Ce sont des séquences exoniques qui favoriseraient (ESE) ou réprimeraient (ESS) l'épissage de l'exon qui les contient et ce par interaction avec des facteurs de transcription spécifiques. Il est maintenant établi que toute modification nucléotidique génomique peut être délétère en affectant l'épissage du pré-ARNm par la perte d'une séquence consensus sauvage ou la création d'une séquence consensus cryptique. Cependant, pour des raisons de temps et de coût, il n'est pas envisageable d'effectuer une étude de transcrits pour chaque variant nucléotidique. Par conséquent, un compromis doit être trouvé entre le temps et le coût d'une telle étude et le risque de manquer une mutation délétère. Nous avons donc évalué les performances de certains outils disponibles en ligne qui permettent de prédire *in silico* l'impact sur l'épissage des modifications nucléotidiques. Trente six patients non apparentés atteints de rétinoblastome, sans mutation délétère identifiée mais porteurs de variants de signification inconnue du gène *RBI* (28 introniques et 8 exoniques) ont été inclus. Pour ces 36 patients, une étude de transcrits systématique a été réalisée, à partir de lignées cellulaires traitées en puromycine, afin de visualiser les transcrits résultant de mutations tronquantes et instables du fait du phénomène NMD. L'impact sur l'épissage de ces 36 variants de signification inconnue a ensuite été modélisé à l'aide de 5 sites (Splice Site Prediction by Neural Network, Splice Site Finder, MaxEntScan, ESE Finder and RESCUE-ESE) et les résultats des analyses *in silico* ont été comparés à ceux des études de transcrits. De façon attendue, 18 modifications nucléotidiques modifiant les sites canoniques d'épissage AG/GT ont correctement été caractérisées *in silico* comme délétères. Sur 18 modifications nucléotidiques introniques situées à +/- 60 nucléotides d'un site d'épissage physiologique, 16 mènent, *in vitro*, à un défaut d'épissage et 13 d'entre elles ont été correctement classées, *in silico*, comme délétère par au moins un des sites testés. En d'autres termes, le caractère délétère de 3 modifications nucléotidiques n'a

été détecté par aucun des 5 sites et les 2 restantes ont été correctement caractérisées en tant que neutre. Nos résultats sur *RBI* montrent que 90 % des UV altérant l'épissage peuvent être détectés par l'utilisation d'une combinaison d'outils de prédiction complémentaires. En effet, la faiblesse d'un outil *in silico* peut être compensée par la force d'un autre. Bien que les prédictions *in silico* ne soient pas suffisantes pour classer les UV comme délétères ou neutres, elles peuvent être utilisées en routine diagnostique comme outil d'aide décisionnelle pour guider le généticien vers les études de transcrit pertinentes.

Mots-clés : mutations d'épissage, modélisation *in silico*, outils en ligne.

■P431 / 492. LA TECHNIQUE MLPA (MULTIPLEX LIGATION-DEPENDENT PROBE AMPLIFICATION) : UNE ALTERNATIVE À LA MÉTHODE DE SOUTHERN POUR LA DÉTECTION DES LARGES RÉARRANGEMENTS DU GÈNE *CYP21* IMPLIQUÉS DANS LE DÉFICIT EN 21-HYDROXYLASE

V. Tardy (1, 2), M. Manigand (1), L. Michel-Calemard (1), N. Boutry-Kryza (1), Y. Morel (1, 2)

(1) Hospices Civils de Lyon, Endocrinologie Moléculaire et Maladies Rares, Centre de Biologie et de Pathologie Est, Bron, F69677, France ;

(2) Université Lyon 1, Faculté de médecine Laënnec, Lyon, F69003, France

Le déficit en 21-hydroxylase est dû à des mutations du gène *CYP21* situé dans une région 6p21.3 entre les loci HLA B et HLADR. Le gène *CYP21* se trouve dans un fragment de 35 kb (*C4B-CYP21-TNXB*) dupliqué en tandem (*C4A-CYP21P-TNXA*) avec son pseudogène *CYP21P* homologue à 98 %. Cette grande homologie explique la fréquence de réarrangements importants (duplication, délétion, conversion génique) ou d'échanges constants entre *CYP21P* et *CYP21* rendant *CYP21* non fonctionnel. Les réarrangements très étudiés dans les années 90 (Southern, électrophorèse en champ pulsé) restent complexes : dus le plus souvent à des crossing-over entre les exons 4 et 8 des gènes *CYP21* avec perte ou gain d'un fragment de 35 kb, ils donnent un gène hybride *CYP21P/CYP21* non fonctionnel. Le but de ce travail est de remplacer la méthode de référence, le Southern, par la technique MLPA pour rechercher ces larges lésions responsables du déficit en 21-hydroxylase dans 20 % des cas. Méthodes : Le kit Salsa P050 (MRC Holland) est utilisé. Il renferme 14 sondes spécifiques d'exons présents dans les gènes d'intérêt (5 pour *CYP21*, 3 pour *CYP21P*, 1 pour *C4A*, 1 pour *C4B*, 3 pour *XB* et 1 pour *CREBL*) et 20 sondes spécifiques de loci contrôles. Étapes de la MLPA : hybridation spécifique des sondes marquées par un fluorochrome, ligation, amplification des produits par PCR grâce à un couple d'amorces universelles, séparation par électrophorèse sur un séquenceur capillaire ABI. Pour chaque sujet testé, la hauteur du pic de chaque exon d'intérêt est comparée à celle de chaque locus contrôle et ce rapport R1 est lui-même comparé à celui R2 obtenu chez le sujet normal. Si $R1/R2 < 0.7$ exon délété, si $0.7 < R1/R2 < 1.3$ profil normal, si $R1/R2 > 1.3$ exon dupliqué. Depuis 2006, nous avons testé 80 sujets (110 chromosomes) déjà analysés par Southern ainsi que 430 nouveaux sujets (619 chromosomes). La recherche des mutations de *CYP21* situées sous les 5 sondes est toujours réalisée (séquençage ou RLFP). Résultats : les mêmes résultats qu'avec le Southern sont obtenus pour les 110 chromosomes témoins sur le nombre de copies de *CYP21* et de *CYP21P* ; les délétions de *CYP21* sont différenciées des conversions géniques (nombre de copies de *CYP21P* identique si délétion, 1 copie supplémentaire de *CYP21P* si conversion) et le gène résultant hybride *CYP21P/CYP21* est bien détecté. Les bornes d'une duplication sont parfois difficiles à définir (problème du rapport R1/R2 à 1.3). En revanche, le nombre de copies de *C4A* ou *C4B* sur 37 chromosomes discordant avec le Southern (sonde unique, crossing-over entre *C4A* et *C4B*). Parmi les 619 chromosomes testés : la MLPA a déterminé la nature de la large lésion de *CYP21* (délétion, conversion) suspectée sur 92 chromosomes ; elle l'a diagnostiquée (7) ou exclu (29) pour 36 chromosomes où le séquençage ne permettait pas de trancher. Sur 29 chromosomes indemnes de toute lésion d'après le phénotype mais porteurs d'une mutation sévère avec un aspect dupliqué au séquençage (allèle normal supérieur à allèle muté), la MLPA a détecté 2 copies de *CYP21* confirmant ainsi la non pathogénicité de l'allèle. Chez 3 sujets non apparentés, la MLPA a diagnostiqué une délétion de *CYP21* sur un allèle et une duplication de *CYP21* sur l'autre allèle, expliquant la non détection de la délétion par séquençage. Enfin, la MLPA a confirmé l'absence de lésions initialement conclue au séquençage (possibles hétérozygotes d'après le test ACTH, conjoints). Conclusion : la technique MLPA est un outil fiable pour diagnostiquer les larges lésions de *CYP21*, notamment à l'état hétérozygote, à condition d'avoir recherché les mutations de *CYP21* sous les sondes par séquençage. Elle peut être proposée en plus du séquençage pour le conseil génétique et apporter une explication aux discordances génotype-phénotype. Ses limites actuelles



sont dues à la complexité de la région (difficulté à borner une duplication, résultats peu fiables du C4) et nécessitent de reconsidérer le choix des sondes des gènes C4.

Mots-clés : déficit en 21-hydroxylase, larges réarrangements, technique MLPA (Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification).

■P432 / 494. LE SYNDROME ATRX : ASPECTS CLINIQUES ET MOLÉCULAIRES

C. Badens (1), C. Lacoste (1), N. Martini (1), J. Hornung (1), P. Edery (2), B. Thienpont (3), K. Devriendt (3), N. Philip (4), N. Levy (1) et les cliniciens du réseau DHOS sur le retard mental

(1) *Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHU de la Timone, Marseille* ; (2) *Service de Cytogénétique, CHU E.-Herriot, Lyon* ; (3) *Center for Human Genetics, University Hospital Leuven, Leuven, Belgique* ; (4) *Service de Génétique Clinique, CHU de la Timone, Marseille, France*

Le syndrome ATRX associe dans sa forme typique, un retard mental sévère, une alpha-thalassémie mineure, des anomalies génitales et une dysmorphie faciale caractéristique. Des descriptions récentes ont permis d'élargir ce phénotype à des formes avec retard mental modéré ou léger, des formes sans alpha-thalassémie ou sans anomalies génitales. Au final, seule la dysmorphie faciale est constante et spécifique, même si elle peut être discrète ; elle a pour caractéristique un epicanthus, un nez petit, des narines antéversées, une bouche triangulaire. Des signes secondaires sont retrouvés, certains fréquemment comme une épilepsie, d'autres beaucoup plus rarement comme des anomalies cardiaques ou rénales. Des mutations du gène *ATRX* sont responsables de ce syndrome. Il code pour une protéine dont la fonction n'est pas précisément connue mais qui intervient dans le remodelage chromatinien et comporte au moins 2 domaines fonctionnels : un domaine en doigt de Zn et un domaine à activité hélicase. Une étude récente montre que l'expression d'*ATRX* est déterminante pendant le développement puisque, chez les femmes porteuses de mutation à l'état hétérozygote, il s'opère une sélection des cellules exprimant correctement *ATRX* pendant cette période. Cette sélection aboutit à un biais d'inactivation du chromosome X en faveur de l'X portant l'allèle intact, ce qui explique que les femmes conductrices sont indemnes de l'affection. Le domaine en doigt de Zn est le premier hot spot de mutations décrit dans *ATRX* et regroupe 43 % des mutations dans moins de 5 % de la séquence codante. La grande majorité des mutations caractérisées sont des mutations faux sens mais on retrouve aussi des délétions/insertions ou des mutations de sites d'épissage. Une cohorte de 26 patients diagnostiqués dans notre laboratoire, nous a permis de mettre en évidence un second hot spot dans la région à activité hélicase, qui contient 33 % des mutations dans 10 % de la séquence codante. Une étude collaborative nous a également permis de décrire deux patients présentant des duplications intragéniques concernant plusieurs exons, élargissant ainsi le spectre de mutation rencontrée dans le syndrome ATRX. Le diagnostic moléculaire de ce syndrome est donc complexe puisqu'il s'agit d'un gène de grande taille (35 exons dont un de 3 kb) avec un spectre de mutations très large, incluant des mutations ponctuelles mais aussi des délétions et des duplications. En 2007, nous avons initié la création d'une base de données spécifiques des mutations du gène *ATRX*, répertoriant toutes les mutations parues dans la littérature (environ 80 mutations). Dans le syndrome ATRX, aucune corrélation génotype-phénotype n'a pu être clairement mise en évidence en dehors des anomalies uro-génitales graves dans les mutations tronquantes de la partie 3' du gène. Toutefois, à partir des données cliniques des patients caractérisés dans le laboratoire, nous avons pu montrer qu'une sévérité moindre était rattachée aux mutations siégeant dans la région hélicase, en particulier pour le développement moteur et pour les anomalies génitales. Ceci peut s'expliquer par l'existence de 2 transcrits physiologiques : un transcrit correspondant à l'intégralité du gène et un transcrit tronqué ne comportant que le domaine en doigt de Zn. Le second transcrit serait conservé dans les cas de mutations du domaine hélicase ce qui produirait un phénotype atténué. Bien que le syndrome ATRX soit essentiellement rapporté chez des garçons, nous avons décrit un authentique syndrome ATRX chez une fille atteinte par la mutation récurrente R246C et d'un biais d'inactivation, total mais inversé par rapport aux femmes porteuses indemnes c'est-à-dire en faveur du chromosome X muté. Même si le tableau clinique s'est élargi à des formes atténuées, le syndrome ATRX reste, avec un taux de détection de l'ordre de 20 %, un retard syndromique lié à l'X relativement repérable, en particulier du fait de la dysmorphie faciale caractéristique.

Mots-clés : syndrome ATRX, retard mental lié à l'X, biais d'inactivation du chromosome X.

■P433 / 498. ANALYSE DU GÈNE *GDAP1* DANS LES NEUROPATHIES PÉRIPHÉRIQUES HÉRÉDITAIRES SENSITIVES ET MOTRICES : CONSÉQUENCES EN TERME DE STRATÉGIE D'EXPLORATION MOLÉCULAIRE ET DE CONSEIL GÉNÉTIQUE
N. Palot Bonello (1), N. Martini (1), J. Pouget (2), S. Attarian (2), A. Mégarbané (3), N. Lévy (1, 4), R. Bernard (1, 4)

(1) *Département de Génétique médicale Laboratoire de Biologie Moléculaire CHU Timone Marseille* ; (2) *Service des maladies neuromusculaires CHU Timone Marseille* ; (3) *Unité de Génétique Médicale, Faculté de Médecine, Université Saint-Joseph de Beyrouth, Paris, France* ; (4) *Inserm UMR 910 Faculté de médecine Marseille (4)*

Introduction : Les neuropathies périphériques héréditaires sensitives et motrices ou maladie de Charcot-Marie-Tooth (CMT) constituent un groupe de pathologies génétiquement très hétérogène. Différents sous-types de CMT sont identifiés en fonction des conclusions de l'examen électrophysiologique et du mode de transmission de la pathologie. Pour chacun de ces sous-types, une stratégie spécifique d'exploration moléculaire a été établie. Le « réseau des Laboratoires de Génétique Moléculaire pour le diagnostic des maladies neuro-musculaires, neuro-dégénératives, neuro-sensorielles et des retards mentaux » (DHOS réseau ministériel 2003) a évalué entre autres la place du gène *GDAP1* dans les stratégies d'exploration moléculaire. L'analyse du gène *GDAP1* est donc à ce jour incluse dans le schéma d'exploration des formes récessives de CMT axonale et démyélinisante et se discute de ce fait chez les cas sporadiques. **Matériels et Méthodes :** Nous avons réalisé une étude rétrospective sur une cohorte de 135 individus non apparentés tous suspects de CMT chez lesquels l'analyse du gène *GDAP1* a été effectuée par séquençage direct. **Résultats :** Nous avons mis en évidence des variations de séquence dans le gène *GDAP1* chez 9 patients avec la présence de deux variations de séquence ou d'une mutation à l'état homozygote chez seulement 3 d'entre eux. En effet, 6 d'entre eux ne présentent qu'une variation de séquence à l'état hétérozygote ; 5 sont de type faux-sens et 1 non-sens. 5 de ces variations de séquence ne sont rapportées, à ce jour, ni dans la littérature ni dans les bases de données. **Discussion :** Nous discutons d'une part la pathogénicité des variations de séquence non décrites mises en évidence, sur des arguments en partie issus des analyses in silico. D'autre part, nous avons mis en évidence la mutation c.358C>T (p.Arg120Trp) à l'état hétérozygote chez 3 patients présentant un phénotype sévère. Cette mutation a été rapportée par plusieurs équipes comme responsable de CMT2 en association à d'autres mutations. Par ailleurs, dans la même étude les auteurs rapportent que deux mutations dont cette même variation de séquence (p.Arg120Trp et p.Trp157Pro) seraient potentiellement responsables de formes dominantes de CMT2. Sur la base conjointe de ces données de la littérature et de nos propres résultats, il semblerait donc que des mutations dans le gène *GDAP1* puissent être responsables de formes dominantes de CMT, avec chez les 3 patients de notre étude un phénotype sévère. Toutefois, la recherche complémentaire dans les autres gènes de CMT reste à discuter dans ces familles, et l'hypothèse d'un mécanisme éventuel de digénisme ne peut être totalement exclue. **Conclusion :** Cette étude nous a permis de discuter le caractère pathogène des variations de séquence de *GDAP1* non rapportées dans la littérature et les bases de données. À l'heure actuelle, les incertitudes d'interprétation pour certaines mutations de ce gène rendent le conseil génétique extrêmement délicat. De plus, la place de l'analyse du gène *GDAP1* semble devoir être rediscutée et avoir sa place dans les stratégies d'explorations moléculaires de toutes les formes de CMT : formes axonales comme démyélinisantes, et ceci qu'elles soient transmises sur un mode récessif ou dominant.

Mots-clés : Charcot-Marie-Tooth, *GDAP1*, stratégie d'exploration moléculaire.

■P434 / 499. LA FRÉQUENCE DE MUTATIONS C282Y ET H63D DU GÈNE *HFE* DANS LA POPULATION ROUMAINE

P.M. Voicu (1), C. Cojocaru (2), E. Petrescu (1), M. Covic (3), M. Rusu (1)

(1) *Département de Biochimie, Université de Médecine et Pharmacie Gr.T. Popa Iasi, Roumanie* ; (2) *Service de Gastro-Entérologie, CHU St.-Spiridon Iasi, Roumanie* ; (3) *Département de Génétique Humaine, Université de Médecine et Pharmacie Gr.T. Popa Iasi, Roumanie*

Objectif : L'hémochromatose *HFE* ou de type I est la forme la plus fréquente d'hémochromatose héréditaire dans la population caucasienne. Elle se transmet de manière autosomique récessive et atteint entre 1 individu sur 200, et jusqu'à 1 individu sur 400 dans les populations d'origine nord-ouest européenne. La maladie, caractérisée par une surcharge en fer importante, est associée à deux mutations dans le gène *HFE* : la mutation C282Y (substitution d'une cystéine par une tyrosine) situé dans l'exon 4, et la mutation H63D (substitution d'une histidine par une arginine) dans l'exon 2. De nombreuses études ont montré que 60-100 % des malades d'hémochromatose sont homozygotes pour la mutation C282Y et environ 4 % sont hétérozygotes composites C282Y/H63D. La fréquence allélique de la C282Y dans les populations européennes diminue selon un gradient nord-ouest sud-est. Les fréquences les plus importantes ont été retrouvées en Irlande (14 %) et en Bretagne (7-8 %). Les plus faibles ont été retrouvées

dans le sud de l'Italie (1 %). L'objectif de cette étude a été de déterminer la fréquence de C282Y et H63D dans la population Roumaine, non étudiée à ce jour. Matériel et Méthode : Nous avons cherché la mutation C282Y chez 149 individus et la mutation H63D chez 99 individus originaires des départements du nord-est de la Roumanie par amplification-restriction. L'ADN a été amplifié à partir de sang déposé sur papier buvard en utilisant deux couples d'amorces pour chaque mutation, dans un thermocycleur Eppendorf. Les séquences des amorces utilisées pour la mutation C282Y ont été : le premier couple 5'-TGGCAAGGGTAAACAGATCC-3' (sens) et 5'-CTCAGGCACTCCTCTCAACC-3' (antisens) et le deuxième couple 5'-ACCTCTCTCAGTGACCACTCTACGGTGTCCGG-3' (sens) et 5'-TGACTAGGGTGCCAGACGGTGAGGGCTCTA-3' (antisens). Les amorces pour la H63D ont été : le premier couple 5'-ACATGGTTAAGGCTGTGTC-3' (sens) et 5'-GCCACATCTGGCTTGAAATT-3' (antisens) et le deuxième couple 5'-ACATGGTTAAGGCTGTGTC-3' (sens) et 5'-GCCACATCTGGCTTGAAATT-3' (antisens). La digestion enzymatique a été réalisée avec les enzymes RsaI pour la C282Y et MboI pour la H63D, la visualisation des fragments obtenus étant faite sur gel d'agarose 3 %. Résultats : La distribution de génotypes C282Y a été CC- 95,3 %, CY-4,02 % et YY-0,67 % et les fréquences alléliques de l'allèle C-97,31 % et Y-2,68 %. Concernant la H63D : la fréquence des génotypes a été HH-76,76 %, HD-20,2 % et DD-3,03 % et les fréquences alléliques de l'allèle H-86,86 % et D-13,13 %. Discussion et Conclusion : La fréquence allélique de 2,68 % de la C282Y présente en Roumanie s'inscrit dans les valeurs faibles trouvées pour cette mutation dans l'Europe Centrale et de l'Est (4 % en Sloveenie 3,8 % en Autriche, 3,4 en Hongrie, 3,3 en Croatie, 1,6 % en Serbie et Montenegro, 0 % en Bulgarie et 0,3 % en Grèce). La valeur de 13,13 % pour la H63D en Roumanie est proche des fréquences de cette mutation dans l'Europe de l'Est : 11,1 % en Autriche, 14,4 % en Hongrie, 14,5 % en Sloveenie et Croatie, 14,6 % en Grèce. Nous avons remarqué une différence importante entre la Roumanie et la Bulgarie pour la H63D, de 13,13 % contre 23 %, (la Bulgarie étant située à la frontière du sud de la Roumanie). Nous envisageons une amélioration de résultats de cette étude par l'augmentation de nombre des individus analysés et par l'extension de l'étude aux autres régions du pays.

Mots-clés : hémochromatose HFE1, fréquence C282Y, fréquence H63D.

■P435 / 500. EXPLORATION MOLÉCULAIRE DE MALADIES ORPHELINES D'ORIGINE GÉNÉTIQUE : CONSÉQUENCES POUR LE DIAGNOSTIC ET LE CONSEIL GÉNÉTIQUE

A. Amouri (1), S. Abdelhak (1), Pour l'Unité de Recherche Exploration Moléculaire de maladies Orphelines d'Origine Génétique (1) et collaborateurs (2)

Unité de recherche EMGOOD : Etude des Maladies Orphelines d'Origine Génétique, Institut Pasteur de Tunis, Tunisie

La population tunisienne est caractérisée par son hétérogénéité génétique et un fort taux de consanguinité. Il est bien établi qu'il peut y avoir une relation de cause à effet entre la consanguinité et la prévalence des affections autosomiques récessives. Avec les progrès de la recherche en biologie moléculaire, de plus en plus de défauts mono ou polygéniques ont été identifiés. Nous rapportons ici, les résultats des explorations moléculaires réalisées dans le cadre d'études de maladies rares telles que l'anémie de Fanconi, l'épidermolyse bulleuse, l'hyperkératose palmoplantaire. Malgré l'hétérogénéité de ces affections, nous avons élaboré une stratégie unique pour leur investigation génétique et moléculaire. Dans un premier temps, une collecte des données cliniques et généalogiques est faite en collaboration avec des cliniciens et des biologistes des différentes spécialités parallèlement à une fouille de données dans les bases de données en biologie. Après le consentement éclairé, et collecte du matériel biologique, le génotype des patients et de leurs familles est déterminé pour des marqueurs polymorphes de type microsatellite encadrant le ou les gènes déjà connus comme étant impliqués dans la maladie qui les affecte. La liaison au gène d'intérêt est déterminée par homozygotie par descendance. La confirmation de la liaison est effectuée par une recherche de mutation dans la région codante du(les) gène(s) considéré(s). Malgré la taille relativement réduite de la population tunisienne, une hétérogénéité clinique et génétique est souvent observée. En tenant compte du contexte, historique, socio-culturel et économique du sud du bassin méditerranéen, nous proposons une stratégie d'investigation des maladies génétiques et des outils moléculaires simples et peu coûteux pour le diagnostic dans les populations consanguines.

Contribution égale selon un ordre alphabétique : Sonia Abdelhak, Abdelmajid Abid, Imène Arfa, Manel Bali, Emna Barkaoui, Mbarka Bchetnia, Hela Ben Abid, Slim Ben Ammar, Nizar Ben Halim, Mariem Ben Rekaya, Chérine Charfeddine, Sonia Chakroun, Faika Chérif, Wafa Chérif, Lamia

Chérif, Ibtissem Chouchane, Imen Dorboz, Anis Ghazel, Haifa Jmel, Selma Kassar, Rym Kéfi, Chokri Maktouf, Olfa Messaoud, Habib Messai, Sonia Nouira, Farah Ouechtati, Houyem Ouragini, Faten Talmoudi, Helmi Guermani, Mohamed Majdi Zorgati. 2 Mourad Mokni, Samir Boubaker, Marie-Françoise Ben Dridi, Koussay Dellagi, Kamel Monastiri, Ahmed Rebai, Fethi Amri, Néji Tebib, Sondes Hadji, Moez Elloumi, Mounir Frikha, M Hachicha, Tarek Ben Othman, Abdeladhim Ben Abdeladhim.

Mots-clés : Biologie moléculaire, maladies orphelines, Consanguinité.

■P436 / 504. LA MICROFLUIDIQUE, UNE NOUVELLE TECHNOLOGIE POUR L'ANALYSE QUALITATIVE ET QUANTITATIVE DES ACIDES NUCLÉIQUES

D. Mallet (1), C. Lesturgeon (2), L. Michel-Calemard (1), Y. Morel (1), V. Tardy (1)

(1) Hospices Civils de Lyon, Endocrinologie Moléculaire et Maladies Rares, Centre de Biologie et de Pathologie Est, Bron, F69677, France ; (2) Caliper Life Sciences, ZAC Paris Nord 2, Roissy CDG, F95911, France

La plateforme de Biologie Moléculaire du Centre de Biologie et Pathologie Est des Hospices Civils de Lyon réalise plus de 60 000 réactions de séquences d'ADN par an. La qualité des séquences obtenues est induite par une vérification systématique et une optimisation de chacune des étapes de préparation des réactions de séquençage : PCR à partir de l'ADN génomique, purification puis normalisation des produits de PCR. Avec l'objectif de rendre l'activité de séquençage plus robuste, plus performante et d'automatiser les étapes en amont, nous avons cherché à améliorer le contrôle qualité des produits de PCR utilisés pour les réactions de séquençage en remplaçant la technique très répandue d'électrophorèse sur gel d'agarose par l'analyse de fragments d'ADN sur l'automate LabChip90 utilisant la technologie de microfluidique « LabChip » développée et commercialisée par Caliper Life Sciences. Cette électrophorèse utilise le Kit « LabChip DNA 5K » et permet, en chargeant automatiquement seulement 200 nL d'échantillon, l'analyse simultanée de la taille en paires de bases et de la concentration en ng/microL (limite de détection : 0,25 ng/microL) de tous les fragments d'ADN double brin compris entre 50 et 5 000 paires de bases contenus dans l'échantillon. Pour adopter cette nouvelle technologie plusieurs paramètres ont été validés : absence de contamination des échantillons chargés automatiquement par le LabChip90 ; comparaison et corrélation des résultats obtenus sur gels d'agarose et LabChip90 ; reproductibilité, répétitivité, précision et linéarité des valeurs de concentration et de taille pour des produits de PCR d'environ 370, 500, 1 400 et 2 300 paires de bases largement utilisés dans l'activité de routine de notre laboratoire. Après plusieurs mois d'utilisation, les résultats obtenus sur plus de 5 000 échantillons ont démontré que l'utilisation du LabChip90 pour remplacer les gels d'agarose apporte de nombreux avantages sur la qualité des résultats et l'organisation du laboratoire : diminution des risques biologiques pour l'utilisateur et des coûts d'élimination des déchets en supprimant l'utilisation du bromure d'éthidium indispensable à la technique d'électrophorèse sur gel d'agarose ; réduction des temps d'obtention des analyses, avec affichage en temps réel des électrophorèses toutes les 30 secondes et visualisation complète des résultats pour une plaque 96 puits en moins d'une heure ; amélioration de l'appréciation qualitative des résultats de PCR : visualisation des amorces en excès, évaluation de la spécificité permettant une optimisation des conditions de PCR ; quantification précise des produits de PCR purifiés pour normaliser les réactions de séquences ; amélioration de la traçabilité, de la sauvegarde et de la gestion des données, avec un transfert sécurisé vers des automates de pipetage, sans nouvelle saisie des identifications des échantillons, s'intégrant dans un processus d'automatisation. Cette étude a montré que le LabChip90 est un outil adapté au contrôle de qualité des produits PCR de notre plateforme de séquençage haut débit mais nécessite une réorganisation du travail pour une utilisation optimale. D'autres applications telles que la recherche de mutations ponctuelles par Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP) ou Allele-Specific Oligonucleotide hybridization (ASO) sont en cours de validation.

Mots-clés : analyse qualitative des acides nucléiques, analyse quantitative des acides nucléiques, électrophorèse.

■P437 / 508. MUTATION DU GÈNE LMNB2 DANS UN SYNDROME PROGÉROÏDE AVEC LIPODYSTROPHIE

C. Rouzier (1), V. Esteves-Vieira (1), P. Roll (2), P. Bourgeois (1), A. De Sandre-Giovannoli (1, 3), N. Lévy (1, 3)

(1) Département de génétique médicale, laboratoire de génétique moléculaire-CHU Timone Marseille ; (2) Service de Biologie Cellulaire-CHU La Conception Marseille ; (3) Faculté de médecine de Marseille INSERM UMR 910



Introduction : Les laminopathies sont des pathologies dues à des mutations dans les gènes codant pour les protéines de la lamina nucléaire, les lamines, et leurs partenaires fonctionnels. Elles sont caractérisées par un spectre phénotypique très large. À ce jour, on recense une quinzaine de pathologies différentes que l'on peut classer dans quatre groupes principaux : les pathologies du muscle strié, les syndromes lipodystrophiques, les neuropathies périphériques et les syndromes de vieillissement prématuré. La majorité des mutations pathogènes ont été identifiées dans le gène *LMNA* codant les lamines A/C. Cependant, des mutations dans les gènes *LMNB1*, *EMD*, *LBR*, *LEMD3*, codant respectivement pour la lamine B1, l'emerine, le récepteur des lamines B et MAN1 sont également impliquées dans des phénotypes proches ou chevauchants. Récemment, une étude a identifié chez des patients atteints de lipodystrophie partielle acquise (Syndrome de Barraquer-Simons) trois nouveaux variants dans le gène *LMNB2*. Leur effet pathogène n'a cependant pas été étudié et les auteurs suggèrent plutôt un effet génétique prédisposant dans une pathologie multifactorielle. Le but de notre étude, dans le contexte d'un PHRC national, était d'étendre le spectre phénotypique des laminopathies en identifiant de nouvelles mutations dans des gènes candidats, dont le gène *LMNB2*, codant les lamines nucléaires B2 et B3. En effet, en plus de leur implication récente dans des cas de lipodystrophie partielle acquise, il a été démontré *in vivo* dans un modèle murin KO pour *lmbn1* que les lamines B sont essentielles pour le développement et l'intégrité cellulaire. Matériel et méthode : Nous avons étudié les 12 exons du gène *LMNB2* par DHPLC suivi de séquençage chez 60 patients présentant des syndromes progéroïdes segmentaires étiquetés nosologiquement, tels que le syndrome de Werner atypique, ou n'appartenant pas à des catégories nosologiques spécifiques mais porteurs de signes évocateurs de laminopathie systémique. Pour chaque patient, les gènes *LMNA* et *FACE1* avaient été étudiés au préalable sans mettre en évidence de variation de séquence potentiellement pathogène. Résultats : Nous avons identifié une mutation faux-sens à l'état hétérozygote dans l'exon 8 du gène *LMNB2*, c.1252C>T (p.R418W), chez une fillette présentant une lipodystrophie associée à une cataracte, une perte des cheveux, une dysmorphie faciale, des pieds creux et une cytolysé hépatique. L'étude du transcrit par RT-PCR n'a pas permis de détecter d'anomalie d'épissage et a confirmé la mutation p.R418W à l'état hétérozygote. Une prédiction de pathogénicité *in silico* indiquait « un effet délétère probable ». Enfin, cette mutation était absente chez 200 chromosomes étudiés dans une cohorte indépendante de témoins sains. Discussion : À ce jour aucune mutation pathogène n'a été décrite dans le gène *LMNB2*. Nous décrivons pour la première fois une mutation dans le gène *LMNB2* dans un syndrome associant des signes de vieillissement prématuré à une lipodystrophie. Cette mutation est une substitution d'une arginine en tryptophane dans le domaine correspondant au signal de localisation nucléaire, très conservé entre les espèces. Il a été démontré que des mutations dans le domaine fonctionnel correspondant du gène *LMNA* entraînaient des anomalies d'assemblage des lamines. La localisation de la mutation p.R418W dans un domaine fonctionnel conservé, les résultats obtenus *in silico*, ainsi que son absence dans un nombre important de chromosomes témoins sont des arguments très en faveur de sa pathogénicité. Pour compléter notre étude des analyses fonctionnelles (Western Blot, immunocytochimie) ainsi qu'une étude familiale sont en cours.

Mots-clés : laminopathies, *LMNB2*, lipodystrophie.

■P438 / 509. MFN2 EST MUTÉ DANS 11 % DES CAS DE CMT2 : IDENTIFICATION DES ENJEUX DIAGNOSTIQUES SPÉCIFIQUES À PARTIR D'UNE SÉRIE DE 226 PATIENTS NON APPARENTÉS

N. Palot Bonello (1), M. Mayençon (2), R. Bernard (1, 3), C. Pécheux (1), N. Martini (1), K. Amarof (4), J. Pouget (5), S. Attarian (5), P. Latour (2), N. Lévy (1, 3)

(1) Département de Génétique médicale Laboratoire de Biologie Moléculaire CHU Timone Marseille ; (2) Neurogénétique Centre de Biologie Groupement Hospitalier Est CHU Lyon ; (3) Inserm UMR 910 Faculté de médecine Marseille ; (4) Unité de neuromyologie Hôpital Pierre Zobda-Quitman CHU Fort de France ; (5) Service des maladies neuromusculaires CHU Timone Marseille

Introduction : La maladie de Charcot-Marie-Tooth (CMT) désigne le groupe des neuropathies périphériques héréditaires sensibles et motrices. Ce groupe de pathologies est caractérisé par son hétérogénéité tant au niveau phénotypique que génotypique. La mise en évidence de mutations dans certains gènes de CMT a permis d'établir certaines corrélations entre le type de CMT et le gène identifié comme muté et responsable de la pathologie. Les mutations dans le gène *MFN2* sont responsables de formes autosomiques dominantes de CMT2 (forme axonale) et ont été suspectées dans 20 % de ces cas. Nous avons souhaité explorer les cohortes de patients

adressés aux laboratoires de Marseille et de Lyon afin de caractériser ces patients sur le plan moléculaire, d'éprouver et d'optimiser nos stratégies d'exploration moléculaire et d'interpréter les conséquences des variants nouvellement identifiés pour le gène *MFN2*. Matériels et Méthodes : Nous avons réalisé une étude rétrospective de l'analyse du gène *MFN2* sur une cohorte de 226 individus non apparentés suspects de CMT dont 184 individus présentaient une forme familiale de CMT2. L'analyse du gène *MFN2* a été réalisée par un criblage initial par DHPLC suivi d'un séquençage des fragments présentant un profil de type hétéroduplex. Résultats : Nous avons mis en évidence des variations de séquence dans le gène *MFN2* chez 25 individus dont 23 présentaient une forme dominante de CMT2. Sur ces 25 individus, 24 variations de séquence différentes ont été identifiées dont seulement 8 sont rapportées dans la littérature et les bases de données. Il s'agit de 20 mutations de type faux-sens, 1 non-sens et 3 variations intro-niques. Notre fréquence de mutations dans cette étude est de 11,1 %. Discussion : Des mutations dans le gène *MFN2* n'ont été rapportées comme responsables de formes dominantes de CMT2 que depuis 2004. L'exploration moléculaire de ce gène reste donc délicate au niveau de l'interprétation de nouvelles anomalies moléculaires. La mise en évidence d'une variation de séquence non répertoriée chez un individu atteint, pose le problème de sa pathogénicité potentielle mais incertaine. Trancher entre mutation pathogène et polymorphisme rare n'est à ce jour pas possible dans tous les cas, et se pose alors la question de pratiquer ou non les explorations des autres gènes responsables de CMT2, ce qui n'est pas sans conséquences, ni pour les patients, ni en termes de stratégie de laboratoire et de coût. D'autre part si la fréquence des mutations dans ce gène avait initialement été estimée à environ 20 %, sur la base des analyses réalisées chez des familles de CMT2 dominant liées au locus 1p36, elle semble être revue à la baisse. Cette discordance peut s'expliquer par le fait que nous avons exploré des familles de taille plus réduite ainsi que des cas sporadiques, en dehors de toute analyse de liaison préalable. Conclusions et perspectives : L'interprétation des anomalies moléculaires non rapportées dans la littérature et les bases de données nécessiterait de pouvoir réaliser plus souvent qu'il n'est possible en pratique une enquête familiale de ségrégation. De plus, des analyses fonctionnelles en RTQ-PCR sont en cours pour les mutations faux-sens ou « à priori silencieuses » ce qui permettrait éventuellement de mettre en évidence des perturbations de l'épissage aussi bien au niveau qualitatif que quantitatif.

Mots-clés : Charcot-Marie-Tooth, *MFN2*, mutations.

■P439 / 510. UNE ANALYSE MOLÉCULAIRE SYSTÉMATIQUE DES GÈNES *USH* DANS UNE COHORTE DE PATIENTS USHER TYPE I ET II MONTRÉ L'IMPORTANCE DE L'IMPLICATION DES GÈNES *MYO7A* ET *USH2A*

M'hamed Grati (1, 2), S. Marlin (1), D. Feldmann (3); L. Jonard (3), C. Koval (3), S. Bahaban (3), A.-F. Grange (3), S. Delmaghani (2), B. Delobel (4), H. Dollfus (5), A. David (6), J. Vigneron (7), D. Bonneau (8), L. Faivre (9), C. Francannet (10), D. Lacombe (11), S. Masmoudi (12), R. Couderc (3), J. Weissenbach (13), C. Petit (2), F. Denoyelle (14)

(1) Unité de Génétique Médicale, INSERM U587, Hôpital d'Enfants Armand-Trousseau, AP-HP, Paris, France ; (2) Unité de Génétique des Déficiences Sensorielles, INSERM U587, Institut Pasteur, Paris, France ; (3) Service de Biochimie et de Biologie Moléculaire, INSERM U587, Hôpital d'Enfants Armand-Trousseau, AP-HP, Paris, France ; (4) Centre de Génétique, Hôpital St-Antoine, Lille, France ; (5) Service de Génétique médicale, Hôpital de Hautepierre, Strasbourg, France ; (6) Service de Génétique, Hôtel Dieu, Nantes, France ; (7) Maternité Régionale Adolphe-Pinard, Nancy, France ; (8) Centre de Référence des Maladies Neurogénétiques, Centre Hospitalier Universitaire d'Angers, France ; (9) Unité de Génétique Médicale, Hôpital, Dijon, France ; (10) Génétique Médicale, Hôtel-Dieu, Clermont-Ferrand, France ; (11) Centre de Génétique, Hôpital Pellegrin, Bordeaux, France ; (12) Laboratoire de Génétique Moléculaire Humaine, Sfax, Tunisie ; (13) Le Genoscope – Centre National de Séquençage, Evry, France ; (14) Service d'ORL et de Chirurgie Cervico-faciale, INSERM U587, Hôpital d'Enfants Armand-Trousseau, AP-HP, Université Paris VI, Paris, France

Le syndrome de Usher est une maladie sensorielle rare qui associe une surdité neurosensorielle à une rétinopathie pigmentaire. Elle se transmet selon un mode autosomique récessif. Le syndrome de Usher est cliniquement et génétiquement hétérogène (9 gènes clonés pour 3 sous-types cliniques). Le syndrome de type I (USH1) est le plus sévère et caractérisé par une surdité congénitale profonde bilatérale associée à une aréflexie vestibulaire bilatérale et à une rétinopathie pigmentaire généralement précoce et sévère. Nous avons recherché des mutations dans les six grands gènes en cause dans les syndromes de Usher de types I et II : *MYO7A*, *USH1C*, *PCDH15* et *CDH23* causant USH1, et *USH2A* et *VLGR1* pour USH2, dans une cohorte de 81

patients, 75 d'origine française, 2 tunisienne et 4 iranienne. Les patients étaient en majorité des cas sporadiques de syndrome de Usher de type I et II. Notre recherche a été fondée sur le séquençage génomique des séquences codantes des six gènes pour tous les patients. Chez ces patients, nous avons identifié 53 variations distinctes potentiellement pathogènes, principalement dans *MYO7A* (~ 38 %) et *USH2A* (~ 37 %), et avec une fréquence moindre dans *VLGR1* (~ 15 %) et *PCDH15* (~ 8 %). Parmi ces mutations, seulement ~ 15 % ont été déjà décrites. La plupart des mutations se répartissent aléatoirement dans les gènes. Les nouveaux variants dans *MYO7A* sont le plus souvent des mutations non-sens (n = 7). Dans *USH2A* et *VLGR1*, nous avons détecté plusieurs insertions et délétions d'acides nucléiques qui pourraient conduire à la synthèse de protéines tronquées (n = 8 et 5, respectivement). Un total de 16 variations faux sens non tolérées ont été trouvées dans *MYO7A*, *USH2A* et *VLGR1* dont la pathogénicité reste à démontrer. Nous avons confirmé l'abondance des mutations p.Asp75fs dans l'exon3 de *MYO7A*, p.Arg80fs dans l'exon 3 de *USH1C* et p.Glu767fs dans l'exon 12 de *USH2A* qu'il serait utile de séquencer systématiquement chez les nouveaux patients. Cependant, le large panel de nouvelles mutations retrouvées dans cette cohorte représente une difficulté à développer une puce de diagnostic génétique chez les patients atteints du syndrome de Usher.

Mots-clés : syndrome de Usher, gènes USH, mutations.

■P440 / 514. SYNDROME CHARGE : UN SITE PRIVILÉGIÉ DE MUTATION DANS L'EXON 8 DU GÈNE *CHD7* ?

F. Bilan (1), C. Tap (5), C. Sain-Oulhen (3), A.M. Delvaux (1), J. Rivet (1), C. Gohler (3), M. Boissonnot (4), A. Poupeau (1), A. Kitzis (1), B. Gilbert-Dussardier (2)

(1) Laboratoire de Génétique Cellulaire et Moléculaire-CHU de Poitiers ; (2) Service de génétique Médicale, CHU de Poitiers ; (3) Service d'ORL, CHU de Poitiers ; (4) Service d'Ophtalmologie, CHU de Poitiers ; (5) CESSA de Larnay-Vienne 86

Introduction : Le syndrome CHARGE est une maladie génétique de type autosomique dominant, généralement sporadique, dont la prévalence varie de 1/8 500 à 1/12 000 selon les études. CHARGE est un acronyme anglais désignant les principales manifestations cliniques retrouvées chez les patients souffrant de ce syndrome (C : Colobome oculaire ; H : anomalie cardiaques ; A : Atrophie des choanes ; R : Retard du développement ; G : hypoplasie Génitale ; E : anomalies de l'oreille externe et/ou interne). Les critères de diagnostic clinique ont été redéfinis par Blake puis Verloes qui propose un système basé sur 3 critères majeurs (règle des 3C : Colobome, atrophie des Choanes et hypoplasie des Canaux semi-circulaires) et 5 critères mineurs. Un gène responsable de ce syndrome a été identifié par Vissers en 2004 par CGH microarray ; il s'agit de *CHD7*, composé de 38 exons sur une région génomique de 188 kpb qui code pour une protéine de 2997 aa appartenant à la famille des ATPase/Hélicase à chromodomaines. Des anomalies de ce gène ont été retrouvées chez environ 60 % des patients atteints de ce syndrome. Les mutations publiées sont dispersées le long du gène sans accumulation particulière dans un exon ou un domaine particulier de la protéine. Matériel et méthodes : Au CHU de Poitiers, en collaboration avec l'équipe du CESSA (Centre d'Éducation Spécialisée pour Sourds Aveugles), nous avons mené une étude sur 15 patients atteints du syndrome CHARGE sélectionnés selon les critères cliniques définis par Verloes. Afin d'analyser le gène *CHD7*, nous avons amplifié à l'aide de 40 PCR l'intégralité des régions codantes ainsi que chaque jonction exon/intron puis analysé chaque fragment PCR par dHPLC. Les réarrangements intragéniques ont été étudiés par la technique de MP/LC (PCR fluorescentes multiplexées semi-quantitatives analysées par dHPLC). Résultats : Nous rapportons la présence d'une mutation récurrente dans l'exon 8 c.2504-2508delATCTT (ou p.Tyr835fs848X) chez deux patients non apparentés. Ces deux patients sont de sexe masculin et âgés de 19 et 27 ans. Ils présentent tous deux une forme sévère du syndrome : surdité de perception bilatérale sévère à profonde (l'agénésie des canaux semi-circulaires n'a pu être documentée chez l'un des 2), un colobome rétinien (unilatéral pour l'un et bilatéral avec faible acuité visuelle résiduelle pour l'autre), une cardiopathie à révélation néonatale (type tétralogie de Fallot pour l'un et Ebstein pour l'autre), un hypogonadisme avec retard de croissance staturo-pondéral à -3 DS, retard pubertaire et micropénis, une asymétrie du visage avec paralysie faciale unilatérale, oreilles dysplasiques asymétriques et palais étroit, une scoliose. L'un a présenté des troubles sévères de la déglutition dus à une paralysie laryngée ayant nécessité une gastrostomie jusqu'à l'âge de 4 ans et une trachéotomie jusqu'à l'âge de 16 ans. Il présente en plus des pieds bots. L'atrophie bilatérale des choanes n'était présente que chez l'un, l'autre présentant un simple rétrécissement d'une fosse nasale. L'un peut communiquer par langue des signes et oralisation ; l'autre n'a que très peu de communication en raison d'un déficit

visuel sévère. Discussion : Exception faite de l'atteinte laryngée chez l'un, ces 2 patients non apparentés présentent une forme clinique similaire en terme de système ou organe atteint, même si le degré d'atteinte au niveau d'un organe peut varier. Des gènes ou des polymorphismes modificateurs pourraient être impliqués. Cette même mutation a été rapportée chez 2 autres patients ce qui suggère qu'il existe au niveau de l'exon 8 de *CHD7* des régions sensibles et propices à l'apparition de mutation. L'un de ces patients a une forme sévère du syndrome, comparable à celle de nos 2 patients. Pour l'autre, les informations cliniques ne sont pas disponibles. La présence d'un site privilégié de mutations sur l'exon 8 de *CHD7* doit orienter le choix stratégique d'étude de ce gène.

Mots-clés : CHARGE, diagnostic moléculaire, corrélation génotype/phénotype.

■P441 / 515. HÉMOCHROMATOSE JUVÉNILE TARDIVE ET HÉTÉROZYGOTIE COMPOSITE : MISE EN EVIDENCE DE DEUX NOUVELLES MUTATIONS DANS LE GÈNE CODANT L'HÉMOJUVÉLINE

E. Cadet (1), I. Fajardy (2), K. Foulon (1), L. Castera (2), P.M. Danze (2), E. Verlet (3), J. Rochette (1)

(1) Laboratoire de Génétique Moléculaire Médicale, CHU d'Amiens ; (2) Laboratoire de Biochimie, CHRU de Lille ; (3) Service de Médecine Interne, CH de Dunkerque

Introduction : L'hémochromatose de type 2 ou hémochromatose juvénile est une forme sévère de surcharge en fer de transmission autosomique récessive. Elle se caractérise par une apparition précoce des signes cliniques dominés par un tableau d'hypogonadisme et une insuffisance cardiaque avec ou sans troubles du rythme. Il existe une hétérogénéité génétique avec 2 formes notées 2A et 2B liées respectivement à des mutations dans les gènes codant l'hémojuvénine (*HJV*) et l'hepcidine (*HAMP*) ; la majorité des cas étant due à des mutations du gène *HJV*. Cas clinique : Notre propositus, un homme de 31 ans originaire du Nord de la France, se présente avec une mélanodermie, une asthénie, une cardiomyopathie dilatée avec troubles du rythme ainsi qu'un hypogonadisme hypogonadotrophique. Le bilan ferrique montre une surcharge martiale évidente : ferritine à 6 000 microg/L-1, coefficient de saturation de la transferrine (CST) à 98 %. La biologie hépatique est également perturbée. L'étude par IRM retrouve une importante surcharge hépatique à 300 micromol de fer/g de foie sec (N < 36). Avec les saignées itératives (60 g de fer soustrait à ce jour), l'évolution clinique a été satisfaisante : baisse progressive de la ferritine à 20 microg/L-1, amélioration très nette de l'état général, normalisation des problèmes cardio-vasculaires et du bilan hépatique. Enquête familiale et moléculaire : Une enquête familiale a été entreprise chez la sœur et les parents du propositus ainsi que chez la grand-mère et les deux oncles côté paternel. Tous, hormis les parents, montrent des signes de surcharge. La sœur (25 ans) présente une ferritine à 800 microg/L-1 et un CST à 89 %. Seule une asthénie est rapportée. Pour les oncles âgés de 52 et 58 ans, l'exploration biochimique montre des valeurs augmentées du CST (> 90 %) et de la ferritinémie (1 630 et 768 microg/L-1). À 82 ans, la grand-mère présente un CST à 48 % et une ferritine à 669 microg/L-1. Après recueil des consentements écrits, la recherche des mutations C282Y, H63D et S65C du gène *HFE* a été effectuée par PCR/RFLP. L'étude des autres gènes du métabolisme du fer (*HAMP*, *HJV*, *RTJ2*, *SLC40A1*) a été réalisée par séquençage. Une simple hétérozygotie H63D est observée chez notre propositus. Aucune anomalie du gène *HFE* n'est dépistée chez sa sœur. En revanche, l'analyse du gène *HJV* chez ces deux sujets a permis de révéler l'existence associée de deux nouvelles mutations à l'état hétérozygote. La première, c.581T>G – exon 3, est responsable du remplacement d'une Leucine par une Arginine en position 194 de la protéine (L194R). La seconde, c.1041 C>A – exon 4, est une mutation non-sens conduisant à l'apparition prématurée d'un codon stop dans le dernier exon (C347X). Concernant les parents, chacun est porteur à l'état hétérozygote d'une des mutations précédemment citées : L194R pour le père, C347X pour la mère. Une hétérozygotie L194R est également observée chez la grand-mère paternelle qui présente en plus une hétérozygotie composite C282Y/H63D. Pour les oncles paternels, l'analyse a mis en évidence une homozygotie C282Y. Discussion et conclusion : Deux traits phénotypiques sont à souligner dans cette famille : un trait classique d'hémochromatose génétique et un autre d'hémochromatose juvénile expliquée par la présence concomitante de deux mutations non encore décrites. Comparées à d'autres cas déjà rapportés d'hémochromatose juvénile, les manifestations cliniques sont assez tardives. Ce phénotype pourrait d'une part s'expliquer par la position de la mutation C347X. En effet, si l'on prend l'exemple du gène bêta globine, des mutations non-sens présentes dans le dernier exon de celui-ci conduisent à un phénotype d'anémie modérée lié à la présence de taux substantiels d'ARNm. D'autre part, l'homozygotie L194R a été



associée à des phénotypes tardifs d'hémochromatose juvénile (communication personnelle). Ces résultats illustrent de nouveau l'hétérogénéité des mutations observées dans l'hémochromatose 2A.

Mots-clés : hémochromatose juvénile, hétérozygotie composite, hémochromatose 2A.

■P442 / 516. LA COMBINAISON DE POLYMORPHISMES GÉNÉTIQUES MODIFIERAIT LE RISQUE DE CANCER DU SEIN ET DE L'OVAIRE

L. Delort (1, 2), N. Chalabi (1, 2), S. Satih (1, 2), N. Rabiau (1, 2), R. Bosviel (1, 2), Y.-J. Bignon (1, 2, 3), D. Bernard-Gallon (1, 2)
(1) Département d'Oncogénétique, Centre Jean-Perrin, CBRV, 28 place Henri-Dunant, BP 38, 63000 Clermont-Ferrand cedex 01 ; (2) CRNH, 58 rue Montalembert, 63000 Clermont-Ferrand cedex 01 ; (3) Université d'Auvergne, 28 place Henri-Dunant, BP 38, 63000 Clermont-Ferrand cedex 01

Les taux d'incidence des cancers du sein et de l'ovaire sont en constante augmentation dans le monde. L'étiologie de ces cancers s'expliquerait en grande partie par la présence de polymorphismes génétiques à l'intérieur de gènes impliqués dans des voies biologiques majeures, gènes qui auraient également la capacité d'interagir avec les facteurs environnementaux et le mode de vie des individus. Notre objectif a été de mener une étude épidémiologique cas-témoins constituée de 934 femmes ayant développé un cancer du sein, 54 femmes ayant développé un cancer des ovaires et de 1 000 femmes témoins, dans le but de rechercher les facteurs de risque et de protection génétiques et environnementaux de ces pathologies. Le génotypage de l'ensemble de la population a été effectué pour onze polymorphismes dans sept gènes de faible pénétrance, impliqués dans les métabolismes des xénobiotiques et des œstrogènes (*CYP1A1*, *CYP1B1*, *NAT2*, *GSTP1*, *COMT*, *ESR*, *PGR*). L'étude des polymorphismes grâce à l'utilisation d'un modèle multigénique a révélé le rôle du gène *COMT* dans la cancérogenèse mammaire. *COMT* semble interagir avec les gènes *CYP1B1*, *ESR*, *GSTP1* et *NAT2* en modifiant le risque ainsi qu'avec le facteur tour de taille/tour de hanche. La présence de polymorphismes dans ces gènes va modifier l'élimination et par conséquent l'exposition de l'organisme aux carcinogènes exogènes et endogènes et bouleverser la susceptibilité de chaque individu face au cancer mammaire. Un rôle plus limité des gènes étudiés a été observé dans l'étude des facteurs de risque des cancers de l'ovaire. La détermination des interactions gène-gène et gène-environnement pourra permettre la mise en place d'une prévention individualisée en identifiant les individus à plus haut risque de cancer.

Mots-clés : cancer du sein et de l'ovaire, polymorphismes génétiques, risque de cancer.

■P443 / 518. CANCER DE LA VESSIE : ÉTUDES DES POLYMORPHISMES GÉNÉTIQUES

L. Delort (1, 2, 3), L. Journaud (1, 2, 3), N. Chalabi (1, 2, 3), N. Rabiau (1, 2, 3), S. Satih (1, 2, 3), R. Bosviel (1, 2, 3), L. Guy (1, 4), J.P. Boiteux (4, 5), Y.J. Bignon (1, 2, 3, 5), A. Chamoux (5, 6), L. Fontana (5, 6), D.J. Bernard-Gallon (1, 2, 3)
(1) Département d'Oncogénétique, Centre Jean-Perrin, CBRV, 28 place Henri-Dunant, BP 38, 63000 Clermont-Ferrand cedex 01 ; (2) CRNH, 58 rue Montalembert, 63009 Clermont-Ferrand Cedex 01, France ; (3) INSERM UMR 484, rue Montalembert, 63005 Clermont-Ferrand Cedex 01 ; (4) CHU Clermont-Ferrand, Service d'Urologie, Hôpital G.-Montpied, 58 rue Montalembert, 63003 Clermont-Ferrand Cedex 01 ; (5) Univ. Clermont 1, 28 place Henri-Dunant, 63001 Clermont-Ferrand Cedex 01 ; (6) CHU Clermont-Ferrand, service de Médecine du Travail et des Pathologies Professionnelles, 28 place Henri Dunant, BP 38, 63001 Clermont-Ferrand Cedex 01

Le cancer de la vessie, sixième rang des cancers en France, fait partie des cancers les plus fréquents. Hormis les rares cas avec une prédisposition génétique et une pénétrance élevée, cette pathologie s'exprime sur un mode multifactoriel. En effet, des polymorphismes dans des gènes de faible pénétrance, c'est-à-dire des gènes en interaction avec les facteurs environnementaux, auraient un rôle dans le développement de cette maladie. Dans ce cas on parle de cancers de la vessie sporadiques. Les gènes les plus étudiés sont ceux qui codent pour les enzymes jouant un rôle dans la détoxification des carcinogènes. La présence de polymorphismes dans ces gènes peut être à l'origine d'une altération fonctionnelle des enzymes et ainsi favoriserait le processus de cancérogenèse. Une étude cas-témoins constituée de 51 cas de cancer de la vessie et 45 témoins a été réalisée. 11 Single Nucleotide polymorphisms (SNP) dans quatre gènes (*CYP1A1*, *CYP1B1*, *COMT*, *GSTP1* et *NAT2*) ont été analysés par la technique des sondes MGB (Minor Groove Binder) qui consiste en l'utilisation de la

discrimination allélique par la méthode Taqman. Cette étude a permis de mettre en évidence une augmentation du risque de cancer de la vessie en présence des deux polymorphismes étudiés sur le gène *GSTP1* et sur *NAT2-590*. En revanche, une diminution du risque est observée pour le SNP *NAT2-282*. De plus, il est prouvé que le tabac est un facteur de risque de ce cancer mais aucune association n'a été établie entre les polymorphismes étudiés et la consommation tabagique. De ces résultats, seulement des tendances sont données. Pour confirmer, il est nécessaire d'élargir notre étude à un plus grand nombre de cas.

Mots-clés : cancer de la vessie, polymorphismes génétiques, risque de cancer.

■P444 / 521. ANALYSE PROSPECTIVE DE VHL DANS 102 CARCINOMES À CELLULES RÉNALES SPORADIQUES DE L'ADULTE : CORRÉLATIONS AVEC LES FACTEURS HISTOPRONOSTIQUES ET LA SURVIE

P. Fergelot (1, 2), N. Rioux-Leclercq (1, 3), S. Zerrouki (2), F. Jouan (1), N. Collet (1), C. Dubourg (1, 2), M.-C. Malinge (4), D. Masson (1), C. Bendavid (1, 2), M. Denis (1, 2), J.-J. Patard (1, 5)
(1) Institut de génétique et développement de Rennes, Université de Rennes1 ; (2) Département de biochimie et génétique moléculaire, CHU de Rennes ; (3) Département d'anatomie et cytologie pathologiques, CHU de Rennes ; (4) Service de Génétique, CHU d'Angers ; (5) Service d'urologie, CHU de Rennes

Introduction : Le cancer du rein représente 3 % des tumeurs malignes de l'adulte et son incidence augmente régulièrement depuis trente ans. D'emblée métastatique dans 30 % des cas, ces tumeurs sont radio et chimio-résistantes. Les formes les plus fréquentes, les carcinomes à cellules rénales de type conventionnel ou à cellules claires (CCRC, 75 % des cancers), se caractérisent par des lésions potentiellement inactivatrices du gène *VHL* dans plus de la moitié des cas. Les avancées majeures des dernières années tiennent à la description de l'axe *VHL/HIF*/gènes induits par l'hypoxie et à l'introduction des molécules anti-angiogéniques dans l'arsenal thérapeutique. À l'heure actuelle, il est primordial de trouver des marqueurs prédictifs de survie et de réponse à ces nouveaux traitements. Dans cette optique, les données concernant *VHL* sont contradictoires, du fait de l'hétérogénéité des populations étudiées et des techniques employées. Objectifs : Déterminer le statut *VHL* des tumeurs opérées au CHU de Rennes et établir des corrélations avec les facteurs histopronostiques et la survie des patients. Matériels et méthodes : Cent deux patients porteurs d'un CCRC opéré entre fin 2002 et fin 2005 ont été inclus dans l'étude. Les tumeurs ont été collectées de façon prospective au Centre de Ressources Biologiques Humaines de Rennes. Les mutations de *VHL* ont été recherchées sur les 3 exons et les séquences introniques flanquantes par dHPLC (denaturing HPLC), suivie du séquençage de l'exon positif. Les délétions ont été étudiées par MLPA (Methylation Specific Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification) et l'hyperméthylation du promoteur du gène a été recherchée par la technique de MS-MLPA (methylation specific MLPA). En parallèle l'expression de la protéine a été détectée par immuno-histochimie sur coupes paraffine. Les résultats ont été comparés aux données cliniques et histologiques réunies dans une base de données dédiée. Résultats : Parmi les 102 patients 34 % présentaient des métastases et/ou une extension ganglionnaire. Soixante-dix mutations (68 % des tumeurs), dont 52 de type « perte de fonction », 15 hyperméthylations et 76 délétions ont été retrouvées. Une tumeur présentait les 3 anomalies et 70 tumeurs (68 %) en présentaient 2, associant mutation et délétion dans 56 cas et hyperméthylation et délétion dans 14 cas ; 22 tumeurs ne présentaient qu'une seule altération et seulement 10 cas ne montraient aucune anomalie. Parmi ces 32 tumeurs, la protéine était détectée dans 2/3 étaient concordants avec la détection de la protéine. De plus, l'absence d'anomalie du gène *VHL* associée à la détection de pVHL était corrélée à une survie plus courte (survie sans progression et survie spécifique). Conclusion et perspectives : La stratégie utilisée pour notre étude nous a permis de confirmer la fréquence des altérations de *VHL* obtenues dans d'autres séries. L'association d'un pronostic très sévère à l'absence d'altération du gène *VHL* suggère d'autres voies de progression, (voire un nouveau cadre nosologique). La valeur prédictive du statut du gène *VHL* va être plus largement étudiée par notre équipe au cours du programme de l'INCA « PNES rein » chez des patients traités par les drogues anti-angiogéniques (Sutent®, Pfizer, Nexavar®, Bayer).

Mots-clés : carcinome à cellules rénales, *VHL*, marqueur moléculaire.

■P445 / 523. L'ÉTUDE MOLÉCULAIRE DU GÈNE *WFS1* EST INDIQUÉE DANS LES SURDITÉS NON SYNDROMIQUES AVEC COURBE AUDIOMÉTRIQUE ASCENDANTE OU EN U

L. Jonard (1), D. Feldmann (1), S. Marlin (2), C. Koval (1), M. Louha (1), K. Olszewski (1), R. Couderc (1), H. Dollfus (3), V. Drouin-Garraud (4),

D. Lacombe (5), F. Fellmann (6), C. Francannet (7), G. Lina-Granade (8), C. Petit (9), F. Denoyelle (10)

(1) Laboratoire de Biochimie, Inserm U587, Hôpital Armand-Trousseau, AP-HP, Paris, France ; (2) Unité de Génétique Médicale, Inserm U587, Hôpital Armand-Trousseau, AP-HP, Paris, France ; (3) Service de Génétique Médicale, Hôpital de Hautepierre, Strasbourg, France ; (4) Unité de Génétique Clinique, Hôpital Charles-Nicolle, Rouen, France ; (5) Service de Génétique, Hôpital Pellegrin, Bordeaux, France ; (6) Service de Génétique, Hôpital Saint-Jacques, Besançon, France ; (7) Génétique Médicale, Hôtel-Dieu, Clermont-Ferrand, France ; (8) Service ORL, Hôpital Edouard Herriot, Lyon, France ; (9) Inserm U587, Unité de Génétique des Déficits Sensoriels, Institut Pasteur, Paris, France ; (10) Service d’ORL et de Chirurgie Cervico-Faciale, Inserm U587, Hôpital Armand-Trousseau, AP-HP, Paris, France

Introduction : Le syndrome de Wolfram ou DIDMOAD (pour Diabetes Insipidus, Diabetes Mellitus, Optic Atrophy and Deafness) est une surdité syndromique de transmission autosomique récessive causée par des mutations du gène *WFS1*. Parallèlement à son implication dans le déterminisme du syndrome de Wolfram, des mutations dominantes de *WFS1*, siègeant principalement dans l'exon 8 du gène et affectant l'extrémité C-terminale de la protéine, wolframine, sont retrouvées dans des formes non syndromiques de surdité avec atteinte préférentielle des fréquences graves (surdité DFNA6/14/38). **Méthodes :** Nous avons analysé l'exon 8 du gène *WFS1* dans une cohorte de 64 cas sporadiques ou familiaux de surdité non syndromique dont 23 avec courbe audiométrique ascendante (atteinte préférentielle des fréquences graves) et 41 avec courbe en U. **Résultats :** Une mutation hétérozygote a été identifiée dans 4 cas familiaux : c.923C>G (p.Ser308Cys), c.1079G>A (p.Cys360Tyr), c.2141A>G (p.Asn714Ser) et c.2421C>A (p.Ser807Arg). En effet, ces variations du gène *WFS1*, non décrites à ce jour, (i), ségrégent parfaitement avec la surdité, (ii), sont des faux-sens affectant des résidus très conservés de la protéine et décrits comme pathogènes par des modèles prédictifs in silico et (iii), n'ont pas été retrouvés sur 100 chromosomes témoins. Ces 4 cas représentent des formes dominantes multigénérationnelles (jusqu'à 5 générations), une même mutation ségrégeant avec la surdité pouvant, au sein d'une même famille, rendre compte d'une perte auditive avec courbe audiométrique de forme ascendante, ou en U. De plus, des cas d'évolution d'une courbe ascendante vers une courbe en U chez un même individu porteur de la mutation ont été documentés. **Conclusion :** L'étude moléculaire du gène du syndrome de Wolfram, *WFS1*, trouve sa pertinence dans le diagnostic génétique des surdités non syndromiques, sporadiques ou familiales, avec courbe audiométrique ascendante ou en U.

Mots-clés : surdité non syndromique dominante, *WFS1*, courbe audiométrique.

■P446 / 530. ÉTUDE DES MUTATIONS DU GÈNE VHL SUR TISSU INCLUS EN PARAFFINE DANS LE CANCER RÉNAL SPORADIQUE DE L'ADULTE : COMPARAISON AVEC LE TISSU CONGELÉ

G. Verhoest (1), J.-J. Patard (1, 2), F. Jouan (1), S. Zerrouki (1, 3), S. Dréano (1), S. Mottier (1), M. Denis (1, 3), N. Rioux-Leclercq (1, 4), P. Fergelot (1, 3)

(1) Institut de génétique et développement de Rennes, Université de Rennes-1 ; (2) Département de biochimie et génétique moléculaire, CHU de Rennes ; (3) Département d'anatomie et cytologie pathologiques, CHU de Rennes ; (4) Service d'urologie, CHU de Rennes

Introduction : Le cancer du rein représente 3 % des tumeurs malignes de l'adulte. D'emblée métastatique dans 30 % des cas, son incidence augmente régulièrement depuis trente ans. Les formes les plus fréquentes, les carcinomes à cellules rénales de type conventionnel ou à cellules claires (CCRC, 75 % des tumeurs) se caractérisent par des lésions potentiellement inactivatrices du gène *VHL* dans plus de la moitié des cas. L'introduction des molécules anti-angiogéniques dans l'arsenal thérapeutique nécessite de définir des facteurs prédictifs de survie et de réponse à ces nouveaux traitements. Les données sur la valeur prédictive de *VHL* sont contradictoires, du fait de l'hétérogénéité des populations étudiées et des techniques employées. La fréquence des mutations retrouvées varie également en fonction du type de tissu étudié, allant de 29 % à partir du tissu inclus en paraffine à 71 % à partir du tissu congelé. **Objectif :** Comparer les mutations du gène *VHL* retrouvées dans les tumeurs incluses en paraffine aux mutations mises en évidence sur tissu congelé, afin d'évaluer la fiabilité de l'analyse ADN sur tissus fixés pour son application en pratique courante. **Matériel et Méthodes :** 76 patients opérés d'un CCRC entre 2002 et 2005 au CHU de Rennes, et pour lesquels une analyse du gène *VHL* sur tissu congelé avait été réalisée, ont été inclus : 73 tumeurs étaient mutées et 3 non mutées. L'ADN extrait des blocs de paraffine (kit RecoverAll(tm),

Ambion) a été soumis à une électrophorèse en gel d'agarose afin d'évaluer sa qualité. Une double amplification par PCR a été réalisée. Les échantillons amplifiés étaient ensuite séquencés sur ABI PRISM 3130 Genetic Analyser. Les résultats du séquençage étaient comparés à ceux obtenus à partir du tissu congelé, ainsi qu'aux données clinico-biologiques contenues dans une base de données. **Résultats :** L'ADN a pu être extrait des 76 tumeurs. L'ADN était très dégradé dans 34,2 % des cas, avec un taux d'amplification significativement inférieur. Parmi ces ADN très dégradés, 57,7 % n'étaient pas séquençables et 42,3 % étaient discordants avec le tissu congelé (mutation non retrouvée et/ou néo-mutation). Soixante-douze pour cent des échantillons étaient séquençables, mettant ainsi en évidence un taux de mutation global sur tissu paraffine de 52,1 % (38/73). Si l'on ne considérait que les échantillons séquençables, ce taux était de 69,1 %. Seulement la moitié de ces mutations étaient concordantes avec le congelé. Sont apparues 10,5 % (8/76) de néo-mutations de type faux sens (40 %) ou silencieuses (60 %), et 28,9 % (22/76) des mutations connues en congelé avaient disparu. Quarante pour cent des mutations mises en évidence sur tissus fixés étaient de type faux sens, alors que ce sont les insertions/délétions avec décalage du cadre de lecture qui prédominaient en tissu congelé (42,7 %). Parmi les facteurs cliniques et biologiques analysés, seule la qualité de l'ADN extrait influençait de manière significative l'amplification en PCR et le séquençage. **Conclusion :** L'analyse de l'ADN tumoral à partir des tissus inclus en paraffine permet la mise en évidence de mutations au niveau du gène *VHL*, mais avec une sensibilité moindre que pour les tissus congelés. De plus, dans cette étude un tiers des cas ne concordait pas avec le tissu congelé.

Mots-clés : *VHL*, carcinome à cellules rénales, mode de conservation.

■P447 / 531. CARACTÉRISATION D'UNE DÉLÉTION GÉRMINALE DE 7,6 MB ASSOCIÉE À UNE FORME SÈVÈRE DE SYNDROME NEUROFIBROMATOSE-NOONAN ET COMPRENANT LE GÈNE NF1 AINSI QU'UNE CENTAINE D'AUTRES GÈNES

É. Pasmant (1), A. Dusordet (2), A. Coeslier-Dieux (3), I. Laurendeau (1), B. Parfait (1), M. Vidaud (1, 2), D. Vidaud (1, 2), I. Bièche (1, 4)

(1) UMR745 INSERM, Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques Paris-Descartes, 4 avenue de l'Observatoire, 75006, Paris, France ; (2) Service de Biochimie et de Génétique Moléculaire, Hôpital Beaujon AP-HP, 100 Boulevard du Général Leclerc, 92110, Clichy, France ; (3) Service de Génétique Clinique, Hôpital Jeanne de Flandre, Avenue Oscar Lambret, 59037 Lille, France +(33)(0)320445962 ; (4) Laboratoire d'Oncogénétique, INSERM U735, Centre René-Huguenin, St-Cloud, France

Une grande délétion germinale du locus NF1 a été mise en évidence par l'hémizygotie de marqueurs microsatellites chez une patiente atteinte d'une forme sévère du syndrome Neurofibromatose-Noonan (NFNS). Le propos, une jeune fille de 8 ans, présente à la fois des symptômes de neurofibromatose de type 1 (NF1) et de syndrome de Noonan (NS). La présente étude a pour objectifs de cloner précisément les points de cassure de cette grande délétion et d'évaluer le rôle des gènes délétés dans ce phénotype particulièrement sévère de NFNS. Une technique de cartographie par dosage génique en PCR temps réel de 45 STS (sequence tagged site) suivie d'une XL-PCR et d'un séquençage permis de caractériser les points de cassure. La délétion mesure exactement 7.586.986 pb et est située en 17q entre les nucléotides 24.405.358 et 31.992.345 (NCBI Build 36.1). Elle comprend l'ensemble du locus NF1 ainsi qu'une centaine d'autres gènes parmi lesquels des nombreuses chémokines (CCL1, 2, 3, 5, 7, 8, 11, 12, 13, 15, 16, 18 et 23) et 4 gènes de microRNAs (has-mir-423, -193a, -365-2 et -632). Il est à noter que les points de cassure sont situés dans 2 éléments de type SINE. Le point de cassure centromérique est localisé dans l'intron 4 du gène *PIPOX* (pipecolic acid oxidase NM_016518) et le point de cassure télomérique dans l'exon 5 du gène *ZNF403* (zinc finger protein 403 NM_024835 aussi dénommé *LCRG1* : Laryngeal carcinoma related gene) codant un facteur de transcription. Comme *PIPOX* et *ZNF403* présentent la même orientation transcriptionnelle, nous avons fait l'hypothèse et démontré l'existence d'un transcrit chimérique. Les contributions respectives au phénotype particulièrement sévère de NFNS, des nombreux gènes délétés (outre *NF1*) et du transcrit chimérique et/ou d'une possible protéine de fusion restent à explorer.

Mots-clés : syndrome neurofibromatose-Noonan, délétion, transcrit chimérique.

■P448 / 542. ANALYSE MUTATIONNELLE DU GÈNE DE LA DYSFERLINE DANS UNE GRANDE COHORTE DE PATIENTS : IDENTIFICATION DE STRATÉGIES THÉRAPEUTIQUES CIBLÉES

M. Krahn (1, 2, 3), N. Wein (1, 2), M. Bartoli (3), K. Nguyen (1, 2), V. Labelle (1), A. Borges (1), S. Courrier (4), G. Bassez (5),



D. Figarella-Branger (6), J. Pouget (7), E. Salvo (1), H. Hammouda (8), B. Eymard (5), J.A. Urtizberea (9), P. Cau (2), I. Richard (3), C. Bérout (10), F. Leturcq (11), N. Lévy (1,2), et le Réseau Français d'étude des Dystrophies musculaires de Ceintures

(1) Département de Génétique Médicale, Hôpital d'enfants de la Timone, Marseille, France ; (2) INSERM U910, « Génétique médicale et génomique fonctionnelle », Faculté de Médecine de Marseille, France ; (3) Genethon, CNRS FRE 3018, Evry, France ; (4) Centre d'Enseignement et de Recherche en Génétique médicale, Faculté de Médecine de Marseille, France ; (5) Institut de Myologie, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France ; (6) Laboratoire d'Anatomopathologie, Hôpital Timone, Marseille, France ; (7) Service de Neurologie, Hôpital Timone, Marseille, France ; (8) AFM et Genethon, Evry, France ; (9) Hôpital Marin, APHP, Hendaye, France ; (10) Laboratoire de Génétique Moléculaire, Institut de Génétique Humaine, Montpellier, France ; (11) Laboratoire de Biochimie Génétique, Hôpital Cochin, Paris, France

Introduction : Les mutations dans le gène codant la dysferline (*DYSF*) causent différents phénotypes, principalement la dystrophie musculaire des ceintures de type 2B (Limb Girdle Muscular Dystrophy type 2B, LGMD2B) et la myopathie de Miyoshi (MM), de transmission autosomique récessive. En raison de l'hétérogénéité clinique, une analyse protéique initiale de la dysferline sur échantillons de biopsie musculaire, est nécessaire pour orienter le diagnostic. Le diagnostic de certitude est basé sur l'analyse mutationnelle du gène *DYSF*, qui est rendue difficile en routine hospitalière par la grande taille du gène *DYSF* (> 150 kbp, 55 exons). Les méthodes de criblage mutationnel sont par conséquent des outils de choix. Patients et Méthodes : 135 patients présentant un déficit en dysferline identifié sur biopsie musculaire ont été inclus pour analyse du gène *DYSF*. Le criblage mutationnel a été effectué dans sur le plan génomique par DHPLC, suivi du séquençage direct des variants identifiés. Résultats et Discussion : Pour 102 patients (75 %) deux mutations constitutionnelles délétères ont été identifiées, permettant une confirmation du diagnostic sur le plan génétique. Un seul allèle délétère a été identifié chez 27 patients (20 %). Nous développons actuellement des analyses complémentaires, qui seront indiquées en cas d'identification d'un seul, ou d'aucun allèle pathogène après criblage mutationnel génomique. Parmi les mutations identifiées, 37 n'ont pas été rapportées dans la littérature, ce qui correspond à plus de 10 % des mutations identifiées dans le gène *DYSF* à ce jour. Il s'agit principalement de mutations faux-sens, ou de mutations causant un décalage du cadre de lecture, mais nous rapportons également une proportion importante de mutations non-sens en comparaison à d'autres séries. Nous avons créé une base de données locus-spécifique, UMD-DYSF (Universal Mutation Database for Dysferlin), dans laquelle sont saisies toutes les données cliniques et moléculaires de notre série, et de la littérature. Un avantage majeur de cette base de données est l'intégration d'outils d'analyse bioinformatique, permettant d'effectuer des analyses statistiques, et d'évaluer la pathogénicité de variants nouvellement identifiés (faux-sens, isosémanthiques ou introniques) ce qui en fait un outil précieux d'aide au diagnostic moléculaire. Cette base de données est par ailleurs un outil central pour déterminer des approches thérapeutiques ciblées. En effet, la grande taille du gène et son large spectre mutationnel ne permettent pas d'envisager une approche thérapeutique unique. L'interrogation de la base UMD-DYSF permet de déterminer des groupes de mutations candidates à une approche thérapeutique donnée. La proportion importante de mutations non-sens (environ 20 %) permet par exemple d'envisager les stratégies de translecture de codons stop, ou d'exon-skipping. Nous illustrons par un cas particulier l'identification d'approches thérapeutiques éventuelles à partir des données mutationnelles de patients : chez une patiente présentant un phénotype atypique/modéré de dysferlinopathie, nous avons caractérisé la première grande délétion génomique décrite dans le gène *DYSF*. Cette délétion multi-exonique homozygote permet néanmoins le maintien de certains domaines essentiels de la protéine, conduisant à une molécule « mini-dysferline ». Les monocytes exprimant en condition physiologique la dysferline, nous avons utilisé ce modèle cellulaire humain pour étudier la protéine tronquée. D'autre part, la taille du transcrit déléte étant compatible avec un transfert génique efficace, par vecteur dérivé de virus adéno-associé (A.A.V.), nous évaluons actuellement la fonctionnalité de cette « mini-dysferline » dans un modèle murin déficient en dysferline. Conclusion : Nous rapportons la plus grande cohorte d'analyse mutationnelle du gène *DYSF* décrite à ce jour. Les données mutationnelles sont analysées par la base UMD-DYSF pour développer des stratégies thérapeutiques ciblées.

Mots-clés : LGMD, dysferline, thérapeutique.

■P449 / 544. ÉTUDE DU RÔLE DU GÈNE *SPRED1* CHEZ DES PATIENTS PRÉSENTANT UN PHÉNOTYPE APPARENTÉ À LA NEUROFIBROMATOSE DE TYPE 1

E. Pasmant (1, 2), A. Sabbagh (1, 2), J. Masliah (2), B. Parfait (1, 2), P. Wolkenstein (3), D. Vidaud (1, 2), M. Vidaud (1, 2), Réseau NF France

(1) UMR745 INSERM, Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques Paris-Descartes, 4 av. de l'Observatoire, 75006, Paris, France ; (2) Service de Biochimie et de Génétique Moléculaire, Hôpital Beaujon AP-HP, 100 Bd du Gal Leclerc, 92110, Clichy, France ; (3) Service de Dermatologie, Hôpital Henri-Mondor-APHP, 51 av. du Mal-de-Lattre-de-Tassigny, 94000 Créteil, France

Des mutations germinales de gènes codant des protéines de la voie RAS MAPK (mitogen-activated protein kinase) ont été récemment identifiées dans plusieurs syndromes héréditaires aux phénotypes chevauchants transmis sur un mode autosomique dominant chez l'homme (Bentires-Alj *et al.*, 2006). Cette découverte a permis l'identification d'un mécanisme unificateur, la dérégulation de la voie RAS MAPK, à l'origine des syndromes neuro-cardio-facio-cutanés (NCFC) qui regroupent : la neurofibromatose de type 1 (NF1, MIM #162200), le syndrome de Noonan (NS, MIM #163950), le syndrome LEOPARD (LS, MIM #151100), le syndrome cardio-facio-cutané (CFCF, MIM #115150) et le syndrome de Costello (CS, MIM #218040). Une étude récente décrit des mutations du gène *SPRED1* (sprouty-related, EVH1 domain containing 1) chez des patients diagnostiqués NF1 selon les critères du NIH mais présentant un phénotype particulier (présence de multiples taches café au lait et de lentigines mais absence de neurofibromes, de nodules de Lisch) et pour lesquels aucune mutation de NF1 n'était retrouvée (Brems *et al.*, 2007). La présente étude a pour objectif de confirmer l'implication du gène *SPRED1* chez 12 patients présentant ce phénotype particulier et pour lesquels la recherche de mutations du gène NF1 avait été négative. Deux mutations du gène *SPRED1* ont été identifiées après séquençage des régions codantes : une mutation non sens déjà connue (190C>T R64X) et une mutation non sens jamais décrite (637C>T Q213X). Nos résultats confirment l'implication du gène *SPRED1* qui code une protéine de régulation négative de la voie RAS MAPK, dans un nouveau syndrome NCFC. Il apparaît maintenant nécessaire de préciser la fréquence des mutations et le spectre phénotypique de ce nouveau syndrome ainsi que l'existence d'éventuelles complications. Les critères diagnostiques de NF1 établis par le NIH doivent prendre en compte ces nouvelles données afin de permettre la mise en place d'un conseil génétique spécifique et adapté, différent de celui de la NF1.

Mots-clés : neurofibromatose de type 1, *SPRED1*, conseil génétique.

■P450 / 547. DÉTECTION RAPIDE DES MUTATIONS DU GÈNE *CFTR* PAR ANALYSE DE COURBES DE FUSION HAUTE RÉOLUTION

M.P. Audrezet, A. D'abricot, C. Le Marechal, C. Ferec
Laboratoire de Génétique Moléculaire CHU, INSERM U613, Brest, France

La mucoviscidose est la maladie génétique grave de l'enfant la plus fréquente dans les populations d'origine caucasienne. Le gène responsable, appelé *CFTR* (Cystic Fibrosis Transmembrane conductance Regulator) a été cloné en 1989. Il est composé de 27 exons et code protéine transmembranaire. La mutation majoritaire, une délétion de 3 nucléotides dans l'exon 10 du gène, aboutissant à la perte d'une phénylalanine en position 508 de la protéine, représente environ 70 % des allèles CF, mais ce pourcentage varie en fonction de l'origine géoethnique des patients. 18 ans après la découverte du gène, plus de 1 500 anomalies différentes ont été rapportées au sein du Consortium International d'Etudes des mutations du gène *CFTR*, la majorité d'entre elles étant des mutations ponctuelles ou de courtes insertions-délétions. La connaissance précise des mutations en cause a des implications importantes pour le diagnostic prénatal, pour le dépistage en cascade dans les familles ainsi que pour la compréhension des relations génotype-phénotype. De nombreux kits permettent la détection des mutations les plus fréquentes du gène, mais dans certaines situations, telles que la recherche de mutations rares chez des individus atteints, l'étude chez les conjoints de patients atteints de mucoviscidose, ou le repérage pendant la grossesse d'un intestin hyperéchogène chez le fœtus..., il est parfois nécessaire d'analyser rapidement la totalité de la séquence codante du gène. Pour cela les laboratoires doivent avoir recours à des techniques rapides, efficaces et économiques. C'est pourquoi nous avons choisi de développer une technique d'étude des 27 exons du gène *CFTR* par l'analyse de courbes de fusion haute résolution sur plateforme LightScanner®. 30 couples d'amorces ont été choisis et modifiés, en fonction des courbes de fusion des fragments à analyser de façon à amplifier dans les mêmes conditions les 27 exons du gène ainsi que les jonctions introns-exons. Les méthodes d'analyse de chaque amplicon ont été mises au point à partir de témoins exempts de mutations et validées à partir d'échantillons porteurs de plus de 200 anomalies différentes. En conclusion, cette technique est simple, rapide, efficace, économique et automatisable pour une utilisation en routine pour le scanning du gène *CFTR*.

Mots-clés : CFTR, HRM, mucoviscidose.

■P451 / 561. GESTION DU LABORATOIRE DE GÉNÉTIQUE SOUS FILEMAKER PRO

A. Lauge, V. Caux-Moncoutier, C. Dehainault, C. Dubois D'Enghien, D. Michaux, S. Pagès-Berhouet, C. Houdayer, D. Stoppa-Lyonnet
Génétique oncologique, Institut Curie, Paris, France

On assiste aujourd'hui à une augmentation considérable de l'activité de nombreux laboratoires de Génétique. Le développement des techniques et l'automatisation permettent de répondre en partie à cet accroissement d'activité mais la gestion de ces nouveaux flux de données ne peut être réalisée sans le développement d'un système informatique dédié. Le laboratoire de Génétique constitutionnelle de l'Institut Curie illustre bien cette problématique. Il a développé une activité de criblage des gènes de prédisposition aux cancers du sein et de l'ovaire (*BRCA1* et *2*), du rétinoblastome (*RBI*) et de certaines maladies cassantes de l'ADN (*ATM*, *FANCA*, *FANCG*, *NBS1*, *MRE11*, *RAD50*). Ainsi, en 5 ans et sur les seuls gènes *BRCA1* et *BRCA2*, le nombre annuel de cas index analysés est passé de 168 à 466 cas et les tests des apparentés de 86 tests annuels à 429. Au total, sur ces 5 dernières années, le nombre total d'amplicons analysés a bondi d'environ 23 000 à 73 000 (+ 320 % d'activité, hors activité de recherche) pour une équipe passée de 5 à 8 personnes sur la même période. Cette évolution a nécessité l'abandon de la gestion des données sous Excel pour migrer vers une base de données relationnelles à même de gérer l'analyse depuis l'arrivée des prélèvements au laboratoire jusqu'à l'impression du compte-rendu. La mise en place de cette base a débuté par la rédaction d'un cahier des charges qui exprimait les besoins principaux suivants : centralisation des données, gestion et suivi des différentes étapes des analyses, partage des informations au sein du laboratoire, évolutions possibles afin de s'adapter aux changements d'activité, interrogation des données via des requêtes complexes et import des données antérieures. Suite à l'appel d'offres, nous avons éliminé les progiciels présents sur le marché en raison de leur rigidité, coût et faible capacité d'évolution sans intervention extérieure. En revanche, nous avons retenu une solution flexible et conviviale sous FileMaker Pro®, proposée par un développeur indépendant « Carlo Baldassara, eConseil ». Les atouts majeurs de FileMaker Pro® résident dans i) la possibilité de développer une base de données « à façon » ce qui permet une appropriation rapide par l'utilisateur ii) son évolutivité qui permet de s'adapter aux nouveaux gènes étudiés, aux nouvelles techniques d'analyses et ainsi gagner en réactivité. De la rédaction du cahier des charges jusqu'à la mise en production sous la forme d'une architecture client/serveur de la base il s'est écoulé moins d'un an. Notre base gère les données du prélèvement (date d'arrivée, lieu et forme du stockage, disponibilité), l'avancée des analyses, les étapes de validation technique et biologique et l'édition du compte rendu. D'autres fonctionnalités, comme les conditions d'analyses des gènes ont été importées. Les possibilités d'évolution ont permis d'implémenter de nouveaux modules d'analyses pour les nouveaux gènes étudiés. L'augmentation de notre activité n'aurait pu se faire sans cette base de données. Elle apporte un gain de temps au quotidien, une aide dans la gestion des analyses et une source d'information qui permet de répondre à différentes demandes (rapport d'activité, disponibilité de matériel, liste de mutation...). Nous pensons donc qu'une solution développée sous FileMaker Pro® est à même de répondre aux besoins de nombreux laboratoires. Pour un bon fonctionnement, son implémentation et son développement doivent se faire en partenariat avec le service informatique, qui autorise les interactions de la base avec les autres bases de données de l'hôpital.

Mots-clés : base de données, FileMaker Pro, analyses.

■P452 / 569. DÉFICITS HYPOPHYSIAIRE SYNDROMIQUES SANS RETARD MENTAL ET MUTATIONS DU GÈNE *SOX3*

I. Giurgea (1, 3), K. Machinis (1), M.-P. Vié-Luton (1), G. Pinto (4), B. Mignot (5), A.-M. Bertrand (5), C. Naud-Saureau (6), S. Rose (1), F. Kurtz (7), M. Legendre (1, 2), M.-L. Sobrier (1), J. Léger (8), P. Czernichow (8), S. Amselem (1, 2)

(1) INSERM U654, Hôpital Armand-Trousseau, Paris, France ; (2) AP-HP, Hôpital Armand-Trousseau, Service de Génétique et d'Embryologie médicales, Paris, France ; (3) AP-HP, Groupe Henri Mondor-Albert Chenevier, Service de Biochimie et Génétique, Créteil, France ; (4) AP-HP, Hôpital Necker-Enfants-Malades, Service d'Endocrinologie, Paris, France ; (5) Hôpital Saint Jacques, Service d'Endocrinologie, Besançon, France ; (6) Hôpital de Lorient, Service de Pédiatrie, Lorient, France ; (7) Hôpital de Saint-Avoid, Service de Pédiatrie, Saint-Avoid, France ; (8) AP-HP, Hôpital Robert-Debré, Service d'Endocrinologie, Paris, France

Introduction : Le phénotype de la souris dont le gène *Sox3* a été invalidé a montré un défaut de la fonction hypophysaire, des anomalies de la morphogenèse de l'hypophyse, de l'hypothalamus et de la ligne médiane. Chez

l'homme, des mutations du gène *SOX3*, localisé en Xq27.1, ont été identifiées chez de rares patients avec un retard de croissance en rapport avec un déficit en hormone de croissance (GH) et/ou un retard mental. Afin de mieux définir le spectre phénotypique de cette pathologie, nous avons étudié le gène *SOX3* chez des patients présentant un déficit hypophysaire syndromique. Patients et Méthodes Nous avons étudié 50 patients indépendants, de sexe masculin présentant un déficit en GH isolé ou combiné à d'autres déficits endocriniens de l'antéhypophyse et des anomalies de la ligne médiane. L'étude moléculaire du gène *SOX3* a été réalisée par PCR-séquençage direct. Résultats : Des mutations du gène *SOX3* ont été identifiées chez 6 patients indépendants et chez deux de leurs frères présentant également un déficit antéhypophysaire. Des expansions de polyalanines (+8 et +11 Ala) ont été identifiées chez deux patients et chez chacun de leur frère atteint, tous les quatre ayant un déficit isolé en hormone de croissance et trois d'entre eux un strabisme. Une contraction de polyalanine (-9 Ala) a été identifiée chez un patient présentant un déficit combiné en hormone de croissance, corticotrope, thyroïdienne et gonadotrope associé à une anomalie du corps calleux. Des mutations faux-sens ont été observées chez trois patients : p.Ala102Ser chez un patient présentant une dysplasie septo-optique et des anomalies sévères de la ligne médiane ; p.Ala5Pro chez un patient avec déficit isolé en hormone de croissance et troubles du comportement ; et p.Pro3Ser chez un patient avec déficit combiné en hormone de croissance, corticotrope et thyroïdienne. Tous les patients avaient des anomalies morphologiques de l'hypophyse : antéhypophyse hypoplasique (7/8), anomalies de la tige pituitaire (5/7), et posthypophyse ectopique (4/8). En revanche, aucun d'entre eux ne présentait de retard mental. Conclusion : Nous rapportons 6 mutations (dont quatre nouvelles) du gène *SOX3* chez des patients présentant un déficit hypophysaire syndromique dont les caractéristiques élargissent le spectre phénotypique de la pathologie nouvellement décrite associée aux mutations du gène *SOX3*.

Mots-clés : déficit hypophysaire, *SOX3*, anomalies de la ligne médiane.

■P453 / 578. ANALYSE FONCTIONNELLE DE VARIANTS DU GÈNE *SPINK1* IMPLIQUÉS DANS LES PANCRÉATITES HÉRÉDITAIRES

A. Boulling (1, 2), C. Le Maréchal (1, 2, 3, 4), P. Trouvé (1, 2), O. Raguénès (1, 4), J.M. Chen (1, 3), C. Férec (1, 2, 3, 4)

(1) Inserm U613, Brest ; (2) Université de Bretagne Occidentale, Brest ; (3) Établissement Français du sang, Brest ; (4) Centre Hospitalier Universitaire, Brest

Introduction : Depuis maintenant plusieurs années, il est démontré que les variations observées sur le gène *SPINK1* codant le peptide PSTI (Pancreatic Secretory Trypsin Inhibitor) sont associées avec les pancréatites chroniques héréditaires. Ces altérations sont connues pour entraîner une baisse de l'activité ou de l'expression de PSTI. Nous avons récemment déterminé les conséquences fonctionnelles de trois variants situés sur le peptide signal (p.L12F, p.L14P, p.L14R), ainsi que celles de sept variants situés sur le peptide mature de PSTI (p.N34S, p.G48E, p.D50E, p.Y54H, p.P55S, p.R65Q, p.R67C). Matériels et méthodes : Les effets des différents variants ont été caractérisés par des western blot réalisés sur le type sauvage et les variants de PSTI, exprimés dans les cellules CHO. L'expression de ces variants a également été évaluée en mesurant leur niveau de transcription par RT-PCR. Résultats : Les altérations du peptide signal p.L14P et p.L14R entraînent une dégradation intracellulaire rapide de PSTI, empêchant ainsi sa sécrétion, tandis que p.L12F ne présente pas d'effet délétère. Les effets provoqués par les différents variants situés sur le peptide mature permettent de les classer en trois catégories. La première catégorie comprend les polymorphismes p.N34S et p.P55S, qui impliquent une conservation des propriétés physico-chimiques des acides aminés, et n'entraînent pas de réduction de l'expression de PSTI. La deuxième catégorie contient uniquement la mutation faux-sens p.R65Q, substituant un acide aminé chargé positivement par un acide aminé neutre, et causant une réduction d'environ 60 % de l'expression de la protéine. La dernière catégorie regroupe les mutants p.G48E, p.D50E, p.Y54H et p.R67C, impliquant des changements de charge des acides aminés et causant une inhibition complète ou presque complète de la sécrétion de PSTI. Les quantités d'ARNm mesurées pour le type sauvage et les mutants sont similaires, ce qui exclut la possibilité que les variations d'expression observées résultent d'une réduction de la transcription ou d'une baisse de la stabilité de l'ARNm. Conclusion : À la lumière de ces observations, il semble donc que ces mutations faux-sens entraînent une baisse de sécrétion de PSTI en perturbant les mécanismes de transports cellulaires de ce peptide. Travail de thèse financé par la région Île de France, dans le cadre du projet PICRI en partenariat avec l'Association des Pancréatites Chroniques Héréditaires.

Mots-clés : Pancréatites chroniques, *SPINK1*, Analyse fonctionnelle.



■P454 / 590. GRANDS RÉARRANGEMENTS ET GÈNE DE LA FIBRILLINE DE TYPE 1 (FBN1): IMPLICATION NON NÉGLIGEABLE CHEZ LES SUJETS PRÉSENTANT UN SYNDROME DE MARFAN INCOMPLÈTE

P. Khau Van Kien (1), N. Pallares-Ruiz (1), A. Plancke (1), L. Olivier-Faivre (2), P. Sarda (3), C. Coubes (3), M. Claustres (1)
(1) Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHU de Montpellier/INSERM U827; (2) Centre de Génétique, CHU de Dijon; (3) Service de Génétique Médicale, CHU de Montpellier

Introduction : La précocité du diagnostic de syndrome de Marfan (établi grâce aux critères de Gand), constitue un réel défi car la prévention du risque aortique est d'autant plus efficace que celle-ci est débutée précocement (gain global de survie de l'ordre de 25 à 30 ans chez les patients correctement diagnostiqués et pris en charge). Les tests génétiques permettent d'évaluer indépendamment de l'âge un des critères majeurs de la classification de Gand. Malgré cet intérêt indéniable, le diagnostic moléculaire du syndrome de Marfan est un réel challenge et manque de sensibilité (rapportée selon les équipes entre 64 et 93 % chez les sujets critères de Gand réunis et entre 42 et 60 % chez les sujets - 1 critère). Débutée en Janvier 2005, la mise en place dans notre laboratoire d'une stratégie reposant sur le séquençage systématique et semi robotisé de la totalité des exons et bordures introniques des gènes *FBN1*, *TGFBR1*, *TGFBR2* a permis dans ses 2 premières années d'apporter une réponse positive à 86 % des patients réunissant les critères de Gand (n = 57) et 61 % des patients -1 critère de Gand (n = 62). Nous rapportons ici les résultats de la recherche complémentaire de grandes délétions et/ou duplications du gène *FBN1*, chez les sujets jusqu'alors négatifs. Matériels et méthodes : L'étude a porté sur 9 patients réunissant les critères de Gand et 24 patients - 1 critère, exhaustivement étudiés par séquençage double brin. La technique MLPA (Multiplex Ligation-dependent probe amplification) permettant d'étudier les 7 exons du gène *TGFBR2* et 53 des 65 exons du gène *FBN1* a été utilisée en dépistage. Une validation a été systématiquement réalisée par PCR multiplex semi quantitative en utilisant 1) des amorces fluorescentes avec migration sur séquenceur ABI3130xl et analyse des fragments à l'aide du logiciel GeneMapper 2) des amorces non fluorescentes et analyse par dHPLC (module fluorescent) à l'aide du logiciel Navigator. Résultats : 5 patients sur les 33 patients étudiés (1/9 patient réunissant les critères de Gand et 4/24 patients Critères -1), présentent un grand réarrangement du gène *FBN1* : trois délétions et deux duplications ont été identifiées. Aucun réarrangement dans le gène *TGFBR2* n'a été détecté. La sensibilité (taux de détection) du diagnostic moléculaire est désormais dans notre série de 88 % chez les sujets réunissant les critères de Gand et de 68 % chez les patients Critères - 1. Discussion : Dans notre série les grandes délétions et/ou duplications représentent 4,2 % des anomalies du gène *FBN1*. À ce jour et à notre connaissance, aucune grande duplication n'est rapportée dans la littérature internationale et moins de 10 grandes délétions sur plus de 800 mutations sont décrites. La recherche de délétion/duplication permet d'augmenter le taux de détection de 2 % pour les patients réunissant les critères de Gand et de 7 % pour les patients Critères -1. Ces constatations, confrontées aux corrélations génotype/phénotype récemment mises en évidence dans le syndrome de Marfan, suggèrent que les grands réarrangements du gène *FBN1*, plus volontiers prédictives d'une haploinsuffisance que d'un effet dominant négatif, pourraient être plus fréquents chez les sujets présentant un syndrome de Marfan incomplet. Nous rappelons que pour ce groupe de sujets, l'identification d'un critère majeur supplémentaire selon la classification de Gand (notamment du critère génétique) peut permettre la mise en place d'une prévention efficace vis-à-vis de complications potentiellement mortelles.

Mots-clés : Marfan, *FBN1*, grands réarrangements.

■P455 / 595. NOUVELLES MUTATIONS DE ZMPSTE24 (FACE1) IMPLIQUÉES DANS LA DERMOPATHIE RESTRICTIVE ET POINT SUR LA LITTÉRATURE

C. Navarro (1), V. Esteves-Vieira (2), A. Boyer (2), S. Courrier (1), C. Beroud (3), C. Badens (1, 2), M. Wehnert (4), A. De Sandre-Giovannoli (1, 2), N. Lévy (1, 2)
(1) UMR910, Faculté de Médecine de Marseille, France; (2) Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHU de la Timone, Marseille, France; (3) U827, IURC, Institut Universitaire de Recherche Clinique, Montpellier; (4) Institute of Human Genetics, University of Greifswald, Germany

Introduction : La Dermopathie Restrictive (DR) est un syndrome progéroïde parmi les plus sévères, habituellement létale en période néonatale. Les principaux signes cliniques sont une peau épaisse et rigide, de multiples contractures articulaires, une diminution généralisée de la densité osseuse et une insuffisance pulmonaire causant le décès. Nous avons

récemment identifié la DR, comme étant une maladie récessive liée à des mutations dans *ZMPSTE24* (*FACE1*). Ce gène code pour une métalloprotéase spécifique de la maturation post-traductionnelle de la lamine A. Toutes les mutations trouvées dans *ZMPSTE24* causant la DR sont des mutations nulles entraînant, par conséquent, l'accumulation de la lamine A sous la forme de son précurseur, appelé Prélamine A, à l'état farnésylé. Le même mécanisme physiopathologique, impliquant un précurseur tronqué de Prélamine A, est également en cause dans la Progéria de Hutchinson-Gilford (HGPS). Résultats : Nous rapportons ici 6 nouvelles mutations récessives, identifiées chez 5 patients atteints de DR classique, incluant une mutation faux sens, 2 délétions et 3 mutations affectant directement les sites consensus d'épissage. Nous avons également identifié 6 nouvelles familles avec un ou deux enfants atteints, portant la mutation récurrente c.1085_1086dupT, localisée dans l'exon 9 du gène. Également, nous avons mis en évidence plusieurs nouvelles variations de séquence associées ou non à une pathologie, au cours d'une large étude de patients atteints de syndromes progéroïdes. Toutes les mutations et variations de séquences incluses dans nos études et toutes celles qui ont été publiées par ailleurs ont été regroupées dans une base de données UMD-ZMPSTE24, bientôt accessible on-line à toute la communauté scientifique. Pour chaque mutation, les caractéristiques moléculaires, protéiques et les informations cliniques sont spécifiées. Cette base de données constituera un outil de travail précieux, aidant les futures recherches effectuées autour de ce gène et des pathologies associées. Conclusion : Les mutations rapportées ici, dans 11 nouvelles familles présentant un ou plusieurs enfants atteints de DR, démontrent clairement que le gène *ZMPSTE24* est le gène à cibler en cas de diagnostic de DR, bien qu'il puisse être impliqué par ailleurs, dans d'autres syndromes progéroïdes moins sévères.

Mots-clés : progeroïde, *ZMPSTE24*, dermopathie.

■P456 / 596. EFFET DES VARIATIONS DE PCSK9 SUR LES TAUX DE CHOLESTÉROL PLASMATIQUE

M. Abifadel (1, 2), J. Bonneau (1), A. Marques (1), M. Marduel (1), M. Devillers (1), D. Erlich (1), C. Junien (1, 3), A. Munnich (1), J.-P. Rabès (1, 3), M. Varet (1), C. Boileau (1, 3)
(1) INSERM U781, Hôpital Necker, Paris; (2) Faculté de Pharmacie, Université Saint-Joseph, Beyrouth, Liban; (3) Laboratoire de Biochimie, d'Hormonologie et de Génétique Moléculaire, AP-HP, Ambroise-Paré, Boulogne, France

L'hypercholestérolémie à transmission autosomique dominante (ADH) est l'une des maladies génétiques les plus fréquentes. Les gènes codant le récepteur des lipoprotéines de faible densité (LDLR) et son ligand l'apolipoprotéine B ont été longtemps les seuls incriminés dans l'ADH. Nos travaux ont permis d'identifier en 2003, le 3^e gène impliqué dans cette maladie : *PCSK9*, (Proprotéine Convertase Subtilisine Kexine 9). Plusieurs mutations hypercholestérolémiantes de *PCSK9* (p.S127R, p.F216L, p.D374Y...) entraînent un gain de fonction provoquant une diminution des taux de récepteurs des LDL. Tandis que d'autres variations sont hypocholestérolémiantes et associées à une diminution de l'incidence des accidents cardiovasculaires : p.Y142X, p.C679X (retrouvées chez 2 % des afro-américains) et p.R46L (fréquence de 3,2 % chez les blancs). Les variations de *PCSK9* sont des facteurs majeurs modifiant les taux de cholestérol sanguin, mais certaines présentent une répartition géographique assez hétérogène. Nous avons étudié la fréquence des variations de *PCSK9* chez 600 sujets caucasiens (400 hypercholestérolémiques et 200 normolipémiques). La variation p.R46L a été uniquement retrouvée dans la population normolipémique, à une fréquence de 2 %. Nous avons décrit la variation p.A443T pour la première fois chez une patiente hypercholestérolémique française de 50 ans. Cette variation n'était pas retrouvée chez 340 témoins caucasiens. Elle semble cependant être un polymorphisme rare chez les blancs, plus fréquent chez les noirs, associé à des taux bas de LDL-cholestérol mais retrouvé aussi bien chez des sujets hyper qu'hypocholestérolémiques dans l'étude de Dallas. Enfin, la variation p.R237W que nous avons initialement décrite chez une patiente canadienne hypercholestérolémique, ne semble retrouvée que chez des sujets hypercholestérolémiques dans l'étude de Dallas bien qu'elle ait été associée à une diminution des taux de LDL-cholestérol par Berge *et al.* La caractérisation des variations de *PCSK9* est primordiale pour une meilleure compréhension du rôle de cette enzyme dont l'impact sur la cholestérolémie est majeur. Les inhibiteurs éventuels de *PCSK9* ouvriraient la voie vers de nouvelles cibles thérapeutiques de l'hypercholestérolémie, potentialisant les effets des statines.

Mots-clés : hypercholestérolémie, *PCSK9*, maladies cardiovasculaires.

■P457 / 600. MISE EN PLACE DU DIAGNOSTIC MOLÉCULAIRE DE LA MALADIE DE FANCONI

C. Dubois d'Enghien (1), A. Laugé (1), D. Chamoussat (2), J. Soulier (2), D. Stoppa-Lyonnet (1)

(1) Institut Curie Laboratoire de génétique constitutionnelle ; (2) Laboratoire d'Hématologie et Centre de Référence « Aplasies Médullaires Constitutionnelles », Hôpital St Louis APHP

La maladie de Fanconi est caractérisée par un syndrome malformatif congénital variable, une insuffisance médullaire d'apparition retardée et un risque très élevé de leucémie aiguë myéloïde et de carcinomes. Le diagnostic est rarement fait à un stade précoce et peut être difficile devant une insuffisance médullaire isolée. C'est une maladie génétique transmise selon le mode récessif, très hétérogène : 13 groupes de complémentation cellulaire et les gènes correspondants ont été identifiés. Cependant trois gènes rendent compte de 90 % des cas en France : *FANCA*, *FANCC* et *FANCG*. Le diagnostic, suspecté devant une insuffisance médullaire ou un syndrome malformatif, conduit à l'indication d'un caryotype réalisé en présence d'agents pontants (mitomycine C, diépoxy-butane ou mechlorethamine). L'analyse de l'ubiquitination de la protéine *FANCD2* confirme le diagnostic, permet de classer les patients selon le niveau de l'atteinte de la voie FA/BRCA et oriente l'analyse moléculaire. Aujourd'hui, le diagnostic et la caractérisation de la maladie de Fanconi reposent sur les analyses cytogénétiques et fonctionnelles et sur l'identification du gène responsable par complémentation rétrovirale et/ou l'analyse directe des gènes les plus fréquemment impliqués (*FANCA*, *FANCG*). L'étude moléculaire est réalisée depuis 2006 après validation clinique et biologique de l'indication. Le gène *FANCA* est composé de 43 exons codants soit 1 456 acides aminés, il a été étudié en séquençage direct pour les mutations ponctuelles et en MLPA® (Multiplex Ligation dependant Probe Amplification) pour les réarrangements de grande taille. Le gène *FANCA* a été étudié chez 88 patients à partir d'ADNs extraits de sang circulant et/ou de fibroblastes : 134 mutations inactivatrices ont été identifiées chez 73 patients. Parmi ces mutations, 47 (35 %) sont des délétions de 1 à 43 exons, 39 (29 %) sont des mutations non-sens, des insertions ou délétions de quelques nucléotides, 22 (16 %) touchent un site d'épissage, 17 (13 %) sont des délétions respectant le cadre de lecture et 9 (7 %) sont des mutations faux-sens rapportées comme délétères dans la base du Rockfeller center (<http://www.rockefeller.edu/fanconi/mutate/>). Parmi les 73 patients porteurs d'au moins une mutation *FANCA*, 62 présentent les 2 mutations attendues et 11, une seule. Notons cependant que dans 10 de ces 11 cas, un variant de signification inconnue a également été identifié. Pour 5 patients, les 2 mutations *FANCA* n'étaient présentes qu'au niveau des fibroblastes, indiquant la survenue d'une réversion au niveau médullaire. Aucune mutation n'a été détectée chez 15 patients : 7 se sont révélés secondairement appartenir aux groupes C ou G, 6 n'ont pas été documentés par complémentation, et 2 appartenant au groupe A présentent des variants de signification inconnue. Des études complémentaires sont en cours sur ces variants. Chez 6 des 8 derniers patients, l'analyse a été faite à partir de fibroblastes éliminant ainsi une non détection de mutation au niveau lymphocytaire secondaire à une réversion médullaire. Le gène *FANCG* comprend 14 exons codants soit 623 acides aminés étudiés aujourd'hui en séquençage direct uniquement. Cinq patients ont été étudiés sur le gène *FANCG* : 2 mutations inactivatrices (introduisant un codon stop) ont été détectées chez chaque patient. Le taux de mutations identifiées dans les gènes *FANCA* et *FANCG* est élevé. L'approche moléculaire devrait faciliter le diagnostic prénatal et le diagnostic pré-implantatoire pour les parents ayant un enfant atteint. Elle permet aussi, lorsque le diagnostic est incertain, de confirmer le diagnostic de maladie de Fanconi et par là de mieux prendre en charge l'enfant. Médecins ayant collaboré à l'étude : E Gluckman, T Leblanc, A Baruchel, L Degos, F Bernaudin, Y Bertrand, O Boespflug-Tanguy, H Esperou, C Francannet, O Hermine, V Mialou, B Nelken, C Pondarré, P Rohrlisch, G Socié, C Thauvin, P Turlure.

Mots-clés : *FANCA*, *FANCG*, mutations.

■P458 / 605. TRANSMISSION RÉCESSIVE D'UN DÉFICIT ISOLÉ EN HORMONE DE CROISSANCE ASSOCIÉ À DEUX NOUVELLES MUTATIONS DU RÉCEPTEUR DE LA GHRÉLINE (GHSR)

M. Legendre (1), J. Pantel (1), S. Nivot-Adamiak (2), S. Morisset (3), M.-P. Vie-Luton (1), Y. le Bouc (4), J. Epelbaum (5), S. Amselem (1)
(1) INSERM U654, Hôpital Trousseau, Paris, France ; (2) Service d'Endocrinologie pédiatrique, CHR de Rennes, Paris, France ; (3) INSERM U573, Centre Paul-Broca, Paris, France ; (4) Service d'Explorations fonctionnelles endocriniennes, Hôpital Trousseau, Paris, France ; (5) INSERM U549, Centre Paul-Broca, Paris, France

Introduction : La ghréline est une hormone pléiotrope initialement décrite pour ses propriétés sécrétrices d'hormone de croissance. La ghréline constitue également la première hormone orexigène décrite à ce jour. Elle exerce ces propriétés via l'isoforme 1a du Growth Hormone Secretagogue Receptor (GHSR). Le GHSR est un récepteur à sept segments transmembranaires couplé aux protéines G qui présente une forte activité constitutive. Nous avons récemment impliqué le GHSR en pathologie humaine chez des patients présentant une petite taille familiale. Au sein des deux familles identifiées, la mutation p.Ala204Glu ségrège avec la petite taille selon un mode dominant. Nous décrivons ici l'implication du gène *GHSR* dans un cas de déficit isolé en hormone de croissance de transmission autosomique récessive, à la lumière de l'analyse fonctionnelle des variants impliqués. Patients : Le cas index présente une petite taille (-3,0 D.S.) associée à un déficit isolé en hormone de croissance, ainsi qu'un Indice de Masse Corporelle au 3e percentile. L'analyse génétique du *GHSR* a révélé que ce patient est hétérozygote composite [p.Trp2X ; p.Arg237Trp]. Ses parents, respectivement hétérozygotes pour la mutation non-sens précoce p.Trp2X et la mutation faux-sens p.Arg237Trp, présentent une taille et un poids compris dans les valeurs normales. Méthodes : L'analyse fonctionnelle *in vitro* a été effectuée dans des lignées cellulaires exprimant transitoirement le GHSR ou ses variants dotés d'un tag HA. L'affinité des récepteurs a été évaluée par la mesure de la liaison de la ghréline radio-marquée (membranes de cellules COS-7). La capacité des récepteurs à répondre à la ghréline par la voie de la phospholipase C a été évaluée grâce à un rapporteur calcique fluorescent (cellules HEK 293). Leur activité transcriptionnelle a été mesurée par des expériences de co-transfection avec un plasmide contenant un rapporteur Luciférase en aval de sites Serum Response Element (cellules HEK 293). L'expression des récepteurs à la surface cellulaire a été mesurée par des tests ELISA (cellules HEK 293). Résultats – Le variant p.Trp2X du GHSR présente une activité constitutive et une réponse à la ghréline effondrées. Le variant p.Arg237Trp montre une perte partielle de son activité constitutive alors que sa réponse à la ghréline est conservée. Cette altération partielle de l'activité constitutive du récepteur est un phénomène intrinsèque puisque l'expression à la surface de la cellule du variant p.Arg237Trp est comparable à celle du GHSR sauvage. Conclusion – Nous rapportons le premier cas de déficit en hormone de croissance associé au GHSR de transmission autosomique récessive. L'analyse fonctionnelle des variants confirme l'importance du GHSR dans la croissance somatique chez l'homme et souligne le rôle crucial de l'activité constitutive de ce récepteur.

Mots-clés : Croissance, Récepteur ghréline, Déficit en hormone de croissance.

■P459 / 619. ISODISOMIE UNIPARENTALE PARTIELLE DU CHROMOSOME 17P DANS UN CAS DE CYSTINOSE INFANTILE

A.S. Lebre (1), V. Morinière (1), O. Dunand (3), N. Morichon (1), C. Antignac (1, 2)

(1) Département de Génétique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France ; (2) Inserm U574, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France ; (3) Hôpital Trousseau, Paris, France

La cystinose est une maladie autosomique récessive caractérisée par une accumulation de cystine intra-lysosomale due à un défaut du transport de la cystine à travers la membrane lysosomale. Trois formes cliniques de cystinose (infantile, juvénile et forme oculaire de cystinose) ont été identifiées en se basant sur la sévérité des symptômes et l'âge de début de la maladie. Le gène en cause est le gène *CTNS* situé sur le chromosome 17 en17p13. Ce gène couvre 23 kb de séquence génomique et code pour le transporteur lysosomal de la cystine, ou cystinosine. Des mutations du gène *CTNS* ont été détectées dans une série de patients présentant toutes les formes de cystinose. La mutation la plus fréquente est une grande délétion de 57 kb emportant les exons 1 à 10 du gène *CTNS*. Cette délétion a été détectée chez 60 à 70 % des patients d'Europe du nord. Nous décrivons ici une isodisomie uniparentale partielle d'origine maternelle du chromosome 17 (mat UPD17) chez une fillette de 30 mois présentant une forme isolée de cystinose infantile. Une délétion homozygote de 57 kb a été identifiée dans le gène *CTNS*. La mère de cette fillette est hétérozygote pour la délétion mais de façon étonnante, son père n'est pas porteur de la délétion. L'étude des marqueurs microsatellites couvrant le chromosome 17 démontre l'absence de contribution paternelle pour tous les marqueurs du chromosome 17. Une seule contribution maternelle a été identifiée pour le bras court du chromosome 17. Une délétion 17p n'étant pas viable, ces résultats suggèrent la co-existence d'une disomie uniparentale d'origine maternelle avec hétérodisomie 17q et isodisomie 17p. Il s'agit du premier cas d'isodisomie uniparentale partielle du chromosome 17p.

Mots-clés : isodisomie uniparentale UPD17, cystinose, gène *CTNS*.



■P460 / 623. SÉQUENÇAGE DE L'ADN MITOCHONDRIAL À L'AIDE DU KIT DE RESÉQUENÇAGE MITOSEQR® DANS LE CADRE DU DIAGNOSTIC MOLÉCULAIRE DES MALADIES MITOCHONDRIALES

C. Jardel (1, 3), F. Delbos (1), S. Filaut (1), I. Lemiere (1), P. Laforêt (2, 3), A. Lombès (3), B. Hainque (1, 3)

(1) Service de Biochimie, UF de cardio et myogénétique ; (2) Centre de référence des maladies neuromusculaires ; (3) INSERM U5823, Groupe hospitalier Pitié-Salpêtrière-APHP-75013-Paris

Les maladies mitochondriales constituent un ensemble très hétérogène de pathologies dû à un dysfonctionnement de la chaîne respiratoire. À ce jour, moins de 20 % des patients atteints bénéficient du diagnostic moléculaire ; ceci tient à 2 raisons : 1) les gènes nucléaires responsables de ces maladies sont potentiellement très nombreux (> 1 000) 2) l'analyse exhaustive de l'ADN mitochondrial (16,5 Kb) est rarement réalisée. Pour réaliser celle-ci, la technique utilisée doit permettre de détecter à la fois les mutations homoplasmiques et hétéroplasmiques quel qu'en soit le taux. Le but de ce travail a été de tester le kit de reséquençage MitoSEQr®. Applera, pour apprécier son intérêt en pratique diagnostique. Matériel et méthodes : le kit MitoSEQr® consiste en un set de 46 paires de primers choisis pour permettre le séquençage de tout l'ADN mitochondrial de façon optimisée (conditions uniques de PCR et l'utilisation de queues M13). Le séquençage a été réalisé sur AbiPrism 3700, selon les recommandations du fabricant et les séquences analysées à l'aide du logiciel SeqScape et du projet MitoSEQr®. Le génome mitochondrial entier a été analysé pour 8 patients atteints d'un déficit de la chaîne respiratoire. La détection de l'hétéroplasmie a été évaluée sur huit échantillons de patients porteurs de mutations m.3243A>G (mutation MELAS) et m.8344A>G (mutation MERRF) à des taux d'hétéroplasmie variables. Résultats : les difficultés de purification des produits de PCR dus aux petits volumes préconisés nous ont amenés à modifier notre protocole et à employer l'exo-sap®. L'utilisation du kit s'est avérée par la suite satisfaisante et a permis l'obtention de réactions de séquence de qualité dans plus de 95 % des cas. La mutation m.3243A>G a été détectée pour les taux d'hétéroplasmie de 20 %, 50 % et 60 % ; par contre la mutation n'est pas détectée pour un taux inférieur à 10 %. La mutation m.8344A>G a été détectée pour les taux d'hétéroplasmie de 25 % et 75 %. Ces résultats techniques sont satisfaisants même si le seuil de détection reste inférieur à celui de la DGGE. L'estimation théorique du coût et du délai d'obtention des résultats du séquençage de tout l'ADN mitochondrial est respectivement de 750 € et 72 heures. Par contre, au niveau du projet MitoSEQr®, nous avons mis en évidence un certain nombre d'erreurs dans la séquence de référence, dans le sens de lecture de certains gènes et dans la numérotation des amorces ; celles-ci ont en partie été corrigées mais des améliorations sont souhaitables pour une utilisation plus agréable et plus facile en pratique diagnostique.

Mots-clés : ADN mitochondrial, reséquençage, diagnostic.

■P461 / 625. ALAMUT, ASSISTANT INFORMATIQUE DU GÉNÉTICIEN MOLÉCULAIRE

A. Blavier, S. Guennou, F. Wolinski
Interactive Biosoftware

La validation médicale par le généticien moléculaire d'une analyse génétique, basée sur la séquence, nécessite l'interprétation de la variation détectée. Le problème de l'interprétation de la variation est particulièrement important pour les mutations faux-sens et nécessite de disposer des informations relatives à la fréquence allélique des variants, à la conservation phylogénétique des acides aminés touchés et l'impact sur la structure de la protéine. De très nombreuses données moléculaires, potentiellement utiles à l'interprétation de tels variants et au diagnostic moléculaire des maladies géniques, sont disponibles sur les serveurs publics. Néanmoins, leur dissémination, leurs modalités d'accès et de représentation sont très variables et ne permettent pas de les utiliser en pratique régulière. L'objectif a donc été de créer un système logiciel jouant le rôle de véritable assistant informatique du généticien moléculaire, après la réalisation de l'analyse génétique. Si la vocation essentielle de ce système est l'interprétation de mutations, il a été conçu avec deux objectifs supplémentaires, d'une part l'adaptation progressive de méthodes de calcul prédictive et d'autre part la prise en compte des règles de nomenclature de l'HGVS afin de faciliter l'édition d'un compte-rendu optimisé de génétique moléculaire. En étroite coopération avec le laboratoire de génétique moléculaire du CHU de Rouen, nous avons donc réalisé un système logiciel d'intégration et de visualisation des données moléculaires facilitant l'interprétation des mutations. Son principe central est de rassembler, dans un outil cohérent et productif, un ensemble d'informations facilement exploitables dans la démarche diagnostique. Ces informations s'appuient sur les grandes bases

des données génomiques et post-génomiques publiques. Le système est constitué de 2 composants principaux : un logiciel graphique interactif de représentation et de manipulation des données et un serveur de données intégratif. Ces 2 composants communiquent entre eux par le protocole standard http, ce qui permet un déploiement simple du logiciel graphique dans les laboratoires de diagnostic. Ce logiciel est un « navigateur de gènes » incorporant des capacités de prédiction sur les conséquences calculables des mutations, et intègre un ensemble de fonctionnalités génériques pour la manipulation des séquences et une connaissance détaillée de la nomenclature des mutations. Le logiciel Alamut a été élaboré à contre-pied du « tout web » qu'offrent la plupart des outils de présentation des données dans le domaine, tels que les navigateurs de génomes. Si Alamut utilise effectivement les technologies du web, son architecture et son interactivité lui permettent de dépasser les limites des browser généralistes qui n'ont pas la capacité de manipuler efficacement les données spécialisées. Ce logiciel, commercialisé depuis juin 2007, a déjà été diffusé dans une dizaine de laboratoires de diagnostic moléculaire en Europe. Le positionnement de ce logiciel dans le processus diagnostique en aval de l'analyse de séquences permet de systématiser et de faciliter une phase du diagnostic jusqu'alors très peu assistée. Ce logiciel devrait faciliter et améliorer la qualité du diagnostic moléculaire des maladies géniques.

Mots-clés : diagnostic, faux-sens, logiciel.

■P462 / 630. MUTATIONS DU GÈNE MFN2 CHEZ DES PATIENTS ATTEINTS DE FORMES AUTOSOMIQUES RÉCESSIVES DE MALADIE DE CHARCOT-MARIE-TOOTH AXONALE

C. Magdelaine (1), G. Nicholson (2), P. De Mas (3), D. Zhu (2), M. Ryan (4), F. Sturtz (1), J.-M. Vallat (5), R. Ouvrier (6), B. Funalot (5)

(1) Service de biochimie et génétique moléculaire, CHU de Limoges ; (2) Molecular Medicine Laboratory & ANZAC Research Institute, Concord Hospital, Sydney NSW, Australie ; (3) service de génétique médicale, CHU de Toulouse ; (4) Neurosciences Department, Royal Children's Hospital, Murdoch Children's Research Institute, Victoria, Australie ; (5) Service et laboratoire de neurologie, CHU de Limoges ; (6) Institute for Neuromuscular Research, The Children's Hospital at Westmead, Westmead, Australie

Introduction : Les neuropathies sensitivo-motrices axonales à début précoce constituent un groupe hétérogène de neuropathies périphériques. Chez certains patients, des mutations hétérozygotes du gène *MFN2* ont été identifiées. Il s'agit la plupart du temps de cas sporadiques porteurs de mutations dominantes de novo, classés comme des formes sévères à début précoce de maladie de Charcot-Marie-Tooth de type 2, sous-type A2 (CMT2A2). L'analyse moléculaire du gène *MFN2* chez quatre patients atteints d'une telle forme axonale à début précoce a en fait montré la présence non pas d'une seule mutation à l'état hétérozygote mais celle de deux mutations hétérozygotes composites (3 cas) ou de la même mutation à l'état homozygote (1 cas). Les patients appartenaient à quatre familles (trois familles australiennes et une famille française), avec dans trois cas un seul enfant atteint et dans un cas trois enfants atteints. Objectif : Le but de la présente étude est d'étudier le mode de transmission de la maladie dans ces quatre familles comportant six cas de neuropathie axonale sévère à début précoce et porteurs de mutations homozygotes ou hétérozygotes composites du gène *MFN2*. **Méthodes :** Les données cliniques, paracliniques et moléculaires des six patients et de leurs huit parents ont été étudiées. **Résultats :** Les six patients sont porteurs d'une mutation sur chacun des allèles du gène *MFN2*. L'âge de début de la maladie est compris entre 2 et 3 ans chez tous les cas index. Deux d'entre eux présentent une surdité modérée. Chacun des huit parents est porteur hétérozygote d'une des mutations présentes chez son (ses) enfant(s) atteint(s). Tous les parents sont asymptomatiques à l'interrogatoire mais l'examen clinique approfondi met en évidence chez certains d'entre eux des signes cliniques en faveur d'une dysfonction modérée des nerfs périphériques (pieds creux, déficit moteur et/ou sensitif distal léger). Trois d'entre eux ont des problèmes d'audition. **Conclusion :** Des mutations homozygotes ou hétérozygotes composites du gène *MFN2* peuvent être responsables de formes autosomiques récessives de maladie de Charcot-Marie-Tooth axonale (ARCMT2) à début précoce. Un caractère semi-dominant de certaines des mutations peut cependant être discuté du fait de l'existence de signes cliniques légers chez plusieurs des parents.

Mots-clés : Charcot-Marie-Tooth, mitofusine 2, *MFN2*.

■P463 / 639. LE CRIBLAGE DU GÈNE APC PAR LA TECHNIQUE CSGE DANS LA POPULATION IRIANIENS ATTEINTS DE POLYPOSE ADÉNOMATEUSE FAMILIALE

N. Vasli (1), M. Noruzinia (2)*, M. Azmi (3), M. Omrani (3), A. Saremi (4)

(1) Department of genetics, School of Sciences, Azad Olum Tahghighat University, Tehran, Iran ; (2) Department of Medical Genetics, School of Medical Sciences, Tarbiat Modarres University, Tehran, Iran ; (3) Institute Cancer of Tehran University ; (4) Sarem Community Hospital and Medical Center ; *Corresponding author : mehnoruzinia@yahoo.fr

Introduction : La Polypose recto-colique familiale est une maladie héréditaire à transmission autosomique dominante. Des centaines voire des milliers de polypes coliques apparaissent vers l'âge de 16 ans en moyenne (fourchette de valeurs 7-36 ans) qui en l'absence de colectomie (ablation du colon) dégénèrent systématiquement en cancer qui apparaissent vers l'âge de 39 ans (fourchette de valeurs 34-43 ans). Le gène responsable est APC. Le gène APC possède 15 exons et code pour une protéine de 2843 acides aminés. Une mutation germinale a été identifiée dans plus des 2/3 des malades atteints, inactivant les fonctions de transcription du gène. La plupart des mutations du gène APC sont situées en MCR (Mutation Cluster Region). Nous avons réalisé une technique simple de criblage de mutation sur ce gène. Nous avons étudié la prévalence de mutations de ce gène dans une population de malades atteints de forme classique de FAP. Matériaux et Méthode : nous avons fait la mise au point de technique CSGE pour le gène APC. L'ensemble de la région codante du gène APC a été amplifié dans 26 réactions de PCR. Après « l'hétéroduplexing » les fragments ont été migrés sur un gel dénaturant de « l'acryl-BAP ». la technique originale a été modifiée pour avoir une meilleure résolution et un moindre temps de migration. Cette technique a été appliquée sur 10 patients iraniens atteints de FAP et 5 patients contrôles positifs. Le séquençage direct a été utilisé pour vérifier les résultats de CSGE. Résultats : nous avons pu identifier la mutation délétère dans 8 patients et toutes les 5 mutations délétères dans les contrôles positifs. Seulement 20 % des mutations sont situées sur la région MCR Conclusion : Conformation que la Sensitive Gel Electrophoresis est une technique accessible pour le criblage du gène APC. Dans les pays où le séquençage direct n'est accessible à tous les laboratoires un criblage de mutations basé sur la technique de CSGE semble accessible. Notre résultat montre une différence dans la répartition des mutations sur le gène APC.

Mots-clés : APC, FAP, CSGE.

■P464 / 647. SYNDROME D'OMENN : PREMIÈRE OBSERVATION MAROCAINE AVEC UNE MUTATION DELT631 DU GÈNE RAG1

I. Cherkaoui Jaoud (1), K. Ouldim (1), S. Chafaï Elaloui (1), Y. Krioule (2), A. Villa (3), A. Sefiani (1)

(1) Département de Génétique Médicale, Institut National d'Hygiène, Rabat, Maroc, Laboratoire International Associé INSERM ; (2) Service de pédiatrie II, CHU Ibn Sina, Rabat, Maroc ; (3) CNR-ITB, Institut de Technologie et de Biomédecine, Milan, Italie

Le syndrome d'Omenn est un déficit immunitaire combiné sévère qui apparaît chez l'enfant dès les premiers mois de la vie, caractérisé par une hyperéosinophilie massive avec hyperleucocytose. Il se manifeste par une éruption de vésicules rouges sur la peau et les muqueuses, une tuméfaction des ganglions lymphatiques, de la rate et du foie, associée à des infections de la peau et des poumons. Cette maladie rare, de transmission autosomique récessive, est liée à des mutations hypomorphes des gènes de recombinaison RAG1 et RAG2 (Recombining activating Genes) et du gène ARTEMIS et plus récemment, des mutations des gènes IL7RA et RMRP ont été incriminées dans ce déficit immunitaire. Nous rapportons la première observation marocaine, d'un nourrisson âgé de quatre mois issu d'un mariage consanguin, présentant des signes en faveur du syndrome d'Omenn. L'étude moléculaire nous a permis de confirmer ce diagnostic en mettant en évidence une délétion delT631(c.631delT) du gène RAG1. Cette mutation a été déjà rapportée chez un enfant d'origine algérienne ; ce qui est en faveur d'un effet fondateur au Maghreb.

Mots-clés : syndrome d'Omenn, gène RAG, effet fondateur.

■P465 / 648. ENHANCED MISMATCH MUTATION ANALYSIS (EMMA), UNE NOUVELLE MÉTHODE DE DÉTECTION SIMULTANÉE ET À HAUT DÉBIT DE MUTATIONS PONCTUELLES ET DE RÉARRANGEMENTS DE GRANDE TAILLE

J. Weber (1), J. Champ (2, 3), S. Berhouet (2), V. Moncoutier (2), D. Michaux (2), B. Gastaldello (4), F. Bonnet (4), N. Sévenet (4), C. Houdayer (2), D. Stoppa-Lyonnet (2), J.-L. Viovy (3)

(1) Flügent, Paris ; (2) Service de génétique oncologique, Institut Curie, Paris ; (3) Laboratoire de Physico-Chimie-Institut Curie, Paris ; (4) Laboratoire de génétique moléculaire, Institut Bergonié, Bordeaux

Introduction et rationnel : Le criblage de mutations géniques peut s'avérer très fastidieux pour les gènes de grande taille ou ceux présentant de

nombreux variants polymorphes. Le séquençage direct considéré comme méthode de référence reste coûteux et ne présente pas une sensibilité absolue. Ainsi, de nombreux laboratoires préfèrent utiliser une stratégie de pré-criblage des variants suivi de leur séquençage. Parmi les techniques de criblage, la dHPLC était, jusqu'à récemment, la technique semblant offrir le meilleur compromis entre sensibilité, robustesse et coût malgré son faible débit et la nécessité d'une expertise technique. Ainsi, la mise en œuvre de méthodes rapides, fiables, combinant la détection de mutations de petite et de grande taille et nécessitant peu de mise au point permettrait une économie en temps et en coût pour les laboratoires de diagnostic moléculaire, qui font face à une augmentation de la demande de tests génétiques. Nous proposons ici une méthode, EMMA (Enhanced Mismatch Mutation Analysis), permettant de détecter simultanément les mutations ponctuelles et les réarrangements de grande taille (RGT) avec un débit et une productivité très supérieurs à la dHPLC. Matériel et méthodes : La technologie EMMA est basée sur l'analyse d'hétéroduplexes en électrophorèse capillaire. Le développement d'une matrice de séparation spécifique comprenant des additifs permettant d'accroître la résolution a permis d'obtenir une sensibilité compatible avec une utilisation en diagnostic. Une condition unique de séparation permet d'étudier tous les types de fragments de PCR de taille comprise entre 200 et 550pb. L'utilisation du multiplexage en taille, dès l'étape de PCR permet d'analyser environ 1 500 fragments/jour sur un séquenceur comprenant 16 capillaires et de diminuer considérablement le nombre de PCR. Un logiciel dédié permet une analyse rapide et semi-automatisée des résultats. Enfin, EMMA est compatible avec une analyse semi-quantitative permettant de détecter les RGT simultanément aux mutations ponctuelles. Les résultats sont présentés pour le gène BRCA1, dont le criblage par EMMA repose sur l'analyse de 31 fragments répartis en 9 multiplex (au lieu de 35 PCR pour le criblage par dHPLC), avec pour chacun un fragment de référence essentiel à la détection des RGT. Résultats et Discussion : Une validation en aveugle, comparative-ment à la dHPLC (et à la QMPSF pour les RGT), a été réalisée sur l'ADN constitutionnel de 279 patientes de l'Institut Curie, générant 2 511 réactions d'amplification en PCR multiplex (8649 fragments). Cette analyse a été réalisée par une personne en 6 semaines, soit une économie de temps d'analyse d'un facteur supérieur à 3. La totalité des mutations (ponctuelles et RGT) a été détectée. L'analyse des 8 649 fragments a entraîné moins de 5 % de vérifications en EMMA, 1,3 % en séquençage et un taux de faux-positifs inférieur à 0,04 %. Par ailleurs la technique a été implantée avec succès dans un autre laboratoire, le laboratoire de génétique moléculaire (Institut Bergonié) permettant le criblage de la base des témoins positifs BRCA1 (65 mutations ponctuelles et 8 RGT) en 4 jours par une seule personne (288 multiplex ; 992 fragments). De nouveau, toutes les mutations ont été détectées. Le design de cette étude a permis l'élaboration d'une bibliothèque de profils de référence des fragments mutés pour BRCA1, confirmant la reproductibilité de cette technique EMMA. Il est à noter que l'adaptabilité de la technologie EMMA a été facilitée par l'utilisation d'un kit commercial de réactifs de PCR multiplex. Les différentes études de validation menées à l'Institut Curie ou à l'Institut Bergonié sur BRCA1 démontrent la grande sensibilité, le haut débit et la facilité d'adaptation de la technologie EMMA. Au même titre que la dHPLC dans les années 97-98, la technologie EMMA pourrait devenir une méthode de référence de criblage des mutations géniques dans les laboratoires de diagnostic moléculaire.

Mots-clés : technique de criblage, diagnostic, BRCA.

■P466 / 658. IDENTIFICATION D'UNE MUTATION STOP DANS LE GÈNE UPF3B ASSOCIÉE À UNE DÉFICIENCE MENTALE NON SPÉCIFIQUE LIÉE AU CHROMOSOME X

F. Laumonnier (1), C. Cherpi-Antar (1), S. Blesson (2), C. Moraine (1, 2), M. Raynaud (1, 2), The European XLMR consortium

(1) INSERM U619, CHRU Bretonneau, Université François-Rabelais, Tours ; (2) Service de Génétique, CHRU Bretonneau, Tours

La déficience mentale (DM) constitue un problème majeur de santé publique car cette pathologie concerne 1 à 2 % de la population générale. De récentes avancées ont permis de mieux comprendre les bases physiopathologiques associées aux formes génétiques de DM. Plus de 60 gènes de DM liée au chromosome X (DMX) ont maintenant été identifiés, et les protéines en cause sont impliquées dans de très nombreux processus intracellulaires différents. Parmi les gènes récemment caractérisés dans les DMX, le gène UPF3B, localisé en Xq25, a été impliqué dans 4 familles, sur les 250 familles testées par une équipe anglaise (Tarpey et al., 2007). Trois mutations tronquantes différentes ont été identifiées dans 2 familles de syndrome de Lujan-Fryns et 1 famille de syndrome FG, une mutation faux-sens a été mise en évidence dans une famille de DMX non spécifique. Des troubles autistiques étaient associés chez certains patients. Le gène



UPF3B, qui code pour une protéine impliquée dans le complexe intervenant dans la dégradation des ARNs comportant un codon stop prématuré (Nonsense Mediated Decay, NMD), semble avoir ainsi un impact majeur dans les fonctions cognitives. Afin d'évaluer l'implication plus large d'*UPF3B* dans les DMX, des mutations de ce gène ont été recherchées au sein de la cohorte de familles collectée par le « European XLMR consortium ». Nous avons sélectionné les familles du consortium pour lesquelles le territoire de liaison génétique contenait la région Xq25, soit 32 familles. Il s'agissait à la fois de familles de DM syndromique et de familles de DM non spécifique. L'amplification par PCR et le séquençage systématique de chaque exon codant du gène *UPF3B* ont été effectués. Dans le cas de l'identification d'une mutation, une RT-PCR quantitative est pratiquée afin de vérifier l'impact potentiel sur l'expression du transcrit. Dans une famille française comprenant 9 garçons atteints de DM légère à moyenne sans autre signe associé, nous avons pu identifier une mutation (c.1083C>T) localisée dans le 10^e exon qui aboutit à la formation d'un codon stop prématuré en position 361 (Arg361X), alors que la protéine normale comporte 483 acides aminés. L'analyse de l'ADN de 48 membres de cette famille indique que cette mutation co-ségrège avec la pathologie dans la famille. Le profil d'inactivation du chromosome X chez les femmes conductrices indique une déviation modérée à complète, de la même manière que dans les familles décrites par Tarpey *et al.* Afin de vérifier le caractère délétère de la mutation, des expériences de RT-PCR quantitative et de Western-blots sont en cours. De façon intéressante, des observations à partir d'analyses en siRNA ont montré qu'*UPF3B* régulait l'expression de protéines postsynaptiques comme GRIK2 et SHANK3, elles-mêmes impliquées dans la DM et l'autisme (Chan *et al.*, 2007). Notre étude, basée sur l'analyse de 32 familles, a confirmé l'implication de ce gène dans les DMX et met en évidence une mutation tronquante dans une famille de DM non spécifique. La poursuite de l'analyse de toutes les familles du consortium (350) permettra d'estimer l'importance de ce gène dans les causes des DMX. Tarpey *et al.* (2007) Nat Genet 39, 1127-1133. Chan WK *et al.* (2007) EMBO J 26, 1820-1830.

Mots-clés : déficience mentale, chromosome X, perte de fonction.

■P467 / 670. MUTATIONS DU GÈNE DU RÉCEPTEUR DE LA PROKINETICINE (*PROKR2*) DANS L'ANOSMIE CONGÉNITALE ISOLÉE

L. Tavernier (1), L. Villoing (2), P. Bonfils (3), N. de Roux (2, 4)
(1) Service ORL, CHU de Besançon; (2) Laboratoire de Biochimie et Hormonologie, Hôpital Robert-Debré, Paris; (3) Service ORL, HEGP, Paris; (4) INSERM U690, Hôpital Robert-Debré, Paris

L'anosmie congénitale est définie par l'absence de tout souvenir olfactif dont la plus connue est celle du syndrome de Kallmann qui associe déficit gonadotrope et anosmie. Le lien physiopathologique entre déficit gonadotrope et anosmie est expliqué par l'agénésie des bulbes olfactifs observée dans ce syndrome, agénésie responsable de la perte de l'odorat et du défaut de migration des neurones à GnRH de la placode olfactive vers l'hypothalamus. Des mutations perte de fonction de plusieurs gènes (*FGFR1*, *ProK2* et *ProKR2*) sont maintenant décrites dans le syndrome de Kallmann avec transmission autosomale dominante alors que les cas sporadiques d'anosmie congénitale isolée avec agénésie du bulbe olfactif sans déficit gonadotrope reste inexpliquée. Nous avons testé l'hypothèse que des mutations des gènes *FGFR1*, *ProKR2* et *ProK2* pourraient être responsables de cette forme d'anosmie congénitale. 16 cas d'anosmie congénitale diagnostiquée chez des adultes ont été inclus dans cette étude. Aucun patient n'avait connaissance de retard pubertaire ou déficit gonadotrope dans sa famille. Le bilan hormonal était normal chez tous les patients. Les exons des gènes *FGFR1*, *ProK2* et *ProKR2* ont été séquencés et comparés à une population témoin. Aucune mutation n'a été trouvée dans le gène *FGFR1*. Deux mutations ponctuelles homozygotes de *ProKR2* ont été trouvées chez deux patients. L'analyse familiale suggère une transmission récessive. *ProKR2* est le récepteur de la prokinétine. Il appartient à la super famille des récepteurs couplés aux protéines G. L'analyse fonctionnelle des mutations est en cours. Ces résultats indiquent qu'il faut analyser les gènes du syndrome de Kallmann en cas d'anosmie sporadique isolée sans déficit gonadotrope connu chez le patient ou dans sa famille. Ils suggèrent de nouvelles hypothèses sur les mécanismes de migration des neurones à GnRH durant l'embryogénèse.

Mots-clés : anosmie, *ProKR2*, neurones GnRH.

■P468 / 673. CARACTÉRISATION FONCTIONNELLE DE TROIS NOUVELLES MUTATIONS FAUX-SENS DU GÈNE *SLC40A1* (HÉMOCHROMATOSE DE TYPE 4)

E. Létocart (1), C. Ka (1), G. Isabelle (1), H. Fierens (2), W. Wuyts (2), S. Majore (3), G. Le Gac (1), C. Férec (1)

(1) Inserm, U613, France; (2) Hôpital universitaire, Antwerp, Belgique; (3) Hôpital Camillo-Forlanini, Rome, Italie

Introduction : La connaissance des bases génétiques et physiopathologiques de l'hémochromatose (HC) a fortement évolué au cours des sept dernières années. Au-delà de la description d'une hétérogénéité génétique, qui associe une forme principale liée au gène *HFE* (HC de type 1) et quatre formes rares liées aux gènes *HJV* (HC de type 2A), *HAMP* (HC de type 2B), *TFR2* (HC de type 3) et *SLC40A1* (HC de type 4), on reconnaît aujourd'hui l'existence d'une convergence fonctionnelle. Celle-ci s'articule autour de la production hépatique de l'hepcidine et de la capacité de ce peptide circulant à limiter la quantité de fer plasmatique. Le gène *SLC40A1* code la ferroportine, une protéine membranaire qui permet d'exporter le fer contenu dans les macrophages (fer issu du catabolisme des globules rouges), les entérocytes (du fer d'origine alimentaire) et les hépatocytes (fer mis en réserve) vers le compartiment sanguin. En cas d'excès de fer, l'activité de cette protéine est inhibée par l'hepcidine selon un mécanisme d'internalisation et de dégradation lysosomale. De façon remarquable, les mutations du gène *SLC40A1* permettent de définir deux classes fonctionnelles. Elles correspondent respectivement à une perte ou à un gain de fonction (résistance à l'hepcidine) et permettent de rendre compte d'une part importante de la variabilité phénotypique observée. But de l'étude : Il s'agit de démontrer l'association de trois nouvelles variations du gène *SLC40A1* avec des phénotypes de surcharge en fer au travers d'analyses fonctionnelles. Patients et méthodes : Les trois variations analysées sont privées. Elles ont respectivement été identifiées chez un patient belge, un patient italien et une patiente originaire de Côte d'Ivoire. Les tests fonctionnels ont porté sur des techniques de localisation cellulaire (par fragmentations membranaires et western-blottings) et de mesure des flux de fer en présence et en absence d'hepcidine (de manière directe, en utilisant du ⁵⁵Fe, et indirecte, en dosant les quantités de ferritine intracellulaire). Résultats : Les premières expériences réalisées permettent de conclure que les trois protéines mutantes testées sont correctement adressées à la membrane plasmique et qu'elles sont capables d'exporter le fer intracellulaire de façon comparable à la protéine de type sauvage. Nous testons actuellement la proportion de ces protéines à résister à l'action de l'hepcidine. Conclusion : Toutes les mutations décrites sur le gène *SLC40A1* sont rares ou privées et une majorité de ces mutations conduisent à des changements d'acides aminés. En développant des tests fonctionnels notre objectif à court terme était de démontrer la causalité de trois variations originales. À plus long terme, d'autres variations seront analysées et de nouveaux tests seront mis en œuvre. L'ensemble pourrait apporter de nouveaux éclairages sur la relation structure/fonction qui implique l'hepcidine et la ferroportine et qui constitue un élément clé dans le maintien de l'homéostasie du fer.

Mots-clés : hémochromatose, ferroportine, hepcidine.

■P469 / 678. OPTIMISATION DES CONDITIONS PRÉ-ANALYTIQUES ET ANALYTIQUES POUR LA DÉTERMINATION PAR PCR QUANTITATIVE DU GÉNOTYPE RHÉUS FŒTAL SUR L'ADN CIRCULANT DANS LE SANG MATERNEL

C. Petit (1), F. Gehin (1), S. Cristinelli (2), L. Zimbris (2), V. Petit (1)
(1) Laboratoire LEFAURE & PETIT, Épinal; (2) Maternité Arc-en-Ciel, Épinal

Introduction : La prévention systématique de la maladie hémolytique du nouveau-né propose désormais, pour toute femme enceinte rhésus négatif, une injection systématique d'immunoglobuline anti-D au 8^e mois. Dans cette stratégie, la détection du génotype rhésus fœtal par amplification du gène *RHD* à partir de l'ADN fœtal circulant dans le sang maternel peut permettre d'éviter une injection qui s'avère en fait inutile si le fœtus est rhésus négatif, soit 40 % des cas. Si la plupart des études converge maintenant en faveur d'une amplification des exons 4, 5, 7 et 10 du gène *RHD* afin de garantir une sensibilité de détection de 100 %, plusieurs études ont également cherché à limiter la lyse des cellules maternelles non seulement par un protocole de centrifugation progressive mais aussi par l'ajout de formaldéhyde. L'ajout de formaldéhyde pourrait en effet, en fixant les cellules sanguines maternelles, éviter la rupture des membranes plasmiques avant et pendant la centrifugation, améliorant ainsi le pourcentage d'ADN fœtal jusqu'à 50 %. Nous avons cherché dans cette étude à optimiser les conditions préanalytiques permettant de limiter les contaminations maternelles : outre l'intérêt de l'ajout du formaldéhyde qui nécessitait d'être confirmé, nous avons évalué les possibilités de limiter la lyse des éventuelles cellules maternelles résiduelles dans le surnageant après la centrifugation progressive en éliminant l'étape de digestion enzymatique par la protéinase K lors de l'extraction de l'ADN. Matériel et méthode : L'optimisation de l'extraction d'ADN fœtal a été réalisée par amplification des gènes *SRY* et *BGLOB* sur du sang de 58 femmes enceintes de garçon

prélevé juste avant la naissance avec consentement de la patiente (Âge gestationnel moyen : 39,8 s). Après centrifugation progressive, l'extraction d'ADN a été réalisée à partir de 400 µL de plasma maternel sur colonne QIAamp® DNA Mini (Quiagen). Le protocole de PCR quantitative du gène *RHD* a été évalué à partir de l'ADN fœtal circulant dans le sang de 49 patientes enceintes Rh-négatif à différentes semaines d'aménorrhée avec une amplification à l'aide de sondes Taqman® de quatre exons du gène *RHD* : l'exon 4, 5, 7 et 10. La corrélation des résultats des génotypes rhésus fœtaux a pu être vérifiée avec le phénotype rhésus déterminé lors du groupe sanguin effectué à la naissance au laboratoire. (Âge gestationnel moyen : 30,2 s). Résultats : Le nombre de copies du gène de la β -globuline est clairement diminué par l'ajout d'une solution de formaldéhyde 0.1 % avec une diminution de près de 15 % du taux de contamination (B-GLOB/SRY). En revanche, l'élimination de la protéase K apporte certes une diminution des copies de BGLOB, mais le nombre de copies du gène fœtal détecté diminue également fortement (chute de sensibilité de 40 %). Contrairement aux exons 7 et 10 parfaitement spécifiques, une amplification des exons 4 et 5 est observée respectivement dans 88 % et 92 % des patients Rh négatif du fait de l'importante homologie entre le gène *RHCE* et *RHD*. En revanche, la sensibilité respective des exons 7 et 10 de 83,7 % et 73,5 % impose une amplification conjointe de ces deux exons pour éviter tout faux négatif. Le génotype fœtal a ainsi pu être déterminé pour les 49 femmes testées, jusqu'à un âge gestationnel minimum observé de 12,5 semaines, avec une corrélation de 100 % au phénotype à la naissance. Conclusion : Notre étude confirme l'intérêt de l'ajout de formaldéhyde dès le prélèvement sanguin. En revanche, l'élimination de la digestion à la PK lors de l'extraction diminue certes la contamination maternelle mais diminue également l'accessibilité de l'ADN fœtal pour l'amplification. Si les deux exons 4 et 5 ne présentent pas d'intérêt pour le génotypage Rh D en raison de leur manque de spécificité, la sensibilité des exons 7 et 10 n'est pas de 100 % et leur amplification concomitante apparaît indispensable, avec en outre une vérification à distance en cas de résultat négatif.

Mots-clés : rhésus, ADN fœtal, PCR.

■P470 / 689. LA GÉNÉTIQUE DE L'ALBINISME OCULO-CUTANÉ : RÉSULTATS MOLÉCULAIRES DANS UNE COHORTE EUROPÉENNE ET AFRICAINE

C. Rooryck (1, 2), F. Morice (2, 3), S. Naudion (2), V. Bubien (2), C. Plaisant (2), D. Lacombe (1, 2), A. Taieb (3), B. Arveiler (1, 2)
(1) Laboratoire de Génétique Humaine, Université Victor-Segalen, Bordeaux-2, Bordeaux ; (2) Service de Génétique Médicale, Hôpital Universitaire Pellegrin-Enfants, Bordeaux ; (3) Service de Dermatologie Pédiatrique, Hôpital Universitaire Pellegrin-Enfants, Bordeaux

Introduction : L'albinisme oculocutané (AOC) est une maladie de transmission autosomique récessive caractérisée par une hypopigmentation de la peau, des phanères, et des yeux (iris, rétine). Elle entraîne des troubles ophtalmologiques à type de nystagmus, baisse d'acuité visuelle, photophobie, strabisme, et une prédisposition de la peau aux cancers cutanés. Sa prévalence générale mondiale est de 1/20 000. Quatre gènes sont impliqués dans les quatre types connus d'AOC non syndromique : *TYR* en 11q14.3 dans l'AOC1, *OCA2* en 15q11.2 dans l'AOC2, *TYRP1* en 9p23 dans l'AOC3, et *SLC45A2* (MATP) en 5p13.3 dans l'AOC4. Matériel et Méthodes : Nous avons étudié une cohorte de 62 patients atteints de différents types d'AOC et provenant de plusieurs pays européens et africains. L'analyse moléculaire des quatre gènes de l'AOC comprend la recherche de délétion intragénique par PCR semi-quantitative (QMF-PCR) et la recherche de mutation ponctuelle par séquençage direct (*TYR*) ou par DHPLC suivie du séquençage des variants (*OCA2*, *TYRP1*, *SLC45A2*). Résultats : Nous avons identifié de nouvelles mutations dans les quatre gènes : 8 mutations ponctuelles dans *TYR*, 10 dans *OCA2*, 4 dans *TYRP1* et 4 dans *SLC45A2*. Des délétions ont également été identifiées : une délétion hétérozygote englobant tout le gène *TYR*, de nouvelles délétions intragéniques homozygotes ou hétérozygotes englobant un ou plusieurs exons du gène *OCA2*, une délétion hétérozygote d'un exon du gène *MATP*. Une délétion comprenant *OCA2* et *UBE3A* a été identifiée chez un patient turc présentant un AOC et un syndrome d'Angelman. Nous avons détecté deux mutations de *TYRP1* chez un patient Caucasiens, alors que des mutations de ce gène étaient jusqu'alors seulement identifiées chez des Africains. Discussion : Cette étude nous a permis de réévaluer la fréquence mondiale des mutations pour chaque gène d'AOC. Parmi les allèles mutés, les mutations dans *TYR* étaient prédominantes (44 %), puis *OCA2* (38 %) *MATP* (13 %) et *TYRP1* (5 %). L'étude systématique de *MATP* a permis de mettre en évidence une prévalence plus élevée des mutations dans ce gène par rapport aux données actuelles de la littérature. 70 % de patients sont homozygotes ou hétérozygotes composites, 24 % sont porteurs d'une seule mutation et 6 % n'ont aucune mutation identifiée. Ces observations mènent à

deux hypothèses : soit les mutations non identifiées sont dans des régions encore non explorées des gènes (tels que les introns ou les éléments régulateurs) soit il existe d'autres gènes d'AOC non connus à ce jour. Enfin, deux patients présentant trois mutations dans deux gènes différents nous font suggérer une possible hérédité triallélique.

Mots-clés : albinisme oculocutané, tyrosinase, hypopigmentation.

Modèles cellulaires et animaux

■P471 / 244. UTILISATION DU MODÈLE CANIN POUR RECHERCHER DE NOUVEAUX GÈNES IMPLIQUÉS DANS L'ÉPILEPSIE

A. Grall (1), L. Herbin (1), B. Hédan (1), M. Beldame (1), C. Hitte (1), A. Thomas (2), C. Escrivo (3), F. Galibert (1), C. André (1)
(1) Laboratoire de Génétique et Développement, UMR 6061 CNRS/Université de Rennes I ; (2) Antagene, Laboratoire de Génétique Animale, Limonest ; (3) Unité de Médecine, Neurologie, École Nationale Vétérinaire de Lyon

Le chien, par le grand nombre de races distinctes se comportant chacune comme un isolat génétique, représente un puissant modèle pour identifier les gènes et les allèles responsables d'affections génétiques homologues à celles de l'homme. En effet, la plupart des maladies génétiques canines ont leur équivalent chez l'homme, elles sont spécifiques de race et ségrégent avec une incidence élevée. L'épilepsie représente le désordre neurologique le plus répandu dans l'espèce canine avec 5 % de chiens atteints, répartis dans plus de cinquante races. La forte prévalence de l'épilepsie dans certaines races, atteignant des fréquences supérieures à 20 %, laisse supposer une origine génétique. L'hypothèse est que chaque race ou petit groupe de races développe une forme d'épilepsie liée à une cause génétique spécifique provenant d'une mutation fondatrice au moment de la création de la race. Ainsi, l'étude des bases moléculaires de l'épilepsie dans ces différentes races canines permettrait d'enrichir le nombre de gènes candidats pour des épilepsies humaines dont les bases génétiques sont encore inconnues. La découverte récente de l'implication du gène *EPMB2B* dans la maladie de Lafora chez l'homme (forme d'épilepsie myoclonique progressive) et dans l'épilepsie affectant le Teckel miniature à poil dur démontre l'intérêt de ce modèle. Dans ce but, nous collectons l'ADN de chiens épileptiques de plusieurs races et avons constitué une famille de plus de 100 Grands Bouviers Suisses comportant 11 chiens atteints d'une forme d'épilepsie primaire de type « grand mal » à déclaration précoce (entre 2 et 4 ans). La physiopathologie et l'épidémiologie de cette affection chez le Grand Bouvier Suisse est en cours d'étude, ainsi que le mode de ségrégation qui semble monogénique récessif. Disposer d'une grande famille avec des fratries complètes comportant des chiens sains et atteints a permis d'entreprendre une analyse de liaison génétique avec 300 marqueurs microsatellites polymorphes, répartis selon un intervalle de 10 Mb sur la totalité des chromosomes canins. En parallèle, les gènes déjà identifiés dans différentes épilepsies chez l'homme ont été répertoriés de façon à corréler, le cas échéant, leur localisation avec le ou les locus candidats de cette étude. En complément, un criblage génomique d'une cinquantaine de chiens de cette famille est en projet, grâce à l'utilisation de puces SNP permettant simultanément l'analyse allélique de 44 000 marqueurs canins de type SNP (Single Nucleotide Polymorphism). Ces deux approches complémentaires permettront de déterminer, puis de réduire significativement le locus candidat jusqu'à l'identification du gène et ou de la mutation causale.

Mots-clés : modèle canin, liaison génétique, épilepsie.

■P472 / 314. EXPLORATION DU MODÈLE MURIN KNOCK-IN *LMNA* R298C/R298C, ET PERSPECTIVES SUR LA PRÉSENCE D'UN DOMAINE LEUCINE-ZIPPER DANS LES LAMINES

Y. Poitelon (1), T. Hamadouche (1), C. Baubot (1), M. Jamon (1), V. Andrés (2), N. Levy (1, 3), V. Delague (1)
(1) UMR910, Génétique Médicale et Génomique Fonctionnelle, Faculté de Médecine de la Timone, Marseille, France ; (2) Laboratory of Vascular Biology, Instituto de Biomedicina de Valencia, Valencia, Spain ; (3) Département de Génétique Médicale, Hôpital d'enfants de la Timone, Marseille, France

Le gène *LMNA* code pour les Lames de type A, dont les deux isoformes majeures sont les Lames A et C. Ces protéines ubiquitaires sont les principaux constituants de la lamina nucléaire, réseau filamenteux accolé à la face interne de la membrane nucléaire. Onze pathologies ont été associées à des mutations du gène *LMNA*. Elles sont regroupées sous le terme de laminopathies, et peuvent être des affections systémiques ou bien spécifiques d'un seul tissu. La maladie de Charcot-Marie-Tooth de type 2B1,



polyneuropathie périphérique axonale à transmission autosomique est l'une de ces laminopathies : elle est due à la mutation c.892C>T dans l'exon 5 (p. Arg298Cys) du gène *LMNA*. Cette mutation est actuellement la seule à provoquer une neuropathie de façon isolée. Afin de mieux comprendre les mécanismes physiopathologiques spécifiques de cette neuropathie, nous avons utilisé deux modèles : un modèle cellulaire (lymphoblastes et fibroblastes de patients en culture), et dans un second temps, un modèle murin Knock-In porteur de la mutation *LMNA* c.892C>T. L'étude de l'expression génique par RTQ-PCR au sein des lymphoblastes de patients CMT2B1, a pu mettre en évidence une diminution de l'expression du gène *LMNA*. Cette diminution a été confirmée, au niveau protéique, par la méthode semi-quantitative du Western Blot, mais également au niveau transcriptionnel dans différents tissus murins extraits de souris KI *LMNA*R298C/R298C : cœur, muscle strié squelettique et SNC. D'autre part, nous avons réalisé une étude *in silico*, et montré la présence d'un domaine de type Leucine Zipper putatif à proximité dans le domaine coil2 des Lames de type A, domaine fonctionnel important pour la polymérisation des filaments intermédiaires. La mutation responsable de CMT2B1, située près d'une Leucine de ce domaine, aurait un effet perte de fonction, diminuant l'interaction entre les Lames de type A et d'autres protéines, probablement des facteurs de transcription spécifiques du nerf. De plus, plusieurs publications antérieures ont montré que les Lames de type A interagissent avec le facteur de transcription c-Fos, une protéine qui possède un domaine Leucine Zipper. En outre, le promoteur du gène *LMNA* est en partie contrôlé par le complexe AP1, composé de c-Jun et c-Fos. Nous proposons donc un mécanisme pathophysiologique en 2 points :

- La mutation p.Arg298Cys déstabilise le complexe formé par les Lames de type A et d'autres protéines impliquées dans la transcription, qui peuvent être les composants d'AP1, mais également d'autres facteurs de transcription spécifique du nerf, qui restent à identifier.
- L'expression du gène *LMNA* semble être contrôlée par un complexe AP1-Lames, dont la formation semble être déstabilisée dans les formes mutées par la mutation p.Arg298Cys. Les expériences *in-vitro* que nous menons actuellement tendent à valider ces hypothèses.

Mots-clés : Lamine, Neuropathie, Charcot-Marie-Tooth.

■P473 / 471. MÉCANISMES DE LA HYALINOSE SEGMENTAIRE ET FOCAL DANS UN MODÈLE MURIN DE SYNDROME NÉPHROTIQUE APRÈS INACTIVATION DE LA PODOCINE DANS LE REIN MATURE

O. Boyer (1, 2, 3), G. Mollet (1, 2), A. Onetti Muda (1, 4), L. Morisset (1, 2), T. Aguirre Lavin (1, 2), J. Ratelade (1, 2), M.-C. Gubler (1, 2), L. Bugeon (5), C. Antignac (1, 2, 6), E. L. Esquivel (1, 2)

(1) Inserm U574, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris ; (2) Université Paris Descartes, Faculté de Médecine, Paris ; (3) Service de Néphrologie Pédiatrique Hôpital Necker-Enfants Malades, AP-HP, Paris ; (4) Department of Experimental Medicine and Pathology, University of Rome La Sapienza, Rome, IT ; (5) Department of Biological Sciences, Imperial College London, London, SW7 2AZ, UK ; (6) Service de Génétique Médicale, Hôpital Necker-Enfants Malades, AP-HP, Paris

Introduction. Des mutations du gène *NPHS2*, codant la podocine, conduisent au syndrome néphrotique cortico-résistant autosomique récessif. Cette pathologie est caractérisée par l'apparition d'un syndrome néphrotique en règle avant l'âge de 5 ans avec des lésions de hyalinose segmentaire et focale (HSF), une résistance aux corticoïdes, une évolution rapide vers l'insuffisance rénale terminale et l'absence de récurrence après transplantation. Chez la souris, l'inactivation de *nphs2* entraîne des lésions rénales de sclérose mésangiale diffuse et des lésions vasculaires. Ces souris décèdent dans les 5 premières semaines de vie, ce qui empêche l'étude du rôle de la podocine dans le rein mature. **Méthodes.** Afin d'élucider le rôle de la podocine dans le rein murin mature et de préciser les mécanismes à l'origine des lésions de HSF, nous avons généré un nouveau modèle d'inactivation conditionnelle de la podocine, spécifique du podocyte, chez les souris adultes, dans des fonds génétiques mixte (C57BL6 :129sv :DBA :B6SJL) et FVB/N, en utilisant le système Cre-loxP inducible par le tamoxifène. **Résultats.** Après administration de tamoxifène chez les souris *Nphs2* flox/+, Cre+ de fonds génétiques mixte, l'expression de la Cre recombinase est détectée dans 88 % des glomérules et dans 60-70 % des podocytes. Dès la première semaine, l'expression de la podocine est diminuée de 50 % dans les glomérules, conduisant à l'apparition d'une albuminurie sélective après 10 à 16 jours. Celle-ci progresse vers une protéinurie non sélective en 4 semaines, associée à une hypertension artérielle et à une insuffisance rénale, et le décès survient dans un délai médian de 11 semaines. En microscopie optique, les reins paraissent normaux à 2 semaines, et une HSF s'installe progressivement en 4 semaines. En revanche, la microscopie électronique révèle un effacement

partiel des pieds des podocytes dès la première semaine avant l'apparition d'une protéinurie détectable. À 2 semaines, cet effacement s'étend alors que la protéinurie apparaît. L'immunomarquage de la podocine à l'or colloïdal montre que l'effacement des pédicelles survient même dans des podocytes qui expriment encore la podocine, mais qui semble alors délocalisée dans le cytoplasme. L'analyse du profil d'expression des gènes glomérulaires par puces à ADN montre une surexpression précoce de gènes impliqués dans le remodelage du cytosquelette d'actine qui pourrait être à l'origine de l'effacement des pédicelles. De plus, une expression différentielle de nombreux gènes intervenant dans la régulation du cycle cellulaire et de la prolifération comme les cyclines, est observée dès la phase précoce, 1 et 2 semaines après l'inactivation de *Nphs2*. Ceci est corrélé avec les résultats de l'immunohistochimie qui retrouve par un marquage au Ki-67 une prolifération cellulaire significative. Enfin, quatre semaines après l'inactivation de la podocine, la voie moléculaire la plus perturbée est celle du TGF-beta qui est surexprimé. Ceci renforce la validité de notre modèle puisque ce facteur de croissance joue un rôle central dans l'induction de la fibrose rénale. D'autre part, le phénotype des souris de fonds FVB/N est plus sévère que celui des souris de fonds mixte avec une médiane de décès de 6 semaines, et des paramètres biochimiques et histologiques plus précocement perturbés. **Conclusions.** Nous avons caractérisé un nouveau modèle d'inactivation de la podocine spécifique du podocyte dans le rein murin adulte et de HSF, et nous avons démontré sa validité. Ce modèle révèle un rôle majeur de la prolifération dans la progression des lésions rénales chez la souris, et montre que le remodelage des pédicelles précède l'albuminurie. La plus grande sévérité du phénotype chez les souris FVB/N suggère le rôle de gènes modificateurs. Enfin, ce modèle, qui reproduit la pathologie humaine pourra permettre de tester de nouvelles cibles thérapeutiques.

Mots-clés : podocine, syndrome néphrotique, maladie rénale.

■P474 / 506. LA LEVURE, MODÈLE POUR CRIBLER DES MOLÉCULES ACTIVES CONTRE DES MALADIES MITOCHONDRIALES & POUR L'EXPLORATION DE LEUR MÉCANISMES D'ACTION

É. Couplan (1), M. Rak (2), R. Kucharczyk (2), N. Desban (1), J.-P. di Rago (2), Marc Blondel (1)

(1) INSERM U613, Faculté de Médecine et des Sciences de la Santé, 22 avenue Camille Desmoulins, Brest ; (2) IBGC, CNRS-UMR5095, 1 rue Camille Saint-Saëns, Bordeaux

Les maladies mitochondriales sont dites « maladies rares » quand elles sont considérées individuellement. Cependant, elles sont non négligeables d'un point de vue statistique si l'on considère qu'il existe plus d'une centaine de ces maladies connues à ce jour. Aucun traitement efficace n'est disponible pour guérir ces maladies. NARP (Neuropathy, Ataxia and Retinitis Pigmentosa) et MILS (Maternally Inherited Leigh's Syndrome) sont des maladies mitochondriales associées à des mutations ponctuelles du gène mitochondrial *MTATP6* codant pour la sous-unité 6 de la F1F0-ATPase. La mutation NARP/MILS la plus courante et la plus étudiée correspond à la mutation T8993G qui convertit la leucine 156 très conservée en arginine. L'équipe de Jean-Paul di Rago a introduit cette mutation dans un site équivalent du gène codant pour la protéine Atp6p chez la levure *Saccharomyces cerevisiae*. Ce modèle T8993G NARP de levure croît très lentement sur un substrat respiratoire, du fait d'une déficience sévère dans la production d'ATP par la F1F0-ATPase. Dans notre laboratoire, nous avons récemment mis au point un criblage pour sélectionner des molécules capables de compenser les déficiences du mutant afin d'isoler des molécules pharmacologiques potentiellement actives contre la maladie NARP. Après le criblage de près de 10 000 molécules issues de chimiothèques disponibles dans notre laboratoire, une vingtaine de molécules capables de restaurer la croissance du mutant T8993G NARP de levure sur un substrat respiratoire ont été isolées. Ces composés actifs sur le mutant T8993G NARP de levure améliorent également la croissance respiratoire d'autres mutants de levure (les mutants NARP T8851C et T9176G et le mutant *fmcl*?, un mutant thermosensible permettant l'assemblage de la F1F0-ATPase). Nous nous attachons maintenant à mesurer les paramètres bioénergétiques des souches mutantes NARP sur cellules entières et sur mitochondries isolées après traitement ou non avec les différentes drogues actives (mesures de la respiration, de la production et de l'hydrolyse de l'ATP...). De plus, notre principal intérêt actuel est de valider l'efficacité de ces molécules (isolées sur le modèle levure) sur d'autres modèles pour la pathologie d'intérêt (NARP/MILS) tels que les cellules de mammifères. Au laboratoire, l'effet de nos composés sur des fibroblastes issus de patients NARP est en cours de test et prochainement, une collaboration devrait nous permettre d'utiliser des cybrides NARP (lignées cellulaires dérivées de cellules de patients). Ce criblage NARP constitue aussi une

sorte de preuve de principe dans la recherche de molécules actives contre les maladies mitochondriales. La levure ayant été largement utilisée pour l'étude des maladies mitochondriales, un certain nombre de modèles levure de ces maladies sont disponibles ou réalisables afin de généraliser notre approche. De plus, après le criblage et la validation des composés actifs sur d'autres modèles, les molécules les plus prometteuses seront modifiées par des chimistes afin de synthétiser des dérivés chimiques présentant une meilleure efficacité et/ou de moindres effets secondaires. Par ailleurs, une approche de « criblage inverse » sera développée afin d'identifier les facteurs cellulaires interagissant avec ces composés chimiques afin d'appréhender leurs mécanismes d'action. Considérant qu'aucune thérapie causale (traitant directement le gène impliqué) n'est disponible aujourd'hui pour traiter les maladies mitochondriales, notre projet de criblage de molécules apparaît ainsi comme prometteur pour la découverte de nouvelles thérapies contre certaines de ces maladies. Enfin, le but de ce projet, en plus de la découverte de nouvelles molécules thérapeutiques contre les maladies mitochondriales, est d'identifier les cibles des composés actifs et ainsi de mieux comprendre les voies de signalisation moléculaires et cellulaires impliquées dans ces pathologies.

Mots-clés : mitochondrie levure criblage.

■P475 / 533. ANALYSES DIAGNOSTIQUES ET FONCTIONNELLES DANS LES DYSFERLINOPATHIES PAR CYTOMÉTRIE DE FLUX ET IMMUNOMARQUAGE SUR MONOCYTES

N. Wein (1), M. Krahn (2), S. Courrier (3), K. Nguyen (2), V. Labelle (2), D. Depetris (1), F. Leturcq (2), P. Cau (1), N. Levy (1, 2)

(1) INSERM U910, Génétique médicale et génomique fonctionnelle, Faculté de Médecine de Marseille, France ; (2) Département de Génétique Médicale, Hôpital d'enfants de la Timone, Marseille, France ; (3) Centre d'Enseignement et de Recherche en Génétique médicale, Faculté de Médecine de Marseille, France

Introduction : Les Dysferlinopathies primaires constituent une des causes les plus fréquentes de dystrophie musculaire des ceintures (Limb Girdle Muscular Dystrophies, LGMD). Elles comprennent trois entités nosologiques différentes nommées LGMD2B (OMIM 253601), la Myopathie distale de Miyoshi (Miyoshi myopathy, MM) (OMIM 254130), et la myopathie des compartiments antérieurs distaux (Distal Anterior Compartment Myopathy, DACM) (OMIM 606768), toutes de transmission autosomique récessive. Ces pathologies sont causées par des mutations dans le gène *DYSF*, codant pour la Dysferline, une protéine centrale dans le processus de réparation de la membrane musculaire. L'analyse de la Dysferline par Western blot, sur extraits protéiques de tissu musculaire ou de monocytes sanguins, est une étape essentielle pour orienter le diagnostic. La confirmation diagnostique est alors basée sur l'analyse mutationnelle du gène *DYSF*. **Résultats et Discussion :** Développement de nouvelles approches diagnostiques : Nous avons mis au point l'immunomarquage de la Dysferline sur monocytes issus de sang périphérique. Dans des monocytes de sujets témoins, la Dysferline est majoritairement présente à la membrane plasmique, alors qu'aucun marquage n'a été observé sur monocytes de patients atteints de Dysferlinopathie primaire. Par ailleurs, nous développons actuellement un nouveau test diagnostique utilisant la cytométrie de flux. Ce test permet de détecter très rapidement la présence ou l'absence de Dysferline à partir de seulement 100 µl de sang périphérique, jusqu'à 36 heures après le prélèvement. Nos résultats, certes préliminaires permettent cependant de corréler la présence ou l'absence de Dysferline par cette approche, avec les résultats obtenus en western blot d'une part et l'absence ou la présence, voire le type de mutations détectées d'autre part. L'inclusion de patients supplémentaires est actuellement en cours pour valider cette nouvelle méthode diagnostique. Utilisation du monocyte comme modèle d'études fonctionnelles de la dysferline : Dans le muscle squelettique, la Dysferline joue un rôle dans la réparation du sarcolemme, lésé par les contractions musculaires, via l'exocytose de vésicules. L'immunomarquage de la Dysferline en condition de stress mécanique, sur monocytes de sujets témoins, montre une localisation principalement cytoplasmique. La Dysferline pourrait donc également jouer un rôle dans le trafic membranaire du monocyte, en particulier dans l'exocytose compensatoire de membrane après phagocytose. Ce phénomène pourrait être altéré dans les monocytes de patients atteints de Dysferlinopathie, même si à ce jour aucune anomalie du système immunitaire n'a été mise en évidence dans cette pathologie. En effet, un défaut éventuel de phagocytose du monocyte pourrait être compensé par d'autres types cellulaires. Nous avons mis au point un test de phagocytose de bactéries fluorescentes à partir de sang total utilisant la cytométrie de flux. Ce test permet de comparer le nombre de bactéries fluorescentes ingérées par les monocytes provenant de patients par rapport à ceux provenant de sujets témoins. Ce test effectué sur monocytes de patients, n'a pas permis d'observer d'anomalies de la phagocytose.

Nous développons actuellement une méthode complémentaire pour explorer ce phénomène dans le monocyte. **Conclusion :** Le monocyte apparaît comme un bon modèle pour des études fonctionnelles de la Dysferline. De plus, ce modèle, facile à obtenir, permet une étude simple et rapide de l'expression de la Dysferline en cytométrie de flux. Cette méthode pourrait être adaptée, dans le futur, en routine diagnostique hospitalière.

Mots-clés : dysferline, monocytes, cytométrie de flux.

■P476 / 570. UN MODÈLE MURIN DE SCLÉROSE MÉSANGIALE DIFFUSE DÉVELOPPE UNE GLOMÉRULONÉPHRITE EXTRA-MEMBRANEUSE

L. Heidet (1, 2, 3), C. Mroz (1, 2), A. O. Muda (1), C. Antignac (1, 2, 3, 4), M.-C. Gubler (1, 2, 3)

(1) Inserm U574, Hôpital des Enfants Malades ; (2) Université René-Descartes ; (3) Centre de Référence Maladies Rénales Héritaires de l'Enfant et de l'Adulte ; (4) Département de Génétique, Hôpital des Enfants Malades

Le syndrome de Denys Drash est caractérisé par une néphropathie glomérulaire sévère (sclérose mésangiale diffuse), un pseudohermaphrodisme masculin chez les patients XY, et une prédisposition aux tumeurs de Wilms. La sclérose mésangiale diffuse est responsable d'un syndrome néphrotique sévère débutant dans les premières années de vie et conduisant rapidement à l'insuffisance rénale terminale. Ce syndrome est associé à des mutations hétérozygotes touchant les exons 8 ou 9 du gène *WT1*, codant une protéine à doigt de zinc qui joue un rôle crucial dans le développement rénal et gonadique. Les cibles transcriptionnelles et post-transcriptionnelles de *WT1*, *in vivo*, ne sont pas connues. La glomérulonéphrite extra-membraneuse représente la première cause de syndrome néphrotique de l'adulte. Elle peut être primitive ou secondaire, et est caractérisée par des dépôts d'immunoglobuline et de complément sur le versant externe de la membrane basale glomérulaire. Afin de rechercher les gènes cibles de *WT1* impliqués dans la sclérose mésangiale diffuse, nous avons réalisé une nouvelle lignée de souris « knock-in » pour une mutation faux sens de type Denys Drash. Ces animaux, qui ne développent aucune lésion sur fonds génétique mixte 129Sv X C57Bl6, présentent une protéinurie massive avec des lésions de sclérose mésangiale diffuse et de mésangiolyse sur certains fonds génétiques. En outre, on retrouve chez ces souris un épaississement diffus des membranes basales glomérulaires en rapport avec des dépôts massifs d'immunoglobulines, extra membraneux. Ces animaux vont être utilisés afin de rechercher des cibles de *Wt1* (par oligo-array), des gènes modificateurs de la sévérité de la néphropathie glomérulaire. Ils représentent en outre un nouveau modèle de glomérulonéphrite extra-membraneuse qui pourra être utilisé afin d'étudier la physiopathologie de cette néphropathie idiopathique.

Mots-clés : Denys Drash, glomérulonéphrite extra membraneuse, *WT1*.

■P477 / 572. ÉTUDE DE LA LOCALISATION DE LA PROTÉINE MECP2 AU COURS DU DÉVELOPPEMENT POST-NATAL DANS LE TRONC CÉRÉBRAL DE LA SOURIS

E. Dura (1, 2), J.-C. Roux (1, 2), L. Villard (1, 2)

(1) INSERM UMR 910, Faculté de médecine de la Timone, 13385 Marseille ; (2) Université Aix-Marseille, Faculté de la Timone, 13385 Marseille

Le syndrome de Rett (SR) est un grave trouble neurologique lié au chromosome X et qui affecte essentiellement les filles avec une prévalence de 1 naissance sur 15000. Plus de 90 % des cas de syndrome de Rett sont causés par des mutations du gène *MECP2* codant pour la protéine Methyl CpG Binding Protein 2 (*mecp2*). Le SR se caractérise par un développement normal in utero et pendant les 6 à 18 premiers mois de vie puis par un arrêt brutal du développement et une phase de régression avec perte des acquisitions se met en place. En plus des déficits cognitifs, les filles atteintes du syndrome de Rett présentent de graves troubles de la régulation de la fonction autonome, dont un dysfonctionnement respiratoire qui serait impliqué dans près de 26 % des décès précoces. Récemment, notre laboratoire a pu mettre en évidence des dérégulations importantes du système bioaminergique (sérotonine, catécholamines) dans le tronc cérébral d'un modèle murin du syndrome de Rett. Ces déficits bioaminergiques seraient eux-mêmes impliqués dans l'apparition des troubles respiratoires. Nos travaux ont démontré le rôle clef que joue le tronc cérébral dans la physiopathologie du SR. La protéine *mecp2* est exprimée de façon ubiquitaire et plusieurs études menées dans l'encéphale, ont montré qu'elle avait une expression spatiale et temporelle variable qui était liée au degré de maturation du système nerveux. En revanche, à ce jour, aucune étude n'a porté sur les différentes structures du tronc cérébral. Nous avons donc décidé d'étudier par immunoquantification au cours du développement postnatal (P0 à P55) le niveau d'expression de la protéine *mecp2* dans le tronc



cérébral de souris sauvages. Nous nous sommes particulièrement intéressés aux structures impliquées dans le contrôle moteur (trigéminal, X, XII), sensitif (NTS, VLM, area postrema). Nos résultats montrent des variations au cours du développement, pour une même structure, avec des intensités de marquage qui peuvent varier jusqu'à 20 %. En revanche, les comparaisons des différentes structures entre elles révèlent que l'area postrema, le noyau trigéminal et le NTS, expriment fortement la protéine mecp2. Nos résultats confirment d'autres études montrant que la protéine mecp2 serait finement régulée spatialement et temporellement dans le cerveau en développement.

Mots-clés : MECP2, tronc cérébral, fonction autonome.

Oncogénétique

■P478 / 11. BRCA1 AND BRCA2 GERMLINE MUTATIONS IN PATIENTS WITH HEREDITARY BREAST CANCER : THE FIRST NORTH TUNISIAN INVESTIGATION

W. Troudi (1, 2), N. Uhrhammer (3), C. Sibille (4), W. Mahfoudh (5), T. Jalabert (3), L. Chouchane (5), Y. JBignon (3), F. Ben Ayed (2), A. BenAmmar Elgaaid (1)

Laboratory of Genetics, Immunology and Human Pathology at the Faculty of Sciences of Tunis. Faculty of Sciences of Tunis, Tunisia ; (2) Salah Azaiez Institute of Carcinology of Tunis, Tunisia ; (3) Laboratoire Diagnostique Génétique et Moléculaire, Centre Jean-Perrin, Clermont-Ferrand, France ; (4) Laboratory of Molecular Genetic of Hereditary Pathologies, Center of Human Genetics UCL, Bruxelles ; (5) Laboratory of Molecular Immuno-Oncology, Faculty of Medicine of Monastir, Tunisia

Hereditary breast cancer accounts for 3-8 % of all breast cancers. Combination of BRCA1 and BRCA2 genes mutations is responsible for 30 % of hereditary breast cancer cases. To investigate the prevalence of BRCA1 and BRCA2 gene mutations in familial breast cancer patients with affected relatives in Tunisia, 36 patients who had at least one first degree relative affected with breast and/or ovarian cancer were analysed. Thirty three patients were suggestive of BRCA1 mutation and 3 were suggestive of BRCA2 mutation. Four mutations in BRCA1 gene were detected among which, one novel frame-shift mutation (c.211dupA) described in two unrelated patients and 3 frameshift mutations ; c.4041delAG, c.2551delG and c.5266dupC. In this study we describe the c.5266dupC mutation which was described only among Jewish Ashkenazi population. Two frameshift mutations (c.1309delAAA and c.5682insA) were observed in BRCA2 gene. Nineteen percent (7/36) of the familial cases were altered on BRCA1 or BRCA2 genes with deleterious mutations. Almost all the cases mutated by deleterious mutations on BRCA1 gene reported a family history of breast and/or ovarian cancer in the index case or in their relatives. Our data are the first to contribute to information on mutation spectrum of BRCA genes in Tunisia and offer a recommendation for clinical genetic testing policy.

Mots-clés : BRCA1, BRCA2, mutation analysis, breast cancer, tunisia.

■P479 / 13. PRÉVENTION DU CANCER DU SEIN LIÉ À DES MUTATIONS BRCA1/2 PAR LETROZOLE

P. Pujol (1, 2) pour le Groupe Génétique et Cancer

Service de génétique médicale, CHU Montpellier et INSERM U 824, Montpellier, France

Le risque de cancer du sein chez une femme porteuse d'une prédisposition génétique BRCA1 atteint 70 %. Malgré son caractère mutilant, la mastectomie bilatérale prophylactique fait partie des options de prise en charge car elle constitue actuellement la seule attitude de prévention validée. Une alternative médicale à la mastectomie apparaît donc indispensable chez les femmes porteuses d'une mutation BRCA1 ou BRCA2 (BRCA1/2). Il est maintenant établi que la cancérogenèse mammaire liée aux prédispositions génétiques BRCA1/2 est sous l'influence des œstrogènes. Ainsi, le risque de cancer du sein chez la femme porteuse d'une mutation BRCA1/2 est réduit de moitié après ovariectomie prophylactique en préménopause (prévention du risque de cancer ovarien). Sur le plan biologique, de multiples interactions entre le gène BRCA1 et les œstrogènes ont été mises en évidence : induction de l'expression de BRCA1 par les œstrogènes, interactions physiques des protéines brca1 et du récepteur des œstrogènes alpha (REa), inhibition par BRCA1 de l'activation transcriptionnelle REa-dépendante. Chez la femme ménopausée à haut risque de cancer du sein, les essais d'hormonoprévention par suppression œstrogénique ont montré l'efficacité du raloxifène et du tamoxifène pour réduire le risque de cancer invasif (de l'ordre de 50 %). Les inhibiteurs d'aromatase (IA) ont une efficacité préventive supérieure au tamoxifène en terme de réduction du risque de cancer du sein controlatéral dans les essais comparatifs de

traitement adjuvants. Des essais randomisés mondiaux évaluant les IA en prévention du cancer du sein dans des populations à haut risque sont actuellement en cours. Nous présentons une étude nationale de phase III, randomisée en double aveugle contre placebo, évaluant l'intérêt du létrozole en traitement préventif du cancer du sein invasif chez des femmes ménopausées (ou ovariectomisées) porteuses d'une mutation délétère des gènes BRCA1 ou 2. Les femmes recevront du létrozole à la dose de 2,5 mg/jr ou un placebo pendant 5 ans ou jusqu'à l'arrêt du traitement pour intolérance ou survenue d'un cancer du sein. Cette étude est portée par le Groupe Génétique et Cancer, promue par la FNCLCC (BECT) et financée par l'Institut du Cancer dans le cadre d'un PHRC national. Au total, 724 femmes seront incluses. Une surveillance régulière des effets secondaires métaboliques, osseux et cardiovasculaires, ainsi qu'une évaluation de la qualité de vie sont programmés. Il s'agit de la première étude préventive visant spécifiquement le risque génétique dans le cancer du sein. La prévention médicale des cancers du sein liés aux gènes BRCA1/2 constituerait une précieuse option pour combler l'important décalage de prise en charge existant entre le dépistage et la mastectomie totale bilatérale.

Mots-clés : BRCA1 BRCA2, cancer du sein, letrozole.

■P480 / 23. ONCOGÉNÉTIQUE DU CONTACT AU SUIVI

F. Eisinger (1, 2), H. Sobol (1, 3)

(1) Institut Paoli-Calmettes ; (2) INSERM UMR 599 ; (3) Faculté de Médecine, Université de la Méditerranée

Les consultations d'oncogénétique peuvent être classées selon différentes caractéristiques. À titre d'exemples, selon le type de prédisposition (organes cibles), selon le syndrome (BRCA, MMR...), selon le mode de transmission et le risque induit (dominant, récessif, pénétrance complète ou faible...) selon les caractéristiques des consultants (atteint, indemne, homme/femme...) ou selon le type de consultation. Nous décrivons ici la répartition des consultations d'oncogénétique selon ce dernier critère. Matériels et Méthodes : Les consultations d'un seul médecin (FE) assurant des consultations d'oncogénétique « généraliste » depuis plus de 10 ans ont été analysées (Période 1^{er} Janvier 1933-30 Août 2007). Résultats : Sur cette période N = 5 140 consultations ont été réalisées. Parmi ces consultations 2 903 correspondaient à des premières consultations pour une famille (56,5 %), 1 514 pour le suivi de personnes déjà vues en consultation (29,5 %) et enfin 723 pour la première consultation d'une personne adressée par sa famille (14,0 %). Il est intéressant de noter l'évolution respective de ces catégories, en effet entre 1993 et 1997 les nouvelles familles représentaient plus de 75 % des consultations alors que depuis 2003 elles ne représentent plus que moins de 50 %. Ces chiffres ne traduisent pas cependant un « épuisement » des formes héréditaires car le nombre absolu de consultations de nouvelles familles est en augmentation depuis 10 ans avec des chiffres moyens de 12-15 nouvelles familles par mois dans les années 1997-2000 à plus de 20 par mois au cours des années 2003-2007. Interprétation : À partir de cet exemple, il serait sans doute utile de vérifier l'évolution de l'activité d'oncogénétique. En effet, on peut discerner un mouvement partant d'une activité principalement orientée vers l'évaluation et la prise en charge initiale de nouvelles familles vers le suivi des personnes et la prise en charge des apparentés. Depuis 2002 la somme de ces deux activités représente plus de 50 % des consultations analysées. Si ces données étaient confirmées, elles permettraient de mieux comprendre le fonctionnement de cette discipline avec une implication de plus en plus orientée vers le long terme.

Mots-clés : cancer, consultation, activité.

■P481 / 43. CARACTÉRISATION D'UN RÉARRANGEMENT EXONIQUE DU GÈNE MLH1 RÉPERTORIÉ DANS UNE FAMILLE TUNISIENNE ATTEINTE D'UN SYNDROME DE LYNCH

S. Aissi (1, 2), A. Moussa (4), N. Kourda (5), T. Najjar (4), S. Ben Jilani (5), A. Elgaaid (6), N. Porchet (2,3), M. Manai (1), M.-P. Buisine (2, 3)

(1) Laboratoire de Génétique et de Biologie Moléculaire de la faculté des sciences de Tunis ; (2) INSERM U837, Centre de Recherche J.-P.-Aubert, Équipe n° 5, Lille ; (3) Laboratoire de Biochimie et Biologie Moléculaire, CHRU de Lille et Faculté de Médecine H.-Warembourg de Lille ; (4) Service de Gastro-Entérologie de l'hôpital Charles-Nicolle de Tunis ; (5) Laboratoire d'Anatomopathologie de l'hôpital Charles Nicolle de Tunis ; (6) Laboratoire de Génétique et d'Immunologie des pathologies humaines de la faculté des sciences de Tunis

Le syndrome HNPCC ou syndrome de Lynch (OMIM #120435, 120436) constitue la forme la plus commune de cancer colorectal héréditaire avec une fréquence évaluée à 1/200-1/1 000 individus. Il s'agit d'une pathologie à transmission autosomique dominante qui se caractérise par la survenue précoce de cancers colorectaux, mais aussi de cancers touchant d'autres

sites incluant l'endomètre, l'estomac, les ovaires, l'intestin grêle, le tractus hépato-biliaire, l'urothélium, le cerveau et la peau. Il est dû à des mutations germinales affectant un des gènes de réparation des mésappariements de l'ADN (gènes MMR). Nous décrivons ici un réarrangement génomique dans le gène *MLH1* identifié, via la technique MLPA, chez une jeune fille Tunisienne âgée de 22 ans admise à l'hôpital Charles Nicolle de Tunis pour un cancer du rectum. L'histoire familiale de cancers du côlon et de l'endomètre sur deux générations, avec un premier cancer diagnostiqué à 22 ans, vérifie les critères d'Amsterdam II de sélection clinique pour le syndrome de Lynch. Le diagnostic clinique a été confirmé sur le plan moléculaire par un phénotype tumoral fortement instable (MSI-H) et une perte sélective de l'expression des gènes *MLH1* et *PMS2* par immunohistochimie.

Mots-clés : HNPCC, MLPA, MSI.

■P482 / 44. CARACTÉRISATION MOLÉCULAIRE DU SYNDROME DE LYNCH

S. Aissi (1, 2), A. Moussa (4), N. Kourda (5), N. Abdelli (6), T. Najjar (4), S. Ben Jilani (5), A. Elgaaid (7), N. Porchet (2, 3), M. Manai (1), M.-P. Buisine (2, 3)

(1) Laboratoire de Génétique et de Biologie Moléculaire de la faculté des sciences de Tunis ; (2) INSERM U837, Centre de Recherche J.-P.-Aubert, Equipe n° 5, Lille ; (3) Laboratoire de Biochimie et Biologie Moléculaire, CHRU de Lille et Faculté de Médecine H.-Warembourg de Lille ; (4) Service de Gastro-Entérologie de l'hôpital Charles-Nicolle de Tunis ; (5) Laboratoire d'Anatomopathologie de l'hôpital Charles-Nicolle de Tunis ; (6) Service de Gastro-Entérologie de l'hôpital Militaire de Tunis ; (7) Laboratoire de Génétique et d'Immunologie des pathologies humaines de la faculté des sciences de Tunis

Le cancer colo-rectal héréditaire sans polyposé (HNPCC, syndrome de Lynch) (OMIM #120435, 120436) est un syndrome autosomique dominant prédisposant à des cancers colo-rectaux et extracoliques. Il constitue la forme héréditaire la plus commune des cancers colo-rectaux. Il est dû à des mutations germinales affectant un des gènes MMR de réparation des mésappariements de l'ADN (*MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *PMS2*) et est associé à la présence dans les cellules tumorales d'une instabilité microsatellitaire (MSI, Microsatellite Instability). En l'absence de caractéristiques cliniques spécifique au syndrome HNPCC, le diagnostic repose principalement sur une histoire familiale détaillée en se basant sur les critères d'Amsterdam. Quelques cas de cancers colorectaux héréditaires avec suspicion d'un syndrome de Lynch ont été détectés en Tunisie mais aucune étude génétique n'a été réalisée, jusqu'à présent. Objectif : La caractérisation des mutations germinales dans les familles tunisiennes HNPCC ou « HNPCC-like » présentant une susceptibilité particulière à développer des cancers colorectaux. Matériels et méthodes : 30 patients opérés en Tunisie d'un cancer du spectre HNPCC ont été analysés à la recherche de mutations germinales dans les gènes MMR. L'histoire familiale de ces patients vérifie les critères d'Amsterdam/II ou de Bethesda. Les gènes *MLH1*, *MSH2* et *MSH6* ont été analysés par MLPA et par PCR/ séquençage direct. Une analyse complémentaire du gène *MutYH* (exons 7 et 13) a été réalisée chez les patients sans mutation identifiée. Par ailleurs nous avons recherché dans les tumeurs la présence d'instabilité microsatellitaire et analysé par immunohistochimie l'expression des protéines *MLH1*, *MSH2*, *MSH6* et *PMS2*. Résultats : 10 mutations germinales différentes, dont 7 nouvelles, ont été identifiées dans 11 familles (37 %), dont 5 dans *MLH1* et 5 dans *MSH2* : 2 mutations non-sens, 3 mutations avec décalage du cadre de lecture, 2 mutations du site d'épissage, 1 réarrangement exonique et 2 mutations faux-sens de significations biologiques encore inconnues. Aucune mutation n'a été détectée dans les gènes *MSH6* et *MutYH*. Les échantillons tumoraux de tous les sujets porteurs d'une mutation germinale présentaient une forte instabilité (MSI-H) et une perte d'expression de la protéine codée par le gène muté. Conclusion : Nos résultats devraient contribuer à améliorer le diagnostic de ce syndrome en Tunisie, ainsi que la prise en charge des patients et de leurs familles.

Mots-clés : HNPCC, PCR, MSI.

■P483 / 50. CERTIFICATION ISO 9001 EN ONCOGÉNÉTIQUE : CONVERGENCE ENTRE ÉVALUATION DES PRATIQUES PROFESSIONNELLES (EPP) ET DÉMARCHE DE CERTIFICATION

H. Sobol*, M.-F. Affaton, V. Bourdon, C. Chabannon, I. de Chérancé, E. Eisinger, F. Etanchaud, L. Huiart, T. Noguchi, S. Olschwang, P. Parc, S. Portelli, L. Rabayrol, Ph. R. Sauvan, V. Wargniez, L. Xerri, M. Bouyssie, pour le Comité de Pilotage Certification Oncogénétique
Département d'Oncologie Génétique, de Prévention et Dépistage, Institut Paoli-Calmettes, Marseille, et Université d'Aix-Marseille II

Enjeux : Une thématique porteuse de potentialités d'amélioration. Pour les 5 % à 10 % de cancers se développant dans un contexte de prédisposition génétique, l'évolution des connaissances permet désormais d'offrir aux membres des familles à risque un suivi adapté en fonction de l'existence ou non d'une anomalie héréditaire (mesures 22 et 23 du Plan Cancer). En effet, un sujet porteur d'une mutation constitutionnelle d'un gène de prédisposition, tel BRCA1, a un risque de 50 % à 80 % de développer un cancer du sein (souvent bilatéral) et/ou un cancer de l'ovaire au cours de sa vie. Il existe des outils de prise en charge de ce très haut risque : dépistage (imagerie) et de prévention (chirurgie prophylactique). Tout l'enjeu réside dans la précocité de la prise en charge médicale guidée par la réalisation des tests génétiques. Ces derniers, pour être pertinents, doivent être fiables et réalisés dans des délais satisfaisants. Fréquence de la problématique au sein de l'établissement : Une activité transversale organisée en réseau régional. En France, la prédisposition génétique concerne pour les seuls cancers du sein et du côlon plusieurs milliers de patients à prendre en charge tous les ans, répartis sur l'ensemble du territoire national. C'est la raison pour laquelle nous avons constitué un dispositif transversal et un réseau régional qui intègre toutes les consultations d'oncogénétiques de la région et un laboratoire dédié à la réalisation des tests génétiques des tumeurs fréquentes. Le Réseau Oncogénétique PACA a récemment été intégré au Réseau Régional de Cancérologie ONCOPACA couvrant 4 à 5 millions d'habitants. Impact de la Certification ISO 9001 sur l'amélioration du système et des pratiques médicales. L'Oncogénétique est une activité transversale, pluridisciplinaire et pluriprofessionnelle (génétique clinique et biologique, cancérologie, santé publique). L'impact bénéfique pour les patients ne peut être obtenu que par l'intégration de toutes ces activités dans le cadre d'un continuum bio-clinique. La démarche de certification nous a permis de mettre en place un dispositif unique et non segmenté mettant en œuvre tous les référentiels de pratiques et recommandations nécessaires à la prise en charge des sujets à haut risque. Au niveau européen, un Réseau d'Excellence s'est mis en place dont l'objet est la démarche qualité dans les laboratoires de génétique assurant la comparaison des processus de prise en charge et les résultats de ces processus pour identifier des opportunités d'amélioration. Analyse de l'organisation et des pratiques : Le périmètre de notre certification concerne : « L'identification moléculaire des anomalies génétiques constitutionnelles responsables des prédispositions héréditaires aux cancers fréquents (cancers du sein et/ou de l'ovaire, cancer du côlon et de l'endomètre) ». Sont pris en compte toutes les activités qui vont du traitement de la prescription jusqu'au rendu de résultats au médecin prescripteur. Cette démarche collective très motivante a mobilisé tous les personnels du département. Des formations à la qualité et des enseignements spécifiques thématiques en fonction des besoins ont été délivrés aux personnels impliqués. Cette action a permis d'améliorer de manière substantielle l'organisation, la traçabilité et le fonctionnement général du service, du pôle clinique au laboratoire. Actions d'améliorations et mesure des résultats : Ainsi, de nouveaux développements ont été réalisés : avec la définition d'un outil unique d'interface pour la gestion des prescriptions des analyses, des prélèvements (en lien avec le Centre de Ressource Biologique de l'IPC) et des résultats. De même au niveau analytique notre plateforme a été optimisée avec une rationalisation de l'utilisation des locaux et l'implantation d'un système de gestion informatisé des analyses et des stocks qui sera prochainement fonctionnel. Pour le patient, le bénéfice est évident, et concourt à une amélioration du service rendu avec en particulier plus de sécurité et des délais réduits. L'effet bénéfique de cette démarche qualité est global. Il se ressent bien au delà de l'Oncogénétique, dans les autres services de l'Institut Paoli-Calmettes (IPC) avec lesquels cette activité est en interaction (les départements cliniques, les plateaux techniques mais aussi les services hôtelier, techniques, achats, système d'information, formation, personnel, communication et bien entendu le service qualité). C'est une convergence d'intérêt, une meilleure compréhension des activités de chacun qui a permis de trouver des solutions originales qui seront par la suite mutualisées dans les autres actions engagées par l'IPC en matière de qualité. Des indicateurs de suivi et de résultats ont été construits qui concernent principalement : la traçabilité, les délais, la formation et la satisfaction des clients. Conclusion : Convergence des démarches EPP et de Certification : Nous avons pu constater depuis la mise en place de la démarche de certification des améliorations substantielles dans la qualité du service matérialisées par une organisation plus opérationnelle, une plus grande traçabilité, des délais de rendu de résultat raccourcis, l'analyse des incidents et événements indésirables et des pratiques médicales en adéquation avec les recommandations et les référentiels retenus et validés.

Mots-clés : oncogénétique, certification ISO, évaluation des pratiques professionnelles.



■P484 / 57. LES DÉLÉTIONS PARTIELLES OU COMPLÈTES DU GÈNE APC SONT À L'ORIGINE DES FORMES ATTÉNUÉES ET DIFFUSES DE POLYPOSE ADÉNOMATEUSE FAMILIALE

S. Baert-Desurmont (1), J. Bou (1), J. Tinat (1), J. Mauillon (1), P. Berthet (2), O. Bera (3), S. Olschwang (4), T. Frebourg (1)

(1) Service de Génétique, CHU de Rouen et Inserm U614, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Institut Hospitalo-Universitaire de Recherche Biomédicale de Rouen ; (2) Service d'Oncogénétique, CRLCC François-Baclesse, Caen ; (3) Service de Virologie, UF d'Oncogénétique, CHU de Fort-de-France, Martinique ; (4) Laboratoire d'Oncogénétique Moléculaire, Institut Paoli-Calmettes, Marseille

Les mutations constitutionnelles du gène APC sont responsables de la polypose adénomateuse familiale (PAF) se manifestant sous deux formes cliniques distinctes : la forme typique, dite diffuse caractérisée par le développement de centaines voire de milliers de polypes adénomateux survenant dès l'adolescence ou chez le jeune adulte, et la forme atténuée caractérisée par la survenue plus tardive de moins de 100 polypes adénomateux. De nombreuses études ont démontré une corrélation génotype-phénotype pour les mutations ponctuelles du gène APC. La polypose classique est associée aux mutations ponctuelles situées entre les exons 5 et 15, avec une forme particulièrement sévère entre les codons 1250 et 1464. Les mutations situées dans l'exon 9 (soumis à un épissage alternatif) et dans les régions 5' et 3' du gène sont quant à elles associées à des formes atténuées de polypose. À ce jour, aucun phénotype particulier lié aux délétions du gène APC n'a été décrit. Nous rapportons ici la variabilité phénotypique des grands réarrangements du gène APC. Dans notre série, les délétions représentent environ 9 % des altérations identifiées dans les familles de PAF. La QMPSF modélisée pour l'analyse des remaniements du gène APC explore chaque exon à l'aide d'un amplicon, sauf pour l'exon 15 représentant 75 % de la séquence codante du gène qui est donc analysé à l'aide de 5 amplicons (15.a à 15.e). Nous avons identifié 4 délétions génomiques distinctes emportant respectivement les exons 6 à 15, 11 à 13, 1 à 15.b et 1 à 15.e. Les trois patients porteurs de délétion partielle du gène APC présentent des formes typiques de polypose adénomateuse avec 100 à 1 000 adénomes répartis sur tout le cadre colique. En revanche, la délétion complète du gène APC fut détectée chez un patient âgé de 23 ans présentant 50 adénomes localisés au niveau du colon gauche et du rectum. Ainsi, même si les remaniements génomiques du gène APC sont moins fréquents que les mutations ponctuelles, ils devraient être recherchés non seulement dans les PAF typiques mais aussi dans les formes atténuées.

Mots-clés : polypose, APC, QMPSF.

■P485 / 59. BAGE : UN NOUVEAU MARQUEUR ÉPIGÉNÉTIQUE POUR LE DIAGNOSTIC DU CANCER DU CÔLON

C. Grunau (1), M.E. Brun (1), I. Rivals (2), J. Selves (3), W. Hindermann (4), M. Favre-Mercurel (1), G. Granier (1), A. De Sario (1)

(1) Institut de Génétique Humaine, CNRS UPR 1142 Montpellier ; (2) ESPCI, Paris ; (3) CHU-Purpan Toulouse ; (4) Institute for Pathology- Univ. Friedrich-Schiller Jena Allemagne

BAGE (B melanoma antigens) est une famille composée de gènes transcrits et de gènes tronqués qui ne sont pas fonctionnels. Les gènes BAGE, localisés dans les régions hétérochromatiques, ne sont exprimés que dans les tumeurs et dans le testicule. Il y a quelques années, en étudiant les mécanismes épigénétiques qui régulent l'expression des gènes BAGE, nous avons montré que la région promotrice de ces loci (nous définissons loci BAGE l'ensemble des gènes et des gènes tronqués) est hyperméthylée dans les cellules normales et hypométhylée dans les cellules cancéreuses et dans les lignées tumorales. À la suite de ces résultats, nous avons proposé d'utiliser l'analyse de la méthylation des loci BAGE comme marqueur tumoral pour le diagnostic du cancer. L'incidence de la mortalité liée au cancer du côlon en France est de 18,5 pour 100 000 habitants. Actuellement, il n'existe aucun moyen non invasif pour dépister ce cancer, pourtant il est prouvé que le diagnostic précoce améliore la résecabilité et le pronostic. Dans ce travail, nous avons testé le nouveau marqueur tumoral BAGE sur des échantillons de cancer du côlon. L'analyse de la méthylation a été réalisée grâce à la méthode COBRA (Combined Bisulphite et Restriction Assay) sur l'ADN extrait des biopsies. Nous avons comparé la méthylation de l'ADN dans 54 tissus cancéreux et dans la muqueuse saine provenant du même patient. En conclusion, nous avons montré que le marqueur BAGE permet le diagnostic différentiel du cancer du côlon avec une spécificité de 94 %, une sensibilité de 83 % et une précision de 89 %. La plupart des marqueurs tumoraux épigénétiques décrits sont basés sur l'hyperméthylation de la région promotrice des gènes. L'originalité de notre travail consiste à avoir montré que, chez l'homme, les régions hétérochromatiques subissent une perte de méthylation au cours de la

transformation néoplasique. Nous proposons de considérer ces régions comme une source de potentiels marqueurs tumoraux à utiliser en association avec les marqueurs d'hyperméthylation.

Mots-clés : marqueur tumoral, cancer colique, méthylation ADN.

■P486 / 60. DES ALTÉRATIONS DU GÈNE RUNX1/AML1 PAR MUTATIONS PONCTUELLES ET/OU PAR TRANSLOCATIONS CRYPTIQUES T(1;21)(P36;Q22) SONT FRÉQUEMMENT RETROUVÉES DANS LES LEUCÉMIES À CHROMOSOME PHILADELPHIE ASSOCIÉES À UNE TRISOMIE 21 ACQUISE, ET PEUVENT CONTRIBUER À LA PROGRESSION ET LA RÉSISTANCE AU TRAITEMENT PAR GLIVEC

C. Roche-Lestienne (1, 2), L. Deluche (1), S. Corm (3), I. Tigaud (4), S. Joha (1), N. Philippe (5), S. Geffroy (5), J.-L. Lai (1, 2), F.-E. Nicolini (6), C. Preudhomme (1, 5), Au nom du groupe Fi-LMC

(1) Unité Inserm 837, Centre de Recherche J.-P.-Aubert, 59045 Lille, France ; (2) Laboratoire de Génétique Médicale, CHRU, 59037 Lille, France ; (3) Service d'Hématologie, CHRU, 59037 Lille, France ; (4) Laboratoire d'Hématologie et de Cytogénétique, CHLS, 69495 Pierre-Bénite, France ; (5) Laboratoire d'Hématologie, CHRU, 59037 Lille, France ; (6) Service d'Hématologie, Hôpital E. Herriot, 69437 Lyon, France

Contexte : Les mécanismes moléculaires à l'origine de la perte d'efficacité de l'imatinib mesylate (IM, Glivec, Novartis) dans le traitement des leucémies myéloïdes chroniques (LMC) à un stade avancé de leur évolution, ainsi que dans le traitement des leucémies aiguës lymphoïdes à chromosome Philadelphie (LAL-Ph+), sont encore largement méconnus. En dehors des mutations ponctuelles dans le domaine kinase de BCR-ABL, plusieurs observations suggèrent que l'augmentation de la survie et le blocage de différenciation (qui caractérisent les cellules leucémiques en phase blastique de la LMC) dépendent de la conjonction des effets de BCR-ABL avec ceux d'autres gènes dérégulés durant la progression de la maladie. Une récente étude démontre *in vitro* et *in vivo* dans un modèle murin l'implication du facteur de transcription RUNX1/AML1 (gène localisé en 21q22) dans la résistance à l'IM. De plus, une translocation cryptique t(1;21)(p36;q22) conduisant à la formation d'un gène de fusion RUNX1-PRDM16 a été décrite chez un patient en phase blastique de la LMC résistant à l'IM. Objectifs de l'étude : Des anomalies de RUNX1/AML1 étant fréquemment associées à l'acquisition d'une trisomie 21 dans les leucémies aiguës myéloïdes, nous avons recherché des altérations de ce gène par mutations ponctuelles et/ou par translocation cryptique t(1;21)(p36;q22) au sein d'une cohorte de 18 patients présentant une leucémie à chromosome Philadelphie avec une trisomie 21 acquise. Aucun de ces patients n'a obtenu de réponse durable au traitement par IM. À titre de témoins, 48 patients présentant une LMC en phase chronique avec ou sans anomalies additionnelles, ou présentant une transformation de leur LMC mais sans l'acquisition d'une trisomie 21, ont été analysés simultanément. Résultats : Nous avons retrouvé par séquençage d'ADN des mutations ponctuelles à l'état hétérozygote dans le domaine conservé runt de RUNX1/AML1 pour 6 patients présentant une LMC à un stade avancé associée à une trisomie 21 (33 % des patients avec trisomie 21). Aucune mutation n'a été retrouvée parmi les patients présentant une LAL-Ph+ de novo ou une LMC avec trisomie 21 en transformation lymphoïde, ni parmi les 48 patients témoins. Ces mutations peuvent précéder ou être présentes au diagnostic de la trisomie 21. Nous avons également retrouvé par RT-PCR une fréquence importante de patients avec trisomie 21 présentant le transcrit de fusion RUNX1-PRDM16 (3/7 patients analysés, 42 %). Ce transcrit de fusion semble être exprimé à un fort niveau car l'analyse en FISH (sonde TEL/AML1, Vysis) n'a révélé qu'une faible sous-clone présentant la translocation cryptique t(1;21)(p36;q22). De plus, l'analyse en FISH chez un patient présentant une LMC en transformation myéloïde révèle une translocation du signal correspondant à RUNX1/AML1 sur un autre chromosome partenaire, mettant ainsi en évidence la possibilité d'autres réarrangements cryptiques non encore décrits de ce gène. 2 patients présentent à la fois une mutation et le transcrit de fusion RUNX1-PRDM16. Par ailleurs, l'acquisition de la trisomie 21 au cours de l'évolution de la maladie semble être de mauvais pronostic puisque 14 des 18 patients étudiés sont décédés, avec une survie médiane de 3 mois après l'acquisition de la trisomie 21. Notons par ailleurs que parmi les 4 patients en vie, 2 ont été greffés et les 2 autres sont traités par dasatinib. Conclusion : Notre étude soutient le concept d'un effet coopératif entre BCR-ABL et des anomalies de RUNX1 (par différents mécanismes) dans l'expression du phénotype indifférencié des cellules leucémiques de LMC en progression ou de LAL-Ph+. Ces mécanismes moléculaires participent vraisemblablement à la perte d'efficacité du traitement par IM dans les phases avancées de la LMC ou dans les LAL-Ph+. Nos résultats démontrent aussi

qu'il peut exister un statut génétique hétérogène de la maladie, soulignant l'importance de la caractériser avec plus de précision sur le plan moléculaire.

Mots-clés : RUNX1/AML1, t(9;22)(q34;q11), trisomie 21 acquise.

■P487 / 63. LE VARIANT FAUX SENS A1708E DE BRCA1 GÉNÈRE LE SAUT DE L'EXON 18 EN AUGMENTANT LA LIAISON DES FACTEURS INHIBITEURS D'ÉPISSAGE HNRNPA1 ET HNRNP/H

S. Millevoi (1), S. Bernat (1), D. Telly (2), F. Fouque (2), L. Gladiéff (3), G. Favre (1, 2), C. Toulas (1, 2), S. Vagner (2)

(1) INSERM U563 ; (2) Laboratoire d'Oncogénétique ; (3) Département d'Oncologie Médicale, Institut Claudius-Regaud, Toulouse, France

Le caractère délétère de la plupart des mutations faux sens identifiées sur le gène *BRCA1* n'est pas encore clairement établi. De plus en plus de données montrent que ces mutations ponctuelles peuvent modifier l'épissage de l'ARNm en interférant avec des éléments régulateurs comme les enhancers ou les inhibiteurs d'épissage. Le but de ce travail était d'étudier l'impact sur l'épissage de *BRCA1* de la présence d'un des variants de *BRCA1* les plus fréquemment rencontrés, A1708E localisé dans le motif BRCT. Nous montrons que la présence de ce variant est associée à un saut de l'exon 18 dans plusieurs familles. En utilisant le transcript d'un minigène de *Brcal* *in vitro*, nous démontrons que la présence de ce variant induit bien un épissage alternatif de l'exon 18. Par des techniques de cross-link aux UV et d'immuno-précipitation, nous montrons également que ce saut d'exon est corrélé à une augmentation de la liaison des facteurs inhibiteurs de l'épissage hnRNP A1 et hnRNP H/F. Nous proposons que le saut d'exon induit par la présence du variant A1708E est dû au recrutement des facteurs inhibiteurs d'épissage hnRNP A1 et hnRNP H/F qui forment probablement un complexe inhibiteur d'épissage. Ces données sont en faveur du caractère délétère de ce variant faux-sens.

Mots-clés : *BRCA1*, épissage, facteurs régulateur d'épissage.

■P488 / 64. LE SYNDROME DE LI-FRAUMENI : MISE AU POINT DES BASES MOLÉCULAIRES À PARTIR DES FAMILLES FRANÇAISES

G. Bougeard (1), S. Baert-Desurmont (1), C. Martin (1), S. Vasseur (1), R. Sesboué (1), L. Brugières (2), A. Chompret (3), D. Stoppa-Lyonnet (4), C. Bonaïti-Pellié (5), T. Frébourg (1) et le groupe français d'étude sur le syndrome de Li-Fraumeni

(1) Service de Génétique, CHU de Rouen et Inserm U614, Institut Hospitalo-Universitaire de Recherche Biomédicale de Rouen ; (2) Service d'Oncologie Pédiatrique, Institut Gustave-Roussy, Villejuif ; (3) Service de Médecine, Institut Gustave-Roussy, Villejuif ; (4) Service de Génétique, Institut Curie, Paris ; (5) Inserm U535, Villejuif

Le syndrome de Li-Fraumeni (LFS), résultant de mutations constitutionnelles de *TP53*, représente l'une des formes mendéliennes de cancer les plus graves, compte-tenu du large spectre tumoral (sarcomes, tumeurs cérébrales, corticosurrénales, cancers du sein pré-ménopausiques...) et de la précocité de survenue des tumeurs. Nous avons réalisé une analyse extensive du gène *TP53*, basée sur le séquençage des 11 exons et la détection par QMPF des réarrangements génomiques, dans 474 familles françaises évocatrices de LFS, répondant pour la plupart aux critères élargis de Chompret : (i) proposant atteint d'une tumeur appartenant au spectre du LFS et développée avant l'âge de 36 ans et au moins un apparenté au premier ou au second degré atteint d'une tumeur appartenant au spectre du LFS et développée avant l'âge de 46 ans, (ii) patient atteint de plusieurs cancers primitifs multiples, dont 2 appartiennent au spectre du LFS, la première de ces tumeurs étant survenue avant l'âge de 36 ans, (iii) enfant atteint d'un corticosurrénalome. Nous avons détecté dans 82 familles (17 %) des altérations constitutionnelles de *TP53* correspondant pour la plupart (66 %) à des mutations faux sens et mis en évidence 4 délétions génomiques totale ou partielles du gène *TP53*. La mise en évidence de ces délétions génomiques constituent un argument définitif démontrant que le LFS résulte d'une haploinsuffisance au locus *TP53*. Certaines de ces familles, dans lesquelles nous avons identifié une mutation constitutionnelle de *TP53*, étaient remarquables par leur présentation clinique évoquant en premier lieu une mutation des gènes *BRCA* ou se caractérisaient par la survenue tardive de tumeurs ou le développement de tumeurs rénales. Les tumeurs les plus fréquemment observées chez les porteurs de mutation de *TP53* étaient les cancers du sein pré-ménopausiques (39 %), les sarcomes des tissus mous (28 %), les ostéosarcomes (19 %), les tumeurs cérébrales (14 %), les corticosurrénales (11 %), les autres tumeurs (cancers du rein, colon, estomac, poumon leucémies et lymphomes), n'étant observées que dans moins de 8 % des porteurs de mutation. L'estimation précise du

risque de cancer par localisation nécessitera la réalisation d'une étude nationale répertoriant l'ensemble des données cliniques actualisées chez les patients porteurs d'une mutation constitutionnelle de *TP53*. Nous avons pu confirmer sur cette grande série l'impact des polymorphismes rs2279744 (SNP309 T/G de MDM2) et rs1042522 (polymorphisme p.Arg72Pro de *TP53*) sur l'âge de développement de la première tumeur chez les patients porteurs d'une altération constitutionnelle de *TP53* : (i) les porteurs de l'allèle G du SNP309 développent leur première tumeur plus précocement que les patients porteurs de l'allèle T à l'état homozygote (20,9 vs 28,9 ans) et (ii) l'âge moyen de développement de la première tumeur est très différent entre les porteurs des allèles G de MDM2 et 72Arg de *TP53* d'une part et les patients homozygotes pour l'allèle T du SNP309 de MDM2 et homozygotes pour le variant Pro de *TP53* d'autre part (19,8 ans vs 33,5 ans). L'observation d'un développement tumoral relativement tardif chez certains patients porteurs d'une délétion génomique de *TP53* d'une part et la différence de spectre tumoral entre les modèles murins *TP53* wt/mt, et *TP53* wt/-, d'autre part, nous ont incité à comparer l'âge de survenue de la première tumeur chez les patients porteurs d'une mutation faux-sens (61 patients) et chez les patients porteurs d'un autre type d'altération (35 patients). Nous avons alors observé une différence significative entre les 2 groupes (21,6 vs 29,1 ans). Ces résultats confirment l'hypothèse que les mutations faux-sens, en plus d'inactiver la fonction transcriptionnelle de p53, ont un effet oncogénique additionnel, ce qui explique le spectre mutationnel très particulier de *TP53* caractérisé par une prédominance des mutations faux sens.

Mots-clés : Li-Fraumeni, *TP53*, risque tumoral.

■P489 / 66. EN PLACE D'UN QUESTIONNAIRE PAR LE CONSEILLER EN GÉNÉTIQUE AFIN D'OPTIMISER LE RECUEIL DES DONNÉES LORS DE LA PREMIÈRE CONSULTATION D'ONCOGÉNÉTIQUE

A. Combes (1), E. Haquet (1), K. Baudry-Samb (1), P. Pujol (1), J. Duffour (2), I. Coupié (1, 2)

(1) Service de Génétique Médicale, CHU Arnaud-de-Villeneuve, Montpellier ; (2) Unité d'Oncogénétique, CRLC Val-D'Aurelle, Montpellier

Les personnes présentant une prédisposition héréditaire à un cancer sont généralement adressées en consultation d'oncogénétique en raison de leurs antécédents personnels et/ou familiaux de cancers. Lors de cette consultation, il est réalisé un arbre généalogique recensant les pathologies néoplasiques et éventuellement non néoplasiques présentes dans la famille. Au cours de la première consultation, le conseiller en génétique recueille les informations utiles à l'évaluation d'une prédisposition héréditaire et transmet aux patients les autorisations d'accès aux dossiers médicaux pour les apparentés (ou leur ayants-droit) ayant préalablement développé un cancer. Toutes ces informations sont difficiles à rassembler si les patients n'ont pas été informés des questions qui leur seront posées pendant la consultation. L'objectif de l'étude est d'optimiser le recueil des informations à partir d'un questionnaire ciblant les données essentielles à la première consultation d'oncogénétique et d'aider les patients à se préparer à cette dernière. Patients et méthode : Ce questionnaire a été adressé à tous les patients prenant rendez-vous successivement, pour une première consultation d'oncogénétique et retourné lors de cette consultation. Le questionnaire regroupe des données sur l'état civil des apparentés (sexe, noms et prénoms, dates de naissance et de décès) ainsi que des informations médicales (âge au diagnostic des cancers, lieux de prise en charge...). Les informations sont recueillies dans les deux branches parentales sur trois générations (jusqu'aux grands-parents). Les questionnaires ont été évalués selon deux critères de jugement : leur taux de retour et leur taux de remplissage. Le taux de remplissage a été estimé en pourcentage, de 20 à 100 % selon le schéma suivant : – 100 % : questionnaire complet pour tous les apparentés ayant développé un cancer ou non, – 80 % : questionnaire complet uniquement pour les apparentés ayant développé un cancer, – 60 % : il manque au plus 2 informations pour les apparentés ayant développé un cancer, – 40 % : il manque plus de 2 informations pour les apparentés ayant développé un cancer, – 20 % : le questionnaire nous informe uniquement sur le noyau familial (patient, conjoint et enfants). L'étude a été réalisée sur une durée de neuf mois (du 24 novembre 2006 au 23 août 2007), sur deux sites de consultation, le CHU Arnaud de Villeneuve et le Centre de Lutte Contre le Cancer Val d'Aurelle. Résultats : Au total 134, questionnaires ont été envoyés aux patients. Le taux de retour est de 82 % (110 / 134). Le taux moyen de remplissage est de 74 % et pour plus de 86 % des questionnaires, le taux d'information est très satisfaisant (questionnaires complétés à 60, 80 et 100 %). Discussion : Le questionnaire présente un double intérêt, d'une part pour les patients et d'autre part pour l'équipe médicale. En effet, les patients ont collecté de nombreuses informations sur leur famille avant la consultation (âge au diagnostic des



cancers, lieux de traitement...) et sont prêts à répondre aux questions posées lors de la réalisation de l'arbre généalogique. Ils sont également préparés à évoquer leur situation familiale parfois difficile. Outre le fait de faciliter la consultation, ce questionnaire a permis à quelques patients de reprendre contact avec certains membres de leur famille. Pour l'équipe médicale, les données nécessaires à l'établissement de l'arbre généalogique sont recueillies de façon plus précise et plus rapide. Les autorisations d'accès aux dossiers médicaux sont bien complétées et renvoyées par les apparentés, généralement contactés par le patient avant la consultation. Conclusion : Compte-tenu des bons taux de retour et de remplissage de ce questionnaire, nous avons décidé de l'intégrer à la pratique quotidienne de nos consultations.

Mots-clés : conseiller en génétique, questionnaire, première consultation d'oncogénétique.

■P490 / 69. GROUPE DE PAROLE POUR LES PATIENTES PORTEUSES D'UNE MUTATION DU GÈNE *BRCA1* OU *BRCA2* : UNE PREMIÈRE EXPÉRIENCE

K. Baudry-Samb (1), C. Laurent (1), P. Pujol (1), I. Coupier (1, 2)
(1) Service de Génétique Médicale, CHU Arnaud-de-Villeneuve, Montpellier ; (2) Unité d'Oncogénétique, CRLC Val-D'Aurelle, Montpellier

La possibilité pour une personne de savoir qu'elle est porteuse d'une mutation délétère du gène *BRCA1* ou *BRCA2*, prédisposant aux cancers du sein et/ou de l'ovaire, a des répercussions au niveau médical et psychologique. Lors de nos contacts avec les patientes, nous avons ressenti un fort désir de parler de leur expérience et de leurs questionnements. Nous avons donc mis en place un groupe de parole pour les patientes porteuses d'une mutation *BRCA1* ou *BRCA2*. Objectif : Ce groupe de parole avait pour but d'être un lieu commun d'écoute, de partage d'expériences, et d'information pour des femmes porteuses d'une altération génétique les prédisposant au cancer du sein et/ou de l'ovaire. Patientes : Les patientes porteuses d'une mutation délétère de *BRCA1* ou *BRCA2* (ayant ou non un antécédent personnel de cancer) ont été invitées par courrier à participer au groupe de parole. Sur 53 patientes invitées, 8 se sont présentées à la première séance (dont 2 avec leur conjoint) et ont constitué le groupe. L'âge moyen des patientes était de 49 ans (de 29 à 69 ans). Les 8 patientes avaient un antécédent de cancer du sein, dont une avec également un antécédent de cancer de l'ovaire. Quatre patientes avaient déjà réalisé une annexeomie prophylactique, une patiente avait pratiqué une mastectomie prophylactique bilatérale et était enceinte, et une patiente avait réalisé une mastectomie prophylactique controlatérale. Méthode : Nous avons choisi une méthode non directive où les patientes étaient libres de définir les thèmes à aborder. Les rencontres se sont déroulées tous les mois et demi pour une durée d'environ une heure, sur une période de sept mois (5 séances). Les séances étaient animées par une psychologue, une généticienne et une attachée de recherche clinique. Résultats : Lors de la première séance, après s'être présentées, les patientes ont pu faire part de leurs attentes. Quatre points majeurs sont apparus : le besoin de réponses d'ordre médical, la chirurgie prophylactique, la transmission de la mutation aux enfants, et les progrès éventuels de la recherche. Les thèmes abordés au cours des cinq séances concernaient en premier lieu le cancer, avec les antécédents familiaux et leur impact psychologique, le sentiment d'isolement qui peut en découler, le rapport aux proches, le rapport au corps, le regard des autres, le traitement et les conséquences de la chirurgie sur la féminité, le manque de prise en charge psychologique, la nécessité de se donner des objectifs, l'impression de se retrouver livrées à elles-mêmes à la fin du traitement, le besoin de se retrouver et de penser à soi, et la nécessité d'avoir un espace de parole. Le deuxième thème abordé concernait la perte : de soi, d'une partie de soi, d'un proche ; le troisième thème, les tests présymptomatiques, principalement des enfants ; le quatrième thème, la maternité et la filiation ; le cinquième thème, la chirurgie prophylactique ; et le sixième thème, les questions purement médicales. Conclusion Notre objectif a été atteint puisque une dynamique positive et marquée d'espoir a émaillé l'ensemble des rencontres. La plupart des thèmes concernant les porteuses d'une anomalie génétique prédisposant au cancer du sein et/ou de l'ovaire ont été abordés. Globalement, le sentiment des patientes concernant ces rencontres a été très positif. La majorité d'entre elles ont apprécié le fait de parler avec d'autres personnes ayant traversé les mêmes épreuves et auraient voulu participer à des groupes de parole plus tôt. Cela a permis à celles qui pouvaient difficilement parler de leurs difficultés chez elles de s'exprimer, et à d'autres d'amorcer le dialogue avec leurs proches. Nous souhaitons continuer à proposer des groupes de paroles aux patientes et nous réfléchissons à la forme que ceux-ci pourraient prendre pour qu'ils soient le plus bénéfique possible.

Mots-clés : Groupe de parole, *BRCA1*, *BRCA2*.

M/S hors série n° 1, vol. 24, janvier 2008

■P491 / 76. PROFIL GÉNOMIQUE PAR ARRAY-CGH DE CANCERS DU SEIN À FORME FAMILIALE. TENTATIVE D'INDIVIDUALISATION DE PROFILS *BRCAx*

G. Banneau, N. Sevenet, I. De Mascarel, M. Longy, F. Bonnet
Laboratoire de Génétique Constitutionnelle, Institut Bergonié, Bordeaux

Depuis les années 90, et la publication des études de ségrégation familiale portant sur le cancer du sein (Claus *et al.*, 1990), il est reconnu l'existence de 2 populations parmi les personnes atteintes de cette pathologie. La première, qui correspond à 95 % des cas, est sans évidence de déterminisme héréditaire. Par contre, la seconde, constituée des 5 % restants, se manifeste par la transmission d'un allèle de prédisposition de transmission autosomique dominante, de pénétrance élevée et de faible fréquence. La découverte des gènes *BRCA1* et *BRCA2* (Miki *et al.*, 1994 ; Wooster *et al.*, 1995) et la description de leurs altérations constitutionnelles dans les formes familiales de cancer du sein a conduit à la prise en compte en pratique médicale des syndromes de prédisposition héréditaire au cancer du sein. Cependant, la recherche de mutation de ces deux gènes dans les situations de récurrence familiale de cancer du sein reste relativement décevante, dans la mesure où une altération délétère n'est détectée que dans 30 % des cas environ. Plus de la moitié des suspicions cliniques de prédisposition héréditaire au cancer du sein reste aujourd'hui inexplicée sur le plan mutationnel, même si de nombreux autres gènes ont été impliqués dans la majorité du risque de survenue du cancer du sein (*TP53*, *PTEN*, *ATM*, *PALB2*, *FGFR2*), témoignant d'une importante hétérogénéité génétique. Par ailleurs, l'analyse des tumeurs survenant dans le cadre des prédispositions *BRCA1* et *BRCA2* a permis d'individualiser un phénotype tumoral évocateur de ces syndromes de prédisposition. Plus récemment, des profils transcriptionnels et des profils génomiques ont été testés pour prédire l'implication de *BRCA1* ou *BRCA2* avec une certaine efficacité (Hedenfalk *et al.*, 2001 ; Jönsson *et al.*, 2005). Il n'est donc pas impossible que d'autres gènes de prédisposition au cancer du sein, dénommés *BRCAx*, occasionnent la survenue de tumeurs au profil génomique et/ou transcriptionnel spécifique caractérisant ainsi autant d'endophénotypes tumoraux. L'identification de tels endophénotypes, en s'affranchissant de toute hétérogénéité génétique, serait vraisemblablement déterminante quant au succès des études de localisation des gènes *BRCAx* actuellement en cours. En effet, celles-ci reposent soit sur des études de liaison non paramétrique, soit sur des études d'associations qui permettent de s'affranchir des modèles mendéliens, mais se heurtent, du fait de l'importance des effectifs nécessaires, à un risque important d'hétérogénéité génétique. Nous présentons les résultats de l'analyse par CGH-array de 101 échantillons tumoraux cryopréservés, correspondant à 97 cas de cancers du sein survenus chez 91 patients différents appartenant eux-mêmes à 85 familles. Un déterminisme *BRCA1*, *BRCA2*, ou *PTEN* est connu pour 10 familles. Les profils génomiques obtenus permettent de prédire les prédispositions *BRCA1* et *BRCA2* dans un tiers des cas. L'existence de remaniements génétiques récurrents suggère l'individualisation de tumeurs *BRCAx*.

Mots-clés : formes familiales de cancer du sein, *BRCAx*, hétérogénéité génétique.

■P492 / 104. POLYPOSE ADÉNOMATEUSE FAMILIALE : L'ANALYSE DE L'EXON 2 DU GÈNE *APC* NE DOIT PAS ÊTRE NÉGLIGÉE

M. Blayau (1), C. Dugast (2), H. Jourmel (3), P. Parent (4), J.F. Bretagne (5), V. David (1)

(1) Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHRU de Rennes ; (2) Génétique Médicale-Hôpital Sud Rennes ; (3) Génétique Médicale, Centre Hospitalier de Vannes ; (4) Génétique Médicale, CHU de Brest ; (5) Service des Maladies de l'Appareil Digestif-CHRU de Rennes

Introduction : La polypose adénomateuse familiale revêt deux formes phénotypiques majeures (classique ou atténuée) selon l'âge d'apparition des polypes et leur nombre. Dans la forme atténuée les polypes apparaissent plus tardivement, leur nombre est restreint (< 100) et l'évolution en cancer se fait après 40 ans. Des mutations germinales du gène *APC* sont responsables des 2 formes la maladie et une corrélation phénotype-génotype a pu être établie. Les mutations responsables de la forme atténuée se situent dans 3 régions distinctes du gène *APC* : soit dans la partie 5', dans l'exon 9 ou à l'extrémité 3'. Cependant à ce jour aucune mutation n'a jamais été décrite dans les deux premiers exons. Patients et méthodes : Nous avons effectué le séquençage systématique du gène *APC* chez 200 personnes présentant une polypose rectocolique. Résultats : Des mutations germinales ont été mises en évidence chez 60 patients (30 %). Cinq d'entre eux présentent une courte délétion au sein de l'exon 2 : c.212_215delGTCT (p.Lys49fsX20) chez deux patients et c.147_150delACAA (p.Arg71fsX6) chez trois autres. Les 5 patients concernés ne sont pas apparentés et ils présentent un phénotype de polypose atténuée. Au total ces mutations sont

présentes chez 2,5 % des sujets étudiés mais si l'on ne prend en compte que les 60 mutations germinales identifiées, ce sont donc 8,5 % des mutations de notre cohorte qui touchent l'exon 2. Conclusion : Des mutations germinales ont été identifiées dans l'exon 2 du gène *APC*. La totalité de la partie 5' du gène *APC* doit donc être étudiée lors du diagnostic moléculaire des formes atténuées de polyposse rectocolique.

Mots-clés : Polyposse adénomateuse familiale, gène *APC*, Mutations exon 2.

■P493 / 108. *MATP (SLC45A2) : UN DEUXIÈME GÈNE IMPLIQUÉ DANS LA PRÉDISPOSITION MULTIFACTORIELLE AU MÉLANOME*

N. Soufir ⁽¹⁾, M. Guedj (2), A. Bourillon (1), G. Hetet (1), L. Bagait (1), C. Combadières (3), M. Rodero (3), P. Dieudé (4), V. Descamps (5), N. Dupin (6), P. Wolkenstein (7), P. Aegerter (8), D. Vitoux (9), D. Kerob (10), C. Lebbe (10), N. Basset-Seguin (10), B. Prum (1), P. Saiag (11), B. Grandchamp (1), sous l'égide des investigateurs de MELAN-COHORT (1) *Laboratoire de Biochimie Hormonale et Génétique, Hôpital Bichat Claude Bernard, APHP, Université Paris 7*; (2) *Laboratoire Statistique et Génome, UMR CNRS 8071, INRA 152, Université d'Evry*; (3) *InsermU543, APHP, Université Pierre et MarieCurie-Paris 6, Laboratoire d'Immunologie Cellulaire, Faculté de médecine Pitié-Salpêtrière, Paris, France*; (4) *Service de Rhumatologie, Hôpital Bichat-Claude-Bernard, APHP, Université Paris 7, Paris, France*; (5) *Service de Dermatologie, Hôpital Bichat-Claude-Bernard, APHP, Université Paris 7, Paris, France*; (6) *Service de Dermatologie, Hôpital Tarnier, APHP, Université Paris 5, Paris, France*; (7) *Service de Dermatologie, Hôpital Henri Mondor, APHP, Université Paris 13 Créteil, France*; (8) *URC Unité de BioStatistiques, Hôpital Ambroise Paré, Boulogne, France*; (9) *Service de Biochimie Hôpital Saint Louis, APHP, Université Paris 7, Paris, France*; (10) *Service de Dermatologie, Hôpital Saint Louis, APHP, Université Paris 7, Paris, France*; (11) *Service de Dermatologie, Hôpital Ambroise Paré, APHP, Université Paris Ouest, Boulogne Billancourt, France*

Le mélanome est un modèle exemplaire de maladie multifactorielle faisant intervenir des facteurs génétiques et des facteurs d'environnement (UV). Des variants fonctionnels du gène codant pour le récepteur de type 1 à la mélanocortine (MC1R), un gène clé de la pigmentation, sont clairement associés à une prédisposition au mélanome. Nous avons testé l'association de 2 polymorphismes du gène *MATP*, un gène responsable de l'albinisme oculocutané de type 4, avec le risque de mélanome. Patients et Méthodes : Nous avons étudié 1 019 patients atteints de mélanomes inclus de manière prospective dans MelanCohort et 1466 contrôles caucasiens sans antécédent de mélanomes. Les ADN constitutionnels leucocytaires ont été extraits après signature d'un consentement éclairé. Deux polymorphismes non synonymes de *MATP* (c.1122 C>G, L374F et c.814G>A, E372K) ont été génotypés à l'aide de sondes Taqman. Les fréquences des allèles, génotypes, haplotypes et diplotypes des 2 polymorphismes ont été comparées entre les groupes de malades et témoins. Résultats et discussion : L'équilibre de Hardy-Weinberg (HWE) était respecté pour les 2 polymorphismes chez les témoins, et les 2 polymorphismes étaient en très fort déséquilibre de liaison. Le polymorphisme L374F était très fortement associé au mélanome (P-value = 2.12×10^{-15} , OR = 0.35 [0.26-0.46]). La fréquence allélique de 374F était respectivement de 0.96 chez les malades et de 0.90 chez les témoins (identique à celle précédemment rapportée dans la population française). Bien qu'étant fortement associé à la couleur des yeux, des cheveux et au phototype, l'effet du variant *MATP* L374F sur le risque de mélanome persistait fortement après ajustement sur chacun des facteurs de risque cliniques (phototype, couleur des yeux et des cheveux, nombre de grains de beauté, lentignes dorsales). De plus, il existait un effet additif des variants MC1R et de *MATP* sur le risque de mélanome. Le gène *MATP* code pour une protéine mélanosomale impliquée dans une forme fréquente d'albinisme, OCA4. Les 2 variants (L374F et E372K) sont en déséquilibre de liaison, et sont associés à la pigmentation des cheveux, de la peau et des yeux dans la population caucasienne, l'allèle ancestral 374L étant associé à la couleur foncée de la peau et des cheveux. *MATP* a été récemment soumis à sélection, l'allèle 374F étant considéré comme spécifique de la population caucasienne. La plus grande fréquence de l'allèle caucasien 374F chez les malades atteints de mélanomes a possiblement favorisé la survenue de mélanomes par le biais d'une diminution de la quantité de mélanine dans l'épiderme, rendant de ce fait les malades plus sensibles aux effets des rayonnements ultraviolets. Conclusion : Nos travaux montrent une très forte association du gène *MATP*, un autre gène clé de pigmentation, avec le risque de mélanome. L'étude du rôle de ces polymorphismes sur le risque de mélanome dans d'autres populations, de même que l'étude d'autres SNPs, permettra de préciser le risque lié aux variations alléliques de ce gène. Des études fonctionnelles de ces 2 variants

permettraient de préciser leur effet sur la mélanogénèse. Les futurs travaux permettront de préciser si cette information génétique est plus précise et/ou complémentaire des données cliniques pour évaluer le risque de mélanome.

Mots-clés : mélanome, *MATP (SLC45A2)*, MC1R.

■P494 / 117. EFFETS SUR L'ÉPISSAGE DE VARIANTS DE SIGNIFICATION INCONNUE DES GÈNES *BRCA1* ET *BRCA2* : OPTIMISATION DE L'ANALYSE DE L'ARN DES PATIENTS PAR RT-PCR ET COMPARAISON AVEC UN TEST FONCTIONNEL BASÉ SUR UN MINIGÈNE INDICATEUR D'ANOMALIE D'ÉPISSAGE

C. Bonnet (1), S. Krieger (2), A. Rousselin (2), M. Vezain (1), I. Tournier (1), A. Martins (1), T. Frebourg (1), A. Hardouin (2) M. Tosi (1) (1) *Inserm U614, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Institut Hospitalo-Universitaire de Recherche Biomédicale de Rouen, Cancéropôle Nord-Ouest*; (2) *Laboratoire de Biologie Clinique et Oncologique, Centre François Baclesse, Caen, Cancéropôle Nord-Ouest*

L'interprétation des nombreux variants rares sans signification biologique évidente représente un problème majeur pour le diagnostic moléculaire des maladies génétiques. Parmi les très nombreux variants de signification biologique et clinique inconnue (Unclassified Variant ou UV) mis en évidence par la recherche de mutations des gènes *BRCA1* et *BRCA2* dans les familles à risque, une fraction importante pourrait affecter l'épissage de l'ARN, en modifiant des positions peu conservées des sites d'épissage, en activant des sites cryptiques d'épissage, ou en modifiant des éléments exoniques de régulation d'épissage, tels que les ESE (exonic splicing enhancers) ou les ESS (exonic splicing silencers). Nous avons sélectionné 19 cas index, présentant 22 variants de signification inconnue, parmi les nombreuses familles à risque de cancer du sein et/ou de l'ovaire adressées au laboratoire de Caen pour la recherche de mutations de *BRCA1* et *BRCA2*, par les consultations d'oncogénétique de Normandie et de Bretagne. Dans ces 19 familles, aucune mutation délétère n'avait été détectée dans *BRCA1* ni *BRCA2* et des prélèvements de sang périphérique dans des tubes PaxGene® étaient possibles pour l'analyse de l'ARN leucocytaire. Nous avons analysé ces 19 familles par RT-PCR optimisée et test d'épissage ex vivo. Nous avons choisi de nouvelles amorces de RT-PCR, et une méthode d'amorçage spécifique de la transcription reverse, tandis que les méthodes utilisées précédemment pour les transcrits de ces gènes étaient basées sur l'utilisation d'hexamères aléatoires. Le test ex vivo indicateur d'anomalies d'épissage, déjà utilisé pour la recherche de défauts d'épissage parmi les UV des gènes de réparation de l'ADN trouvés dans le syndrome de Lynch, est basé sur le minigène pCAS, dont la caractéristique essentielle est la présence de deux exons séparés par un intron qui porte des sites de clonage. Dans ce test, les exons contenant des UVs sont amplifiés à partir de l'ADN des patients, avec environ 150 pb de séquences introniques flanquantes et le produit de PCR est cloné dans le minigène pCAS. Après transfection dans des cellules HeLa, l'effet des variants sur l'épissage est étudié par RT-PCR en utilisant des amorces universelles placées dans les exons du minigène. Ces deux méthodes ont été appliquées à l'ensemble des 19 cas index, avec des résultats concordants, mais le test ex vivo, qui est mono-allélique, a permis de clarifier plusieurs ambiguïtés de l'analyse sur l'ARN des patients. Nous avons trouvé un défaut important d'épissage chez 7 des 19 cas index et une modification mineure de l'épissage chez un huitième. Deux des variants qui induisent un défaut d'épissage sont exoniques : l'un produit un nouveau site donneur d'épissage et l'autre modifie un élément exonique de régulation de l'épissage, de type ESE, dans l'exon 18 de *BRCA2*. Ce travail montre que (i) les défauts d'épissage sont fréquents parmi les UVs, notamment dans les séquences non conservées aux bornes des exons mais également à l'intérieur des exons, par activation de sites cryptiques ou par l'altération d'éléments de régulation ; (2) le test basé sur l'ADN et l'utilisation du minigène indicateur d'anomalies d'épissage est sensible et spécifique, malgré les réserves qui pouvaient être soulevées par l'analyse d'exons séparés, en dehors de leur contexte naturel. Ce résultat plaide fortement en faveur de l'utilisation de ce test, lorsque les prélèvements sanguins pour l'extraction d'ARN leucocytaire des patients ne sont pas possibles ; (iii) les prédictions informatiques de l'altération de sites d'épissage sont sensibles, si au moins 3 programmes différents sont utilisés, mais la spécificité de ces programmes n'est pas optimale, car, dans notre série de 22 UVs, plusieurs prédictions n'ont pas été confirmées par les deux approches expérimentales que nous avons utilisées.

Mots-clés : BRCA, Epissage, Variant.

■P495 / 118. ÉTUDE DES GÈNES CIBLES DE L'INSTABILITÉ MICROSATELLITAIRE DANS LE CANCER COLORECTAL

E. Fauquembergue (1), D. Tougeron (1,2), M. Laurent (3), F. Le Pessot (3), A. Rouquette (3), JC. Sabourin (3), M. Tosi (1), T. Frebourg (1), J-B. Latouche (1)



(1) Inserm U614, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Institut Hospitalo-Universitaire de Recherche Biomédicale de Rouen ; (2) Service d'Hépatogastro-entérologie, Oncologie Digestive, CHU de Rouen ; (3) Laboratoire de Génétique Somatique des Tumeurs, Fédération d'Anatomopathologie, CHU de Rouen

Le phénotype RER+ (Replication ERorr) est une forme d'instabilité génétique retrouvée dans 15 % des cancers colorectaux (CCR) et dans les tumeurs survenant dans le cadre du cancer colorectal héréditaire non polyposique (syndrome HNPCC) ou syndrome de Lynch. Cette instabilité résulte de l'inactivation du système de réparation MMR (Mismatch Repair) de l'ADN intervenant dans la réparation des anomalies de réplication touchant préférentiellement les séquences répétées. Dans la majorité des cas (85 %), le mécanisme causal est une hyperméthylation biallélique du gène *MLH1* et, dans une minorité de cas, une mutation constitutionnelle d'un des gènes MMR suivie d'une inactivation somatique de l'autre allèle. Cette instabilité provoque l'apparition de mutations décalant le cadre de lecture de gènes présentant des séquences répétées. Ce décalage est à l'origine de l'apparition de néo-antigènes qui pourraient être immunogènes et ceci expliquerait pourquoi le phénotype RER est associé à un meilleur pronostic. Dans le but de caractériser de façon extensive les gènes cibles du phénotype RER et d'identifier des épitopes potentiels, nous avons analysé, dans une centaine de cancers colorectaux de phénotype RER+, 21 gènes considérés comme cibles de l'instabilité microsatellitaire : *TGFBR2*, *IGF2R*, *ACVR2*, *PTEN*, *APC*, *AIM2*, *BAX*, *CASP5*, *PRDM2*, *MSH3*, *MSH6*, *MBD4*, *RAD50*, *HNF1A*, *TCF4*, *TAF1B*, *SEC63*, *OGT* et *ASTE1*. Ces gènes ont été sélectionnés sur deux arguments : fréquence de mutation dans leurs séquences répétées codantes supérieure à 20 % dans les CCR de phénotype RER+ et rôle dans la carcinogenèse ou la réponse spécifique immunitaire démontrée. Nous avons analysé simultanément les séquences répétées de ces 21 gènes par PCR multiplexe fluorescente et comparé pour chaque patient le profil obtenu à partir de l'ADN colique tumoral et celui obtenu à partir du tissu colique non tumoral. À ce jour, 71 tumeurs ont été analysées et 21 de ces tumeurs RER+ s'intégraient à un syndrome de Lynch. Cette analyse a révélé que les gènes les plus fréquemment mutés dans les cancers colorectaux de phénotype RER+ étaient *ACVR2* (84 %), *ASTE1* (73 %) et *TGFBR2* (57 %). Le nombre moyen de gènes cibles mutés par tumeur était de 6. Nous n'avons pas observé de différence entre les tumeurs s'intégrant à un syndrome HNPCC et les cancers colorectaux sporadiques de phénotype RER+, mais en revanche nous avons trouvé une corrélation entre le nombre de cibles mutées et le stade de la tumeur. Enfin, nous avons observé certaines associations préférentielles entre des cibles mutées notamment *ACVR2* et *TGFBR2* (rôle dans la survie cellulaire), *MSH3* et *MBD4* (rôle dans la réparation de l'ADN) ou *BAX* et *AIM2* (rôle dans l'apoptose). Cette étude simultanée de plusieurs gènes cibles dans cette série de cancers colorectaux de phénotype RER+ montre que toutes les tumeurs RER+ présentent des mutations somatiques tronquantes de plusieurs gènes impliqués dans l'oncogenèse. Ce résultat et l'observation d'une association préférentielle de certaines cibles suggèrent que plusieurs gènes cibles doivent être mutés pour qu'un cancer colorectal puisse se développer lorsque le système MMR est inactivé. Ceci pourrait expliquer la pénétrance incomplète des mutations constitutionnelles des gènes MMR et le fait que les mutations constitutionnelles de l'un de ces gènes cibles ne soient pas suffisantes pour induire un syndrome HNPCC. Ces résultats montrent également que les voies de l'oncogenèse colique semblent les mêmes dans les CCR RER+ sporadiques ou s'intégrant à un syndrome HNPCC. Nous recherchons maintenant s'il existe une corrélation entre les mutations de certaines cibles et l'existence d'un infiltrat lymphocytaire tumoral. Nous espérons ainsi caractériser des néo-antigènes qui pourraient être la cible d'une réponse immunitaire forte. Ceux-ci pourraient être utilisés dans une stratégie d'immunothérapie des CCR pour des patients atteints de syndrome HNPCC.

Mots-clés : HNPCC, RER, Epitope.

■P496 / 132. DOUBLES MUTATIONS DES GÈNES *BRCA1* ET/OU *BRCA2* DANS UNE SÉRIE DE FAMILLES TESTÉES POUR PRÉDISPOSITION GÉNÉTIQUE AU CANCER DU SEIN OU DES OVAIRES

D. Muller (1), I. Schultz (1), J. Abecassis (1), O. Caron (2), J.-M. Limacher (2), C. Toulas (3), L. Gladiéff (3), P. Dufour (1), J.-P. Fricker (1)
(1) CRLCC P. Strauss, Strasbourg ; (2) Service d'oncologie, CHRU de Strasbourg ; (3) CRLCC C. Regaud, Toulouse, France

Les prédispositions génétiques au cancer du sein et de l'ovaire sont associées pour la plupart à des mutations germinales des gènes *BRCA1* et *BRCA2*. L'identification de ces mutations est actuellement effectuée de la façon la plus exhaustive possible, c'est-à-dire incluant l'analyse complète des 2 gènes et la recherche des grands réarrangements. À partir de 700

familles à risque testées pour les 2 gènes, 13 % présentent une mutation délétère des gènes *BRCA1* ou *BRCA2*. Nous avons identifié 5 familles avec 2 mutations des gènes *BRCA1* et/ou *BRCA2*. Il s'agit : a) d'une famille avec double hétérozygotie des gènes *BRCA1* et *BRCA2* ; b) d'un cas avec une double hétérozygotie du gène *BRCA1* ; c) de 3 familles comportant 2 mutations distinctes du gène *BRCA1*, originaires chacune d'une des 2 branches parentales. La description détaillée de ces familles sera rapportée. La famille double hétérozygote *BRCA1* et *BRCA2* comporte une mutation faux sens sur *BRCA1* (A71P, c.330A>G) décrite comme une mutation fondatrice espagnole (origine Galice) associée à des transcrits aberrants. La 2^e mutation c.2929delC a été détectée sur l'exon 11 du gène *BRCA2*, n'est pas répertoriée dans le BIC mais a été décrite (Espagne). La double hétérozygotie a été retrouvée sur plusieurs générations successives et dans une branche cousine. Dans une famille, 2 mutations du gène *BRCA1*, c.3600-3610del11 et c.2360delC, toutes deux considérées comme délétères, ont été détectées chez le cas index. Dans 3 familles, ont été détectées 2 mutations du gène *BRCA1*, résultant de l'union de 2 parents porteurs chacun d'une mutation différente de *BRCA1*. Ces mutations ségrègent indépendamment dans leur descendance. Il n'y a pas de sujet composite. La pénétrance et les caractéristiques phénotypiques associées seront présentées. Ces données montrent : – la première description d'une double hétérozygotie *BRCA1* – la faible fréquence des doubles hétérozygoties *BRCA1/BRCA2* – l'association non exceptionnelle de 2 mutations distinctes de *BRCA1* dans une même famille – que l'une des 2 mutations est toujours une mutation fréquente. Ces cas représentent 5 % des familles avec mutations démontrées, taux non négligeable, si on considère leur impact en terme de conseil génétique pour les apparentés. Ces résultats démontrent l'importance et le bénéfice à réaliser une analyse exhaustive des 2 gènes *BRCA1* et *BRCA2*, en particulier en présence d'une mutation fondatrice ou fréquente dans la population d'origine, à l'instar de ce qui est rapporté pour les familles ashkénazes.

Mots-clés : Prédisposition génétique, gènes *BRCA1/2*, cancer du sein.

■P497 / 162. DESCRIPTION DES MUTATIONS DES GÈNES *BRCA1* ET *BRCA2* IDENTIFIÉES EN CHAMPAGNE-ARDENNE

M.C. Gorisse (1), T.D. Nguyen (2), D.Gaillard (3), L. Demange (4), M. Mozele-Nivoix (5), A. Kolkes (1), C. Delvincourt (1)

(1) Laboratoire de Biologie Oncologique, Institut Jean Godinot Reims ; (2) Oncogénétique, Institut Jean Godinot, Reims ; (3) Service de Génétique, CH Maison Blanche, Reims ; (4) Consultations d'Oncogénétique, Clinique Courlancy, Reims ; (5) Unité de Génétique, Cytogénétique, Centre Hospitalier, Troyes

Introduction : L'oncogénétique réalise dans le cadre de la médecine prédictive des tests moléculaires appliqués à la prédisposition au cancer. *BRCA1* et *BRCA2* sont considérés comme des gènes majeurs de prédisposition aux cancers du sein et de l'ovaire. Les mutations constitutionnelles délétères de ces gènes induisent des protéines non fonctionnelles. Matériel et méthodes : Cette étude porte sur 200 familles avec un contexte familial de cancers du sein et/ou de l'ovaire et sur 15 cancers du sein ou de l'ovaire « jeune » (< 40 ans) sans contexte familial. Après criblage par DHPLC (DNA High Performance Liquid Chromatography), le séquençage classique des fragments susceptibles de porter des variants a permis d'identifier les mutations délétères. Les séquences de référence utilisées sont U14680.1 pour *BRCA1* et NM_000059 pour *BRCA2* de la base de données « Genbank ». La nomenclature HGVS est appliquée (ATG = 1). Résultats : Parmi les 200 familles à risque d'être porteuses d'une mutation constitutionnelle (risque du cas index > 20 %), 35 (17,5 %) possèdent une mutation délétère (20 *BRCA1* et 15 *BRCA2*). Ces mutations se répartissent respectivement pour *BRCA1* et *BRCA2* de la façon suivante : délétions et/ou insertions (11 et 10), non sens (5 et 1), faux sens (3 et 2) et épissage (1 et 2). Ces mutations sont associées à des contextes familiaux variables. Parmi les 94 familles présentant au moins un cas de cancer « jeune » 18,1 % présentent une mutation. Des mutations *BRCA1* sont plus fréquentes dans un contexte sein/ovaire (52,5 %) que *BRCA2* (25 %). Parmi la population de cas jeunes 13,3 % présentent une mutation délétère (1 *BRCA1* et 1 *BRCA2*). Conclusion : Ces résultats sont en accord avec les données de la littérature. Certaines mutations pourraient être récurrentes : pour *BRCA1* : 3481_3490del11 (3 familles), c.5266_5267insC (3 familles) et pour *BRCA2* : c.7436-2A>T (2 familles). L'accessibilité à ces tests moléculaires au niveau régional a permis d'organiser et de renforcer le dépistage chez des personnes à risque en Champagne-Ardenne.

Mots-clés : Oncogénétique, BRCA, Champagne-Ardenne.

■P498 / 171. PRÉVOIR ET PRÉDIRE LA MALADIE : L'ONCOGÉNÉTIQUE ET LES MUTATIONS *BRCA1* ET *BRCA2*

N. Prodromou (1), P. Ben Soussan (1), H. Sobol (2)

(1) Unité de Psycho-oncologie, Institut Paoli-Calmettes-Marseille ; (2) Département d'Oncologie génétique, prévention et dépistage, Inserm UMR 599, Institut Paoli, Calmettes, Marseille

Le développement de consultations d'oncogénétique orientées vers les prédispositions aux cancers du sein et de l'ovaire a débuté en Europe et aux Etats-Unis à partir des années 90. L'objectif des consultations d'oncogénétique est de répondre aux patientes qui, compte tenu de leur histoire médicale familiale, s'interrogent sur le risque qu'elles ont de développer à leur tour un cancer et de les informer des modalités de prévention et de dépistage adaptés. Pour celles déjà atteintes, il s'agit de savoir si le cancer est « dû au hasard ou à l'hérédité » ! L'information pose un problème essentiel : la façon dont elle est donnée, la façon dont elle est reçue, la façon dont elle circule dans une famille. Car ce qui n'était au début qu'une demande individuelle aura des conséquences concernant plus largement toute la famille. Comment doit-on préparer à la révélation d'un statut génétique, quelle information donne-t-on quand un test génétique est proposé, sur la signification de ce statut et sur les possibilités de prise en charge globale du risque tumoral conféré par ce statut ? Comment accompagner la décision d'une chirurgie prophylactique ? Comment peut-on garantir un choix éclairé plutôt qu'un consentement éclairé ? Autant de questions qui seront abordées ici à partir de notre travail de psychologues associés aux consultations d'oncogénétique.

Mots-clés : Oncogénétique, mutation *BRCA1*, *BRCA2*, Prise en charge Psychologique.

■P499 / 175. NEUROFIBROMATOSE DE TYPE I, LYMPHOME ET CAVERNOME CHEZ UN ENFANT PORTEUR D'UNE GRANDE DÉLÉTION HOMOZYGOTE DU GÈNE *MSH2*.

C. Colas (1), F. Coulet (1), S. Haouy (2), I. Husson (3), T. André (4), M. Vidaud (5), F. Soubrier (1), A. Verloes (6)

(1) Laboratoire d'Oncogénétique et d'Angiogénétique, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris ; (2) Service d'Hématologie, Hôpital Trousseau, Paris ; (3) Service de Neuropédiatrie, Hôpital Robert-Debré, Paris ; (4) Service d'Oncologie médicale, Hôpital Tenon, Paris ; (5) Service de Biologie Moléculaire, Hôpital Beaujon, Clichy ; (6) Service de Génétique, Hôpital Robert-Debré, Paris

Les mutations hétérozygotes constitutionnelles de l'un des gènes du système de réparation des mésappariements (*MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *PMS2*) sont responsables du syndrome HNPCC (Hereditary Non Polyposis Colorectal Cancer). Des mutations homozygotes ou hétérozygotes composites de ces gènes ont également été rapportées dans près de 20 familles et sont responsables de taches café-au-lait évocatrices de neurofibromatose de type I (NFI) et de cancers de survenue pédiatrique (atteintes hématologiques, neurologiques et/ou du spectre HNPCC). Nous rapportons le cas d'un garçon de 3 ans, né d'un mariage entre cousins germains qui présentait des taches café-au-lait et des nodules de Lisch. Le gène *NFI* a été exploré sans qu'aucune mutation ne soit mise en évidence. Dans un second temps, il a présenté un cavernome intracérébral traité par chirurgie puis un lymphome lymphoblastique dont il est décédé. Dans le même temps, son père a été pris en charge pour un cancer du côlon métastatique diagnostiqué à 29 ans. Aucun autre élément de l'histoire familiale n'était en faveur d'un syndrome HNPCC. Nous avons identifié une délétion homozygote de l'exon 8 sur le gène *MSH2* chez l'enfant. Ses 2 parents étaient porteurs de cette délétion à l'état hétérozygote. C'est le premier cas décrit d'un grand réarrangement du gène *MSH2* à l'état homozygote. La présentation clinique de cet enfant correspond à celle décrite dans la littérature. Seul le cavernome est un élément nouveau puisque des malformations vasculaires n'ont jamais été décrites dans cette situation.

Mots-clés : syndrome HNPCC, mutation homozygote, *MSH2*.

■P500 / 197. ALTÉRATIONS BI-ALLÉLIQUE DE *RUNX1/AML1* DANS LES LEUCÉMIES AIGUES MYÉLOÏDES (LAM) OBSERVÉES DANS LE CADRE DE FPD (FAMILIAL PLATELET DISORDER)

C. Preudhomme (1), A. Renneville (1), V. Bourdon (2), N. Philippe (1), Mj. Mozziconacci (2), C. Roche-Lestienne (1), N. Boissel (3), N. Dhedin (4), V. Pondare (5), A. Baruchel (6), H. Sobol (2) pour le réseau d'études des hémopathies familiales

(1) Laboratoire d'hématologie, CHRU de Lille ; (2) Laboratoire d'oncogénétique, Institut Paoli Calmette, Marseille ; (3) Service clinique d'hématologie, Hôpital Saint Louis, Paris ; (4) Service clinique d'hématologie, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris ; (5) Service clinique d'hématologie pédiatrie, Hôpital Debrousse, Lyon ; (6) Service clinique d'hématologie, Hôpital Debré, Paris

Le FPD est une entité rare caractérisée par une thrombopénie et des anomalies fonctionnelles des plaquettes d'origine familiale associées à une forte prédisposition à développer une LAM. Parmi les 11/12 familles étudiées sur le plan moléculaire, une altération du gène *RUNX1* localisée en 21q22 a été retrouvée. Ces altérations sont très variables : mutations faux sens, mutations non sens, et délétion intragénique. Concernant les mutations ponctuelles, à l'exception d'une famille, où la mutation touche l'exon 6, dans tous les autres cas, les mutations sont dans le Runt Domain comprenant les exons 3 à 5. L'analyse au stade leucémie n'a été réalisée que chez 2 sujets de deux familles différentes et aucune anomalie secondaire n'a été retrouvée suggérant que l'haploinsuffisance de *RUNX1* était suffisante à induire le FPD et probablement la LAM. Nous rapportons ici l'analyse de 8 patients présentant une LAM présentant une altération constitutionnelle de *RUNX1* observée dans 5 familles françaises. 3/5 familles présentent une mutation de *RUNX1* dans le Runt Domain, une famille présente une mutation non sens dans l'exon 8 (il s'agit de la 1^{re} famille présentant cette altération) et dans le dernier cas il s'agit d'une délétion très large d'une partie du bras long du chromosome 21 impliquant le locus *RUNX1*. L'analyse des cellules blastiques a révélé que dans 7/8, une seconde altération du gène *RUNX1* est retrouvée : dans 5/8, il s'agit d'une mutation du second allèle, dans 2/8 cas d'une duplication de l'allèle altéré. De manière intéressante, dans le dernier cas la LAM est survenue 5 ans après traitement d'une première leucémie aiguë lymphoblastique T, suggérant une origine induite. Actuellement la très grande majorité des cas étudiés sont dus à la découverte de LAM survenant dans le cadre de thrombopénie ou thrombopathie familiale. De manière intéressante, l'un de nos patients a été détecté suite à la persistance d'une thrombopénie inexplicée après traitement de sa LAM en dehors de tout contexte familial. En conclusion, le FPD est une entité rare, qui nécessite des explorations fines et complètes du gène *RUNX1* (recherche de mutations sur l'ensemble des exons 3 à 8, recherche de délétions intragéniques). Nos résultats suggèrent que l'altération du second allèle de *RUNX1* est nécessaire au développement de la LAM. Enfin, actuellement la porte d'entrée de cette recherche est le plus souvent un contexte de leucémie familiale ou secondaire à des thrombopénies ou thrombopathies familiales. Il semble important d'étendre cette analyse de manière plus systématique devant toutes thrombopénies ou thrombopathies familiales de cause indéterminée.

Mots-clés : *RUNX1/AML1*, familial platelet disorder, acute myeloid leukemia (AML).

■P501 / 207. PROJET HOSPITALIER DE RECHERCHE CLINIQUE « RECHERCHE DE FACTEURS GÉNÉTIQUES PRÉDISPOSANT À LA SURVENUE DE DYSGLOBULINÉMIES FAMILIALES »

C. Dumontet (1), H. Sobol (2)

(1) Hospices Civils de Lyon, Université de Lyon, Laboratoire de Caractérisation Moléculaire des Tumeurs ; (2) Institut Paoli Calmettes, Université Aix-Marseille II Pour le Réseau National INCa sur la Prédisposition Héritaire aux Hémopathies Malignes

L'objectif de ce Projet Hospitalier de Recherche Clinique est de mettre en place une cytothèque et une banque d'ADN permettant d'identifier des caractéristiques génétiques prédisposant à la survenue de dysglobulinémies familiales. Cette approche se basera sur l'étude de familles dans lesquelles surviennent plusieurs cas de dysglobulinémies. Les dysglobulinémies retenues dans le cadre de cette étude comprendront les cas de myélome multiple et les gammopathies monoclonales de signification indéterminée (GMSI). Le myélome multiple est une hémopathie maligne rare survenant dans la grande majorité des cas de façon isolée, sans contexte familial. Les GMSI correspondent à l'existence d'un clone plasmocytaire sécrétant une immunoglobuline monoclonale et peuvent chez certains patients évoluer vers un authentique myélome. Un certain nombre de cas survient dans des familles présentant d'autres néoplasies, qu'il s'agisse d'autres hémopathies malignes ou de tumeurs solides. Enfin dans un nombre limité de familles, plusieurs cas de myélome peuvent être identifiés dans des parents du premier degré. Certaines anomalies cytogénétiques spécifiques ont été décrites dans les cellules tumorales de patients atteints de myélome multiple, et possèdent une forte valeur pronostique. En revanche, on ne connaît pas actuellement les mécanismes génétiques pouvant contribuer à la myélogénèse. L'identification et l'étude de familles comportant plusieurs cas offrent la possibilité d'identifier certains facteurs génétiques prédisposant à la survenue de myélomes. Le présent projet sera réalisé grâce à la participation des deux principaux groupes français de prise en charge des patients atteints de myélome, l'Intergroupe Francophone du Myélome (IFM) et le Myeloma Autograft Group (MAG) et s'intégrera dans le Réseau National INCa sur la Prédisposition Héritaire aux Hémopathies Malignes par la Société Française d'Hématologie et le Laboratoire de Caractérisation



Moléculaire des Tumeurs (LCMT), plateforme Cancéropôle de génotypage. Ce réseau permettra d'optimiser la collecte des échantillons des patients et des membres de leur famille. Les patients et les apparentés inclus dans ce PHRC seront systématiquement vus en consultation d'oncogénétique, en vue de la signature du consentement éclairé, de l'établissement de l'arbre généalogique et la réalisation de prélèvements sanguins qui seront centralisés au LCMT. Ce PHRC fait l'objet d'une promotion par les Hospices Civils de Lyon, avec une activation prévue en novembre 2007.

Mots-clés : Myélome multiple, Oncogénétique, MGUS.

■P502 / 214. LES PHYTO-ŒSTROGÈNES DU SOJA ONT-ILS UNE ACTION SUR LES GÈNES DU CYCLE CELLULAIRE ET DE L'ANGIOGÈNESE DES CELLULES TUMORALES PROSTATIQUES HUMAINES EN LIGNÉE CONTINUE ?

N. Rabiau (1, 3), M. Kossai (1, 3), M. Braud (1, 3), L. Delort (1, 3), N. Chalabi (1, 3), S. Satih (1, 3), R. Bosviel (1, 3), J. Dauplat (1, 2), Y.J. Bignon (1, 2, 3), D.J. Bernard-Gallon (1, 3)

(1) Département d'Oncogénétique du Centre Jean Perrin, Clermont-Ferrand ; (2) Université Clermont I, Faculté de Médecine, Clermont-Ferrand ; (3) CNRH, Clermont-Ferrand ; (4) CHU Gabriel Montpied, Clermont-Ferrand

Introduction : Le cancer de la prostate est le cancer le plus fréquemment diagnostiqué et en constante progression dans la plupart des pays développés. Malgré une détection de plus en plus précoce, ce cancer représente la deuxième cause de mortalité aux Etats-Unis. Différentes études épidémiologiques ont démontré un taux inférieur de cancers de la prostate chez les populations asiatiques, ce qui pourrait s'expliquer notamment par leur consommation élevée de soja. En effet, la daïdzéine et la génistéine, les deux phyto-œstrogènes du soja auraient une influence sur le risque de développement d'un cancer de la prostate. Le but de cette étude était de déterminer les doses de daïdzéine et de génistéine entraînant des effets sur trois lignées continues prostatiques humaines cancéreuses : DU 145, PC-3 et LNCaP et d'étudier ensuite ces effets sur l'expression d'un panel de gènes impliqués dans le cycle cellulaire et l'angiogénèse. **Matériel et Méthodes :** La détermination du temps d'exposition et des doses d'isoflavones entraînant un effet sur les cellules prostatiques a été réalisée par cytométrie de flux. Les trois lignées ont été exposées à 70 µM, 80 µM, 90 µM, 100 µM ou 110 µM de daïdzéine et 10 µM, 20 µM, 30 µM ou 40 µM de génistéine durant 24, 48 ou 72 h. Les effets des phyto-œstrogènes du soja ont été étudiés au niveau transcriptionnel sur l'expression des principaux gènes impliqués dans le cycle cellulaire ou dans l'angiogénèse grâce à la technique RT2Profiler PCR avec une détection par SYBR Green par la méthode TaqMan®. **Résultats :** Grâce à la cytométrie de flux, un blocage en G2/M après 48 h de traitement avec 110 µM de daïdzéine et 40 µM de génistéine a été mis en évidence. Et l'étude de l'expression des gènes après traitement par les phyto-œstrogènes a démontré une modification significative ($p < 0,05$) d'un panel de gènes impliqués dans les voies du cycle cellulaire et les voies de l'angiogénèse. **Discussion :** En étudiant chacun des gènes dont l'expression a varié significativement après traitement par les phyto-œstrogènes, il nous a semblé que le soja pourrait avoir une action bénéfique et un rôle préventif dans le développement du cancer de la prostate. Mais de plus amples investigations seront encore nécessaires pour infirmer ou confirmer ces résultats.

Mots-clés : Lignées Continues Prostatiques, Phyto-œstrogènes, Plaques multi-amorces.

■P503 / 215. COMPARAISON DES PROFILS TRANSCRIPTOMIQUES ET CLINIQUES DE CANCERS DU SEIN DE PATIENTES EUROPÉENNES ET DE PATIENTES MÉDITERRANÉENNES APPARTENANT AU « BREAST MED CONSORTIUM »

N. Chalabi (1, 2), D.J. Bernard-Gallon (1, 2), Y.-J. Bignon (1, 2, 3) et le « Breast Med Consortium »*

(1) Département d'Oncogénétique, Centre Jean-Perrin, Clermont-Ferrand ; (2) Centre de Recherche en Nutrition Humaine (CRNH), Clermont-Ferrand ; (3) Université d'Auvergne, Clermont-Ferrand ; * Breast Med Consortium : F. Kwiatkowski, Recherche Clinique, Centre Jean-Perrin, Clermont-Ferrand M. Agier, V. Vidal, V. Laplace-Chabaud, V. Sylvain-Vidal, Diagnostic Division d'Imaxio, Saint-Beauzère V. Bertholet, M. Lacroix, G. Leclerc, J. Remacle, Université de Namur, Namur, Belgique C. Sibille, Université Catholique de Louvain, Bruxelles, Belgique F. de Longueville, N. Zammato, Eppendorf Array Technologies, Namur, Belgique N. Ben Jaafar, A. Sefiani, K. Ouldin, Département de Génétique et de Biologie Moléculaire, Rabat, Maroc A. Mégarbané, N. Jalkh, Unité de Génétique Médicale, Beyrouth, Liban W. Mahfoudh, W. Troudi, A. Ben

Ammar-El Gaïed, Laboratoire d'Immunologie, Tunis, Tunisie L. Chouchane, Laboratoire d'Immuno-Oncologie Moléculaire, Monastir, Tunisie

Introduction : Dans les pays Occidentaux, l'incidence des cancers du sein et leur mortalité sont plus élevés que dans les pays Méditerranéens. Ces disparités pourraient s'expliquer par le style de vie différent mais aussi par des facteurs de risque liés à des caractéristiques cliniques spécifiques de chaque continent. C'est pourquoi, nous avons réalisé une étude comparative entre des patientes Européennes et Méditerranéennes atteintes d'un cancer du sein. Cette étude, nommée le Breast Med Consortium, a regroupé 5 pays : la France, la Belgique, le Maroc, la Tunisie et le Liban. **Patients et Méthodes :** Entre Septembre 2002 et Septembre 2005, chaque pays appartenant au Breast Med Consortium a recruté des patientes atteintes d'un cancer du sein. Chaque patiente a répondu à un questionnaire clinique nous permettant ainsi de récolter des données concernant ses habitudes alimentaires, ses antécédents personnels et familiaux ainsi que les données histologiques du cancer développé. Parallèlement, à partir des tumeurs du sein, une extraction d'ARN a été réalisée dans le but d'établir le profil transcriptomique de chaque patiente. Pour cela, nous avons conçu une biopuce « à façon » comportant 3 456 dépôts d'oligonucléotides correspondant à 2 094 gènes impliqués dans le cancer du sein. L'ensemble des données cliniques et transcriptomiques a été regroupé afin de réaliser des croisements. **Résultats :** Les résultats nous ont permis d'observer que dans les pays Méditerranéens, les cas de cancer du sein étaient plus avancés avec notamment plus de cancers canalaux infiltrants de grade SBR III avec invasion ganglionnaire. De plus, nous avons constaté que la population Méditerranéenne était plus jeune d'environ 10 ans par rapport aux patientes Européennes. Nous avons également noté plus de grossesses et des femmes qui ont allaité dans les pays Méditerranéens. Les profils d'expression transcriptomique nous ont permis de mettre en évidence la modulation significative de 16 gènes en fonction des critères cliniques et de l'origine des patientes. **Discussion :** Ainsi, nous avons identifié des gènes impliqués dans l'angiogénèse (*MMP9*, *VEGF*, et *PHB1*) mais aussi des gènes fortement liés au cancer du sein (*BRCA1*, *TFAP2C*, *GJA1* et *TFPI1*). De plus, une surexpression des cytokératines KRT8 et KRT18 dans les tumeurs des patientes Méditerranéennes nous a permis d'émettre l'hypothèse de la présence d'un phénotype cellulaire de type « luminal B » tandis que les tumeurs Européennes seraient plutôt de type « luminal A ». **Conclusion :** Ce travail a permis d'identifier des paramètres cliniques spécifiques dans les pays Méditerranéens comme la précocité dans l'âge de développement de cancer du sein et des tumeurs plus agressives. De plus, les profils d'expression transcriptomiques nous ont permis de mettre en évidence de potentiels biomarqueurs spécifiques aux pays Méditerranéens. Ce travail a montré des résultats prometteurs dans la classification des tumeurs du sein ce qui pourrait devenir un outil puissant dans la médecine personnalisée.

Mots-clés : Cancer du Sein, Données Cliniques, Profils Transcriptomiques.

■P504 / 224. ÉTUDE DE POLYMORPHISMES DANS LES GÈNES DE RÉPARATION *ERCC2*, *XPC*, *XRCC1* ET *XRCC3* ET ASSOCIATION AVEC LE RISQUE DE DÉVELOPPER UN CANCER DU SEIN, DES OVAIRES OU DE LA VESSIE

R. Bosviel (1, 2), L. Delort (1, 2), L. Fontana (4, 5), L. Guy (1, 3), N. Rabiau (1, 2), N. Chalabi (1, 2), S. Satih (1, 2), J. P. Boiteux (3, 4), A. Chamoux (4, 5), Y. J. Bignon (1, 2, 4), D. Bernard-Gallon (1, 2)

(1) Département d'Oncogénétique du Centre Jean Perrin, CHU de Clermont-Ferrand ; (2) CRNH Clermont-Ferrand ; (3) Service d'Urologie, CHU Clermont-Ferrand ; (4) Université Clermont I, Clermont-Ferrand ; (5) Service de Médecine du Travail et des Pathologies Professionnelles, CHU Clermont-Ferrand

Introduction : L'augmentation du nombre de cancers étant flagrante ces dernières années, nous nous sommes intéressés à l'étude de trois d'entre eux : le cancer du sein, celui des ovaires et celui de la vessie. Hormis les rares cas avec une prédisposition génétique et une pénétrance élevée, ces pathologies s'expriment sur un mode multifactoriel. En effet, ces cancers seraient liés à des polymorphismes dans des gènes de faible pénétrance, c'est-à-dire des gènes interagissant avec des facteurs environnementaux. Parmi ces gènes, beaucoup d'études s'intéressent aux gènes de réparation de l'ADN. La présence de polymorphismes dans ces gènes peut être à l'origine d'une altération fonctionnelle des protéines correspondantes et favoriserait ainsi le processus de cancérogenèse. **Matériel et Méthodes :** Dans le cadre de cette étude, des polymorphismes fonctionnels sont analysés sur 4 gènes de réparation de l'ADN (*ERCC2*, *XPC*, *XRCC1* et *XRCC3*). Deux populations sont étudiées : l'une comprend 911 cas de cancers du sein, 51 cas de cancers des ovaires et 1000 témoins. L'autre compte 51 cas de cancers de la vessie pour 45 témoins. Le génotypage de 6 SNP (Single Nucleotide Polymorphism) est effectué pour toutes ces populations

par la technique des sondes MGB (Minor Groove Binder) qui consiste en l'utilisation de la discrimination allélique par la méthode Taqman. Résultats et discussion : Cette étude a permis de mettre en évidence une augmentation du risque de développer un cancer du sein chez les femmes n'utilisant pas de contraceptif oral et celles ayant un rapport tour de taille/tour de hanches supérieur à 0,85 pour les homozygotes Asn de *ERCC2* 312. Nous avons également révélé l'influence de l'allèle Gln du polymorphisme XPC 939 sur l'augmentation du risque de développer un cancer de la vessie.

Mots-clés : Cancer, Single Nucleotide Polymorphism, gènes de réparation de l'ADN.

■P505 / 235. CARTOGRAPHIE PHYSIQUE DES ISODÉRIVÉS DU CHROMOSOME 20 DANS LES SYNDROMES MYÉLODYSPLASIQUES

N. Douet-Guilbert (1, 2), J.L. Laï (3), J. Andrieux (3), B. Pollet (4), I. Plantier (5), C. Delattre (6), O. Crépin (7), S. Corm (8), A. Basinko (1), M.J. Le Bris (1), A. Herry (1), F. Morel (1, 2), M. De Braekeleer (1, 2) (1) Laboratoire d'Histologie, d'Embryologie et de Cytogénétique, Faculté de Médecine et des Sciences de la Santé, UBO, Brest ; (2) INSERM U613, Génétique Moléculaire et Génétique Epidémiologique, Brest ; (3) Laboratoire de Génétique Médicale, Hôpital Jeanne de Flandre, CHRU de Lille ; (4) Laboratoire de Biologie, CH Boulogne sur mer ; (5) Fédération de Biologie, CH Roubaix ; (6) Laboratoire de Biologie, CH de Dunkerque ; (7) Laboratoire central de Biologie, CH de Bethune ; (8) Service des maladies du sang, Hôpital Claude Huriez, CHRU de Lille

Les délétions du bras long du chromosome 20 sont des anomalies récurrentes dans les syndromes myélodysplasiques. Depuis 2004, Li et coll. ont décrit un variant de ces délétions, également retrouvé dans les hémopathies malignes myéloïdes : l'isodérivé du chromosome 20 (ider(20)). L'ider(20) en cytogénétique conventionnelle peut apparaître comme un petit marqueur chromosomique métacentrique associé à une monosomie du chromosome 20. Le but de cette étude est de réaliser une cartographie moléculaire par FISH (hybridation in situ fluorescente) du matériel délété et conservé dans les isodérivés du chromosome 20. Au laboratoire de Cytogénétique du Centre Hospitalier Régional et Universitaire de Lille, un isodérivé du chromosome 20 a été identifiée par les techniques de G-banding chez 6 patients atteints d'un syndrome myélodysplasique. Nous avons étudié l'étendue des délétions du chromosome 20 en utilisant les techniques FISH à l'aide d'un panel de sondes à séquence unique recouvrant le bras long du chromosome 20 : une sonde commerciale D20S108 (20q12), des sondes subtelomériques 20p et 20q, des Bacs (Bacterial artificial chromosomes) référencés sur les sites <http://ensembl.org> et <http://genome.ucsc.edu>. Une sonde centromérique du chromosome 20 a été également utilisée. L'isodérivé du chromosome 20 est la seule anomalie chez 4 patients. Dans 4 cas, il est dicentrique. Les points de cassure proximaux sur le bras long sont situés dans la bande 20q11.21 : – entre les Bacs RP11-392M18 (situé de 30,23 à 30,38 mégabases du télomère 20p) et RP11-150N10 (de 30,45 à 30,64 Mb) chez 5 patients, – entre les Bacs RP11-150N10 et RP11-60H7 (de 30,95 à 31,13 Mb) chez 1 patient. Les points de cassure distaux s'étendent sur une région de 10 mégabases, de la bande 20q13.13 à 20q13.32. La délétion de matériel sur le bras long du chromosome 20 s'étend sur 18 à 25 mégabases. La région commune délétée (RCD) comprend la totalité du bras court du chromosome 20 et un fragment de 17 mégabases du bras long. Il existe deux régions communes conservées (RCC) dans les isodérivés, l'une proximale (du centromère au Bac RP11-392M18), l'autre distale (du Bac RP11-196N14 à la région télomérique). Dans la littérature, l'isodérivé du chromosome 20 est une anomalie de structure rare mais récurrente dans les hémopathies myéloïdes et considérée comme une anomalie évolutive des délétions 20q. En effet, certains auteurs ont suggéré que l'isochromosome est issu d'une délétion du chromosome 20, suivie d'une cassure longitudinale dans la région centromérique ou péri-centromérique puis d'une duplication du bras long remanié. D'après les données de la littérature et comparés aux del(20q), les ider(20) semblent avoir un pronostic plus sévère et une survie plus courte. Dans cette étude, nous avons réalisé une cartographie de l'étendue de la région délétée et des régions conservées (proximale et distale) de ces isodérivés. Ce travail met en évidence un point de cassure proximal récurrent chez 83 % des patients, contrairement aux del(20q). Ce point de cassure est situé au niveau du gène *ASXL1*. Ce gène est impliqué dans le contrôle de la transcription. Les points de cassure distaux comme pour les délétions du 20q sont extrêmement variables. Cette approche nous a permis de délimiter une RCD sur le bras long de plus grande taille que celle des del(20q). Les gènes *L3MBTL*, *ADA* délétés sont considérés comme des gènes candidats dans les ider20q comme dans les del20q. Nous nous sommes également intéressés aux RCC dupliquées dans le cas des isodérivés. Dans la RCC

proximale, 33 gènes sont contenus dont certains sont des gènes régulateurs de l'apoptose, des facteurs de transcription. La RCC distale contient au moins 80 gènes. Les fragments conservés amplifiés pourraient jouer un rôle aussi important que les fragments délétés dans la physiopathogénèse des syndromes myélodysplasiques. Référence : Li et coll. Br J Haematol. 2004 May ;125(3) :337-42.

Mots-clés : Syndrome myélodysplasique, Bacs, isodérivés du chromosome 20.

■P506 / 249. CONTRIBUTION DES REMANIEMENTS DE GRANDE TAILLE (RGT) DANS LE SPECTRE MUTATIONNEL DES GÈNES *BRCA*, *APC*, *NF2* ET *MMR* : ANALYSE DE 2900 CAS INDEX ISSUS DU RÉSEAU RÉGIONAL ONCOPACA ONCOGÉNÉTIQUE ET DES RÉSEAUX NATIONAUX INCA DE PATHOLOGIES RARES

V. Bourdon (1, 2), L. Huiart (1, 2), F. Eisinger (1, 2, 3), E. Rouleau (4), H. Cannoni (3, 5), P. Collignon (6), L. Demange (7), H. Dreyfus (8), L. Faivre (9), M. Frénay (10), P. Gesta (11), R. Guimbaud (12), X. Tchiknavorian (6), N. Philip (3, 5), R. Sauvan (1, 2), T. Noguchi (1, 2), L. Rabayrol (1, 2), C. Chabannon (2, 3, 13), R. Lidereau (4), S. Olschwang (1, 2, 4), H. Sobol (1, 2, 4)

(1) Département d'Oncologie Génétique, de Prévention et Dépistage, Institut Paoli-Calmettes (IPC), Marseille ; (2) UMR 599, Marseille ; (3) UFR de Médecine, Université Aix-Marseille II ; (4) Laboratoire d'Oncogénétique, Centre René Huguenin, St Cloud ; (5) Département de Génétique, Hôpital de la Timone, Marseille ; (6) CHG de Toulon ; (7) Polyclinique de Courlancy, Reims ; (8) Institut Ste Catherine, Avignon ; (9) Hôpital d'Enfants, CHU de Dijon ; (10) Centre Antoine Lacassagne, Nice ; (11) CHG Niort ; (12) Institut Claudius Regaud, Toulouse ; (13) Département de Thérapie Cellulaire et CRB, IPC, Marseille

Introduction : Dans le cadre du réseau ONCOPACA et des réseaux nationaux INCa, le laboratoire d'oncogénétique moléculaire de l'IPC prend en charge les analyses des gènes de prédisposition aux cancers gynécologiques, digestifs, neurologiques adressées par des prescripteurs appartenant à des équipes pluridisciplinaires déclarées. Un précriblage est réalisé par DHPLC ou séquençage monodirectionnel. Pour les gènes *BRCA1/2*, *MMR*, *APC* et *NF2*, une recherche de RGT par QMPFSF ou MLPA est entreprise sur critères cliniques (*BRCA*, *APC*, *NF2*) ou biologiques (tests MSI, immunohistochimie pour *MMR*). Nous présentons les résultats obtenus pour l'analyse de 2900 cas index afin de préciser les indications de recherche de RGT (critères de décision et techniques utilisées). *BRCA1/2* prédisposant au cancer du sein seul et/ou de l'ovaire : 1 717 cas index ont été testés : 269 Mutations Ponctuelles Constitutionnelles Délétères (MPCD) ont été identifiées (*BRCA1*=159 ; *BRCA2*=110). Sur les 1 448 cas négatifs, 1 412 ont été testés par QMPFSF ou MLPA et 16 RGT (*BRCA1*=15 ; *BRCA2*=1) ont été identifiés. Au total, 285 mutations délétères ont été identifiées soit 16,5 % des sujets testés (15,5 % de MPCD et 1 % de RGT). Nous concluons que 1) Bien que représentant 5,6 % des mutations, les RGT sont rares, surtout pour *BRCA2* (0,07 %). Il serait important de redéfinir les indications (cliniques, modélisations, endophénotypes) plutôt que de réaliser des études systématiques 2) MLPA et QMPFSF semblent équivalentes en termes de sensibilité. Mais le kit MLPA *BRCA2* impose un test non demandé par les prescripteurs (*CHK2*) et la QMPFSF permet de récupérer certaines duplications ou délétions de petite taille. Par ailleurs, nous avons été confrontés à un problème majeur : il a été démontré par CGH-array qu'un RGT de *BRCA1* (dup NBR2 ex1-2, *BRCA1* ex 1-2) retrouvé 3 fois dans notre série par QMPFSF, MLPA et PCR quantitative en temps réel, est un artefact. *APC* prédisposant à la polyposse adénomateuse familiale : 289 cas index ont été testés par séquençage. Chez 109 sujets (38 %), une MPCD a été identifiée. Sur les 180 cas négatifs, 32 ont été analysés par QMPFSF et 7 RGT (22 %) ont été identifiés. Tous les cas positifs QMPFSF ont ensuite été testés par MLPA (47 cas index et apparentés). Dans deux cas, une discordance a été mise en évidence 1) une délétion partielle de l'exon 9 non détectable par MLPA car située en 3' de la sonde MLPA 2) une délétion artéfactuelle de l'exon 11 par QMPFSF due à un SNP dans une amorce. *NF2* prédisposant à la neurofibromatose de type 2 : 109 cas index ont été testés par séquençage et une MPCD a été identifiée chez 7 sujets (6,5 %). Sur les 102 cas négatifs, 45 ont été analysés par QMPFSF et 3 RGT (6,6 %) ont été identifiés, soit 30 % des mutations. Tous les cas positifs QMPFSF ont ensuite été testés par MLPA (5 cas index et apparentés). Une discordance a été mise en évidence : une délétion des exons 4 à 6 par QMPFSF est détectée comme une délétion des exons 5 et 6 par MLPA. Des tests de LR-PCR sont en cours. *MLH1/MSH2* prédisposant au syndrome HNPCC : 766 cas index ont été testés par séquençage et une MPCD a été identifiée chez 88 sujets (11,4 %). Sur les 678 cas négatifs, une 1^{re} série de 53 sujets a été analysée par MLPA et 5



RGT (9,5 %) ont été identifiés. Bien que l'analyse ne soit pas terminée, la recherche de RGT semble importante quantitativement. Cependant, comme pour *BRCA2*, le kit MLPA impose l'analyse des deux gènes *MLH1/MSH2*, alors que l'étude tumorale permet d'orienter l'analyse et que les données de la littérature montrent une prédominance des RGT de *MSH2*. Conclusion : Si pour *APC*, *NF2*, et *MMR*, l'analyse de RGT semble tout à fait justifiée sur les critères de sélection actuels (RGT chez au moins 6,5 % des cas), il n'en est pas de même pour *BRCA1/2* (RGT chez 1 % des cas dont 94 % pour *BRCA1*). De plus, notre étude soulève trois problèmes : 1) faux positifs de *BRCA1*, 2) discordances entre MLPA et QMPSP pour *APC* et *NF2* et 3) analyses de gènes imposées par les kits MLPA.

Mots-clés : RGT, gènes *BRCA1/BRCA2*, *APC*, *NF2*, *MLH1/MSH2*, QMPSP, MLPA.

■P507 / 250. SYNDROME DE BIRT-HOGG-DUBÉ : PRÉSENTATION DE CINQ FAMILLES

C. Abadie (1), D. Bessis (2), N. Kluger (2), P. Delobre (3), S. Giraud (3), I. Coupier (1, 4)

(1) Service de Génétique Médicale, CHU Arnaud de Villeneuve, Montpellier ; (2) Service de Dermatologie, CHU Saint Eloi, Montpellier ; (3) Service de Génétique Moléculaire, CHU Edouard Herriot, Lyon ; (4) Unité d'Oncogénétique, CRLCC Val d'Aurelle, Montpellier

Le syndrome de Birt-Hogg-Dubé (OMIM 135150) est une génodermatose héréditaire transmise selon le mode autosomique dominant. Ce syndrome prédispose les patients à des lésions cutanées bénignes (fibrofolliculomes, trichodisomes et acrochordons), des kystes pulmonaires, des pneumothorax récidivants et des cancers rénaux. Le risque de cancer du rein est multiplié par sept. Une atteinte thyroïdienne (nodules, goîtres multi-hétéronodulaires) et des polypes coliques ont également été rapportés sans que leur appartenance au spectre clinique ne soit actuellement démontré. Ce syndrome est dû à des mutations germinales du gène suppresseur de tumeur *BHD* identifié en 2002 et localisé en 17p11.2 (1). Les mutations délétères conduisent à des protéines tronquées et plus de la moitié se situent dans un tract polyC situé dans l'exon 11. Le gène *BHD* code pour la folliculine, protéine de 64kDa. Nous rapportons ici la présentation de 5 familles adressées en consultation d'Oncogénétique dans le cadre d'un syndrome de Birt-Hogg-Dubé. Les patients (cas index) étaient adressés en consultation soit par un dermatologue devant des signes d'appel cutanés (4 patients), soit en raison d'un antécédent personnel de cancer du rein (1 patient). L'âge moyen des cas index était de 46,2 ans (32 à 64 ans) et celui des apparentés ayant fait la démarche du diagnostic présymptomatique de 29,2 ans (10 à 57 ans). L'analyse constitutionnelle du gène *BHD* a été prescrite dans ces 5 familles. Dans 4 familles, une mutation délétère a été identifiée (c.1285dupC ; c.890_893del ; c.618+2T>A ; c.649C>T). Chez ces 4 cas index, tous présentaient des lésions cutanées typiques, soit isolées (un patient), soit associées (trois patients) : épisodes récurrents de pneumothorax à un âge jeune, emphysème pulmonaire, goître multi-hétéronodulaire thyroïdien, micronodules thyroïdiens multiples et polype colique. Dans la famille où la mutation identifiée est située dans le point chaud mutationnel, 9 personnes ont choisi de réaliser une analyse présymptomatique et 7 mutations ont été mises en évidence. Deux patients présentaient un tableau clinique évocateur. Aucune mutation n'a été retrouvée chez le patient ayant un antécédent de cancer rénal associé à des polypes coliques. La majorité des cas index présentaient des lésions cutanées typiques, comme cela est décrit dans la littérature. Un seul patient a développé un cancer du rein mais notre étude ne porte que sur 5 familles. Rappelons que la majorité de nos patients ont été adressés par le dermatologue, ce qui peut introduire un biais. De plus, le cancer du rein ne touche habituellement que 15 (2) à 29 % (3) des patients. Nous avons proposé à ces patients une surveillance annuelle dermatologique, rénale, pulmonaire et thyroïdienne. D'identification récente, le syndrome de Birt-Hogg-Dubé n'a pas encore fait l'objet de recommandations de prise en charge pour surveillance clinique et paraclinique. Or, celle-ci est primordiale afin de dépister au plus tôt la survenue de cancers du rein. Une réflexion est actuellement en cours à ce sujet sur le plan national dans le cadre du réseau de prédispositions héréditaires aux cancers du rein. (1) : Nickerson *et al.* (2002) Mutations in a novel gene lead to kidneys tumors, lung wall defects, and benign tumors of the hair follicle in patients with the Birt-Hogg-Dubé syndrome. Cancer cell 2 (2) : 157-64 (2) : Zbar *et al.* (2002) Risk of renal and colonic neoplasms and spontaneous pneumothorax in the Birt-Hogg-Dubé syndrome. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 11 : 393-400 (3) : Schmidt *et al.* (2005) Germline BHD-mutation spectrum and phenotype analysis of a large cohort of families with Birt-Hogg-Dubé syndrome. Am J Hum Genet 76 : 1023-33

Mots-clés : Syndrome de Birt-Hogg-Dubé, phénotype, *BHD*.

M/S hors série n° 1, vol. 24, janvier 2008

■P508 / 253. SIGNATURE MOLÉCULAIRE DE CELLULES DE CANCER DU SEIN EN LIGNÉE CONTINUE TRAITÉES PAR DES PHYTO-ŒSTROGÈNES DE SOJA APRÈS INHIBITION DE L'ONCOSUPPESSEUR *BRCA1* PAR INTERFÉRENCE ARN

S. Satih (1, 2), N. Chalabi (1, 2), N. Rabiau (1, 2), L. Delort (1, 2), R. Bosviel (1, 2), Y.-J. Bignon (1, 2, 3), D. J. Bernard-Gallon (1, 2)

(1) Département d'Oncogénétique, Centre Jean Perrin, CBRV, Clermont-Ferrand ; (2) CRNH, Clermont-Ferrand ; (3) Université d'Auvergne, Clermont-Ferrand

Le cancer du sein est la pathologie la plus répandue chez la femme en Occident. La majorité des cancers héréditaires est associée à des mutations des oncosuppresseurs *BRCA1* et *BRCA2* et dans les cas sporadiques de cancer du sein, une modification de l'expression de ces gènes est également retrouvée. L'observation d'une incidence de cancer du sein beaucoup plus faible en Asie qu'en Occident et la teneur naturellement riche en phyto-œstrogènes du soja, très consommé par les femmes asiatiques, a suscité un intérêt croissant pour ces composés végétaux et leur rôle dans le phénomène de prévention de ce cancer en majorité œstrogéno-dépendant. Afin de mieux comprendre les voies de signalisation empruntées autour de *BRCA1* et des phyto-œstrogènes dans la prévention du cancer du sein, il est apparu intéressant d'étudier en parallèle l'expression du génome sous différentes conditions. D'abord, l'impact d'une « inhibition » de l'expression de l'oncosuppresseur *BRCA1* a été étudié par transfection d'un siRNA *BRCA1*-spécifique. Un traitement « nutriment » a également été étudié par la génistéine (18,5 µM) et la daidzéine (78,5 µM). Enfin, l'effet « combiné » des deux traitements a été observé. Après culture des cellules (MCF-7, MDA-MB-231, MCF10a) 72 heures dans les différentes conditions requises (transfectées par les siRNA ou non, et/ou traitées par les phyto-œstrogènes ou non), une extraction d'ARNs a été réalisée. Une hybridation compétitive sur biopuces transcriptome Agilent® (44k) a été réalisée entre les ARNs des cellules témoins (Cy 3) et les différents ARNs des cellules traitées (Cy5). Le logiciel GenePix Pro® 6.0 nous a permis de quantifier l'intensité des signaux émis et leur interprétation a été réalisée via le logiciel TIGR MeV®. L'analyse du génome et son expression à travers les différentes conditions étudiées a pu mettre en évidence la modulation significative de l'expression de gènes associés à d'importants mécanismes quant au phénomène de cancérogenèse tels que l'apoptose, le cycle cellulaire, la transduction du signal, le métabolisme des xénobiotiques ou encore la réparation de l'ADN.

Mots-clés : Cancer du Sein, siRNA *BRCA1*-spécifique/microarrays, Phyto-œstrogènes.

■P509 / 268. OPTIMISATION DU TEST GÉNÉTIQUE DANS LE SYNDROME PARANGANGLIOME/PHEOCHROMOCYTOME HÉRÉDITAIRE : DÉTECTION DES REMANIEMENTS DE GRANDE TAILLE PAR QMPSP (QUANTITATIVE MULTIPLEX PCR OF SHORT FLUORESCENT FRAGMENTS)

N. Burnichon (1, 2, 3), L. Strompf (1, 2, 3), A. Venisse (1), N. Drouot (4), T. Frebourg (4), X. Jeunemaitre (1, 2, 3), Ap. Gimenez-Roqueplo (1, 2, 3)

(1) Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Département de Génétique, Hôpital Européen Georges Pompidou ; Paris, France ; (2) Université Paris Descartes, Faculté de Médecine ; Paris, France ; (3) INSERM, Unité U772, Collège de France ; Paris, France ; (4) CHU Rouen, Département de Génétique, Rouen, France

Les phéochromocytomes (PH) et les paragangliomes (PGL) sont des tumeurs rares, hypervascularisées, qui se développent aux dépens du tissu paraganglionnaire. Ces tumeurs peuvent sécréter des catécholamines (tumeurs dites fonctionnelles) et peuvent être localisées au niveau de la médullosurrénale (PH), dans la région thoraco-abdomino-pelvienne (PGL extra-surrénaux) ou bien au niveau du système nerveux parasymphatique du cou et de la base du crâne (PGL de la tête et du cou). Trois gènes dont les mutations de transmission autosomique dominante prédisposent au syndrome PGL/PH héréditaire sont connus : les gènes *SDHB*, *SDHC* et *SDHD*. Associés à d'autres manifestations cliniques, les PH et PGL fonctionnels peuvent aussi se rencontrer dans le cadre de la maladie de Von Hippel Lindau (gène *VHL*) et de la néoplasie endocrinienne multiple de type 2 (gène *RET*). Environ 25 % des PH/PGL sont génétiquement déterminés et chaque patient atteint doit bénéficier d'une enquête génétique et d'un génotypage des gènes *SDHB*, *SDHD* et *VHL* lorsqu'il s'agit de PH ou de PGL fonctionnels. Dans le cadre des PGL de la tête et du cou, les mutations sont à rechercher sur les gènes *SDHB*, *SDHC* et *SDHD*. Nous avons récemment optimisé nos techniques de génotypage en adaptant la technique QMPSP au diagnostic génétique du PH/PGL. Parmi les patients atteints de PH/PGL issus des bases de données COMETE et PGL.NET, nous avons sélectionné ceux qui présentaient des caractéristiques cliniques suggérant

une forte probabilité de liaison génétique aux gènes *SDHs* ou *VHL* sur 4 critères cliniques (âge de début <35ans et/ou PH malin et/ou tumeurs multiples et/ou histoire familiale) et sur l'absence de mutation par séquençage direct des parties codantes et des jonctions introns-exons. Notre étude a porté sur 96 patients porteurs de PH/FPGL chez lesquels nous avons réalisé les QMPSF des gènes *SDHB*, *VHL* et *SDHD* et sur 87 patients présentant des PGL de la tête et du cou (dans ce cas, QMPSF des gènes *SDHD*, *SDHB* et *SDHC*). Au total, 13 sujets ont été identifiés comme porteurs d'une délétion large, de un ou plusieurs exons (6 sur le gène *SDHB*, 2 sur *SDHD*, 4 sur *VHL* et 1 sur *SDHC*). Parmi eux, 9 patients présentaient un PH/FPGL et 4 un PGL de la région cervicale. Une délétion génique sur les gènes *SDHs* et *VHL* est en cause dans environ 9 % des cas de PH/FPGL et 5 % des cas de PGL de la tête et du cou sélectionnés dans cette série. Les patients porteurs de large délétions présentent des caractéristiques cliniques particulières : PH/PGL malin et/ou âge de début <35 ans pour les délétions touchant les gènes *SDHB* et *SDHC* ; présentation familiale et/ou PGL multiples pour *SDHD* ; associations à d'autres manifestations typiques de la maladie de Von Hippel Lindau pour le gène *VHL*. Ainsi, l'application en routine dans notre laboratoire de la technique QMPSF sur les gènes *SDHs* et *VHL* permet d'accroître les performances du test génétique du PH/PGL héréditaire. Son application à l'ensemble des patients présentant des critères phénotypiques particuliers (âge de début <35ans, PH malin, tumeurs multiples, histoire familiale) dont la recherche de mutation par séquençage direct s'est avérée négative permettra d'accroître le taux de détection des mutations sur les 4 gènes de susceptibilité au PH/PGL héréditaire. 1. Amar *et al.*, J Clin Oncol, 2005 ; 23(34) : 8812-8.

Mots-clés : paragangliome/pheochromocytome, *SDHs*, QMPSF.

■P510 / 270. ANALYSE DU GÈNE *AIP* CHEZ UNE COHORTE DE 56 PATIENTS PRÉSENTANT UN SYNDROME DE PARAGANGLIOME HÉRÉDITAIRE

N. Burnichon (1, 2, 3), M. Popelier (4), A. Venisse (1), X. Jeunemaitre (1, 2, 3), A.P. Gimenez-Roqueplo (1, 2, 3)

(1) Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Département de Génétique, Hôpital Européen Georges Pompidou ; Paris, France ; (2) Université Paris Descartes, Faculté de Médecine ; Paris, France ; (3) INSERM, Unité U772, Collège de France ; Paris, France ; (4) Service de Médecine A, Unité de Diabétologie, Centre Hospitalier de Rambouillet, France

Récemment, des mutations germinales du gène *AIP* (Aryl Hydrocarbon Receptor Interacting Protein) ont été identifiées chez des patients présentant une forme familiale d'adénomes hypophysaires. Nous rapportons le cas d'une femme de 45 ans, présentant une forme familiale d'adénome hypophysaire. Son fils avait été opéré d'un adénome mixte à GH et prolactine à l'âge de 10 ans. Elle-même a été opérée d'un macroadénome à GH à 22 ans puis pour un paragangliome (PGL) abdominal interaortico-cave à l'âge de 45 ans. Dans un premier temps, dans le cadre du dépistage génétique proposé aux sujets atteints de paragangliome, notre laboratoire n'a identifié aucune mutation sur les gènes *SDHs*. Dans un second temps, une mutation faux sens du gène *AIP*, R172W, a été mise en évidence chez cette patiente et son fils. La proximité de la localisation du gène *AIP* (11q13.3) avec le locus PGL2 (dont le gène correspondant n'a toujours pas été identifié) d'une part, et l'association rare entre PGL et tumeur hypophysaire d'autre part, nous a suggéré que des mutations du gène *AIP* pourraient être associées à des cas familiaux ou sporadiques de PGL sans mutation identifiée sur les gènes *SDHs*. Pour notre étude, nous avons sélectionné, parmi les patients issus des réseaux COMETE et PGL.NET, 56 sujets atteints de PGL (24 présentant un PGL du cou ou de la base du crâne, 32 atteints de PGL abdominal). Ces patients montraient des caractéristiques cliniques suggérant une forte probabilité de pathologie héréditaire (âge de début <35ans et/ou PGL malin et/ou tumeurs multiples et/ou histoire familiale) mais une absence de mutation des gènes *SDHs* recherchée par séquençage direct des parties codantes et des jonctions introns-exons et par QMPSF. Pour ces 56 sujets, l'ensemble des régions codantes (6 exons) et les bornes introns-exons du gène *AIP* ont été analysées par séquençage direct. Cette étude n'a pas permis de mettre en évidence de mutation délétère du gène *AIP* parmi les patients sélectionnés. Douze polymorphismes ont été identifiés et parmi eux, 6 sont rapportés pour la première fois. Leur fréquence était similaire à celle observée chez 90 sujets témoins. Ces résultats permettent de rejeter le rôle du gène *AIP* dans la prédisposition génétique au PGL héréditaire dans la cohorte analysée. Pour ces patients ayant une forte probabilité de prédisposition génétique au paragangliome héréditaire, l'hypothèse d'un autre gène impliqué dans la région 11q13 (correspondant au locus PGL2) doit être approfondie. 1. Vierimaa *et al.*, Science, 2006 ; 312 : 1228-30.

Mots-clés : paragangliome héréditaire, *AIP*, locus PGL2.

■P511 / 271. ÉVALUATION DE L'IMPLICATION DES MUTATIONS DU GÈNE *MYH* DANS LES POLYPOSES ADÉNOMATEUSES COLORECTALES ET STRATÉGIE DIAGNOSTIQUE

N. Burnichon (1, 2), A. Venisse (1), F. Gary (1), M. Boussion (1), A. Coyet (1), P. Laurent-Puig (1, 2), B. Buecher (1), X. Jeunemaitre (1, 2), A.P. Gimenez-Roqueplo (1, 2)

(1) Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Département de Génétique, Hôpital Européen Georges Pompidou ; Paris, France ; (2) Université Paris Descartes, Faculté de Médecine ; Paris, France

Le gène *MYH* code pour une protéine impliquée dans la réparation de l'ADN par un mécanisme d'excision de base (BER). Des mutations constitutionnelles bi-alléliques de ce gène ont été associées à des polyposes adénomateuses de phénotype atténué et à certains cancers colorectaux. Afin d'évaluer l'implication des mutations du gène *MYH* dans les prédispositions aux polyposes adénomateuses associées ou non au cancer colorectal, nous avons étudié une cohorte de 118 patients pour lesquels la recherche de mutation du gène *APC* s'était avérée négative. Pour ces 118 sujets, l'ensemble des régions codantes (16 exons) et les bornes introns-exons du gène *MYH* ont été analysées par séquençage direct. Des mutations ont été identifiées chez 15 patients (13 %) : Dix présentent une mutation bi-allélique (5 homozygotes et 5 hétérozygotes composés) et 5 sont porteurs d'une mutation unique à l'état hétérozygote. Parmi les 15 patients porteurs de mutation, tous ont un nombre de polypes (adénomateux ou de nature indéterminée) compris entre 10 et 100 et 12 sujets ont une présentation clinique évoquant une transmission récessive. Les mutations les plus fréquemment décrites dans les populations caucasiennes (p.Gly382Asp et p.Tyr165Cys) et dans les populations du bassin méditerranéen (p.Gly396fs) représentent respectivement 37 %, 30 % et 19 % des mutations identifiées dans notre cohorte. La fréquence de ces 3 mutations nous a conduit à optimiser leur détection par technique dHPLC pour permettre leur criblage rapide. Cette étude confirme l'implication du gène *MYH* dans les polyposes adénomateuses de phénotype atténué, en particulier des mutations p.Gly382Asp, p.Tyr165Cys et p.Gly396fs. Nous retenons cependant, que l'étude de ce gène doit être réalisée en première intention dans des situations cliniques bien définies : Polypose adénomateuse atténuée (nombre de polypes <100 et >10) associée à une histoire familiale compatible avec une transmission de type récessive. Pour les patients remplissant strictement ces critères cliniques, nous proposons la stratégie diagnostique suivante : 1^{re} étape : criblage des mutations les plus fréquentes du gène *MYH* par dHPLC puis séquençage direct des profils anormaux. Si identification d'une unique mutation à l'état hétérozygote, séquençage des autres exons et bornes introns-exons du gène *MYH* ; 2^e étape : si le criblage par dHPLC s'avère négatif, étude du gène *APC* ; 3^e étape : si l'étude du gène *APC* est négative, séquençage direct des 16 exons et bornes introns-exons du gène *MYH*.

Mots-clés : gène *MYH*, Polypose adénomateuse atténuée, stratégie diagnostique.

■P512 / 280. CARACTÉRISATION DE DEUX NOUVEAUX GRANDS RÉARRANGEMENTS POUR LES GÈNES *BRCA1* ET *BRCA2*

C. Lefol, E. Rouleau, S. Tozlu, C. Andrieu, C. Guy, F. Copigny, C. Nogues, I. Bieche, R. Lidereau

Laboratoire d'Oncogénétique, Centre René Huguenin, INSERM U735, Saint-Cloud, France

Introduction : 12 à 15 % des mutations délétères de *BRCA1* correspondent à des grands réarrangements (un ou plusieurs exons sur 0,5 à 160 kb). 0 à 37 % des mutations délétères de *BRCA2* correspondent à des grands réarrangements (un ou plusieurs exons sur 5,1 à 6,2 kb). Une délétion de l'exon 3 de *BRCA1* a été précédemment caractérisée à 1 kb (Payne *et al.*, 2000). La seule duplication de *BRCA2* rapportée en France affecte les exons 1 à 2 (Casilli *et al.*, 2006). Matériel et méthode : Deux ADN génomiques de patientes ont été analysés en MLPA, QMPSF et sur une puce dédiée Agilent® de CGH-array haute résolution (oligonucléotides : 1 679 pour *BRCA1* et 1 389 pour *BRCA2*). Ces patientes ont eu un cancer du sein avant 40 ans. Elles appartiennent à des familles avec plusieurs cancers décrits (sein et ovaire). Résultats : Suite à l'analyse de CGH-array haute résolution, la délétion de l'exon 3 de *BRCA1* a été caractérisée par PCR et correspond à une taille de 11,4 kb. Le point de rupture en 5' se situe dans l'intron 2 qui est homologue au pseudo-gène *BRCA1*. Une duplication des exons 17 à 20 du gène *BRCA2* a aussi pu être caractérisée en CGH-array haute résolution et sa taille est comprise entre 12,3 à 16,8 kb. Discussion : Les résultats de CGH-array haute résolution confirment les données obtenues en MLPA et QMPSF. Ils permettent de préciser la taille des remaniements et de caractériser rapidement les points de rupture par une simple PCR. Conclusion : La caractérisation des grands réarrangements



doit être poursuivie pour mieux comprendre les mécanismes moléculaires sous-jacents. Pour *BRCA1*, cette étude confirme la présence de mécanismes différents impliquant un même exon. Pour *BRCA2*, même si les réarrangements sont rares, nous avons pu mettre en évidence l'existence d'une nouvelle duplication de grande taille.

Mots-clés : CGH-array, grands réarrangements, *BRCA1* et *BRCA2*.

■P513 / 290. LE GÈNE DU TISSUE FACTOR PATHWAY INHIBITOR 2 (TFPI2) EST HYPERMÉTHYLÉ CHEZ LES PATIENTS ATTEINTS DE LA LEUCÉMIE LYMPHOÏDE CHRONIQUE (LLC) S. Poulain (1), C. Zawadzki (2), C. Roumier (3), N. Chatelain (2), T. Rittel (1), A. Daudignon (1), B. Quesnel (4), P. Morel (5), B. Jude (2), P. Duthilleul (1)

(1) Service d'Hématologie Immunologie Cytogénétique, CH de Valenciennes ; (2) Pôle d'Hématologie Transfusion, CHRU de Lille et INSERM ER19, EA 2693 ; (3) Pôle d'Hématologie Transfusion, CHRU de Lille et INSERM U524 ; (4) Service des Maladies du Sang, CHRU de Lille et INSERM U524 ; (5) Service d'Hématologie Clinique, CH de Lens

Contexte : TFPI2 (Tissue Factor Pathway Inhibitor 2) est un inhibiteur de sérine-protéase de type Kunitz qui contribue à la régulation de l'activité des métalloprotéases (MMP) et en particulier de MMP9. Le gène *TFPI2* localisé en 7q22 possède plusieurs îlots CpG au niveau de la région du promoteur. L'hyperméthylation de ce gène a été associée à une diminution de l'expression de TFPI2 qui serait impliquée dans le processus métastatique dans différents cancers. La dérégulation de la balance des protéinases et de leurs inhibiteurs pourrait ainsi être impliquée dans le processus de dissémination des cellules tumorales. L'objectif de cette étude est donc d'analyser le profil de méthylation du gène *TFPI2* dans la LLC. Matériel et Méthodes : 70 patients (pts) atteints de LLC et 17 témoins sains ont été étudiés. Le statut de méthylation de 17 des 29 motifs CpG s'étendant sur une région de 286 pb contenant une partie du promoteur et de l'exon 1 du gène *TFPI2* a été étudié par la combinaison de 3 systèmes de Méthylation Spécifique PCR (MSP), MSP1, MSP2 (région comportant 2 motifs Egr1-Sp1 contribuant à la régulation de l'induction de l'expression de TFPI2) et MSP3. Les résultats de MSP ont été confirmés par séquençage des produits de bisulfitation. La quantification relative des transcrits TFPI2 au sein des cellules mononucléées isolées par technique Ficoll a été évaluée par PCR Temps réel en chimie Taqman. Les délétions 11q22.3, 13q14, 17p13.1 et de la trisomie 12 ont été analysées en hybridation fluorescente in situ (Vysis, Abbott Diagnostic), l'expression de ZAP70 en cytométrie de flux (Ac : clone 2F3.2 (Upstate)), le statut mutationnel des gènes *Vh* par séquençage. Résultats : Une absence complète de méthylation du gène *TFPI2* a été observée chez 23.5 % des patients atteints de LLC et les 17 témoins sains analysés. L'hyperméthylation du gène *TFPI2* est mise en évidence chez 61.8 % pts en MSP1, 63.2 % des pts en MSP2 (MSP2+) et 60.29 % en MSP3. Cette hyperméthylation est détectée simultanément avec 3 systèmes de MSP dans 44,1 % des cas. Une hétérogénéité du niveau de transcription de *TFPI2* (0–2.34) est observée chez les pts atteints de LLC. Aucune transcription de *TFPI2* n'est détectée chez 12/58 pts (20.7 %), une hyperméthylation en MSP2 est observée chez 11 de ces 12 patients. Le niveau de transcription de *TFPI2* est significativement plus faible chez les pts MSP2+ vs MSP2- ($p = 0.02$). Le profil de méthylation du gène *TFPI2* n'est pas associé au stade de Binet, aux anomalies cytogénétiques, au statut mutationnel des gènes *Vh* et à l'expression de ZAP70. Une analyse séquentielle du profil de méthylation de *TFPI2* a été menée chez 28 patients (suivi moyen : 30.6 mois, 3 à 74 mois) Une variation du profil de méthylation de *TFPI2* en cours d'évolution clinique a été observée dans 57.1 % des patients étudiés lors de l'analyse séquentielle. Chez les 3 patients en rémission après traitement, une disparition de la méthylation du gène *TFPI2* est mise en évidence. Conclusion : L'hyperméthylation du gène *TFPI2* au niveau des motifs Egr1-Sp1, qui est associée à une diminution de l'expression du transcrit *TFPI2*, constitue un événement épigénétique fréquent dans la LLC. Cette dérégulation de l'expression de *TFPI2* pourrait ainsi contribuer à la dissémination des cellules tumorales.

Mots-clés : *TFPI2*, méthylation, LLC.

■P514 / 296. DE L'ANDROGÉNÈSE (MÔLES HYDATIFORMES) AU CANCER (CHORIOCARCINOMES)

Ph. Coullin (1), J.J. Candelier (1), H. Jammes (2), E. Leguern (3), C. Larcher (3), J. Tost (4), S. Prévot (1), C. Delporte (1), A.L. Diatta (5), J.M. Afoutou (5), J.C. Moreau (5), C. Chalas (6), H. Fernandez (1), J.Y. Picard (1)

(1) INSERM U782, Endocrinologie et génétique de la reproduction et du développement, 32 rue des Carnets, F92140 Clamart. Tel : 0145374084, courriel : philippe.coullin@u-psud.fr ; (2) INSERM U567, CNRS 8104, Institut Cochin, F75014 Paris ; (3) UF de Neurogénétique moléculaire et

cellulaire. Hôp. Pitié-Salpêtrière, 75651 Paris ; (4) CNG, F91057 Evry ; (5) Hôp. Le Dantec, Dakar, Sénégal ; (6) CECOS, APHP, Hôp. Cochin, F75014 Paris

Une part importante des môles hydatiformes peut devenir invasive et évoluer en choriocarcinome dont le pronostic va de la régression spontanée au décès de la patiente, différents facteurs pouvant étre impliqués dans cette dérive cancéreuse. Nous avons comparé l'expression de quatre gènes *IGF2*, *H19*, *Ecad* et *P16* putativement impliqués dans ce processus, au niveau de 3 stades d'évolution du placenta (précoce, moyen et tardif), d'une douzaine de môles hydatiformes complètes et de 6 choriocarcinomes post molaire. L'origine androgénique, monospermique des môles et des choriocarcinomes a été vérifiée par génotypage microsatellite. *IGF2* (Insulin-like growth factor 2) et *H19* sont deux gènes soumis à empreinte d'expression respectivement paternelle et maternelle. La méthylation allèle spécifique de 3 régions génomiques appelées DMR (Differentially Methylated Region) est un critère du maintien de l'allèle-spécificité de l'expression de ces gènes. L'analyse quantitative de l'état de méthylation de ces DMRs a été effectuée par pyroséquençage sur 40 CpG. Les profils de méthylation obtenus pour les môles sont de type « paternel » et homogènes, témoignant, en principe, d'une expression bi-allélique d'*IGF2* et d'une répression sévère d'*H19*. Cependant, il est à noter des différences significatives de profil entre les DMRs. Les DMRs associées au gène *IGF2* sont significativement hypométhylées pour les môles hydatiformes versus une cohorte d'échantillons de spermatozoïdes témoins. Par contre, la DMR *H19* présente un profil totalement superposable pour les deux types d'échantillons. Dans les choriocarcinomes, une grande hétérogénéité de profils est observée pour les différents DMRs. Certains choriocarcinomes présentent des profils similaires aux môles hydatiformes. Pour d'autres il peut être observé soit une hyperméthylation soit une hypométhylation ou encore une désorganisation complète de la méthylation au sein des DMRs. La présence des protéines *Ecad* (calcium dépendant cell adhesion) et *p16* (cyclin-dépendant kinase inhibition (cycle cell)) a été étudiée par immunohistochimie. Normalement, les signaux témoignant de l'expression de ces deux marqueurs sont principalement observés respectivement sur les membranes et dans les noyaux des cellules du trophoblaste. Sur les échantillons de môles mais, plus encore sur ceux des choriocarcinomes, l'intensité, les localisations cellulaires et histologiques des signaux, se sont révélées être d'une assez grande diversité en fonction des cas ; ceci parfois, jusqu'à, la situation extrême de l'absence d'expression de l'un des deux marqueurs. Si dans les domaines explorés nous avons constaté des évolutions ou anomalies qui accompagnent l'évolution cancéreuse des môles, aucune ne représente la totalité des cas. Ceci souligne, l'hétérogénéité du phénomène qui doit permettre d'établir des corrélations entre ces différents marqueurs et l'agressivité.

Mots-clés : Môles hydatiformes, Choriocarcinome, oncogénèse.

■P515 / 330. APPORT DES L'EXPRESSION GÉNÉTIQUE DANS LE DIAGNOSTIC ET LA CLASSIFICATION DES TUMEURS THYROÏDIENNES

J.F. Fontaine (1), F. Savagner (1), D. Mirebeau (1), B. Franc (3), R. Houlgatte (2), Y. Malthiery (1)

(1) INSERM, U694, Angers, F-49033 ; (2) INSERM, U533, Nantes, F-44035 ; (3) Laboratoire d'Anatomie Pathologique, Hôpital A Paré, 92104 Boulogne, France

D'après la classification internationale des tumeurs, les critères de malignité pour le diagnostic des tumeurs épithéliales de la thyroïde sont essentiellement basés sur la présence d'invasion capsulaire ou vasculaire, ainsi que sur des caractéristiques nucléaires. L'examen histologique ne peut pas toujours identifier de façon précise les tumeurs. La distinction histologique des cancers folliculaires et des adénomes a un faible taux de reproductibilité entre experts (Franc *et al.*, 2003, Hum Pathol, 34 : 1092-1100.). Cela a un impact sur le suivi et le traitement des patients. Dans 20 % des cytoponctions montrant une prolifération cellulaire significative, la chirurgie est la seule méthode permettant de séparer les cancers folliculaires des variants folliculaires de cancers papillaires (Gharib 1997, Endocrinol.Metab Clin.North Am. 26, 777-800.). Par conséquence, pour une meilleure reproductibilité et précision du diagnostic des cancers thyroïdiens, des marqueurs moléculaires pourraient permettre la distinction des cas difficiles (notamment les tumeurs de malignité incertaine, L-UMP). Jusqu'à présent, plusieurs marqueurs ont été évalués comme *LGALS3*, *HBME1*, *CK19* et *TPO*. D'autres gènes relatifs à des transformations spécifiques ont été évalués comme le réarrangement *PAX8/PPARG* gamma et les mutations *H-Ras* and *BRAF* (Bartolazzi, 2001 Lancet. 357(9269):1644-50 ; de Micco, 1991, Cancer. 67(12):3036-41 ; Fagin, 2002, Endocrinology. 143(6):2025-8 ; Gimm, 2001, Oncogene. 20(17):2161-70). Pourtant aucun d'entre eux n'est prêt pour une utilisation

en routine sur cytoponction. L'analyse de 166 échantillons de tissus thyroïdiens nous a permis de définir des profils d'expression pour la grande majorité des lésions folliculaires thyroïdiennes par une analyse d'expression pangénomique par microarrays. Toutes les classes de lésions thyroïdiennes différenciées ont été incluses dans l'analyse, des adénomes bénins aux carcinomes malins, incluant les cas atypiques (T-UMP). Les données de microarrays sont analysées par "multidimensional scaling", par analyse de corrélations des centroïdes pour établir une classification globale, par tests statistiques univariés pour définir les marqueurs de chaque classe et par un jeu d'algorithmes de prédictions pour définir le set optimal de gènes marqueurs de chaque type pathologique. Les données d'expression génique permettent d'établir une classification moléculaire de tous les types tumoraux, en accord et en complément de la classification internationale (OMS). Ceci a été possible car nous avons défini un profil génique d'expression spécifique à chaque classe pathologique. Les profils sélectionnés portent un pouvoir prédictif fort. Par ailleurs, nous avons montré qu'il est possible de reclasser les tumeurs atypiques soit en lésion bénigne, soit en tumeur maligne. Notre analyse nous a permis de classer 11 types de tumeurs de la thyroïde, typiques et atypiques, par caractérisation d'un profil moléculaire. Cette analyse par microarrays complète utilement la classification internationale de l'OMS, établie sur des paramètres anatomopathologiques. Cette approche est validée par un brevet européen (mars 2007).

Mots-clés : Tumeurs thyroïdiennes, Expression génique, Bioinformatique.

■P516 / 336. TUMEURS NEURO-ÉPITHÉLIALES DYSEMBRYOPLASIQUES RÉCIDIVANTES : À PROPOS DE 7 CAS

J. Guarnieri (1), P.M. Voicu (2), V. Porhiel (1), H. Mitre (2), M.L. Kottler (2), G. Plessis (2)

(1) Service de Neurochirurgie, Unité de Neurochirurgie Pédiatrique-CHU de Caen ; (2) Département Génétique et Reproduction, CHU de Caen

Objectif : Décrites initialement en 1988 par C. Dumas-Duport, les DNET (Dysembryoplastic NeuroEpithelial Tumor) sont de diagnostic histologique parfois difficile. L'aspect histologique des DNET et des oligodendrogliomes peut dans certains cas être similaire ; la présence de la double délétion 1p et 19q serait spécifique du phénotype oligodendrogliomaire. Au même titre que l'étude des paramètres cliniques et radiologiques, nous avons recherché le statut 1p19q des tumeurs étiquetées DNET quand cela a pu être possible. Matériel et Méthodes : Parmi les 20 patients opérés d'une DNET dans notre service entre 1995 et 2005, 7 patients ont récidivé. Afin d'essayer d'expliquer ce taux de récurrence (35 %), pour une tumeur dont le potentiel évolutif est habituellement considéré comme quasi nul, nous avons étudié un certain nombre de paramètres : qualité de l'exérèse, aspects radiologiques et statut génétique. La recherche de la délétion 1p et 19q en hybridation in situ et par une analyse de la perte de l'hétérozygotie en biologie moléculaire a été réalisée dans 3 cas. L'absence de délétion 1p19q serait, pour certains auteurs, un argument en faveur du diagnostic histologique de DNET. Résultats. Deux des 3 DNET ayant bénéficié d'une étude génétique en hybridation in situ et en biologie moléculaire avaient une délétion 1p et 19q. Conclusion : Sur le plan clinique et radiologique aucun paramètre n'a pu être associé à un risque accru de récurrence ou de progression tumorale. La présence d'une délétion ou d'une co-délétion 1p19q, peut correspondre soit à des formes histologiques différentes de DNET, soit à des oligodendrogliomes DNET-Like.

Mots-clés : tumeurs neuroépithéliales dysembryoplasiques, oligodendrogliome, délétions 1p et 19q.

■P517 / 350. STRUCTURATION DE L'ACTIVITÉ D'ONCOGÉNÉTIQUE DANS LE RÉSEAU DE CANCÉROLOGIE ONCOPACA

Réseau Oncogénétique ONCOPACA : A. Barlier, P. Ben Soussan, V. Bourdon, H. Cannoni, P. Collignon, C. Chabannon, H. Dreyfus, F. Eisinger, A. Enjalbert, M. Frenay, A. Honstetter, L. Huiart, V. Mari, L. Nascia, P. Niccoli-Sire, T. Noguchi, S. Olschwang, N. Philip, N. Prodromou, L. Rabayrol, R. Sauvan, H. Sobol, H. Stora de Novion, X. Tchiknavorian, M. Thines

Pour le réseau : Laetitia Huiart, Département d'oncogénétique, prévention et dépistage, Institut Paoli-Calmettes, 232 Bd Sainte-Marguerite, 13009 Marseille

L'activité d'oncogénétique s'est structurée, grâce au Plan Cancer et à l'INCa, au niveau régional en intégrant à la fois une dimension clinique et de laboratoire. Cette activité s'est formalisée au sein du réseau de cancérologie ONCOPACA autour de 3 axes principaux. Des consultations d'onco-généticiens et de psychologues spécialisés pour la prise en charge du haut risque génétique ont été mises en place afin de répondre aux exigences de l'équité territoriale. Des équipes pluridisciplinaires dédiées à la prise en charge des individus asymptomatiques ont été déclarées au

Ministère de la Santé. Des agréments ont été délivrés à trois laboratoires PACA, Hôpital de la Conception, Institut Paoli-Calmettes et Genazur. Pour favoriser les collaborations entre les différents membres du réseau, une rencontre annuelle est organisée entre les différents membres du réseau : cliniciens, médecins et onco-psychologues, et laboratoires. Cette structuration en réseau est bénéfique à plusieurs titres en assurant : – une proximité géographique des lieux de consultation (Avignon, Ajaccio, Bastia en cours de formalisation, Draguignan, Gap, Marseille, Nice, Toulon...) avec plus de 2900 consultations annuelles en 2006. – une harmonisation et une standardisation des pratiques cliniques : les différents sites de consultations interagissent en organisant des Réunions de Concertation Pluridisciplinaire communes sur site ou par visioconférence. – une répartition et une complémentarité des activités de laboratoires : plus de 20 gènes différents sont testés dans les 3 laboratoires de la région concernant à la fois des prédispositions aux cancers fréquents comme aux tumeurs rares. Les principales localisations bénéficiant d'analyses génétiques sont les cancers du sein et de l'ovaire (900 analyses complètes (AC) en 2006), les cancers colorectaux (340 AC en 2006) et les tumeurs endocrines (249 AC en 2006). L'assurance qualité est au centre des préoccupations des laboratoires. La nécessité d'une organisation en réseau s'est imposée à tous les acteurs du fait de la grande diversité des pathologies concernées et des moyens à mettre en œuvre tant sur le plan du diagnostic, de l'évaluation du risque génétique, des traitements, des programmes de prévention et dépistage à mettre en œuvre. Cette structuration favorise les interactions et les complémentarités des techniques et des connaissances pour une meilleure prise en charge des patients.

Mots-clés : Réseau, Oncogénétique, Qualité.

■P518 / 360. POLYPOSE ADÉNOMATEUSE RÉCESSIVE PAR MUTATION DU GÈNE MYH : PRÉSENTATION DE 22 FAMILLES

C. Colas (1), F. Coulet (1), P. Cuillière-Dartigues (2), Y. Parc (3), E. Tirit (3), N. Soufir (4), P. Hammel (5), J.F. Flejou (2), F. Soubrier (1)
(1) Laboratoire d'Oncogénétique et d'Angiogénétique, GH Pitié-Salpêtrière, APHP ; (2) Service d'Anatomopathologie, Hôpital Saint Antoine, APHP ; (3) Service de Chirurgie Digestive, Hôpital Saint Antoine, APHP ; (4) Service de génétique, Hôpital Bichat, APHP ; (5) Service de Gastro-entérologie, Hôpital Beaujon, APHP

En 2002, un nouveau syndrome de prédisposition au cancer colique a été décrit : la polypose adénomateuse liée à MYH. Cliniquement situé entre le syndrome HNPCC et la polypose adénomateuse familiale liée au gène APC pour le nombre de polypes, ce nouveau syndrome s'en distingue par son mode de transmission autosomique récessif. En effet, les patients atteints sont porteurs de mutations bialléliques sur le gène *MYH* (ou *MYH*) impliqué dans le système de base-excision-réparation de l'ADN. Ces mutations bialléliques sont associées à une polypose adénomateuse rectocolique et parfois duodénale et confèrent un risque élevé de développer un cancer colorectal. Ce risque justifie une surveillance coloscopique rapprochée et peut faire discuter un geste chirurgical préventif. Dans la présente série, des mutations bialléliques de *MYH* ont été identifiées chez 24 patients appartenant à 22 familles. L'âge moyen de découverte de la polypose chez ces patients est de 45.5 ans avec un nombre de polypes allant de 12 à plus de 200 (moyenne 76). 70 % d'entre eux (17/24) avaient un cancer colique lors de la découverte de la polypose. Des polypes duodénaux ont été découverts chez 30 % des patients explorés. Les signes extra-digestifs sont exceptionnels. Sur le plan familial, 9 patients n'avaient aucune histoire familiale, 9 avaient une histoire évocatrice d'une forme récessive, et 4 avaient des antécédents compatibles avec une forme dominante (une pseudodominance liée à une consanguinité et, pour les 3 autres un antécédent de cancer colique sans polypose chez un ascendant au premier ou second degré). Sur le plan histologique, la polypose liée à *MYH* est strictement identique à celle liée à *APC* avec des polypes adénomateux uniquement. L'intérêt de l'immunohistochimie de *MYH* pour les différencier est en cours d'évaluation. Ces tumeurs présentent le plus souvent un phénotype stable pour les microsatellites mais nous rapportons un cas d'instabilité avec extinction de *MLH1* en immunohistochimie et identification d'une transversion acquise dans la tumeur sur la séquence du gène *MLH1*. Outre les mutations connues dans la population caucasienne, une autre mutation, la c.1186_1187insGG, a été trouvée de façon récurrente dans 10 familles originaires d'Afrique du Nord. Sa fréquence élevée nous a conduit à développer une stratégie particulière pour ces patients en débutant par une recherche ciblée de cette mutation, même en cas de présentation familiale dominante, avant même une analyse du gène *APC*. En effet, l'existence de mariages consanguins au sein des familles peut conduire à une pseudodominance. Par ailleurs, dans les familles de cette série, 9 patients porteurs d'une mutation monoallélique ont été identifiés avec un âge moyen de 49 ans (27 à 78 ans). Tous avaient des coloscopies normales sauf l'un d'entre



eux qui a développé une polyposse atténuée (20 adénomes à 50 ans). Les recommandations pour la surveillance de ces patients sont à discuter. Nous avons également réalisé un screening complet de *MYH* pour 4 conjoints de patients mutés dans un but de conseil génétique pour les enfants.

Mots-clés : *MYH*, polyposse, cancer colorectal.

■P519 / 365. PERCEPTION DU RISQUE DE CANCER ET DÉCISION DE MAMMECTOMIE PRÉVENTIVE APRÈS UN TEST GÉNÉTIQUE : QUEL CHOIX RESTE-T-IL AUX FEMMES ?

M.-L. Babonneau (1), C. Colas (1), F. Soubrier (1)
Consultation de Génétique Clinique, GH Pitié-Salpêtrière, Paris

Introduction. Depuis 2004, une consultation d'oncogénétique a été mise en place à l'hôpital de la Pitié-Salpêtrière. L'équipe, constituée d'oncogénéticiens et de psychologues, accueille les consultantes qui demandent un test génétique de prédisposition au cancer du sein et de l'ovaire. La pluridisciplinarité de l'équipe permet d'une part, la prise en compte des différents aspects somato-psychiques qui ont trait au caractère prédictif du test et permet d'autre part, l'accompagnement des patientes dans les décisions qui en découlent. Un test génétique pour « être certaine d'être à risque ». Le test génétique peut mettre en évidence la présence d'une mutation (dans l'un des gènes *BRCA 1* ou *BRCA 2*) qui augmente « très fortement » le risque de cancer. Et c'est précisément ce flottement qui est incriminé par les patientes qui se savent déjà « à risque » et qui attendent du test qu'il réponde à la question : « vais-je avoir un cancer ou non ? ». D'autant que la perception de ce risque du point de vue du médecin diffère de celle de la femme. Le risque objectif (statistique) est en effet « interprété » par la patiente en fonction de facteurs intra et inter subjectifs : la patiente a-t-elle déjà eu un cancer ? Comment a-t-elle vécu la maladie dans la famille ? Etc. Sacrifier l'organe sain. À ces femmes porteuses d'un gène prédisposant au cancer du sein, il est proposé – entre autres alternatives – la mastectomie bilatérale préventive. Une des particularités de cette opération tient au fait de retirer un organe sain dont aucun médecin ne peut dire avec certitude qu'il aurait été malade, ni assurer à la patiente qu'elle sera totalement hors de danger après l'intervention : les femmes parlent de la chirurgie prophylactique en termes de « sacrifice ». Représentations des seins « à risque ». Par ailleurs, tous ces questionnements s'inscrivent dans la dimension héréditaire de la maladie et ses enjeux identificatoires « aux femmes malades de la famille ». Demande d'aide à la décision. Toute prise de décisions suppose l'existence d'un choix. Mais avoir le choix entre « attendre le cancer » ou être « privée de ses seins » semble, aux femmes concernées, un choix « infernal ». C'est une décision si coûteuse en termes de « mutilation du féminin » et de remaniement identitaire que les femmes réclament au corps médical un positionnement clair et une aide à la décision. Conclusion. Les enjeux de ces démarches sont donc complexes. Enjeux dont les psychologues de la consultation explorent les différents aspects – au travers de suivis psychologiques – afin d'améliorer l'accompagnement de ces femmes.

Mots-clés : Test génétique, mastectomie préventive, accompagnement décisionnel.

■P520 / 371. STRATÉGIE D'IDENTIFICATION DES SUJETS PORTEURS D'UN SYNDROME HNPCC : APPORTS DE L'IMMUNOHISTOCHEMIE, DE L'INSTABILITÉ DES MICROSATELLITES ET DE LA MÉTHYLATION DU PROMOTEUR DE *MLH1*.

C. Colas (1), M. Svrcek (2), N. Mourra (2), E. Capel (3), F. Coulet (1), C. Bernard (4), N. Van Acker (2), Y. Parc (5), E. Tirtet (5), F. Soubrier (1), R. Hamelin (6), J.F. Fléjou (3), O. Lascols (4)
 (1) Laboratoire d'Oncogénétique et d'Angiogénétique, GH Pitié-Salpêtrière, APHP ; (2) Service d'Anatomopathologie, Hôpital Saint Antoine, APHP ; (3) Tumorothèque CancerEst, Hôpital Saint Antoine, APHP ; (4) Laboratoire commun de biologie et génétique moléculaires, Hôpital Saint Antoine, APHP ; (5) Service de Chirurgie Digestive, Hôpital Saint Antoine, APHP ; (6) INSERM, U762, CEPH, Paris

Le syndrome HNPCC ou syndrome de Lynch est une prédisposition héréditaire aux cancers colorectaux (CCR) liée à une anomalie constitutionnelle d'un gène du système de réparation des mésappariements, *MLH1*, *MSH2* ou *MSH6*. L'inactivation du deuxième allèle entraîne dans les tumeurs une instabilité des microsatellites (MSI) objectivable en biologie moléculaire et une perte d'expression, visible en immunohistochimie (IHC), de la protéine codée par ce gène. Ces caractéristiques tumorales permettent d'isoler, au sein d'une population de patients atteints de cancer, les candidats à une recherche d'anomalie constitutionnelle, lourde et onéreuse, car les critères purement cliniques sont insuffisamment sensibles et spécifiques. En France, un consensus a recommandé l'utilisation du test MSI pour les CCR diagnostiqués avant 61 ans, suivie d'une analyse en IHC sur les tumeurs MSI pour

cibler le gène en cause, mais les pratiques demeurent hétérogènes. Afin d'affiner cette sélection, on peut inclure le statut de méthylation du promoteur de *MLH1*. En effet, le phénotype MSI avec perte d'expression de *MLH1*, est souvent dû à une hyperméthylation sporadique du promoteur de ce gène, en particulier chez les sujets âgés. Nous avons comparé les 2 techniques de criblage tumoral et évalué l'apport de l'étude de la méthylation de *MLH1* de façon prospective sur une série consécutive de patients non sélectionnés par des critères cliniques. 566 CCR opérés à l'Hôpital Saint Antoine de Novembre 2005 à Août 2007 ont été analysés pour l'instabilité des microsatellites par PCR pentaplex de 5 marqueurs quasi monomorphes et en IHC (*MLH1* et *MSH2* systématiques, *MSH6* selon des critères cliniques et histologiques). En cas de perte de *MLH1*, une étude de la méthylation du promoteur de *MLH1* a été réalisée par PCR spécifique. Les patients présentant une instabilité et/ou une perte d'expression sur leur tumeur (à l'exception de ceux de plus de 60 ans avec méthylation du promoteur de *MLH1*) ont été orientés vers une consultation d'oncogénétique pour une analyse constitutionnelle. Sur 226 CCR survenus avant 61 ans, 19 présentaient un phénotype MSI (8,4 %) dont 18 avec une perte en IHC (8 *MLH1*, 9 *MSH2* et 1 *MSH6*). Sur les 207 CCR stables, 2 perdaient *MSH2*, 2 *MLH1* et 1 *MSH6*. Pour les 340 CCR survenus après 61 ans, 29 avaient un phénotype MSI (8,4 %) dont 28 avec une perte en IHC (22 *MLH1*, 6 *MSH2*). Aucun des 311 CCR stables ne présentait d'anomalie en IHC. Sur les 32 CCR avec extinction de *MLH1*, 26 ont été testés pour la méthylation du promoteur de *MLH1* et 22 étaient hyperméthylés. 36 patients ont été orientés vers la consultation d'oncogénétique et 17 ont été vus à ce jour. Des mutations constitutionnelles ont été identifiées chez 13 d'entre eux (dont 4 chez des patients dont le CCR était stable en PCR mais présentait une perte en IHC). 2 analyses n'ont pas permis d'identifier de mutation et 2 autres sont encore en cours. En conclusion, l'efficacité des 2 techniques de criblage est très comparable avec une concordance quasi-parfaite. Si la sensibilité de l'IHC apparaît légèrement supérieure à celle du test MSI, il faut noter qu'il s'agit d'une technique très « opératoire dépendante ». Les faux négatifs en PCR étant souvent dus à une très faible proportion de tissu tumoral, il convient de s'assurer d'une proportion suffisante de matériel tumoral avant le test MSI. Le test MSI reste indispensable en raison de l'existence non exceptionnelle de mutations fausses n'entraînant pas d'extinction en IHC. L'analyse des CCR survenus après 61 ans semble utile puisqu'elle a mis en évidence une extinction de *MSH2* chez 6 patients. Pour les 21 CCR perdant *MLH1* après 61 ans, l'étude de la méthylation confirme le caractère sporadique du CCR dans les 17 cas testés mais pourrait aussi permettre de repérer les CCR liés à une mutation constitutionnelle. Dans tous les cas, le phénotype tumoral est à corrélérer avec l'histoire clinique avant d'envisager des investigations constitutionnelles.

Mots-clés : syndrome HNPCC, MSI, immunohistochimie.

■P521 / 383. DÉCOUVERTE FORTUITE D'UNE LEUCÉMIE MYÉLOÏDE CHRONIQUE AU COURS DE LA GROSSESSE

H. Guermami (1), F. Talmoudi (1, 2), O. Kilani (1), M. Ben Rekaya (1, 2), N. Abidli (1), T. Ben Othman (3), A. Amouri (1)
 (1) Laboratoire de Cytogénétique, Institut Pasteur de Tunis ; (2) Unité de recherche EMMGOOD : Exploration Moléculaire des Maladies Orphelines d'Origine Génétique, Institut Pasteur de Tunis ; (3) Centre National de Greffe de Moelle Osseuse, Tunis

La Leucémie Myéloïde Chronique (LMC) est une hémopathie maligne caractérisée par la présence du chromosome Philadelphie. Ce chromosome résulte d'une translocation t(9;22)(q34;q11) au niveau des gènes *BCR* et *ABL*. Environ 500 nouveaux cas de LMC sont diagnostiqués par an. L'âge médian se situe entre 30 et 60 ans selon les séries. La LMC est assez fréquente chez l'adulte, rare chez l'enfant et son diagnostic au cours de la grossesse reste exceptionnel. Nous rapportons dans ce travail, l'observation d'une jeune femme primipare âgée de 35 ans dont l'hémogramme, réalisé à titre systématique, a révélé la présence d'une hyperleucocytose à 18 600/ml. Un caryotype médullaire a été alors effectué révélant la présence d'une anomalie clonale de type t(9;22), confirmant le diagnostic de LMC. Après l'accouchement, la patiente a été traitée par du Glivec®. L'évolution a été marquée par la disparition progressive du clone Phi(+) mais avec apparition d'une monosomie 10 dans le clone Phi(-). Devant un hémogramme évocateur, le caryotype médullaire a été déterminant pour affirmer le diagnostic de cette LMC atypique.

Mots-clés : LMC, Chromosome Philadelphie, Grossesse.

■P522 / 394. MISE EN ÉVIDENCE D'UNE T(X;11)(Q21;Q23) IMPLIQUANT *MLL* ET UN PROBABLE NOUVEAU PARTENAIRE EN XQ21 DANS UN CAS DE LAM DE *NOVO*

S. Richebourg (1), A. Daudignon (1), A. Renneville (2), C. Preudhomme (2), C. Meyer (3), R. Marschalek (3), J. Fernandes (4), P. Duthilleul (1), S. Poulain (1)

(1) Service d'Hématologie Immunologie Cytogénétique, CH Valenciennes ; (2) Pôle Hématologie Transfusion, CHRU Lille, INSERM 524 ; (3) Institute of Pharmaceutical Biology-University of Frankfurt ; (4) Service d'Hématologie Clinique, CH Valenciennes

Introduction : Les remaniements de MLL (Mixed leukemia lineage) sont observés dans 5 à 10 % des leucémies aigües myéloïdes (LAM) de novo ou secondaires et constituent un groupe de LAM individualisé dans la classification OMS. La fusion du gène *MLL* et d'un gène partenaire, le plus souvent par un mécanisme de translocation, aboutit à la formation d'une protéine de fusion impliquée dans la leucémogénèse. Plus de 50 partenaires de *MLL* ont été identifiés jusqu'à présent. De rares cas de remaniements de *MLL* par translocation ou insertion avec le bras long du chromosome X ont été rapportés principalement dans des LAM4 ou LAM5 ou chez des enfants. Différents points de cassure ont été ainsi caractérisés principalement en Xq13 impliquant le gène *AFX*, Xq22 et en Xq24 impliquant le gène *SEPTIN 6*. Nous rapportons le cas d'une leucémie aigüe myéloblastique *de novo* chez une patiente de 61 ans, pour laquelle une t(X ; 11)(q21 ; q23) impliquant le gène *MLL* et un probable nouveau partenaire sur le chromosome X a été mis en évidence. Présentation du cas : Initialement adressée aux urgences pour bilan de malaise, la patiente présentait à l'examen clinique un syndrome anémique avec pâleur cutanéomuqueuse. La numération formule sanguine a retrouvé une anémie macrocytaire sévère à 3 g/dl, une thrombopénie à 37 000 et une leucocytose à 4,9 G/l avec présence de 31 % de blastes. Le myélogramme a montré une infiltration par 95 % de blastes de morphologie myéloïde atypique avec présence de très nombreuses granulations, parfois métachromatiques après coloration au bleu de toluidine. L'immunophénotypage sur sang a mis en évidence un phénotype myéloïde des blastes avec positivité des marqueurs myéloïdes (myéloperoxydase, CD13, CD 113, CD 117) et l'absence de marqueur lymphoïde. Le CD34 est exprimé dans 15 % des blastes sans coexpression du CD25. Le caryotype médullaire a conclu à la présence d'une translocation t(X ; 11)(q21 ; q23) dans 20 cellules. Sur le plan thérapeutique, la patiente a bénéficié d'une induction classique (association Cytarabine-Idarubicine) permettant l'obtention d'une rémission complète à J30. À 5 mois du diagnostic, après 4 cures de consolidation, le bilan clinico-biologique est normal. Analyse cytogénétique et moléculaire : L'étude du réarrangement de *MLL* a été réalisée à la fois par cytogénétique moléculaire puis par biologie moléculaire. L'analyse par hybridation in situ utilisant la sonde LSI-*MLL* Dual Color Break Apart Réarrangement (Vysis®) a mis en évidence une dissociation du signal de fusion confirmant ainsi le réarrangement du gène *MLL* par translocation du signal 3'*MLL* sur le chromosome X remanié [der(X)] et maintien du signal 5'*MLL* sur le der(11). La recherche du partenaire potentiel sur le chromosome X est actuellement en cours par long-distance-inverse-PCR. La recherche des principaux marqueurs moléculaires n'a pas permis de retrouver de duplication ou de mutation de *FLT3*, de mutation du gène *NPM* ni de mutation du gène *CEBPalpha*. Devant la morphologie atypique des blastes, un réarrangement PML-RARA a par ailleurs été éliminé par FISH (sonde PML/RARA Dual Color Dual Fusion Translocation Probe, Vysis®). En conclusion, cette observation rapporte le cas d'une nouvelle translocation impliquant *MLL* et un potentiel nouveau partenaire localisé en Xq21 dont la caractérisation moléculaire est en cours.

Mots-clés : LAM, FISH, *MLL*.

■P523 / 403. ÉTUDE SYSTÉMATIQUE DE L'ADN COMPLÉMENTAIRE DES GÈNES *BRCA1/2* CHEZ 43 PATIENTES À HAUT RISQUE DE PRÉDISPOSITION GÉNÉTIQUE AUX CANCERS SEIN/OVAIRE, SANS MUTATION *BRCA1/2* IDENTIFIÉE

V. Caux-Moncoutier*, S. Pagès-Berhouet*, D. Michaux, C. Dehainault, A. Laugé, C. Dubois d'Enghien, A. De Pauw, M. Gauthier-Villars, B. Buecher, D. Stoppa-Lyonnet, C. Houdayer
Service de Génétique, Institut Curie, Paris, France

Introduction : On estime que 5 % des cancers du sein et 10 % des cancers de l'ovaire sont liés à un facteur de prédisposition transmis selon le mode dominant. Ainsi, chaque année, 2 100 femmes sont atteintes d'une forme héréditaire de cancer du sein et 320 d'une forme héréditaire de cancer de l'ovaire. Ces formes sont principalement liées aux altérations constitutionnelles des gènes *BRCA1* et *BRCA2*, pour lesquels 500 cas index sont criblés chaque année au laboratoire. L'indication d'un criblage *BRCA1/2* chez un cas index est posée après calcul d'une probabilité de prédisposition, reposant sur le modèle de Claus, et qui prend en compte l'histoire familiale de tumeurs sein/ovaire. Plus la probabilité de prédisposition est élevée, plus le taux de détection de mutations *BRCA1/2* augmente. Les mutations sont recherchées par un criblage complet des séquences codantes et des jonctions intron/exon de *BRCA1* et *BRCA2*, combinant la DHPLC et la QMPSF pour la recherche des mutations ponctuelles et des réarrangements de

grande taille, respectivement. Cependant environ 8 % de nos patientes présentant une probabilité de prédisposition majeure, supérieure ou égale à 80 %, restent sans mutation délétère identifiée. Cette observation peut s'expliquer par l'existence d'anomalies introniques profondes des gènes *BRCA1/2* qui échappent au criblage traditionnel car situées hors des régions explorées. Ces anomalies peuvent perturber l'épissage physiologique par la création de sites consensus entrant en compétition avec les sites sauvages, comme cela a déjà été rapporté pour les gènes *ATM*, *CFTR*, *FGG*, *NF1* ou *RBI*. Nous avons donc décidé de mettre en place l'étude systématique de l'ADN complémentaire pour les patientes dont la probabilité de prédisposition était supérieure ou égale à 80 % et pour lesquelles le criblage génomique s'était avéré négatif. Patientes et méthodes : Nous présentons ici les résultats de notre première étude portant sur 43 patientes. L'ARN de chaque patiente a été extrait de lignées lymphoblastiques cultivées en puromycine afin de stabiliser les transcrits instables portant une mutation tronquante. Les séquences codantes de *BRCA1* et *BRCA2* ont été découpées en 7 et 10 fragments chevauchants, respectivement, qui incluent les régions 5' et 3' UTR. Les fragments ont été analysés par électrophorèse pour visualiser la taille des transcrits, puis ils ont été étudiés par séquençage direct sur un ABI3130XL. L'exon 11 des 2 gènes a été uniquement exploré sur les extrémités 5' et 3' du fait de sa grande taille, ce qui assure cependant la couverture des introns flanquants. Résultats et discussion : Une seule anomalie d'épissage a été identifiée dans la région d'ADN complémentaire comprenant les exons 14 à 17 de *BRCA2* et consiste en un fragment de taille inférieure au fragment sauvage, exprimé à bas bruit. Ce fragment est actuellement en cours de caractérisation. Ce criblage d'ADN complémentaire systématique sur grande série a aussi permis de mettre en évidence un nombre important de transcrits alternatifs des gènes *BRCA1/2*, possiblement accrus par l'utilisation de la puromycine dans le milieu de culture cellulaire. Ces transcrits alternatifs génent bien entendu considérablement l'interprétation des résultats. Conclusion : Contrairement à ce qui a été précédemment décrit pour d'autres gènes, il semble que les anomalies introniques profondes des gènes *BRCA1/2* n'expliquent pas ces histoires familiales sévères de cancers sein/ovaire sans mutation exonique identifiée. Nos résultats suggèrent plutôt l'implication d'anomalies de la régulation de l'expression des gènes *BRCA1/2*.

*V. Caux-Moncoutier et S. Pagès-Berhouet ont contribué de façon égale à ce travail.

Mots-clés : *BRCA1/2*, ADN complémentaire, criblage systématique.

■P524 / 414. LI ET FRAUMENI DE DÉCOUVERTE TARDIVE : QUELLE PRISE EN CHARGE FAMILIALE ?

C. Dugast (1), C. Alleaume (2), S. Baert-Desurmont (3), G. Bougeard-Denoelle (3), T. Frebourg (3), S. Odent (1)

(1) Service de génétique médicale, CHU Rennes ; (2) Service d'oncologie CHG Saint Brieuc ; (3) Unité de génétique moléculaire CHU Rouen

Introduction : Le syndrome de Li et Fraumeni (LFS) est une prédisposition aux cancers touchant l'enfant et l'adulte jeune. Tous types de cancers peuvent être observés avec une forte prévalence des sarcomes (tissus mou et osseux), des tumeurs cérébrales, des corticosurrénales et des cancers du sein pré ménopausiques. Le risque tumoral est élevé : 41 % à 40 ans, 73 % sur toute la vie chez les hommes ; pour 84 et 100 % chez les femmes respectivement. L'atteinte primitive multiples est fréquente (50 %) et l'âge au diagnostic précoce. Nous rapportons le cas d'une famille porteuse d'un LFS avec une mutation délétère identifiée sur le gène *TP53* (c.718A>T, p.Ser240Cys) avec un spectre d'expression tardif et peu spécifique. Cas clinique : Le cas index est un homme de 73 ans. Il a été traité à 50 ans pour un adénocarcinome à cellules claires du rein droit ; à 66 ans pour un adénocarcinome prostatique ; à 70 ans pour un adénocarcinome à cellules chromophobes du rein G et à 71 ans pour un myxofibrosarcome de la région sus claviculaire. Un de ses fils a développé à l'âge de 16 mois un sarcome embryonnaire cet homme est actuellement âgé de 44 ans il n'a pas développé d'autre tumeur. Un frère a été traité pour un cancer du côlon à 46 ans et pour un cancer de l'œsophage à 55 ans. Sa mère aurait présenté 3 lésions coliques (51, 67 et 76 ans) et un cancer de l'œsophage à 76 ans. Elle aurait été opérée du sein à un âge précoce. Six oncles et tantes maternels auraient présenté des cancers (vessie 60 ans, mélanome œil > 80 ans, cerveau 60 ans, prostate 52 ans œsophage 63, cerveau 70, colon 60 ans). Chez leurs descendants on retrouve plusieurs cas de cancers dont un cancer du sein à 32 ans, une leucémie 22, une tumeur cérébrale 32. Conclusion : L'atteinte primitive multiple, la présence même tardive d'un sarcome et l'existence d'un sarcome embryonnaire chez son fils ont conduit à proposer une analyse du gène *TP53* chez cet homme bien que la famille ne corresponde ni aux critères diagnostiques initiaux de cette affection (1) un individu atteint de sarcome avant l'âge de 45 ans, 2) un apparenté au premier degré présentant un cancer avant l'âge de 45 ans, et 3) un apparenté au



premier ou second degré présentant soit un cancer avant l'âge de 45 ans, soit un sarcome à tout âge [1] ; ni aux critères revus par le groupe français d'étude du LFS (proposant atteint d'une tumeur appartenant au spectre étroit du LFS et développée avant l'âge de 36 ans et au moins un apparenté au premier ou au second degré atteint d'une tumeur appartenant au spectre étroit du LFS et développée avant l'âge de 46 ans, ou patient atteint de plusieurs cancers primitifs multiples, dont 2 appartiennent au spectre étroit du LFS, la première de ces tumeurs étant survenue avant l'âge de 36 ans, ou enfant atteint d'un corticosurrénalome [2]). La prise en charge de cette famille est difficile : doit-on recommander un suivi débutant dans l'enfance ? Quelle compliance y aura-t-il à ce suivi dans une famille touchée très tardivement ? Pourrait-on envisager, en cas de demande, un éventuel diagnostic prénatal ou préimplantatoire ? L'analyse des polymorphismes MDM2 SNP309 et p53 Arg72Pro est en cours chez cet homme. 1. Li FP, Fraumeni JF, Mulvihill JJ, Blattner WA, Dreyfus MG, Tucker MA, *et al.* A cancer family syndrome in twenty-four kindreds. *Cancer Res* 1988 ; 48 : 5358-62. 2. Le syndrome de Li-Fraumeni : mise au point, données nouvelles et recommandations pour la prise en charge *Bulletin du Cancer*. Volume 88, Numéro 6, Juin 2001

Mots-clés : Li et Fraumeni, découverte tardive, prise en charge.

■P525 / 416. CYTOGÉNÉTIQUE DES LYMPHOMES DE BAS GRADES NON FOLLICULAIRES

A. Daudignon, P. Talmant, I. Luquet, S. Struski, L. Baranger-Papot, S. Fert-Ferrer, F. Mugneret, C. Bastard

Pour le Groupe Francophone de Cytogénétique Hématologique (GFCH)

Introduction : Les Lymphomes malins non hodgkiniens (LNH) de bas grades incluent les LNH folliculaires, les LNH de la Zone marginale MZL (LNH du MALT, LNH spléniques de la zone marginale SMZL et LNH ganglionnaires de la zone marginale NMZL), les LNH lymphocytiques (SLL) et les LNH lymphoplasmocytaires. Ce sont des lymphomes le plus souvent indolents, mais qui évoluent dans un certain nombre de cas en lymphomes agressifs. La plupart des LNH obéissent à des modèles génétiques bien définis. Ils sont associés à des translocations spécifiques ayant pour résultat soit une substitution de promoteur soit la formation d'un gène de fusion auxquelles s'ajoutent des anomalies secondaires à valeur pronostique vérifiée : c'est le cas des LNH folliculaires qui présentent dans 80 % des cas une t(14;18)(q21;q34) avec réarrangement bcl2-JH, ou encore les LNH du MALT avec la t(11;18)(q21;q21) et réarrangement API2-MLT1. Cette association translocation-sous type histologique n'est pas retrouvée dans les autres LNH de bas grades qui constituent un groupe hétérogène dans lequel les études cytogénétiques sont restées peu fréquentes et concernent de faibles effectifs. Le but de notre étude a été d'analyser la cytogénétique des LNH de bas grades, non folliculaires, non MALT, et d'essayer de reconnaître des entités distinctes. **Matériel et méthodes** : L'analyse cytogénétique a été effectuée sur un matériel tumoral, ganglionnaire ou extra ganglionnaire à l'exclusion des formes leucémiques pures. 113 patients à caryotype anormal ont été inclus : 43 SLL (avec une lymphocytose < 5 G/L), 67 MZL, soit SMZL (n = 37) et NMZL (n = 30). L'analyse cytogénétique a été complétée par une technique de FISH dans certains cas. **Résultats** : Il existe des différences marquées entre les SLL et les MZL : La complexité du caryotype (nombre d'anomalies supérieur à 3) est observée plus fréquemment dans les MZL que dans les SLL (respectivement 38 % et 7 % p = 0.0002). Le caryotype des SLL est simple dans 60 % des cas, avec présence d'une anomalie isolée. Les anomalies discriminantes entre les deux groupes sont la trisomie 12 retrouvée plus fréquemment dans les SLL (44 % vs 13,5 %, p = 0.0007), la délétion 14q23q32 retrouvée spécifiquement dans les SLL à la fréquence de 18.60 %, le plus souvent associée à une trisomie 12. Les anomalies associées aux MZL sont la délétion 7q (25.4 %), la trisomie 3/3q (23.9 %) et la trisomie 1/1q (14.9 %), avec une fréquence significativement supérieure à celle retrouvée dans les SLL (respectivement 2.3 % p = 0.001 ; 4.65 % p = 0.0078 ; pas de cas pour +1/1q). Trois autres anomalies sont retrouvées dans plus de 5 % des MZL : la trisomie 18 (22.4 %), la trisomie 12/12q (13.4 %) et la délétion 11q (10.4 %). Les fréquences obtenues pour chacune ne permettent pas de différencier les SMZL des NMZL. En revanche, 2 groupes cytogénétiques se distinguent : le groupe à del7q et le groupe à trisomies 3/3q. De plus 27.5 % des patients MZL présentent des associations de trisomies. Seule, l'association del7q/del11q (avec délétion du locus ATM vérifiée en FISH) retrouvée chez 5 patients discrimine les SMZL des NMZL avec une association statistique avec la forme splénique des MZL (p = 0.045). **Discussion-conclusion** : Les SLL se différencient des MZL par la fréquence des trisomies 12 et la présence d'une délétion 14q23q32. Les MZL se distinguent par l'existence de deux sous groupes cytogénétiques : l'un porteur d'une délétion 7q qui d'après la littérature serait de moins bon pronostic que le second associant des trisomies 3/3q,

1/1q et 18/18q. La délétion 7q est retrouvée le plus souvent dans les formes spléniques des MZL mais ce résultat n'est pas statistiquement significatif. L'association del7q/del11q pourrait définir un sous groupe avec perte d'ATM associé significativement à la forme splénique des MZL.

Mots-clés : Lymphomes de bas grades, cytogénétique, MZL.

■P526 / 429. LE POLYMORPHISME DE LA RÉGION RÉGULATRICE DU GÈNE DE L'INTERLEUKINE 6 (IL6-174 GC) : UN NOUVEAU FACTEUR PRONOSTIQUE DANS LA MALADIE DE WALDENSTRÖM ?

S. Poulain (1), I. Dervite (2), X. Leleu (3), V. Coiteux (3), J. Fernandes (4), L. Stalnikiewicz (2), A.-S. Moreau (3), P. Duthilleul (1), P. Morel (2) (1) *Service d'Hématologie Immunologie Cytogénétique, CH de Valenciennes* ; (2) *Service d'Hématologie Clinique, CH de Lens* ; (3) *Service des Maladies du Sang, CHRU de Lille* ; (4) *Service d'Hématologie Clinique, CH de Valenciennes*

Contexte : L'interleukine 6 (IL6) est impliquée dans la régulation de la lymphopoïèse. Son rôle dans la physiopathologie de la Maladie de Waldenström (MW), une hémopathie lymphoïde B rare définie par une infiltration lymphoplasmocytaire dans la moelle osseuse et un pic sérique d'immunoglobuline monoclonale de type IgM (IgM), a été récemment mis en évidence (Chng *et al.*, *Blood*, 2007). Un polymorphisme situé en position -174 au niveau de la région du promoteur du gène de l'IL6 (IL6(-174GC)) serait susceptible de modifier le niveau d'expression de la cytokine : la présence de l'allèle C, associé à un profil de « bas sécréteur » a été décrit comme facteur de prédisposition génétique ou pronostique de différents cancers. L'objectif de cette étude a été d'évaluer l'influence du polymorphisme IL6 (-174GC) comme facteur pronostique dans la MW. **Matériel et Méthodes** : Ont été inclus 99 patients (pts) porteurs de MW diagnostiqués entre 1972 et 2006 (âge médian : 67 ans (39-91 ans)), et 46 patients porteurs de gammopathies monoclonales de signification indéterminée de type IgM (groupe IgM). La survie des pts diagnostiqués avant Janvier 2006 a été analysée, la médiane de suivi des pts vivants est de 42 mois (17-180 mois), la médiane de survie dans la population globale de 118 mois. À la date de l'analyse, 25 pts asymptomatiques n'ont pas été traités, 74 pts ont été traités dont 56 qui ont reçu en première ligne du chlorambucil. Le génotypage du polymorphisme IL6(-174 GC) a été réalisé par discrimination allélique en chimie Taqman-MGBa après extraction d'ADN à partir de sang périphérique. **Résultats** : La fréquence de l'allèle IL6 (-174 G) est de 0.59 chez les pts atteints de MW (n = 99). Quatorze pts (14.1 %) sont homozygotes pour l'allèle C, 33 (33.3 %) pour l'allèle G. Aucune différence significative en terme de distribution génotypique du polymorphisme IL6 (-174 GC) n'a été observée entre les groupes IgM et MW et entre MW symptomatiques ou pas. Aucune association entre le nombre de cytopénies ou d'organomégalias, le taux d'albumine au diagnostic, le score pronostique ISS WM (International Scoring System) et le génotype n'a été observée. Toutefois, les patients IL6 (-174 GG) sont significativement plus jeunes au diagnostic que les autres génotypes (âge moyen : 62 versus 69 ans, p = 0.009). Les pts homozygotes pour l'allèle G pourraient être considérés comme « hauts sécréteurs » d'IL6. Agés de moins de 65 ans, le pourcentage de survie à 6 ans après initiation de la première ligne de traitement (ST6) est estimé à 55 %, contre 87 % pour les patients IL6 (-174 CG ou CC), p = 0.025). **Conclusion** : Le polymorphisme IL6 (-174 GC) ne constituerait pas un facteur de prédisposition génétique à la MW. Le variant génétique IL6 (-174 GG) pourrait être en revanche considéré comme un nouveau facteur pronostique clinique après initiation de la chimiothérapie chez les sujets de moins de 65 ans atteints de MW.

Mots-clés : Maladie de Waldenström, polymorphisme génétique, IL6.

■P527 / 430. MONOSOMIE 7 DANS DEUX CAS DE LIPOSARCOMES À CELLULES FUSIFORMES SANS AMPLIFICATION DE LA RÉGION 12Q14-15 : LES LIPOSARCOMES À CELLULES FUSIFORMES CORRESPONDENT-ILS À UNE ENTITÉ DISTINCTE DES LIPOSARCOMES BIEN DIFFÉRENCIÉS ?

A. Italiano (1), M.L. Chambonniere (2), R. Attias (1), J.M. Coindre (3), F. Pedetour (1)

(1) *Laboratoire de Génétique des Tumeurs Solides, CHU de Nice* ; (2) *Laboratoire d'Anatomo-Pathologie, CHU de Saint-Étienne*, (3) *Laboratoire d'Anatomo-Pathologie-Institut Bergonié-Bordeaux*

Introduction : Les liposarcomes à cellules fusiformes (LCF) appartiennent à une catégorie de tumeurs adipeuses malignes rares considérée comme une variante des liposarcomes bien différenciés (LBD). Toutefois, alors que les LBD, dans leur forme classique, sont caractérisés sur le plan cytogénétique par la présence constante de chromosomes marqueurs surnuméraires géants

ou en anneau contenant une amplification de la région 12q14-15, il n'existe pratiquement aucune donnée spécifique sur les caractéristiques cytogénétiques des LCF. Matériel et méthodes : Nous rapportons ainsi la première étude cytogénétique moléculaire de deux cas de LCF pour lesquels le diagnostic a été confirmé après relecture centralisée des lames histologiques par un anatomo-pathologiste expert des sarcomes. Résultats : Nous n'avons mis en évidence l'existence de chromosomes surnuméraires géants ou en anneau et d'une amplification de la région 12q14-15 dans aucun des deux cas. En revanche, nous avons observé une monosomie 7 partielle ou totale dans les deux cas, cette anomalie étant associée à une monosomie 16q dans le premier cas et étant isolée dans le deuxième cas. Discussion : La monosomie 7 n'est pas une aberration cytogénétique habituelle des tumeurs adipeuses. Elle a en revanche été décrite dans diverses hémopathies ainsi que dans plusieurs types de tumeurs solides. Nos résultats suggèrent donc que la perte de matériel génétique en provenance du chromosome 7 pourrait jouer un rôle majeur dans la tumorigénèse des LCF via notamment l'inactivation de certains gènes suppresseurs de tumeurs portés par ce chromosome. Ainsi, les LCF pourraient correspondre, en réalité, à une entité distincte des LBD et non à une simple variante histologique.

Mots-clés : Liposarcome à cellules fusiformes, Liposarcome bien différencié, monosomie 7.

■P528 / 455. IDENTIFICATION DE MUTATIONS DU GÈNE *WTX* DANS UNE SÉRIE DE NÉPHROBLASTOMES

M. Corbin (1), G. Gros (1), C. Antignac (1, 2), C. Jeanpierre (1)
(1) *Inserm U574, Hôpital Necker-Enfants malades, Université Paris 5 René-Descartes, Paris* ; (2) *Service de Génétique, Hôpital Necker-Enfants malades, Paris*

Introduction : Le néphroblastome ou tumeur de Wilms (WT) est l'une des tumeurs solides de l'enfant les plus fréquentes (1/10 000 naissances). C'est une tumeur rénale d'origine embryonnaire, dans laquelle coexistent en proportions variables les différents types cellulaires du rein en différenciation : blastème, ébauches de tubes et glomérules, ainsi que du stroma pouvant contenir des îlots de différenciation hétérologue (muscle). Ceci suggère que des gènes impliqués dans le développement rénal jouent un rôle dans la survenue de ces tumeurs. Environ 20 % des néphroblastomes présentent des altérations conjointes de deux gènes, *WT1* qui code un facteur de transcription indispensable au développement rénal et *CTNNB1* qui code la bêta-caténine, protéine pivot de la voie Wnt. Récemment, des mutations d'un nouveau gène, *WTX*, localisé sur le chromosome X, ont été rapportées. Des données suggèrent un rôle de ce gène lors du développement rénal et dans la voie Wnt. Dans le but de mieux définir l'implication de ce gène, nous avons recherché la présence de mutations dans une série de tumeurs préalablement caractérisée pour les mutations de *WT1* et de *CTNNB1*. Matériel et méthodes : Nous avons analysé une série de 60 néphroblastomes, pour lesquels nous disposions de l'ADN et de l'ARN. Il s'agissait la plupart du temps de prélèvements obtenus après chimiothérapie préopératoire, en accord avec les protocoles européens de la Société Internationale d'Oncologie Pédiatrique. Ces tumeurs avaient déjà été caractérisées pour les mutations des gènes *WT1* et *CTNNB1* et analysées par CGH array. Les mutations du gène *WTX* ont été recherchées par différentes approches complémentaires : séquençage génomique et du transcrit ; recherche de délétions par PCR quantitative multiplex. Résultats : Nous avons identifié des anomalies somatiques de *WTX* dans 5 tumeurs : mutation ponctuelle hétérozygote chez 2 filles, mutation ponctuelle et perte d'un X chez une fille, mutation ponctuelle en mosaïque chez un garçon ; perte d'un X chez une fille. Chez une des filles avec mutation hétérozygote, nous avons montré que la mutation se situe sur le chromosome X actif. La recherche de délétion est en cours. Nous poursuivons également les études d'expression. Discussion Comme décrit dans la littérature, les mutations de *WTX* concernent des tumeurs sans mutation de *WT1* ni de *CTNNB1*. Cependant, la fréquence de mutations dans notre série de tumeurs, 13 %, est très inférieure aux 30 % rapportés précédemment. Ceci pourrait s'expliquer par une contre-sélection des cellules avec mutation de *WTX* par la chimiothérapie pré-opératoire. Parmi les 5 patients dont la tumeur présente une mutation, 3 sont décédés. Ceci suggère que la présence d'une mutation de *WTX* après chimiothérapie préopératoire puisse avoir une valeur pronostique. Cette hypothèse est actuellement testée par l'étude d'autres échantillons de tumeurs de mauvais pronostic.

Mots-clés : tumeur pédiatrique, classification, pronostic.

■P529 / 459. NÉOPLASIE ENDOCRINIENNE MULTIPLE DE TYPE 2 : LES INDICATIONS DE L'ANALYSE MOLÉCULAIRE DU GÈNE *RET*

C.A. Bourdin (1), C. Goujon (1), S. Giraud (1), A. Calender (1), S. Pinson (1)

(1) *Service de Génétique Moléculaire et Clinique, Hôpital Édouard-Herriot, Lyon*

La néoplasie endocrinienne de type 2 (NEM2) est une affection héréditaire rare, autosomique dominante, liée aux mutations du proto-oncogène *RET*. Elle prédispose principalement au développement de cancers médullaires de la thyroïde (CMT). La forme clinique la plus commune (NEM2A ou syndrome de Sipple) correspond à l'existence de CMT, parfois associé à la présence de phéochromocytome et/ou d'hyperparathyroïdisme primaire (HPT). La NEM2B ou syndrome de Gorlin est beaucoup plus rare. Elle correspond à un tableau clinique plus précoce et plus agressif, associant principalement un syndrome dysmorphique au CMT et au phéochromocytome. L'analyse moléculaire classique du gène *RET* recherche principalement des mutations ponctuelles localisées sur une partie des régions codantes (exons 8, 10, 11, 13, 14, 15 et 16) par séquençage direct. Devant une suspicion de NEM2 chez un individu, la découverte d'une mutation de *RET* modifie immédiatement la prise en charge du patient et de ses apparentés avec, en particulier, l'indication précoce d'une thyroïdectomie. Dans le but de préciser les indications cliniques de cette analyse et donc de répondre au mieux à la demande des cliniciens, nous avons réalisé une étude rétrospective sur les prélèvements reçus au laboratoire pour étude du gène *RET* au cours des 2 dernières années soit 265 prélèvements (210 cas index et 55 prédictifs). Parmi les 210 cas index étudiés, une mutation du gène *RET* a été détectée chez 20 patients, positionnant notre laboratoire au niveau de la moyenne nationale pour le taux de détection des anomalies moléculaires du gène *RET* (10,1 %). Parmi les patients porteurs d'une mutation du gène *RET*, la majorité présentait un CMT (18), certains lui associaient un phéochromocytome (4) ou une hyperparathyroïdisme (1). Un patient présentait un phéochromocytome et une maladie de Hirschsprung. Pour le dernier patient, aucune information n'a été transmise. Parmi les 190 cas index négatifs étudiés, la grande majorité avait une tumeur isolée (78 CMT, 34 phéochromocytomes et 25 HPT), cinq patients présentaient l'association de plusieurs lésions (quatre patients avec Phéochromocytome et HPT, un patient avec CMT et HPT), et un nombre non négligeable n'avait pas de renseignement clinique (45). L'analyse plus précise des résultats confirme la nécessité de disposer les informations cliniques, personnelles et familiales, avant d'envisager une étude moléculaire du gène *RET*. L'absence de renseignements cliniques lors de la réception du prélèvement est d'ailleurs, dans notre série, corrélée avec une probabilité extrêmement faible de détecter une mutation de *RET* (45/190 non mutés *versus* 1/20 mutés). Le cancer médullaire de la thyroïde, quelque soit l'âge, reste clairement le critère essentiel pour déclencher une analyse moléculaire : le taux de détection diminue avec l'âge mais reste globalement élevé à environ 19 % (18/96). En absence de CMT, l'analyse du gène *RET* ne doit pas être demandée en première intention. Le taux de détection est extrêmement faible (0,5 %) et l'analyse pourra être discutée devant une histoire familiale ou dans le cas de tableaux cliniques rares comme la maladie de Hirschsprung...L'orientation vers d'autres analyses moléculaires peut-être également envisagée en fonction des données cliniques (*VHL, SDH, MEN1, NF1*...).

Mots-clés : *RET*, MEN2, CMT.

■P530 / 460. LES RÉPERCUSSIONS PSYCHOLOGIQUES DES CONSULTATIONS D'INFORMATION EN ONCOGÉNÉTIQUE : UNE PROBLÉMATIQUE INDIVIDUELLE ET FAMILIALE

E. Fournier (1), P. Vennin (2), C. Adenis (2), J.P. Peyrat (3), V. Christophe (1)

(1) *URECA EA 1049, Equipe Famille, Santé & Emotion, Université de Lille 3* ; (2) *Service d'oncogénétique, Centre Oscar-Lambret de Lille* ; (3) *Laboratoire d'Oncologie Moléculaire Humaine, Centre Oscar-Lambret de Lille*

Problématique : On estime qu'environ 4 à 10 % des cancers du sein et de l'ovaire seraient liés à une prédisposition héréditaire apparemment autosomique dominante. Les consultations d'oncogénétique ont pour objectif d'informer sur les risques tumoraux en estimant la probabilité d'être « porteur » d'une mutation délétère BRCA1/BRCA2 et d'informer des possibilités de prévention et de dépistage. Le médecin va retracer le contexte personnel de la consultante ainsi que ses antécédents familiaux. Il existe donc deux versants : l'un individuel et l'autre familial. La première consultation d'oncogénétique est génératrice d'émotions pour les consultantes qui se retrouvent confrontées à l'estimation de leurs propres risques et à la réévaluation des proches atteints de la maladie. Nous pouvons donc nous poser la question de l'impact psychosocial provoqué par la délivrance de cette information ainsi que des répercussions familiales. Objectif : L'objectif est d'étudier les répercussions psychologiques et familiales chez les consultantes et les différences selon le statut : atteinte ou non. Méthode : Étaient inclusables toutes les femmes ayant pris rendez-vous au Centre



Oscar Lambret pour une première consultation d'oncogénétique entre septembre 2004 et octobre 2006. Sur les 156 femmes à qui nous avons proposé l'étude, 91 consultantes (60 atteintes et 30 non atteintes) ont répondu au questionnaire après la consultation d'oncogénétique et 87 consultantes (57 atteintes et 30 non atteintes) ont répondu aux deux questionnaires. L'étude repose sur une enquête réalisée à l'aide d'un même questionnaire auto administré envoyé par courrier que les consultantes remplissent quelques jours avant et quelques jours après la première consultation d'oncogénétique. Le questionnaire permet d'évaluer la qualité des relations familiales (Family Relationship Index-FRI), le niveau d'anxiété état (State-Trait anxiety Inventory-STAI-YA), le niveau de dépression (Center for Epidemiologic Studies-CES-D), le type de coping (Ways of Coping Checklist-WCC). Résultats : L'analyse a été faite en deux temps. 1) Les ANOVAs avec un facteur indépendant (statut médical : symptomatique *versus* asymptomatique) croisé avec un facteur en mesures répétées (temps de passation : avant *versus* après la consultation) mettent en évidence une diminution de l'anxiété, de la dépression et de l'utilisation des stratégies de coping après la consultation d'information ($p < .05$), et ce quel que soit le statut médical de la consultante. En ce qui concerne la qualité des relations familiales, les résultats montrent de manière générale, une augmentation de la cohésion familiale après la consultation d'information ($p < .05$). On observe également que les femmes atteintes ont un fonctionnement familial de type plus cohésif que les femmes non atteintes ($p < .05$). 2) Les ANOVAs avec un facteur indépendant (qualité des relations familiales : faible, intermédiaire, élevée) mettent en évidence un niveau d'anxiété et de dépression plus élevé chez les femmes appartenant à une famille de faible qualité relationnelle. On observe également que les femmes appartenant à une famille à forte qualité relationnelle utilisent davantage de stratégies de coping centrées sur le problème que les femmes des deux autres sous groupes ($p < .05$). Discussion-conclusion : Notre étude confirme que la première consultation d'oncogénétique sur les cancers du sein et de l'ovaire n'engendre pas de répercussion psychologique délétère et ce quel que soit le statut médical de la patiente. Toutefois la qualité des relations familiales semble affecter le vécu de la consultation d'information. La qualité des relations familiales apparaît donc comme un élément à prendre en compte par les médecins puisqu'elle affecte les répercussions psychologiques consécutives à la consultation d'information. Une attention particulière devrait donc être portée aux consultantes issues de famille à faible qualité relationnelle.

Mots-clés : oncogénétique, structure familiale, répercussions psychologiques.

■P531 / 464. DESCRIPTION D'UNE FAMILLE ATTEINTE PAR LA MALADIE DE VON HIPPEL-LINDAU ET PORTEUSE D'UNE MUTATION ADDITIONNELLE DU GÈNE *VHL* SUR L'HAPLOTYPE CHUVASH

C. Ladrone (1), B. Gardie (1), S. Gad (1), B. Lecomte (2), B. Bressac (3), F. Lasne (4), M. Thys (5), J. Brochi (6), W.G. Kaelin (7), S. Richard (1, 8) et le Réseau national INCA (Maladie de VHL et cancers du rein héréditaire)

(1) *Génétique Oncologique EPHE, CNRS FRE-2939, Institut de cancérologie Gustave Roussy, Villejuif, et Faculté de Médecine Paris-Sud, Le Kremlin-Bicêtre, France* ; (2) *Couvins, Belgique* ; (3) *Laboratoire de Génétique, Institut de cancérologie Gustave Roussy, Villejuif, France* ; (4) *Laboratoire National de dépistage du dopage, Chateaufort Malabry, France* ; (5) *Hôpital Reine Fabiola, Montignies sur Sambre, Belgique* ; (6) *Service de Neurochirurgie, Hôpital Erasme-ULB, Bruxelles, Belgique* ; (7) *Howard Hughes Medical Institute, Dana-Farber Cancer Institute, Harvard Medical School, Boston, USA* ; (8) *Centre Pilote Tumeurs Rares de l'INCA, AP-HP, Service d'Urologie, CHU de Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre et Service de Néphrologie, Hôpital Necker, Paris, France*

Introduction : La maladie de von Hippel-Lindau (VHL) est la principale cause de cancer du rein héréditaire et représente le modèle de l'angiogenèse tumorale. Cette affection autosomique dominante prédispose au développement de tumeurs bénignes et malignes richement vascularisées : hémangioblastomes du SNC et de la rétine, kystes rénaux et cancers du rein à cellules claires, phéochromocytomes, kystes et tumeurs endocrines du pancréas, tumeurs du sac endolymphatique. La maladie de VHL est due à des mutations germinales du gène suppresseur de tumeur *VHL* dont le rôle est capital dans la réponse tissulaire à l'hypoxie. En effet, la protéine pVHL cible les sous-unités alpha du facteur inductible par l'hypoxie (HIF) pour leur dégradation dans le protéasome. Ceci permet la régulation des gènes de réponse à l'hypoxie comme le VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor), PDGF beta (Platelet Derived Growth Factor), TGF alpha (Tumor Growth Factor) et l'EPO (Erythropoïétine). Plus de 150 mutations ont été identifiées et des corrélations génotype-phénotype ont pu être établies en fonction du risque de

phéochromocytome : minime (VHL type 1) ou majeur (VHL type 2). Problématique : En 2002, il a été montré que la polyglobulie de type Chuvash, affection autosomale récessive endémique dans la République de Tchouvachie (ex-URSS), était due à une mutation germinale homozygote spécifique du gène *VHL* (598C>T, R200W). Cette mutation est responsable d'une production excessive d'EPO à l'origine de la polyglobulie mais les patients ne développent aucune tumeur. Les parents hétérozygotes porteurs de cette mutation n'ont, quant à eux, aucun signe clinique. Cependant, cette mutation avait déjà été décrite à l'état hétérozygote dans une famille belge présentant un tableau clinique caractéristique de maladie de VHL de type 1. Nous avons trouvé étonnant que ces patients développent des tumeurs alors que les porteurs de la mutation R200W à l'état hétérozygote ne présentent aucune pathologie. Nous avons donc choisi d'étudier cette famille plus en détails. Résultats : Après avoir obtenu les consentements éclairés et prélevé tous les membres de la famille, l'analyse de séquence a confirmé la présence de la mutation R200W mais a révélé une mutation additionnelle 482G>A (R161Q) sur le même allèle. Nous nous sommes ensuite attachés à déterminer l'origine de la mutation R200W. En effet, la mutation identifiée en Tchouvachie est toujours associée à un haplotype core ancestral composé de 8 polymorphismes (SNPs) qui s'étendent sur 340 kb. L'analyse des SNPs a révélé que l'allèle porteur des deux mutations R161Q+R200W correspondait à l'haplotype core, démontrant ainsi que les deux mutations sont portées par l'allèle Chuvash. Par ailleurs, les différences phénotypiques observées entre les porteurs de la mutation R161Q seule (développement de phéochromocytomes dans 100 % des cas) et R161Q+R200W (pas de phéochromocytome) nous ont fait supposer que la mutation R200W pouvait avoir un effet protecteur dans la survenue des phéochromocytomes. Nous avons alors mis en place un test fonctionnel utilisant un peptide hydroxylé de HIF1 alpha pour évaluer la capacité de chacun des mutants, seuls ou associés, à fixer HIF. Les résultats montrent que le double mutant R161Q+R200W a perdu la capacité de se fixer au peptide HIF1 alpha, alors que les mutants R200W et R161Q ont gardé cette capacité. Conclusion : 1 - L'existence de deux mutations germinales du gène *VHL* dans cette famille conforte le fait que les patients porteurs de la mutation R200W à l'état hétérozygote ne développent pas de tumeur. 2 - La mutation R161Q est apparue après la mutation R200W qui est liée à un effet fondateur. 3 - La perte de fonction associée à la double mutation indique que le développement des phéochromocytomes serait incompatible avec une perte de fonction totale de pVHL. La mutation R200W jouerait donc ici un rôle protecteur dans le développement des phéochromocytomes associé à la mutation R161Q.

Mots-clés : VHL, mutation, phéochromocytomes.

■P532 / 485. LA CYTOGÉNÉTIQUE ONCO-HÉMATOLOGIQUE EN TUNISIE

A. Amouri (1), N. Bouayed Abdelmoula (2)

(1) *Laboratoire de Cytogénétique, Institut Pasteur, Tunis, Tunisie* ; (2) *Laboratoire d'Histologie Embryologie Faculté de Médecine de Sfax, Tunisie*

La cytogénétique participe à la démarche diagnostique en onco-hématologie avec les autres paramètres de classification à savoir les paramètres cliniques, cytologiques, biochimiques, immunologiques et moléculaires. Elle aide ainsi à l'évaluation du pronostic de l'hémopathie maligne et fait donc partie intégrante de l'arbre décisionnel thérapeutique en onco-hématologie. L'analyse du caryotype conventionnel reste la méthode de référence. Cependant, le degré de complexité de certaines aberrations chromosomiques rencontrées dans certaines hémopathies rend impossible leur description complète par les méthodes de marquage chromosomique en bandes classiques RHG et GTG. L'hybridation in situ fluorescente, avec sa double approche ciblée et globale, est devenue ainsi un complément, souvent indispensable, à l'analyse du caryotype conventionnel. Pour parvenir à la réalisation d'un caryotype, le prélèvement tissulaire passe par de nombreuses étapes. En matière de cytogénétique hématologique, chacune de ces étapes présente des particularités et plus exactement des difficultés si on les compare avec la cytogénétique constitutionnelle. Le fonctionnement adéquat et régulier répondant aux au système de contrôle de qualité d'un laboratoire de cytogénétique onco-hématologique repose sur une organisation particulière dépassant de loin le standard utilisé par les laboratoires d'analyses de biologie médicale. En dehors de la considération de certaines exigences de la technique cytogénétique hématologique, l'objectif d'une telle structure ne peut pas être atteint. Dans le présent travail, nous discuterons en détail et nous mettrons en relief les contraintes et les difficultés auxquelles sont confrontés les laboratoires de cytogénétique onco-hématologique en Tunisie et en particulier celui de l'Institut Pasteur de Tunis.

Mots-clés : Caryotype, Laboratoire de cytogénétique, Anomalies chromosomiques acquises.

■P533 / 507. SURVENUE DE PARAGANGLIOME EN CAS DE TRANSMISSION MATERNELLE D'UNE MUTATION DE *SDHD*

P. Pigny (1), A. Vincent (2), C. Cardot-Bauters (3), M. Bertrand (4), V. Thomas de Montpreville (5), M. Crépin (1), N. Porchet (1), Ph. Caron (4) (1) *Laboratoire de Biochimie Oncologie, CHRU Lille* ; (2) *INSERM U837, Lille* ; (3) *Service d'Endocrinologie, CHRU Lille* ; (4) *Service d'Endocrinologie, CHU Toulouse* ; (5) *Service d'Anatomie pathologique, Centre chirurgical M.-Lannelongue, Le Plessis-Robinson*

Introduction : Des mutations inactivatrices de *SDHD*, localisé en 11q23, prédisposent aux paragangliomes héréditaires et/ou aux phéochromocytomes. Jusqu'à maintenant, aucun phénotype n'est associé à une transmission maternelle d'une mutation de *SDHD*, suggérant l'existence d'une empreinte parentale. Un modèle hypothétique, reposant sur la perte d'une copie maternelle d'un gène suppresseur de tumeur localisé en 11p15 dans la tumeur, a été proposé pour expliquer ce mode de transmission particulier. **Objectif :** Etudier la possibilité d'une transmission maternelle de la maladie au travers de l'étude d'une famille de paragangliomes héréditaires liés à la mutation W43X de *SDHD* au point de vue clinique, pathologique et moléculaire. **Résultats :** La mutation familiale provient probablement du grand-père. À la seconde génération, 3 porteurs de la mutation (1 homme et 2 femmes) qui partagent le même haplotype à risque dans la région 11q13-q23, ont développé des paragangliomes cervicaux multiples. À la troisième génération, un garçon ayant reçu la mutation de sa mère a développé un paragangliome tympanique à l'âge de 11 ans. Il partage avec les autres sujets atteints l'haplotype à risque. L'analyse du profil de méthylation de la région DMR en amont du gène *H19* (gène suppresseur de tumeur localisé en 11p15 d'expression maternelle) montre que le septième site de liaison du facteur CTCF (CTS7) est hyperméthylé au niveau de l'ADN germinale du jeune garçon suggérant un gain d'empreinte. **Conclusion :** Nos données montrent qu'une transmission maternelle d'un paragangliome lié à une mutation de *SDHD*, bien que rare, peut survenir. En conséquence, nous proposons que la prise en charge des familles de paragangliomes héréditaires par mutation germinale de *SDHD* soit modifiée en conséquence.

Mots-clés : paragangliome, *SDHD*, empreinte parentale.

■P534 / 532. UNE NOUVELLE MUTATION DE PERFORINE PRÉ-DISPOSANT AU LYMPHOME DE HODGKIN ?

R. El Abed (1), V. Bourdon (2), H. El Omri (3), A. Khelif (1, 3), Z. Soua (1), H. Sobol (2) (1) *UR « Biologie moléculaire des leucémies et lymphomes », Laboratoire de Biochimie, Faculté de Médecine Sousse, Tunisie* ; (2) *Département d'Oncologie Génétique, Prévention et Dépistage, INSERM UMR 599, Institut Paoli-Calmettes, Marseille, France* ; (3) *Service d'Hématologie clinique, CHU Farhat-Hached, Sousse, Tunisie*

Perforine est une protéine cytotytique essentielle pour l'immunosurveillance, l'homéostasie lymphocytaire et l'induction de la mort cellulaire indépendante de Fas. Un catalogue des mutations délétères de perforine a été compilé grâce à l'étude de formes héréditaires de Syndromes hémophagocytaires, qui résultent d'un défaut en perforine. Il y a aussi un intérêt considérable et controversé sur l'implication des mutations perforine dans les malignités hématologiques. Dans ce travail, nous recherchons des mutations constitutionnelles du gène perforine dans des hémopathies malignes familiales. Nous rapportons une mutation jamais décrite auparavant, chez une famille tunisienne où 2 cousins germains ont développé un lymphome de Hodgkin. Toute la région codante du gène perforine (exons 2 et 3) a été analysée par PCR et séquençage direct. La mutation est une substitution hétérozygote faux sens A211V identifiée dans le cas index qui a hérité l'allèle muté de sa mère saine. Il est aussi observé chez le frère sain et a été transmis à un fils parmi 4. La cousine germaine décédée de lymphome de Hodgkin porte elle aussi la mutation. Alors qu'aucun des membres de sa fratrie ne porte l'allèle muté. Des études récentes ont démontré qu'une substitution similaire A91V implique des changements conformationnels de la protéine suite à un défaut de repliement ce qui affecte la stabilité de perforine et réduit de façon drastique son activité cytotytique. Nous investiguons de notre côté, sur l'étude de la fréquence du variant A211V dans la population générale tunisienne et entreprenons d'étudier les conséquences de cette mutation A211V sur la cytotoxicité de perforine vis-à-vis des cellules cibles grâce à un test fonctionnel préliminaire.

Mots-clés : Perforine, Lymphome de Hodgkin, Prédisposition génétique.

■P535 / 580. ÉTUDE DE COHORTE FRANÇAISE SUR L'ATAXIE-TÉLANGIECTASIE (COF-AT) : 2003-2008

E. Cavaciuti (1), C. Dubois-D'Enghien (2), A. Laugé (2), P. Troude (1), M.-G. Dondon (1), M. Labbé (1), N. Janin (3), I. Coupier (4, 5), J.-O. Bay

(6), J. Hall (7), groupe CoF-AT (*), D. Stoppa-Lyonnet (2), N. Andrieu (1)

(1) *Inserm U900 et Service de Biostatistiques, Institut Curie, Paris* ; (2) *Service de Génétique Oncologique, Institut Curie et Université Paris 5, Paris* ; (3) *Département de Génétique Humaine, CHU Sart-Tilman, Liège, Belgique* ; (4) *Service Génétique Médicale, Hôpital Arnaud-de-Villeneuve, Montpellier* ; (5) *Unité d'Oncogénétique, Val-d'Aurelle, Montpellier* ; (6) *Unité de Transplantation médullaire et Laboratoire d'Oncologie Moléculaire, Centre Jean-Perrin, Clermont-Ferrand* ; (7) *Inserm U612, Institut Curie, Orsay* ; (*) *Dr C. Adenis (Centre Oscar-Lambret, Lille), L. Ben Slama (CEREDIH, Hôpital Necker et Institut Curie, Paris), Dr P. Berthet (Centre François-Baclesse, Caen), Dr V. Bonadona (Centre Léon-Bérard, Lyon), Dr B. Buecher (Institut Curie, Paris), Dr H. Cannoni (Hôpital d'Enfants de la Timone, Marseille), Dr A. Chompret (Institut Gustave-Roussy, Villejuif), Dr P. Collignon (Hôpital Font-Pré, Toulon), Dr M.-A. Collonge-Rame (Hôpital Saint-Jacques, Besançon), A. Combès (Hôpital Arnaud-de-Villeneuve, Montpellier), Dr K. Dahan (Centre Hospitalier de Luxembourg, Luxembourg), Dr C. Delnatte (Centre René-Gauducheau, Saint-Herblain), Dr L. Demange (Polyclinique de Courlancy, Reims), A. De Paw (Institut Curie, Paris), Dr C. Dugast (Centre Eugène-Marquis, Rennes), Dr L. Faivre (CHU Hôpital d'Enfants, Dijon), Pr J. Feingold (Université Paris VII, Paris), Dr F. Fellmann (CHU Vaudois, Lausanne, Suisse), Dr M. Frenay (Centre Antoine-Lacassagne, Nice), Dr J.-P. Fricker (Centre Paul-Strauss, Strasbourg), Pr B. Gilbert-Dussardier (Hôpital Jean-Bernard, Poitiers), Dr L. Gladiéff (Institut Claudius-Régaud, Toulouse), Dr C. Lasset (Centre Léon-Bérard, Lyon), Pr B. Leheup (Hôpital Brabois, Nancy), Dr S. Lejeune (Institut Curie, Paris), Dr D. Leroux (CHU, Grenoble), Dr G. Lesca (Hôpital Édouard-Herriot, Lyon), Dr J. Lespinasse (Centre Hospitalier, Chambéry), Dr M. Longy (Institut Bergonié, Bordeaux), Dr A. Lortholary (Centre Catherine-de-Sienne, Nantes), Dr D. Martin-Coignard (Centre Hospitalier, Le Mans), Dr S. Nizard (CHR Hôpital de la Source, Orléans), Dr P. Parent (Hôpital Morvan, Brest), Dr P. Rohrlisch (Hôpital Saint-Jacques, Besançon), Dr C. Thauvin (Hôpital d'Enfants, Dijon), Dr L. Venat-Bouvet (Hôpital Dupuytren, Limoges), Dr P. Vennin (Centre Oscar-Lambret, Lille)*

Objectifs Les objectifs de l'étude CoF-AT sont d'estimer précisément le risque de cancer associé aux gènes de l'Ataxie Téléangiectasie (A-T), de rechercher les facteurs de risque associés, d'étudier les caractéristiques du cancer du sein (CS) chez les hétérozygotes A-T et de proposer une surveillance mammaire aux femmes apparentées à un enfant atteint d'A-T. **Contexte** En effet, plusieurs études familiales ont montré une augmentation du risque de cancer et en particulier de cancer du sein parmi les apparentés des enfants A-T (ex : Swift 1987, Janin *et al.*, 1999, Olsen *et al.*, 2005, Thompson *et al.*, 2005) et bien que l'A-T soit une maladie génétique rare (entre 1 cas sur 100 000 naissances et 1 sur 40 000), transmise selon le mode récessif, on estime autour de 0.5 % la proportion d'hétérozygotes pour les gènes de l'A-T dans la population générale. Ce trait génétique pourrait donc être impliqué dans un pourcentage non négligeable de CS. L'A-T est une maladie de l'enfant caractérisée par une ataxie cérébelleuse dégénérative, des télangiectasies cutanées ou muqueuses, un déficit immunitaire et un risque augmenté de cancer. Deux gènes responsables de la maladie et codant des protéines impliquées dans la réparation des cassures double-brin de l'ADN ont été identifiés : *ATM* (Savitsky *et al.*, 1995) et *MRE11* (Stewart *et al.*, 1999). **Protocole** : Une cohorte de femmes apparentées à un enfant atteint d'A-T est en cours de constitution depuis mai 2003. Un total de 800 inclusions de femmes hétérozygotes et non-hétérozygotes est attendu. Les femmes appartiennent aux familles recrutées lors de l'étude familiale rétrospective (Janin *et al.*, 1999) et aux nouvelles familles identifiées dans le cadre du diagnostic des enfants atteints. Ces nouvelles familles sont contactées par l'intermédiaire des (hémato-), (neuro-) pédiatres, généticiens, registre A-T du CEREDIH (1), APRAT (2) et ORPHANET. Les femmes sont interrogées tous les deux ans sur leurs antécédents personnels et familiaux de cancer et sur leur exposition aux facteurs de risque de cancer. Le suivi médical proposé consiste en une surveillance mammaire clinique, et si les femmes ont 40 ans et plus, une mammographie tous les deux ans. Une DNAtèque et une tumorothèque sont mises en place. **Etat d'avancement** Un peu plus de 4 ans après le début de l'étude, 182 familles A-T ont été identifiées à partir des dossiers médicaux du laboratoire de Génétique Oncologique de l'Institut Curie, dont 159 porteuses d'au moins une mutation identifiée, 513 femmes appartenant à 134 familles ont été invitées à participer ; 283 femmes (69 familles) ont accepté de participer. L'avancement de l'étude CoF-AT sera présenté en détail et les caractéristiques de la population incluse en janvier 2008 seront décrites. **Remerciements** Nous remercions vivement les femmes qui participent à cette étude ainsi que l'APRAT. CoF-AT est subventionnée par le Ministère de la Recherche et l'Inserm, la Fondation de France, le



Conseil Scientifique de Radioprotection d'EDF, La Ligue Nationale Contre le Cancer. (1) Centre de Référence des Déficits Immunitaires Héritaires (2) Association Pour la Recherche sur l'Ataxie-Télangiectasie

Mots-clés : ATM, risque de cancer, étude prospective.

■P536 / 581. POLYPOSE ADÉNOMATEUSE FAMILIALE ET STRATÉGIE DIAGNOSTIQUE MOLÉCULAIRE : L'EXPÉRIENCE LILLOISE

S. Lejeune (1), F. Escande (2), M. Mathieu (5), G. Morin (5), V. Nicolas (1), T. Lovecchio (2), PAFNord*, N. Porchet (2, 3, 4), S. Manouvrier-Hanu (1, 4), M.P. Buisine (2, 3, 4)
(1) Service de Génétique Clinique, CHRU de Lille ; (2) Laboratoire de Biochimie et Biologie Moléculaire, CHRU de Lille ; (3) INSERM U837, CR JP Aubert, Lille ; (4) Université de Lille 2, Faculté de Médecine H. Warembourg de Lille ; (5) Service de Génétique Clinique, CHU d'Amiens
*PAFNORD : Association régionale pour la prise en charge des prédispositions familiales aux tumeurs digestives

La Polypose Adénomateuse Familiale (PAF) est une affection génétique caractérisée par la survenue précoce, dans sa forme classique, de plus de 100 polypes adénomateux répartis sur l'ensemble du cadre colique. On parle de polypose atténuée pour les phénotypes moins sévères (moins de 100 polypes) et de survenue plus tardive. Il existe une hétérogénéité génétique. En effet, la majorité des cas sont dus à des mutations du gène *APC* et se transmettent selon un mode autosomique dominant. Néanmoins, certaines formes familiales ont été rapportées plus récemment comme liées à des mutations bi-alléliques du gène *MUTYH*, selon un mode de transmission compatible avec une hérédité autosomique récessive. Depuis 1997, 120 familles suspectes de PAF (phénotype classique, sévère ou atténué) ont été adressées au laboratoire de biologie moléculaire de Lille : 97 familles vues en consultation à Lille et 23 familles extérieures. La stratégie d'étude moléculaire a été la suivante pour chaque cas index : 1) étude du gène *APC* par séquençage direct ; 2) étude systématique des transcrits en cas d'identification d'un variant de signification inconnue ; 3) recherche de réarrangements exoniques et du promoteur par MLPA ; 4) étude du gène *MUTYH* par séquençage direct pour les familles *APC* négatives. Une mutation du gène *APC* a pu être identifiée dans 66 familles (55 %). 7 mutations associées à un épissage anormal ont été identifiées dans 9 familles différentes (14 %), dont 5 situées en dehors des sites consensus d'épissage : 2 variants introniques situés dans l'intron 9 (c.1312+3A>G, c.1312+5G>T) et 3 variants exoniques situés respectivement en début d'exon 4, en fin d'exon 14 et en début d'exon 15 (c.423G>T, c.1957A>G et c.1959G>A). Par ailleurs, des réarrangements du gène *APC* ont été identifiés dans 8 familles (12 %) : 3 délétions complètes du gène, 1 délétion des exons 9 à 15, 2 délétions des exons 9-10A, 1 délétion de l'exon 14 et 1 délétion sélective du promoteur. Enfin, parmi les familles *APC* négatives, des mutations bi-alléliques de *MUTYH* ont été identifiées dans 10 familles et une mutation mono-allélique dans une seule famille, ce qui rend compte de l'implication de *MUTYH* dans environ 10 % des cas. Au total, notre stratégie d'analyse nous a permis d'identifier une anomalie dans 77 familles (64 %) avec suspicion de PAF. Il est important de noter que pour aucune des 43 familles dont le bilan génétique est resté négatif, il ne s'agissait d'une polypose classique de transmission autosomique dominante. Toutes présentaient un phénotype atténué, en général sans antécédent familial et donc peu évocateur d'une prédisposition génétique. Ces résultats confortent ainsi notre stratégie diagnostique pour le diagnostic moléculaire des PAF.

Mots-clés : polypose adénomateuse familiale, diagnostic moléculaire, mutations complexes.

■P537 / 583. IDENTIFICATION DES PROFILS D'EXPRESSION ASSOCIÉS À UNE MUTATION DE L'UN DES GÈNES *BRCA1* ET *BRCA2* DANS LES CELLULES NON-TUMORALES DE L'ÉPITHÉLIUM DE SURFACE DE L'OVAIRE (NOSES)

*D. Abd-Rabbo (1), *C. Abaji (1), A. Filali-Mouhim (1), L. Portelance (1), D.E. Escobar Espinoza (1), S. Cloutier (1), C. Arous (1), T. Hudson (2), P.N. Tonin (3), D.M. Provencher (145), A.M. Mes-Masson (16), C.M. Maugard (146). Les 2 premiers auteurs ont contribué également à ce travail.
(1) Institut du Cancer de Montréal/Centre de Recherche du CHUM ; (2) Montreal Genome Center ; (3) Depts. Human Genetics and Medicine, McGill University and the Research Institute of MUHC ; (4) Service de Médecine Génique CHUM ; (5) Département de Gynécologie-Oncologique, Université de Montréal ; (6) Département de Médecine, Université de Montréal, Québec, Canada

Introduction : L'identification des gènes *BRCA1/2* représente une avancée majeure dans la compréhension de la carcinogenèse héréditaire. Les

femmes porteuses de mutations sur l'un de ces 2 gènes ont un risque élevé de développer des cancers du sein et de l'ovaire. Ces derniers étant le plus souvent mortels car diagnostiqués à un stade avancé, il est urgent d'améliorer les outils de diagnostic en identifiant des gènes différentiellement exprimés à un stade précoce de la carcinogenèse héréditaire. Rationnel, hypothèses et objectifs : Des données de la littérature suggèrent l'existence d'un profil d'expression associé à une mutation des gènes *BRCA1/2* dans les cancers de l'ovaire, ainsi que l'existence d'un phénotype associé à l'hétérozygotie de ces gènes dans les cellules immortalisées de l'épithélium de surface de l'ovaire (IOSEs). Nous avons émis l'hypothèse qu'il existait un profil d'expression différentiel associé à la présence d'une mutation dans les cellules non-tumorales non-immortalisées (NOSEs). L'objectif de cette étude préliminaire était donc d'identifier les transcriptomes associés à une mutation de l'un de ces gènes dans les cellules NOSEs. Matériel et Méthodes : Nous disposons des données d'expression générées avec la biopuce Affymétrie HuFL

sur 9 échantillons d'ARN extraits de cultures primaires de NOSEs provenant de donneuses canadiennes française : 4 de femmes non-porteuses, opérées pour des pathologies gynécologiques non-néoplasiques, 5 de porteuses de mutation de l'un des gènes *BRCA1/2* ayant bénéficié d'une annexectomie bilatérale prophylactique, -2 sur *BRCA1*, -3 sur *BRCA2*, chacun de ces groupes d'échantillons définissant respectivement les classes 1, 2 et 3 dans notre analyse. En utilisant la plateforme informatique ouverte Bioconductor

nous avons effectué une analyse différentielle supervisée en utilisant 2 méthodes statistiques : - d'une part LIMMA (Linear Model for Microarrays Data), - d'autre part le Welch t-test afin d'identifier les gènes différentiellement exprimés entre classes 1 et 2, classes 1 et 3, classes 2 et 3, enfin classe 1 vs classe 2+3. Nous avons appliqué une méthode d'aggrégation hiérarchique aux gènes candidats ainsi sélectionnés pour vérifier s'ils permettaient de séparer nos échantillons en fonction de leurs classes d'appartenance. Nous avons finalement étudié la distribution des profils d'expression de nos échantillons grâce à une analyse de type RDA (Redundancy Analysis). Nous avons validé par PCR quantitative en temps réel les profils d'expression obtenus avec les biopuces sur un sous-groupe de gènes candidats et mesuré simultanément l'expression de *BRCA1* et *BRCA2*, sur un set élargi de 18 échantillons. Résultats et perspectives : Nous avons mis en évidence l'existence de profils d'expression différentiels associés à la présence d'une mutation dans les cellules NOSEs. La q-RT-PCR a permis de confirmer ces profils d'expression pour un sous-groupe de nos candidats. De plus, l'existence d'un profil d'expression différentiel entre classes 2 et 3 a confirmé l'indépendance des 2 voies de carcinogenèse associée aux gènes *BRCA1* et *BRCA2*. La RDA nous a permis de confirmer que nos échantillons ségrégeaient en 3 classes distinctes, et que cette ségrégation s'effectuait dans en fonction du niveau d'expression de *BRCA2*. Nous envisageons maintenant d'identifier les régions chromosomiques dont la dérégulation est associée à une mutation de l'un de ces gènes. Ce travail a été soutenu par une subvention établissement jeune chercheur du FRSQ et la fondation du CHUM à CMM. Les analyses de biopuces par le CRM, René Malo/Institut du cancer de Montréal et le FRSQ. DAR est récipiendaire d'une bourse de la FES et de Canderel, CMM d'un chercheur-boursier Junior I, AMM d'un chercheur national, DP d'un chercheur-clinicien senior, tous du FRSQ, P.N.T. de la bourse Frazer, Monat et McPherson. Remerciements à la banque de tissus et de données du réseau de recherche sur le cancer FRSQ.

Mots-clés : Transcriptome, Epithélium de surface de l'ovaire non-tumoral, *BRCA1*, *BRCA2*.

■P538 / 587. FRÉQUENCE DES MUTATIONS D'ÉPISSAGE DU GÈNE *MLH1* DANS LE SYNDROME DE LYNCH

S. Lejeune (1), F. Escande (2), V. Nicolas (1), M.C. Dieu (2), C. Courmont (2), PAFNord*, N. Porchet (2, 3, 4), S. Manouvrier (1, 4), M.P. Buisine (2, 3, 4)

(1) Service de Génétique Clinique, CHRU de Lille ; (2) Laboratoire de Biochimie et Biologie Moléculaire, CHRU de Lille ; (3) INSERM U837, CR JP Aubert, Lille ; (4) Université de Lille 2, Faculté de Médecine H. Warembourg de Lille. *PAFNORD : association régionale pour la prise en charge des prédispositions familiales aux tumeurs digestives

Le syndrome de Lynch, ou syndrome HNPCC (Hereditary Non Polyposis Colorectal Cancer), est un syndrome de prédisposition héréditaire tumoral, exposant principalement au risque de cancer du côlon et de l'endomètre. Il est dû à une mutation survenant dans l'un des gènes du système MMR (Mismatch Repair) : *MLH1*, *MSH2*, *MSH6* ou *PMS2*. Le gène *MLH1* est impliqué dans un peu plus de la moitié des cas, avec des mutations de types variés (substitutions, délétions/insertions, mutations d'épissage, voire réarrangements de grande taille). Les mutations d'épissage sont

relativement fréquentes et représentent classiquement dans la littérature 25 % des mutations de *MLH1*. Dans notre registre « PAFNORD », qui comprend 95 familles du Nord-Pas-de-Calais présentant un syndrome de Lynch avec une mutation d'un des gènes MMR identifiée, les mutations d'épissage représentent près de la moitié des mutations du gène *MLH1* (18/38, soit 47 %). Si pour certaines d'entre-elles, il s'agit de mutations classiques affectant un site consensus d'épissage (8/18), pour d'autres, il s'agit de mutations plus complexes, situées dans les exons ou dans les introns en dehors des sites consensus d'épissage (10/18). En particulier, nous avons identifié plusieurs variants dans la région de l'exon 10 du gène *MLH1* : un, situé dans l'intron 9 en amont du site accepteur d'épissage (c.791-5T>G) et identifié dans 4 familles apparemment non apparentées ; et un second, en fin d'exon 10 (c.882C>T), identifié dans 3 familles également non apparentées. Ce second variant était prédit sans conséquence sur la protéine correspondante (p.Leu>Leu). L'analyse des transcrits, extraits directement du sang périphérique par RT-PCR et séquençage, nous a permis de montrer que ces 2 variants étaient responsables d'un épissage anormal emportant l'exon 10, avec pour conséquence attendue la synthèse d'une protéine *MLH1* tronquée (p.His264LeufsX2). Ces arguments nous ont donc permis de considérer ces 2 variants comme délétères et de les utiliser pour le conseil génétique. Il nous semble donc important de souligner la fréquence des mutations d'épissage dans le gène *MLH1* observées au sein de notre registre « PAFNORD », même s'il est probable que pour certaines d'entre-elles, cela relève d'un effet fondateur. Ces résultats confortent notre stratégie diagnostique moléculaire, qui consiste depuis 1997 à étudier systématiquement les transcrits pour tout variant intronique ou exonique de signification inconnue.

Mots-clés : syndrome de Lynch, *MLH1*, mutations d'épissage.

■P539 / 603. DÉTECTION RAPIDE DES RÉARRANGEMENTS DE GRANDE TAILLE (RGT) PAR Q-PCR, AVANT SÉQUENÇAGE

J. Bombled (1), D. Kattygnarath (1), M. Barrois (1), S. Forget (1), S. Richard (2), M. Schlumberger (3), E. Baudin (3), O. Caron (1), G. Lenoir (1), B. Bressac-de Paillerets (1)

(1) Service de Génétique et FRE 2939 CNRS, Institut de cancérologie Gustave Roussy Villejuif ; (2) Génétique Oncologique EPHE, CNRS FRE 2939, Institut de cancérologie Gustave-Roussy, Villejuif et Faculté de Médecine Paris-Sud, Le Kremlin-Bicêtre ; (3) Département de Médecine nucléaire, Institut Gustave Roussy Villejuif

L'identification des patients à haut risque génétique de développer un cancer se fait par la recherche, dans les gènes-cibles, de l'altération causale ségrégeant dans la famille. Ces mutations germinales sont souvent des mutations ponctuelles affectant les séquences codantes ou introniques proches mais aussi des délétions ou duplications, partielles ou totales du gène, appelées « réarrangements de grande taille » (RGT). Les méthodes les plus fréquemment utilisées pour identifier ces dernières sont la « Quantitative Multiplex PCR of Short Fluorescent Fragments » (QMPSF) et la « multiplex Ligation-dependant probe amplification » (MPLA). Nous souhaitons développer une nouvelle stratégie de recherche combinée des altérations complexes et des mutations ponctuelles. Les RGT seraient recherchés dans un premier temps par une technique de PCR quantitative utilisant du SYBRgreen I (Q-PCR SYBR) avec un amplicon encadrant un exon ou une portion d'exon (pour les plus longs) puis les mêmes produits de PCR seraient séquencés à la recherche de mutations ponctuelles.

Nos résultats préliminaires de faisabilité de cette stratégie portent sur l'étude comparative de la détection des RGT du gène *VHL* par QMPSF, MLPA et Q-PCR SYBR puis du séquençage de ces mêmes produits.

Nous avons testé 20 échantillons de 18 cas index de familles atteintes du syndrome VHL sans aucun lien de parenté, préalablement séquencés par PCR classique et séquençage direct. Un échantillon présentait une mutation ponctuelle dans l'exon 3 de *VHL* (c.481C>T ; p.Arg161X). Les ADN ont été extraits par la méthode de micro colonnes Qiagen, leur concentration mesurée au spectrophotomètre Nanodrop et leur intégrité vérifiée par électrophorèse sur gel d'agarose. Les concentrations des solutions de travail ont été ajustées à 20 ng/µl.

Nous avons réalisé la recherche d'altérations complexes du gène *VHL* par QMPSF et MLPA puis comparé les résultats à ceux obtenus par Q-PCR SYBR. La MLPA a été développée par la société MRC Holland. La QMPSF a été développée en collaboration avec l'unité INSERM U614 (Mario Tosi, Thierry Frébourg). Les amorces de QMPSF ont été dessinées pour avoir une taille moyenne de 180 pb et sont introniques et /ou exoniques. Les amorces utilisées pour la Q-PCR SYBR sont celles qui ont été mises au point pour le séquençage direct. Celles-ci englobent les régions introniques proches et chacun des 3 exons du gène avec une taille de 369 à 572 pb. La quantification du nombre de copies du gène par Q-PCR SYBR a été normalisée à l'aide de deux amplicons de gènes de référence,

GAPDH et *BRCA1*. Les produits d'amplification issus de la Q-PCR SYBR ont été utilisés pour le séquençage.

Les 3 techniques ont montré une concordance parfaite pour 20/20 échantillons : 8 échantillons ont montré la présence des deux copies pour chacun des 3 exons, 12 échantillons une seule copie pour 1, 2 ou 3 exons du gène *VHL*, selon la taille de la délétion génomique.

D'autre part les électrophorégrammes des séquences obtenus avec les produits de Q-PCR SYBR sont de très bonne qualité et la mutation connue présente dans l'un des échantillons utilisé comme contrôle est retrouvée de la même manière que dans le séquençage classique.

Ces résultats préliminaires montrent la faisabilité de la recherche de RGT par Q-PCR SYBR et l'utilisation ultérieure de ces produits pour la recherche de mutation ponctuelle par séquençage. Cette approche doit être testée sur des échantillons en aveugle ainsi que sur un autre gène comportant des duplications afin de tester la capacité de la Q-PCR à détecter ce type de RGT.

Mots-clés : mutations germinales, délétions génomiques, PCR quantitative.

■P540 / 613. PREMIER DIAGNOSTIC PRÉSYPOMATIQUE AU MAROC D'UNE PRÉDISPOSITION AU CANCER DU SEIN FAMILIAL

N. Aboussair (1), K. Ouldin (1), A. Jalil (2), BK. El Gueddari (2), N. Benjaafar (2), A. Sefiani (1)

(1) Département de Génétique Médicale, Institut National d'Hygiène, Rabat, Maroc. (2) Institut National d'Oncologie, Rabat, Maroc

Le cancer du sein représente le premier cancer de la femme au Maroc. La majorité des cancers du sein sont sporadiques tandis que 5 à 10 % sont dus à une prédisposition héréditaire. L'identification des gènes *BRCA1* et *BRCA2*, qui confèrent un risque élevé de développer un cancer du sein et/ou de l'ovaire, a permis une meilleure compréhension des formes familiales du cancer du sein familial. L'intérêt récent des formes héréditaires du cancer du sein et de l'ovaire au Maroc, nous a incité au développement d'une consultation d'oncogénétique à l'Institut National d'Oncologie. Parmi les familles étudiées dans le cadre du Projet « Breast Med Cancer », nous rapportons dans ce travail, une famille Marocaine avec plusieurs membres atteints de cancer du sein et de l'ovaire sur 3 générations. L'étude moléculaire faite chez l'une des sœurs atteintes du cancer du sein a mis en évidence la mutation « 185delAG » (c.66_67delAG) du gène *BRCA1*. En effet, il s'agit d'une mutation récurrente chez la population Juive Ashkénaze et rapportée pour la première fois dans la population Marocaine. L'identification de cette mutation a permis de proposer un diagnostic présymptomatique aux autres membres de cette famille. En effet à la demande de la sœur aînée et suite à une consultation d'oncogénétique, un test moléculaire présymptomatique a été effectué, mettant en évidence chez cette sœur la mutation 185delAG. Par la suite un protocole de surveillance et de dépistage, a diagnostiqué un cancer de l'ovaire à un stade précoce. De même, une deuxième sœur asymptomatique, chez qui la même mutation a été identifiée, l'IRM mammaire (effectuée dans le cadre du protocole de surveillance et de dépistage) a mis en évidence un cancer mammaire à un stade précoce. Ainsi le diagnostic présymptomatique offre l'avantage d'éviter aux sujets non porteurs d'une mutation, des examens de dépistage ou des gestes chirurgicaux non dénués de conséquences psychologiques. En revanche, pour les femmes asymptomatiques et porteuses d'une mutation du gène *BRCA1*, il améliore la surveillance, la chirurgie prophylactique et favorise un diagnostic précoce. En conclusion, l'identification de la mutation 185delAG du gène *BRCA1* chez cette famille Marocaine nous a permis de dépister chez deux sœurs asymptomatiques un cancer du sein et de l'ovaire à un stade précoce.

Mots-clés : diagnostic présymptomatique, *BRCA1*, prédisposition au cancer du sein.

■P541 / 622. RÉSULTATS DU CRIBLAGE DES GÈNES *BRCA* ET MISE EN ÉVIDENCE DE LA VARIABILITÉ GÉNÉTIQUE DANS 30 FAMILLES MARTINICAISES

O. Béra (1), A. Rousselin (2), J.J. Baumann (2), S. Krieger (2), D. Vaur (2), A. Hardouin (2)

(1) UF d'oncogénétique, CHU de Fort-de-France Martinique ; (2) Laboratoire de Biologie clinique et Oncologique, CRLCC François Baclesse, Caen

La Martinique, département Français d'Amérique située à 4 500 kms de la France Métropolitaine, fait partie des petites Antilles. Sa population, façonnée par l'histoire, est composée majoritairement des descendants métissés d'esclaves noirs africains et de colons français. Des populations indiennes et asiatiques sont arrivées après l'abolition de l'esclavage et ont



contribué à la diversité. L'accès aux consultations d'oncogénétique sur l'île a été décalé dans le temps par rapport à la métropole et a été favorisée par le rattachement de l'UF d'Oncogénétique du CHU de Fort-de France à l'équipe pluri-disciplinaire du CHU de Rouen. Des collaborations étroites se sont créées en particulier avec le laboratoire de Génétique Moléculaire du CHU de Rouen qui réalise l'analyse des gènes *MMR*, *APC* et *MYH* et avec le laboratoire de Biologie Clinique et Oncologique du Centre François Baclesse de Caen pour l'analyse des gènes *BRCA*. De janvier 2006 à septembre 2007, 210 consultations ont été réalisées pour 111 familles dont 73 pour recherche d'une prédisposition au cancer du sein et/ou de l'ovaire. Nous présentons les résultats de 31 proposant des 30 premières familles (dont une seule n'était pas originaire des Antilles) justifiant une analyse des gènes *BRCA*. Le criblage a été effectué par DHPLC (Denaturing High Performance Liquid Chromatography) sur ADN génomique extrait à partir du sang, suivi de séquençage et d'une étude systématique des réarrangements de grande taille pour les 2 gènes par les techniques MLPA (Multiplex Ligation PCR Amplification) et/ou QMPSF (Quantitative Multiplex PCR of short Fluorescent fragments). L'analyse a mis en évidence 5 mutations délétères dont 4 situées dans le gène *BRCA1* et 1 dans le gène *BRCA2*. Aucun réarrangement de grande taille n'a été détecté. Parmi les 5 mutations délétères, 3 correspondent à la délétion/insertion « c.4945_4947delAGainsTTTT (p.Arg1649PhefsX30) » située dans l'exon 16 du gène *BRCA1*. Cette mutation frameshift, qui n'a jamais été décrite dans la littérature, est dans les 3 cas associée au variant « 548-80T>C » de l'exon 9 du gène *BRCA1*. La détection de cette mutation dans 3 familles apparemment indépendantes associée au même variant nous conduit à évoquer l'hypothèse d'un haplotype commun compatible avec un effet fondateur, hypothèse que nous allons vérifier par l'étude des microsatellites juxtagéniques de *BRCA1*. Nous avons également détecté une nouvelle mutation non sens du gène *BRCA2*, la mutation « c.9139C>T (p.Gln3047X) » située dans l'exon 24. Cette mutation située en dehors de l'OCCR (Ovarian Cancer Cluster Region) fut néanmoins détectée dans une famille présentant à la fois des cancers de l'ovaire et des cancers du sein. Le résultat le plus marquant fut la mise en évidence d'un nombre élevé de variants inclassés des gènes *BRCA1* et *BRCA2*, par rapport à la population caucasienne. Nous avons en effet détecté chez 31 proposant testés 31 variants pour le gène *BRCA1* et 52 pour le gène *BRCA2*, dont 17 différents dans le gène *BRCA1* et 26 pour le gène *BRCA2*. La confrontation de nos résultats avec les fréquences alléliques trouvées dans les bases de données afro-américaines, nous permettent de classer 5 variants sur les 17 de *BRCA1* et 17 sur les 26 de *BRCA2* comme polymorphismes. Néanmoins, à l'issue de ce classement plus de la moitié des proposant (18 sur 31) conservent encore au moins un variant inclassé dans les gènes *BRCA*. En conclusion, nos résultats retrouvent un taux attendu de mutations délétères des gènes *BRCA1* et *BRCA2* (5/30) et confirment que les variants inclassés des gènes *BRCA1* et *BRCA2* sont nettement plus fréquents dans les populations africaines ou afro-américaines que dans les populations caucasiennes. La présence d'une mutation fondatrice du gène *BRCA1* n'est pas actuellement démontrée mais paraît très vraisemblable au vu de nos premiers résultats et de l'histoire de la population antillaise.

Mots-clés : *BRCA*, variants inclassés, Martinique.

■P542 / 642. ANALYSES *BRCA1/2* NÉGATIVES CHEZ LE CAS INDEX : VENUE À LA CONSULTATION SELON LES INFORMATIONS TRANSMISES DANS LE COURRIER D'INVITATION

V. Bonadona (1, 2), J. Woerlé-Boissy (2, 3), S. Dussart (2), M. Charavel (3, 4), C. Lasset (1, 2)

(1) Université Lyon 1, Laboratoire de Biologie et Biométrie Évolutive, UMR CNRS 5558 ; (2) Unité de Prévention et d'Epidémiologie Génétique, Centre Léon-Bérard à Lyon ; (3) Laboratoire de psychologie sociale, UPMF de Grenoble ; (4) Service de Gynécologie, Hospices Civils de Lyon

La recherche de mutation des deux gènes de prédisposition aux cancers du sein et de l'ovaire, *BRCA1* et *BRCA2*, s'avère infructueuse dans près de 80 % des familles à risque (pas de mutation identifiée chez le patient cas-index). Un résultat négatif des analyses initiales ne permet pas d'éliminer la possibilité d'un risque héréditaire et justifie le maintien d'une surveillance spécifique pour le cas index et ses apparentés. Nous avons évalué dans une série de patients cas-index la fréquence de venue en consultation d'oncogénétique dédiée au rendu de résultat, en fonction du type d'informations transmises dans le courrier annonçant la disponibilité des résultats et les invitant à prendre rendez-vous. Les cas index ont été randomisés en 3 groupes selon la lettre envoyée (A, B et C) : – groupe A : lettre ne mentionnant pas la nature du résultat, – groupe B : lettre mentionnant la nature du résultat (absence d'identification d'une mutation) et informant de la possibilité d'un facteur génétique persistant, sans autres précisions, – groupe C : lettre détaillée précisant les significations possibles

d'un résultat négatif (limites des analyses, gène de prédisposition autre que *BRCA1/2*, absence de déterminisme génétique) et la nécessité de poursuivre une surveillance. Le contenu des informations et la formulation ont été élaborés par la technique de focus groupe (Lasset 2007). Le tirage au sort a été stratifié en fonction de l'âge (< ou ? 60 ans) et de l'accessibilité du centre d'oncogénétique (? ou > à 100 km de leur domicile). Une relance a été effectuée pour les patientes ne s'étant pas manifestées dans les 4 mois suivant l'envoi de la lettre. Un total de 226 patientes cas index a été randomisé, respectivement 71, 79 et 76 patientes dans les groupes A, B et C. Quatre-vingt pour cent (n = 57) des patientes contactées par le courrier ne mentionnant pas le résultat (groupe A) sont venues en consultation contre seulement 47 % (n = 37) des patientes informées de leur résultat sans précisions (groupe B) et 25 % (n = 19) des patientes ayant reçu la lettre détaillée (groupe C), $p < 10^{-3}$. La différence est également significative entre les groupes A et B ($p < 10^{-3}$) et les groupes B et C ($p = 0,005$). Un courrier d'invitation apportant des informations détaillées sur les résultats négatifs est un obstacle à la venue des patientes en consultation. Une évaluation de la compréhension de l'information délivrée par courrier chez les patientes du groupe C non venues en consultation est en cours. Des résultats préliminaires montrent des difficultés de compréhension et pour certaines patientes, une mauvaise interprétation du résultat négatif (absence de facteur génétique et de risque majoré de cancer), pouvant avoir un impact sur leur prise en charge et celle de leur famille. Il semble donc important d'expliquer en consultation la signification d'un résultat négatif et la nécessité de poursuivre une surveillance. Nous préconisons de ne transmettre aucune indication sur la nature du résultat dans le courrier notifiant aux patientes testées pour *BRCA1/2* la disponibilité du résultat, après leur avoir expliqué initialement la procédure. Un rendez-vous pour la consultation de rendu de résultat pourrait être également d'emblée programmé au moment du prélèvement, si les contraintes de laboratoire le permettent.

Mots-clés : *BRCA1* et *BRCA2*, analyses négatives, consultation.

■P543 / 653. EFFET DE LA SÉLECTION PAR LES CRITÈRES D'AMSTERDAM SUR LE RISQUE DE CANCER COLORECTAL DANS LES FAMILLES HNPCC SANS MUTATION MMR IDENTIFIÉE : ÉTUDE DE SIMULATION

Y. Drouet (1, 2), C. Lasset (1, 2), V. Bonadona (1, 2)

(1) Unité de prévention et d'Epidémiologie Génétique, Centre Léon-Bérard à Lyon ; (2) Laboratoire de Biologie et Biométrie Évolutive, CNRS UMR 5558 Université Lyon 1

Introduction : Le syndrome HNPCC, ou syndrome de prédisposition héréditaire au cancer du côlon non polyposique explique environ 5 % des cancers colorectaux (CCR). Initialement défini par des critères cliniques dits d'Amsterdam (CA : au moins 3 cas de CCR chez des apparentés au premier degré sur 2 générations, avec un cas avant 50 ans), il est lié à la présence d'un gène MMR (pour MissMatch Repair) muté. L'identification d'un gène MMR muté n'est effective que dans une famille HNPCC sur deux environ. Pour ces familles dites « négatives », l'estimation des risques de CCR est difficile, en raison du biais de sélection et de l'absence de facteur de risque (FDR). Les seules données disponibles sur les risques de CCR dans ces familles reposent sur des estimations de type SIR et sont discordantes [Scott, 2001 ; Lindor, 2005], ce qui pose problème pour la prise en charge préventive des patients. Une part importante des agrégations familiales de CCR inexpliquées serait due à l'exposition à des gènes de faible pénétrance ou polygènes et à des facteurs environnementaux, encore inconnus [de la Chapelle, 2004]. Nous avons étudié l'effet de la sélection des familles par les CA sur l'exposition à ces FDR inconnus. Matériel et Méthodes : Nous avons simulé sous R des familles de trois générations, de structure libre, en générant aléatoirement le nombre d'enfant par femme à partir d'une loi de Poisson de paramètre 1.88 (nombre d'enfants par femme en France). L'effet conjoint de plusieurs gènes (autres que MMR) et de facteurs de risque environnementaux a été simulé sous le modèle multifactoriel polygénique à seuil. Dans ce modèle, les susceptibilités génétiques $G \sim \text{Normale}(0, \text{var}G)$ et environnementales $E \sim \text{Normale}(0, \text{var}E)$ s'additionnent. Le seuil au delà duquel le CCR se déclare est simulé comme une fonction du sexe et de l'âge, afin d'obtenir une incidence semblable à celle mesurée dans la population française (utilisation des données du réseau FRANCIM). Nous avons simulé plusieurs scénarios en fixant $\text{var}G$ à 1 et en choisissant $\text{var}E$ pour contrôler l'héritabilité (part génétique de la maladie) de 10 % à 45 % [Lichtenstein, 2000]. Pour chacun de ces scénarios, nous avons simulé des familles jusqu'à obtenir 1 000 familles HNPCC répondant aux CA (sous-groupe FCA). Nous avons comparé les distributions des paramètres G et E dans le sous-groupe FCA à celles observées dans le groupe complet de familles d'où elles sont issues (Population). Résultats : Quand l'héritabilité varie de 10 % à 45 %, les moyennes de G et E dans le groupe

FCA passent respectivement de 0.32 à 0.57, et de 0.77 à 0.20. Cela confirme que les CA sélectionnent des familles à sur-risque de CCR, y compris en l'absence d'identification d'un gène majeur. Cependant, on observe une variation inter familiale de ce sur-risque. Ainsi, la moyenne de G dans le groupe FCA varie d'une famille à l'autre de ± 0.34 , alors que cet écart-type est de 0.40 dans la population. L'hétérogénéité inter familiale est donc presque aussi importante dans le groupe FCA que dans la population. Discussion : Les familles HNPCC négatives constituent une population hétérogène vis-à-vis du risque de CCR : certaines familles ont un sur-risque réel alors que d'autres ne sont pas plus exposées que la population générale ; l'aggrégation de CCR étant du au hasard (ici représenté par E). Ces résultats suggèrent que l'estimation d'un sur-risque moyen de CCR dans les familles HNPCC négatives (type SIR) masque probablement une hétérogénéité inter familiale, ce qui la rend peu utiles pour la prise en charge. Conclusion : Nos résultats confirment que les CA, bien qu'ils soient très restrictifs, ne sélectionnent pas des familles HNPCC homogènes vis-à-vis du risque de CCR. Notre travail de simulation montre la nécessité de prendre en compte (en plus du biais causé par l'utilisation des CA) la variabilité de l'exposition à des facteurs de risque inconnus, dans une approche plus individualisée du risque.

Mots-clés : syndrome HNPCC, modélisation, facteurs de risque.

■P544 / 668. EFFETS DU LYCOPÈNE SUR 3 LIGNÉES CONTINUES DE CELLULES TUMORALES PROSTATIQUES PAR CYTOMÉTRIE EN FLUX

E. Boulay (1, 3), G. Dagouret (1, 3), A. Bergerat (1, 3), N. Chalabi (1, 3), N. Rabiau (1, 3), L. Delort (1, 3), S. Satih (1, 3), Y.J. Bignon (1, 2, 3), D.J. Bernard-Gallon (1, 3)

(1) Département d'Oncogénétique du Centre Jean-Perrin, Centre Biomédical de Recherche et de Valorisation, 28 place Henri-Dunant, BP 38, 63001 Clermont-Ferrand Cedex 01, France ; (2) Université Clermont I, Faculté de Médecine, 28 place Henri-Dunant, 63001 Clermont-Ferrand Cedex 01, France ; (3) CNRH, 58 rue Montalembert, 63009 Clermont-Ferrand Cedex 01, France ; (4) CHU Gabriel-Montpied, 58 rue Montalembert, BP 392, 63001 Clermont-Ferrand Cedex 01, France

Introduction : Le cancer de la prostate est la deuxième cause de mortalité par cancer dans les pays développés après le cancer du poumon. Cette pathologie touche environ 40 000 hommes par an en France et est responsable de près de 10 000 décès. La consommation journalière d'un micronutriments contenu principalement dans la tomate, le lycopène, aurait un effet préventif sur l'incidence du cancer de la prostate. Outre son fort pouvoir antioxydant, le lycopène permettrait de bloquer les cellules en phase G1/S du cycle cellulaire. Matériel et méthodes : Les cellules traitées par le lycopène appartiennent à la lignée continue DU-145 provenant d'une métastase cérébrale d'un carcinome de la prostate, à la lignée continue LNCaP provenant d'une métastase ganglionnaire d'un carcinome de la prostate prélevée sur le ganglion supra-claviculaire gauche, à la lignée continue PC-3 provenant d'une métastase osseuse d'un adénocarcinome de la prostate. Ces cellules ont été traitées par du lycopène aux concentrations 5 μM , 10 μM , 20 μM , 30 μM . Elles ont été analysées par cytométrie en flux dans le but de définir le temps d'exposition et la concentration en lycopène ayant un effet sur le cycle cellulaire. Résultats : Les résultats obtenus montrent un blocage du cycle cellulaire en phase G1/S pour un temps d'incubation de 48 h et pour une concentration en lycopène de 30 μM pour les DU 145 et les LNCaP. Pour les PC 3, l'effet était déjà retrouvé à 10 μM . Perspectives : Une fois déterminées, les concentrations en lycopène ayant un effet de blocage du cycle cellulaire. Nous pourrions envisager une étude transcriptomique de l'effet du lycopène sur les cellules prostatiques tumorales en lignée continue.

Mots-clés : lignées continues de cellules tumorales prostatiques, lycopène, cytométrie en flux.

■P545 / 694. INSTABILITÉ CHROMOSOMIQUE ET ANEUPLOÏDIE DANS LES GLIOMES

M. Gadji (1), D. Fortin (2), A.-M. Tsanaclis (3), R. Drouin (1)

(1) Service de Génétique, Département de Pédiatrie, Faculté de Médecine et des Sciences de la Santé, Université de Sherbrooke, Sherbrooke, Québec, Canada J1H 5N4 ; (2) Service de Neurochirurgie, Département chirurgie ; (3) Département de Pathologie

L'instabilité chromosomique et l'aneuploïdie sont des caractéristiques fréquentes des tumeurs solides et, en particulier, les gliomes ou tumeurs cérébrales primaires. Considérées très tôt comme la cause des cancers, elles ont été très rapidement oubliées principalement à cause du manque d'outils d'investigation adéquats à l'époque. Cependant, elles ont repris un regain d'intérêts ces dernières années, et des signatures chromosomiques

spécifiques de tumeurs ont vu le jour. Nous avons entrepris d'étudier les tumeurs cérébrales primaires rencontrées au CHUS, pour rechercher des signatures chromosomiques qui seraient responsables de ces tumeurs et seraient corrélées à leur degré de malignité à savoir l'invasion et l'angiogenèse en vue de trouver de nouvelles cibles thérapeutiques. Nous avons utilisé des techniques de cytogénétique et 50 tumeurs ont été cultivées avec succès. Ces tumeurs sont composées de 13 oligodendrogliomes à différents grades (I et II) pures ou mixtes et 37 astrocytomes à différents grades aussi (I, II, III et IV). À ce jour, les caryotypes de 14 de ces tumeurs composés de 8 oligodendrogliomes et de 6 astrocytomes ont été étudiés après marquage GTG. Une polyploïdie (60 à 96 chromosomes) a été observée dans 6 cas composés de 5 oligodendrogliomes anaplasiques et de 1 glioblastome. L'aneuploïdie a été notée chez 5 tumeurs dont 4 glioblastomes et 1 oligoastrocytome anaplasique. Trois cas avaient un contenu diploïde en ADN. Selon nos résultats préliminaires, le changement du contenu en ADN (ploïdie) serait un signe de progression des oligodendrogliomes, comme le serait l'aneuploïdie qui résulterait de la polyploidisation dans les astrocytomes. L'utilisation de la cytogénétique moléculaire comme le MFISH (hybridation in situ en fluorescence multicouleur) et le SKY (caryotype spectral) nous permettra de mieux caractériser les anomalies chromosomiques spécifiques et de définir des signatures chromosomiques.

Mots-clés : Instabilité chromosomique, Aneuploïdie, Tumeurs cérébrales.

Physiopathologie

■P546 / 93. MUTATIONS DANS *FGD4*, CODANT LA RHO GEF, FRABIN, SONT RESPONSABLES DE CMT4H, UNE FORME AUTOSOMALE RÉCESSIVE DE CMT DÉMYÉLINISANT

V. Delague (1), A. Jacquier (2), T. Hamadouche (1, 4), Y. Poitelon (1), C. Baudot (1), I. Boccaccio (1), E. Chouery (3), M. Chaouch (5), N. Kassouri (5), R. Jabbour (3), D. Grid (6), A. Mégarbané (3), G. Haase (2), N. Lévy (1, 7)

(1) INSERM U910, Université de la Méditerranée, Faculté de Médecine de la Timone, 13385 Marseille, France ; (2) INSERM, Université de la Méditerranée, Institut de Neurobiologie de la Méditerranée (INMED), Equipe AVENIR, Marseille, France ; (3) Unité de Génétique Médicale, Université Saint-Joseph, Beyrouth, Liban ; (4) Laboratoire de Biologie Moléculaire, Institut Pasteur, Algiers, Algérie ; (5) Service de Neurologie, Centre Hospitalier Universitaire Ben Aknoun, Algiers, Algérie ; (6) Génethon III, Evry, France ; (7) Département de Génétique et Biologie Cellulaire, Hôpital d'enfants Timone, Marseille, France

Introduction : La maladie de Charcot-Marie-Tooth (CMT) désigne un groupe extrêmement hétérogène de maladies du système nerveux périphérique, tant sur le plan clinique, génétique, ou encore histo-pathologique. Leur prévalence est estimée à 1/2500 et tous les modes de transmission existent. Les CMTs sont classiquement divisés en deux groupes : les atteintes démyélinisantes (CMT1) et axonales (CMT2). À l'heure actuelle, environ 50 loci sont identifiés, dont 30 gènes identifiés. En 2005, en utilisant une stratégie « d'homozygosity mapping » dans deux familles consanguines Libanaise et Algérienne, nous avons pu localiser le gène responsable de CMT4H, une nouvelle forme CMT à transmission autosomique récessive (AR-CMT), en 12p11.21-q13.11. Très récemment, nous avons identifié le gène *FGD4* comme responsable de cette forme de CMT. Résultats : *FGD4* code la protéine FGD4/FRABIN, facteur d'échange GDP/GTP (RhoGEF) pour la RhoGTPase Cdc42, et protéine de liaison à l'actine. Les RhoGTPases sont des switchs moléculaires, qui contrôlent une grande variété de voies de transduction de signaux dans les cellules eucaryotes, incluant la régulation du cytosquelette, la polarité, la prolifération et la migration cellulaires. FRABIN est une protéine de 766 AA possédant 5 domaines fonctionnels, dont un domaine de liaison à l'actine, un domaine DH responsable de l'échange GDP/GTP, et trois domaines impliqués dans des interactions avec différentes formes de polyphosphoinositides. Les deux mutations identifiées affectent le même codon : il s'agit d'une mutation d'épissage p.Met298fsX8, prédite pour résulter en une protéine prématurément tronquée de 305 acides aminés (AA), et une mutation faux-sens p.Met298Thr. Elles sont situées dans le domaine DH, et affectent donc probablement l'activation de Cdc42. Nous avons réalisé des études fonctionnelles pour la forme tronquée (mimant la mutation humaine p.Met298fsX8), qui, si elle est produite, est dépourvue des 3 derniers domaines fonctionnels et d'une partie du domaine DH. La surexpression des formes normales de la protéine dans des motoneurons de rat a permis de montrer que Frabin induisait la formation de microspikes et co-localisait avec l'actine au niveau des cônes de croissance. À l'inverse, la surexpression de la forme tronquée induit significativement moins de microspikes que la forme sauvage. Des résultats similaires ont été obtenus par



surexpression de formes normales et tronquées dans des cellules de Schwann RT4 de rat. Discussion : Tous ces éléments sont en faveur d'un effet pathogénique de la mutation, de type perte de fonction. L'identification, par une autre équipe, de trois autres mutations tronquantes dans *FGD4* confirme la pathogénicité de nos mutations et l'importance de *FGD4* dans la physiopathologie des CMT. Différentes hypothèses concernant la physio-pathologie de la maladie peuvent être émises, entre autres la perte d'activation de Cdc42, entraînant une désorganisation du cytosquelette

Mots-clés : Charcot-Marie-Tooth Rho GEF Rho GTPase.

■P547 / 145. LE BEZAFIBRATE, UN AGONISTE PPAR, AMÉLIORE SIGNIFICATIVEMENT LES MANIFESTATIONS CLINIQUES ET MÉTABOLIQUES DE LA FORME MUSCULAIRE DU DÉFICIT EN CARNITINE PALMITOYLTRANSFÉRASE 2.

F. Djouadi (1), J. Bastin (1), P. Laforet (3), F. Aubey (1), A. Mogenet (4), A. Behin (3), S. Romano (5), A. Vassault (5), S. Gobin (2), B. Eymard (3), J.L. Bresson (4), J.-P. Bonnefont (2)

(1) CNRS UPR 9078 ; (2) INSERM U781, université Paris-Descartes et hôpital Necker ; (3) Institut de Myologie, hôpital de la Pitié ; (4) CIC Necker, (5) Unité de biochimie métabolique, hôpital Necker ; Paris, France

Les carnitine palmitoyltransférase 1 et 2 (CPT2) sont des enzymes-clé de la régulation de l'oxydation mitochondriale des acides gras du fait de leur action de contrôle de l'entrée des acides gras à chaîne longue (AGLC) dans la mitochondrie. Le déficit héréditaire en CPT2, de transmission autosomique récessive, se manifeste sous 2 formes. La forme néonatale/infantile est une maladie grave, de présentation hépato cardio musculaire, et souvent létale. La forme de l'adulte, maladie très invalidante, se manifeste par des accès récurrents de rhabdomyolyse déclenchés par l'effort physique et le jeûne, exposant à une insuffisance rénale aigue, voire à une mort subite. Cette variabilité d'expression de la maladie est corrélée au niveau d'activité CPT2 résiduelle, à la profondeur du déficit de l'oxydation des AGLC qui en résulte, et à la nature et localisation des mutations du gène *CPT2*. La prise en charge des patients, fondée sur la prévention des situations de catabolisme, la limitation de l'apport lipidique alimentaire et de l'exercice physique, est en pratique d'une efficacité limitée. Afin d'améliorer cette prise en charge, nous avons évalué les effets d'une molécule, le bezafibrate, chez 6 patients adultes atteints de déficit en CPT2. Le bezafibrate est un agent hypo lipidémiant largement prescrit dans les situations d'hyperlipidémie en pratique médicale courante. Il s'agit d'un agoniste PPAR (« peroxisome proliferator activated receptor »), qui augmente l'expression des gènes codant pour de nombreuses enzymes impliquées dans l'oxydation des acides gras, dont la CPT2. Dans un premier temps, nous avons montré que le bezafibrate avait la capacité de corriger le défaut d'oxydation des AGLC dans les fibroblastes et myoblastes de patients atteints de la forme adulte du déficit en CPT2. Nous avons alors entrepris un essai clinique chez les 6 patients auxquels a été administré du bezafibrate à la dose de 600 mg par jour pendant 6 mois. Aucun effet indésirable n'a été détecté, en dehors d'une légère élévation du taux d'homocystéine plasmatique. L'état clinique a été considérablement amélioré chez tous les patients, avec une diminution franche de l'intensité et de la fréquence des myalgies, et une amélioration nette de la tolérance à l'effort et de la qualité de vie. Ces données cliniques sont corroborées par les analyses *in vitro*, réalisées avant la mise en route du traitement et à la fin de l'essai. Ainsi, l'oxydation des AGLC, mesurée sur mitochondries isolées de muscle, est fortement augmentée chez tous les patients. Nous avons montré que cet effet est médié par une augmentation de l'expression du gène *CPT2*. Ces données montrent, pour la première fois dans le cadre d'une anomalie héréditaire de l'oxydation des acides gras, l'efficacité d'une approche pharmacologique ciblant la cause de la maladie et non ses conséquences.

Mots-clés : thérapie, carnitine palmitoyltransférase 2, fibrates.

■P548 / 184. DOSAGE SYSTÉMATIQUE DU COMPLEXE V DE LA CHAÎNE RESPIRATOIRE MITOCHONDRIALE DANS DES PRÉLÈVEMENTS MUSCULAIRES DE PATIENTS ATTEINTS DE MALADIES MITOCHONDRIALES

K. Fragaki (1), C. Caruba (2), A.-M. Soummer (2), J.-C. Lambert (1), V. Paquis-Flucklinger (1)

(1) Service de Génétique Médicale, Centre de référence des pathologies mitochondriales, CHU de Nice ; (2) Service de Biochimie, CHU de Nice

Le complexe V (ATP synthase ou ATPase) est une des enzymes de la chaîne respiratoire mitochondriale. Il est essentiellement composé d'un secteur catalytique matriciel, la sous-unité F1, et d'un secteur membranaire, le canal F0 inséré dans la membrane interne des mitochondries. Il

joue un rôle clé dans la production d'énergie chez les mammifères sous forme d'ATP, suivant une réaction de phosphorylation de l'ADP en présence de phosphate inorganique. Cette réaction est couplée à l'entrée de protons dans la matrice mitochondriale, consécutive à la mise en place d'un gradient électrochimique, généré dans l'espace intermembranaire par les complexes I, III et IV de la chaîne respiratoire. Au vu de son rôle capital dans la production d'énergie, les déficits du complexe V sont hautement délétères et se manifestent principalement chez les enfants très rapidement après la naissance. Il est donc nécessaire de disposer d'un dosage précis, mais aussi systématique de l'activité de cette enzyme dans le cadre du diagnostic des maladies mitochondriales. Le dosage du complexe V s'effectue en utilisant deux réactions couplées. La première consiste en la transformation du phosphoenolpyruvate en pyruvate grâce à la pyruvate kinase. Par la suite, et en présence de lactate deshydrogénase, le pyruvate précédemment formé se transforme en lactate. Cette deuxième étape nécessite du NADH qui s'oxyde en NAD⁺. L'activité du complexe V est estimée à partir du taux d'oxydation du NADH à 340 nm après soustraction de l'activité mesurée en présence d'oligomycine, inhibiteur spécifique du complexe V, permettant ainsi la distinction de l'activité de l'ATPase mitochondriale des autres ATPases présentes également dans la préparation protéique. À ce jour, le dosage du complexe V s'effectue de manière sporadique car l'inhibition de l'oxydation du NADH par l'oligomycine n'est pas systématique, limitant ainsi l'exploration fonctionnelle complète de la chaîne respiratoire mitochondriale dans le cadre du diagnostic des maladies mitochondriales. Dans le but d'être le plus exhaustif possible dans l'approche du diagnostic de ces maladies, nous avons cherché à adapter le protocole actuel de manière à nous permettre de doser systématiquement l'ATPase mitochondriale. Nous avons analysé un groupe de 50 patients pour lesquels l'activité ATPasique n'avait pas pu être mesurée dans un homogénat musculaire avec le protocole habituel. Nous avons montré qu'en diminuant d'environ 80 % la quantité de protéines utilisée habituellement pour ce dosage, nous sommes dans les conditions nous permettant une mesure fiable de l'activité ATPasique spécifiquement mitochondriale. Cette observation importante permet aujourd'hui à notre laboratoire de proposer le dosage systématique du complexe V. Elle ouvre des perspectives intéressantes dans la connaissance de l'implication de ce déficit dans des dossiers complexes restés sans diagnostic à ce jour. Elle permettra également de déterminer l'incidence réelle des déficits en complexe V au sein des pathologies mitochondriales.

Mots-clés : déficit de la chaîne respiratoire, complexe V (ATP synthase), enzymologie.

■P549 / 640. DYSREGULATION OF DOPAMINERGIC MARKERS IN PERIPHERAL CELLS FROM LESCH-NYHAN DISEASE PATIENTS

M. Kelly, L. Mockel, L. Boutaud, I. Ceballos-Picot

Laboratoire de Biochimie métabolique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris

Background: Lesch-Nyhan disease (LND) is an X-linked recessive disorder caused by mutations in the gene encoding the purine salvage enzyme, hypoxanthine-guanine phosphoribosyltransferase (HPRT). LND patients have an over-production of uric acid and characteristic neurological problems including mental retardation, motor disability and self injurious behaviour. Recent studies show that LND is associated with loss of striatal dopamine. Several authors suggest that platelets could be a good synaptic model and that they express many dopaminergic markers. Also, previous studies on other diseases such as Parkinson's disease use peripheral blood lymphocytes to show differential expression of dopaminergic markers. Objectives/Methods : The present study evaluates the expression of a large number of dopaminergic markers by quantitative PCR in peripheral blood lymphocytes in four LND patients compared to four healthy volunteers. We also studied several genes involved in the purine metabolism. Results: As expected, HPRT expression was significantly decreased in lymphocytes from LND patients. Interestingly, the expression of other purine metabolism genes such as APRT, ADSL, PRPS1 and PRPS2 were also significantly decreased. Several genes involved in the dopaminergic system were significantly up-regulated in LND lymphocytes compared to controls: DAT, Nurr1. A significant down regulation was observed for COMT, parkin and POLG. GCH1 and MAOB expression were variable depending on the LND patient. Conclusion: These results suggest that peripheral blood cells could be a good model for studying dopaminergic modifications in LND and could help elucidate the mechanisms that lead to their neurological problems and self injurious behaviour.

Mots-clés : Maladie de Lesch-Nyhan, marqueurs dopaminergiques, HPRT.

■P550 / 672. L'ÉMAIL DENTAIRE, UN MARQUEUR DE DYS-FONCTIONNEMENT RÉNAL ?

B. Richard (1, 2), A. Bloch-Zupan (3), M.-C. Manière (3), B. Llanas (4), D. Lacombe (2, 5)

(1) *Service de Génétique, CHU Pellegrin, Enfants, Bordeaux* ; (2) *Faculté d'Odontologie, Bordeaux* ; (3) *Centre de référence des manifestations odontologiques des maladies rares, CHU Strasbourg* ; (4) *Département de Pédiatrie, CHU Pellegrin, Enfants, Bordeaux* ; (5) *Centre de référence pour les anomalies génétiques du développement, CHU Pellegrin, Enfants, Bordeaux*

Un grand nombre de maladies génétiques incluent dans leur tableau clinique une composante orofaciale. Ainsi, des anomalies de la structure de l'émail dentaire sont parfois associées à une pathologie rénale ; la relation entre ces deux manifestations restant cependant obscure et peu documentée. C'est le cas en particulier de deux syndromes : Le syndrome néphrotique finlandais (OMIM 256300), transmis selon le mode autosomique récessif, est caractérisé par une fuite protidique qui débute pendant la vie fœtale, les enfants atteints présentant à la naissance un syndrome néphrotique sévère et des symptômes en rapport avec la carence protidique. L'anomalie de structure de l'émail dentaire, anecdotique par rapport à la gravité de cette pathologie et peu rapportée, est cependant bien présente. Le gène défectueux responsable de ce syndrome est le gène *NPHS1* qui code pour une protéine transmembranaire, la néphrine. Le deuxième syndrome est

l'association d'une amélogenèse imparfaite et de néphrocalcinose, ou syndrome émail-rein (OMIM 204690). L'anomalie du développement de l'émail dentaire est dans ce cas le premier signe à apparaître, la néphrocalcinose ne se manifestant que tardivement et parfois secondairement à une polykystose rénale. La transmission se fait le plus souvent sur le mode autosomique récessif. Les amélogenèses imparfaites présentent cependant des formes cliniquement et génétiquement hétérogènes, et seuls certains types sont susceptibles de s'accompagner d'une néphropathie. À ce jour, le gène responsable de cette entité clinique n'a pas été découvert. Au delà des conséquences médicales et psychologiques importantes de ces pathologies, l'association de signes intéressant ces deux organes est source de questionnements : en effet, le rein et la dent connaissent le même type de développement sous la dépendance d'interactions épithélio-mésenchymateuses réciproques, empruntant même des mécanismes moléculaires communs (BMP, TNS-ALP, CaSR, calbindin 28 kDa, NKCC1...). Les mêmes événements moléculaires sont-ils impliqués dans les anomalies des deux tissus ? La pathologie dentaire apparaît-elle secondairement au dysfonctionnement rénal ? L'observation clinique de patients présentant l'un de ces deux syndromes servira de base à une réflexion sur les mécanismes potentiellement en jeu.

Mots-clés : néphropathie, anomalie de l'émail, mécanismes physiopathologique.



Index des auteurs soumissionnaires

Cette liste est éditée afin de vous permettre de retrouver votre communication, orale ou affichée dans le recueil. (C : conférence ; CO : communication orale ; P : poster).

A

Abadie P507
 Abdelmoula P65
 Abifadel P456
 Aboura P120, P121, P122, P123, P124, P125, P127
 Aboussair P110, P540
 Acquaviva P324
 Afenjar P258, P267
 Aissi P481, P482
 Alarcon P282
 Amiel P296
 Amouri P8, P435, P532
 Amram P143
 Andre C. CO42
 Andre M. P289
 Andres P360
 Andrieux CO23, P58, P74
 Aouchiche P207
 Arnoux CO29
 Attie-Bitach CO54
 Audrezet P450

B

Babonneau P218, P519
 Babron P285
 Badens P432
 Baert-Desurmont P484
 Bailleul-Forestier P25, P45
 Balduyck P44
 Banneau P491
 Bannwarth P29, P390, P420
 Barbu P35
 Bardel P298
 Baudot P421
 Baudry-Samb P490
 Baujat P240, P241
 Baulac P310
 Bellais P366
 Ben Jemaa P134
 Ben Romdhan P337
 Ben Slama P41
 Bendavid P283, P419
 Beneteau P278
 Benistan P201
 Benko CO1
 Benlian P165, P428
 Béra P541
 Beri-Dexheimer CO5
 Bianchini CO26
 Bibi P33
 Bidoki P91
 Bienvenu P307, P308
 Bigi P86
 Bilan P440
 Bitoun P227
 Blanc P239
 Blavier P216, P461
 Blayau P492
 Boddaert P184
 Bodiou P133
 Bohers P319
 Boissel P335
 Bonadona P542
 Bonaiti-Pellie CO39
 Bondurand P376, P378

Bonneau-Amati P414
 Bonnet P494
 Borck P18
 Bosviel P504
 Bouchet P158, P357
 Bouffard CO74
 Bougeard P488
 Boukhris CO47
 Boulay P544
 Boulling P453
 Bouquillion P172
 Bourdin P388, P529
 Bourdon CO16, P506
 Bourthoumieu P94, P95
 Boute P153
 Bouteiller P338
 Boutry-Kryza P78, P361
 Bouzigon CO14
 Boyer P473
 Brault CO63
 Bressac-De Paillerets P539
 Brivet P416
 Brun-Heath P54
 Burnichon P510, P510, P511

C

Cabet CO28
 Cadet P441
 Callier P83
 Capel P196
 Carcenac P423
 Carelle-Calmels P87
 Cartier CO6
 Cavaciuti P535
 Cazeneuve P402
 Chaabouni P138, P185
 Chabchoub P291
 Chabrol P417
 Chafai Elalaoui P193
 Chalabi P503
 Chambon P82
 Chantot-Bastaraud P136
 Charles P246
 Chassaing P257
 Chaudru CO38
 Cherkaoui Jaouad P464
 Chevalier-Porst P371
 Clauss P262
 Clot P349
 Cluzeau CO66
 Colas P499, P518, P520
 Collet P346, P384
 Combes P. P426
 Combes A. P489
 Contrain P9
 Copin P43, P88
 Costa P333
 Coulet CO36, P355
 Coullin P514
 Couplan P474
 Cournu-Rebeix P20, P286
 Curie CO33, P276

D

Dagoneau P345
 Dalloz P389

Daudignon CO25, P525
 De Braekeleer P105
 De Fremenville P131
 De La Rochebrochard P150
 De Pontual P386
 De Roux P55, P467
 De Sandre-Giovannoli P424
 De Sario P485
 Dehainault P164
 Delague P546
 Delahaye CO20
 Delfosse P266
 Delobel P139
 Delort P442, P443
 Demeer P272
 Denis P340
 Denora P403
 Destree P111
 Devisme CO53
 Devriendt P427
 Dieudé P297
 Dieux P224
 Djouadi P547
 Doco-Fenzy P199
 Doray P137, P160, P163, P277
 Douet-Guilbert P505
 Drouet P543
 Drouin R. P545
 Drouin-Garraud P178, P212
 Duban-Bedu P89
 Dubois d'Enghien P457
 Dubourg P59
 Dugast P524
 Dumontet P501
 Dupont P79, P117
 Dura P477

E

Echenne P34
 Eisinger P480
 El Abed P534
 Elghezal P97, P98, P415
 Elvira-Matelot P327
 Encha-Razavi P159
 Eon-Marchais P300
 Escande P279

F

Faivre P179
 Fajardy P287, P292, P293
 Fallet-Bianco P161
 Fanen P380
 Fauquembergue P495
 Fauret P167
 Feldmann P356, P429
 Fellous P177
 Fendri-Kriaa P315
 Fergelot P444, P446
 Feuillet-Fieux P206
 Fogli P264
 Fournier P530
 Fragaki P365, P548
 Francès P99
 Frederic P398
 Freeman P412
 Fressart P404, P409

Frikha P66
 Froguel CO13
 Funalot P52, P462

G

Gaillard P144
 Gargiulo CO75
 Geneviève CO12
 Gérard-Blanluet P142
 Germain P188, P259
 Gigarel P141
 Girardet P147
 Girodon-Boulandet P331
 Giurgea P452
 Gobin-Limballo CO31
 Goizet P30, P400, P408
 Goldenberg P192, P303
 Golmard P23
 Golzio CO57
 Gorisse P497
 Gouas P140, P383
 Goumy P93
 Grall P471
 Grandemange P336
 Gribouval P418
 Grisart CO27
 Gruchy P67
 Gueneau P219
 Guermani P521
 Guicheney CO71
 Guichet P107, P108
 Guimiot P168

H

Hami CO73
 Handelsman P118
 Hardizi P106
 Hebert P189
 Heidet P247, P476
 Heron P243, P244
 Hila P325
 Hilal P7, P217, P411
 Hilbert P422
 Holder-Espinasse P252
 Homer P42
 Huber P328
 Huiart P517

I

Irene P294
 Iron P234
 Isidor P187
 Italiano P527
 Itzhar CO24

J

Jacq P280
 Jacqueline P235, P238
 Jaillard CO21, P64
 Jamar P63
 Jardel CO59, P460
 Jeanpierre P528
 Jeru CO17
 Joly-Helas P81, P102

Jonard P445
Jonveaux P60
Jouanolle P347
Joumard P76
Journal P155, P156
Jung P198, P261

K

Kanafani P109
Kannengiesser-Decuyper P367
Karmous-Benailly P100
Kazma CO70
Kefi-Ben Atig P405
Kelly P550
Khau-Van-Kien P343, P454
Kilani P115
Kossai P391
Krahn P242, P448
Kraoua P249
Krug P50
Kurreean CO69

L

Labalme P372
Lacoste P392
Ladroue P531
Lafont P312
Lagier-Tourenne CO11
Lahlou-Laforet P3, P4
Lambert P350, P351
Landais P114
Lanneau P204
Lascols P51
Laudier P26
Lauge P451
Laugel P387
Laumonier P466
Le Ber CO34
Le Caignec P56
Le Gac P468
Le Goff CO49
Le Guedard-Mereuze P377
Le Marechal CO48
Lebon P37
Lebre P459
Leclercq P85
Lefol P513
Legendre P458
Leheup P209, P230
Lejeune P536, P538
Léna P13
Leporrier P173
Leroy P116
Lesage P334
Lesca P320, P322
Lopez P149
Lukusa P237
Lunardi P373

M

Maalej P284
Maazoul P231
Mabboux P126
Malan P21
Malinge P36, P162
Mallet P436
Malthiery P515
Mamay P281
Maniere P260
Manouvrier-Hanu CO72, P157

Marduel P406
Marlin P182, P197
Marques-Pinheiro P302
Martin-Coignard P12
Martinovic-Bouriel P166
Masurel-Paulet P225
Maugard P537
Maurin P175
Maystadt CO2
Mazzuca P31
Méchin P5
Mehdi P72, P73
Mejean P214
Mercier CO30, CO32
Messaoud P152
M'hamed P439
Michaux P430
Michel-Calemard P395
Michot P119
Millat P17, P309
Mkaouar-Rebai P313
Moirot P148
Moizard P401
Molina Gomes P84
Molinari CO9
Mollet CO44, P329
Moncla P236, P295
Moncoutier P523
Monnot P317, P61
Moortgat P14
Morcel P245
Morin P171, P254, P255
Mosca P103
Mougou P132
Mouret-Fourme CO35
Moutou P151
M'Rad P10, P128, P273, P301
Muller P496
Mutesa P344

N

Nadeau P77
Naudion P22
Nava P290
Navarro P455
Nawara P359
Nemos P24
Nguyen P374, P379
Nicole CO62
Niel P71
Noel-Couillard P271
Noruzinia P463
Nougayrede P202

O

Olichon P2
Ouertani P104

P

Palot Bonello P433, P438
Pannier CO61
Parisot P16
Pasmant CO46, P447, P449
Pasquier CO10
Peoc'h P369, P370
Perdry CO67
Perdu P200, P220
Pereira CO64
Petit C. P470
Petit Fl. P48, P70, P354

Petit Fr. P183
Philip CO19
Philippe P229
Pigny P533
Pinson P233
Pipiras P80
Plancke P19
Plotton P268
Poitelon P472
Popovici P75
Poulain P513, P526
Preudhomme P500
Prieur P90
Procaccio CO60
Prodromou P498
Pujol P479
Putoux P222

Q

Quelin P57
Quenum-Miraillet P68
Quilichini P135

R

Raas-Rothschild P251, P253
Rabiau P502
Ratbi P223, P353
Rath P205
Ray CO55
Reibel P53
Remenieras P221
Revenu CO7
Riant P396
Richard P550
Richebourg P522
Rio P203, P256
Rival P6
Robert P363
Roche-Lestienne P486
Rochette P180, P326
Rombout P113
Ronce P397
Rooryck-Thambo P288, P470
Roucaute CO22
Rouleau P49, P381
Roux JC. CO65
Roux AF. P332
Rouzier P437
Rovelet P362
Royer P39
Roze P314

S

Sabbagh P38, P40
Sablonniere P399
Saillour P215
Salomon P263, P265
Sanlaville P92
Santucci-Darmanin P348
Sarzi CO45, P364
Satih P508
Saura P169, P170
Sbii P15
Schibler P407
Schluth-Bolard CO4, P69, P146, P186
Schmitt P311, P321
Scotet P174
Sermondade CO51
Siala P316

Sigaudy P11
Silve P358
Simon P341
Sinilnikova CO15
Sobol CO41, P483
Sobrier P410
Soler P323
Soufir P342, P493
Steffann CO52
Sternberg P32
Stevanin P394
Stoetzel P385
Stoll P176
Sznajer P154, P190, P191

T

Tabagh P352
Tabet P62
Talmoudi P101
Tardieu P269
Tardy P431
Teixeira P304
Thauvin P181
Thomas CO58
Titeux CO3
Tory P46, P47
Toujani P129
Toulas P487
Touraine P228
Tournier CO40
Trabelsi P306
Trifa P208
Troudi P305, P478
Trouillard P339
Turleau P195

V

Valayannopoulos P226, P270, P275
Valduga P145
Valleix P318, P330
Van Esch CO43
Van Maldergem P274
Vargas-Poussou P27, P393
Varret P299
Vaur-Barriere P232
Verloes P28, P210
Veronese P112
Vezain P368
Vialard CO18, P96
Vié-Luton P413
Vilain P194
Villard CO8, P425
Vincent-Delorme P211, P213
Viville CO56
Voelckel P1
Voicu P434, P516
Vonwill P375

W

Weber P465
Wein P475
Whalen P130, P248, P250
Wipff CO68
Woerle Boissy CO37

Z

Zawadzki P382
Zetoune CO50











