



JANVIER 2010

Hors série n° 1

p 1 > 272

volume 26

> [www.medecinesciences.org](http://www.medecinesciences.org)

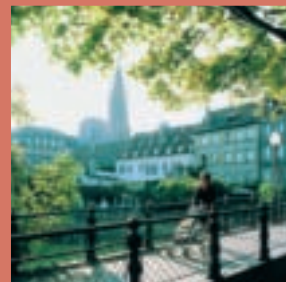
Président  
Comité Scientifique  
Pr Jean-Louis Mandel

Présidente  
Comité d'Organisation  
Pr Hélène Dollfus

# 5<sup>èmes</sup> ASSISES DE GÉNÉTIQUE HUMAINE ET MÉDICALE •

28-29-30 JANVIER 2010  
STRASBOURG  
PALAIS DES CONGRÈS

Recueil des  
Abstracts



**EDK**  
EDITIONS MÉDICALES  
ET SCIENTIFIQUES

[www.assises-genetique.org](http://www.assises-genetique.org)

## Éditorial

## Message des deux présidents

Hélène Dollfus, Jean-Louis Mandel

Chers collègues,

C'est un immense honneur pour tous les généticiens de Strasbourg d'accueillir les 5<sup>èmes</sup> Assises de Génétique Humaine du 28 au 30 janvier 2010.

L'âme rhénane, le cœur européen et l'esprit alsacien de Strasbourg sauront vous séduire. Notre région a gagné son caractère par une position et une histoire au carrefour de traditions et de cultures franco-allemandes devenues maintenant le ciment de la dynamique région du Rhin supérieur.

L'histoire de la Médecine à Strasbourg et de ses nombreuses personnalités illustres est intimement liée à celle de l'Alsace. Notre ville est riche d'une longue tradition universitaire qui trouve ses racines dans l'humanisme de la renaissance avec Gutenberg et les tous premiers ouvrages notamment de médecine. L'histoire universitaire et de la médecine est marquée par de célèbres personnalités qui illustrent l'alternance germanique et française de notre passé : J.F. Lobstein, pionnier de l'anatomo-pathologie qui décrit la « maladie des hommes de verre » ; Friedreich Daniel Von Recklinghausen, professeur d'anatomo-pathologie de la *Kaiser Wilhems Universität* de Strasbourg où il décrit le premier cas de neurofibromatose et l'hémochromatose ; le chirurgien Otto Wilhelm Madelung avec la dyschondroplasie radio-cubitale. L'étudiant le plus illustre de cette alternance est très certainement Albert Schweitzer, médecin, théologien et Prix Nobel de la Paix... Rappelons aussi que Louis Pasteur fut professeur à la Faculté des Sciences de 1848 à 1854. Depuis 50 ans, la recherche en génétique est particulièrement développée à Strasbourg, depuis les aspects fondamentaux sur les divers

organismes modèles jusqu'à la génétique humaine et médicale, et plus récemment avec la génétique de souris pour modéliser les maladies humaines.

Notre ville et notre région ont aussi d'autres atouts. Les traces du passé ont marqué profondément la ville dont l'épicentre est l'incontournable cathédrale avec sa flèche unique. De nombreux musées, traditionnels, historiques, artistiques étancheront votre soif de culture après avoir parcouru les différents quartiers historiques comme le très pittoresque quartier de la « Petite-France » (site médiéval où les patients syphilitiques atteints du... « mal français »... étaient hospitalisés). Capitale européenne, notre ville est fière de contribuer à construire l'Europe dans toutes ses dimensions comme en témoigne le quartier européen tourné vers l'avenir avec ses prestigieuses institutions que vous pourrez découvrir. Enfin, l'art culinaire est un véritable culte pratiqué notamment dans les *winstubs* (« bars à vins »), nombreux dans la vieille ville, combinant cuisine traditionnelle et la dégustation de cépages alsaciens.

Nous vous adressons nos chaleureuses salutations de bienvenue à tous pour une 5<sup>ème</sup> édition inoubliable des Assises de Génétique Humaine à Strasbourg riche en Science et en culture Alsacienne et Européenne ! ■

Pr Hélène Dollfus

Strasbourg

Présidente du Comité d'Organisation

Pr Jean-Louis Mandel

Strasbourg

Président du Comité Scientifique

**5<sup>èmes</sup> Assises de Génétique Humaine et Médicale**  
**STRASBOURG – PALAIS DES CONGRÈS**  
**28-30 janvier 2010**

**COMITÉ LOCAL D'ORGANISATION**

Présidente : Hélène DOLLFUS

Yves ALEMBIK, Jean-Louis MANDEL, Bérénice DORAY, Elisabeth FLORI, Michel KOENIG

**CONSEIL SCIENTIFIQUE**

Président : Jean-Louis MANDEL

Société Française de Fœtopathologie (SOFFOËT) : Anne BAZIN, Dominique CARLES

Association Nationale de Praticiens de Génétique Moléculaire (ANPGM) : Benoît ARVEILER, Irina GIURGEA, Bernard GRANCHAMP, Yves MALTHIÉRY, Michel VIDEAU

Collège des enseignants et praticiens de génétique : Valérie CORMIER-DAIRE, Sylvie MANOUVRIER

Association Française de Génétique Clinique et de Conseil Génétique (AFGCCG) : Delphine HÉRON, Didier LACOMBE, Sandrine MARLIN, Sylvie ODENT, Nicole PHILIP

Société Française de Génétique Humaine (SFGH) : Alain BERNHEIM, Françoise CLERGET, Jean-Louis SERRE

Association des Cytogénéticiens de Langue Française (ACLF) : Chrystèle BILHOU-NABERA, Anne MONCLA, Florence PEUDEUTOUR, Serge ROMANA, François VIALARD

Groupe Génétique et Cancer : Christine LASSET, Catherine NOGUÈS, Hagay SOBOL

Association Française des Conseillers en Génétique (AFCG) : Marie-Antoinette VOELCKEL

Fédération Française de Génétique Humaine (FFGH) : Dominique BONNEAU

**LISTE DES PRÉSIDENTS DES DIFFÉRENTES ASSOCIATIONS DE LA FFGH (Fédération Française de Génétique Humaine)**

Société Française de Génétique Humaine (SFGH) : Jean-Louis SERRE

Association des Cytogénéticiens de Langue Française (ACLF) : Jean-Michel DUPONT

Association Française des Conseillers en Génétique (AFCG) : Marie-Antoinette VOELCKEL

Association Nationale de Praticiens de Génétique Moléculaire (ANPGM) : Michel GOOSEENS

Association Française de Généticiens et de Conseil Génétique : Dominique BONNEAU

Collège des enseignants et praticiens de génétique : Sylvie MANOUVRIER

Groupe Génétique et Cancer (GGC) : Catherine NOGUES

Société Française de Fœtopathologie (SOFFOËT) : Dominique CARLES

Société des Internes en Génétique de France (SIGF) : Caroline NAVA

**Remerciements**

Nous remercions les partenaires industriels pour leur participation active aux Assises de Génétique 2010 :

**Majors sponsors** : APPLIED BIOSYSTEMS, ROCHE

**Sponsors privilège** : AFFYMETRIX, AGILENT, GENZYME, METASYSTEMS, PERKIN ELMER

Ainsi que : ABBOTT, ADGENIX, ALPHELYS, AMPLITECH, BECKMAN COULTER, CARTAGENIA, DNA GENOTEK, FLUIDIGM B.V., FLUIGENT, GATC BIOTECH, GENETIX, GENOMIC VISION, GENOSCREEN, HAMILTON ROBOTICS, HC FORUM, ILLUMINA, INFOLOGIC, INNOPSYS & BIOTRAY, INTERACTIVE BIOSOFTWARE, JSI MEDICAL SYSTEMS, KREATECH, LABTECH, LUMINEX, MEDIFIRST, PHENOSYSTEMS, PRESTAGEN, PROMEGA, QIAGEN, SHIRE, TECAN, TRANSGENOMIC

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

AAL, AFM, SYNDROME D'AICARDIE, ASTB, ASSOCIATION GÉNÉRATION 22, AMMI, SYNDROME DE MARFAN, GENESPOIR, HNPCC, X FRAGILE, RÉTINA, ALLIANCE MALADIES RARES, APPTPEF, ORPHANET, RÉSEAU VIVRE AVEC UNE ANOMALIE DU DÉVELOPPEMENT, HANDI' CHIENS, HYPOPHOSPHATASIE EUROPE





# 5<sup>èmes</sup> Assises de Génétique Humaine et Médicale 28-30 janvier 2010 Strasbourg - Palais des Congrès - 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

#### CONSEILLÈRE ET REPRÉSENTANTE DE L'INSERM

Suzy Mouchet

#### RÉDACTION

##### FRANCE

Éditions EDK  
2, rue Troyon  
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)

#### ADJOINTE À LA RÉDACTION

Christiane Malo (Montréal)

#### SECRÉTARIAT DE RÉDACTION

Deborah Abisror (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  
Hélène Dollfus, Jean-Louis Mandel

### 1 - CONFÉRENCES

- 1 A - Projet génome humain : quels impacts ? (C1 - C5)  
2 B - Conférence « Génétique neurosensorielle » (C6)  
2 C - Thérapeutique des maladies génétiques (C7 - C10)  
3 D - Conférence d'actualité (C11)  
3 E - Mécanismes génétiques (C12 - C15)

### 2 - COMMUNICATIONS ORALES EN SESSION PLÉNIÈRE

- 4 A - Session plénière 1 (C001 - C006)  
6 B - Session plénière 2 (C007 - C010)  
8 C - Session plénière 3 (C011 - C015)

### ATELIER

- 9 Outils bioinformatiques pour les généticiens (C016-C018)

### 3 - COMMUNICATIONS ORALES EN SESSIONS SIMULTANÉES

- 10 A - Maladies monogéniques - de la clinique aux gènes  
(CS01 - CS08)  
13 B - Cytogénétique constitutionnelle et maladies  
génomiques (CS09 - CS16)  
16 C - Maladies multifactorielles et génétique des  
populations (CS17 - CS24)  
18 D - Gènes, chromosomes et cancer (CS25 - CS32)  
18 • Cas sporadiques et héréditaires  
20 • Maladies et cancers rares  
20 • Haut risque génétique de cancer : prise en charge  
et suivi

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





## 5<sup>èmes</sup> Assises de Génétique Humaine et Médicale 28-30 janvier 2010 Strasbourg - Palais des Congrès - France

### COMITÉ ÉDITORIAL

Raymond Ardaillou (Paris)  
Armand Bensussan (Paris)  
Sylvain Chemtob (Montréal)  
Dominique Costagliola (Paris)  
Jacques Epelbaum (Paris)  
Thierry Galli (Paris)  
Lucie Germain (Québec)  
Hélène Gilgenkrantz (Paris)  
Simone Gilgenkrantz (Nancy)  
Gaétan Guillemette (Sherbrooke)  
Jacques Haiech (Strasbourg)  
Jean-Pierre Julien (Québec)  
Bertrand Jordan (Marseille)  
Jean-Claude Kaplan (Paris)  
Nathalie Lamarche (Montréal)  
Olivier Lortholary (Paris)  
Anne-Marie Moulin (Paris)  
Grégoire Moutel (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)  
Gérard Friedlender (Paris)  
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 Troyon  
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° 125896

### 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

### PUBLICITÉ FRANCE

EDK  
Brigitte Perez  
Tél. : 01 55 64 13 93  
Fax : 01 55 64 13 94  
edk@edk.fr

Copyright© Médecine/Sciences -  
Inserm - SRMS<sup>a</sup>. 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° 1112 T  
81597

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

- 22 E - Anomalies du développement, syndromes malformatifs et foetopathologie (CS33 - CS40)
- 25 F - Physiopathologie, modèles cellulaires et animaux (CS41 - CS48)
- 27 G - DPN et DPI, Conseil génétique et éthique (CS49 - CS54)
- 29 H - Maladies monogéniques - de la clinique aux gènes (CS55 - CS60)
- 32 I - Prise en charge des maladies génétiques : du conseil génétique au traitement (CS61 - CS66)

### 4 - POSTERS

- 34 1 - Anomalies du développement et syndromes malformatifs (P001 - P097)
- 64 2 - Cytogénétique constitutionnelle et maladies génomiques (P098 - P184)
- 89 3 - Éthique, génétique et société (P185 - P199)
- 94 4 - Gènes, chromosomes et cancer (P200 - P282)
- 121 5 - Génétique des populations, évolution (P283 - P293)
- 124 6 - Génome humain (P294 - P296)
- 125 7 - Maladies complexes (P297 - P321)
- 133 8 - Maladies monogéniques - de la clinique aux gènes (P322 - P545)
- 204 9 - Pharmaco-génétique (P546 - P552)
- 206 10 - Physiopathologie, modèles cellulaires et animaux (P553 - P604)
- 223 11 - Prénatal : DPN, DPI (P605 - P651)
- 237 12 - Prise en charge des maladies génétiques : du conseil génétique au traitement (P652 - P693)

### INDEX

- 251 Index des mots-clés
- 257 Index des auteurs



# International journal of biology and medicine

5<sup>th</sup> Human and Medical Genetics Congress  
January 28-30, 2010  
Strasbourg - Palais des Congrès - France

## CONTENTS

### EDITORIAL

- I Message of the two Presidents  
Hélène Dollfus, Jean-Louis Mandel

### 1 - CONFERENCES

- 1 A - Human genome project: what impact? (C1 - C5)  
2 B - Conference on Neurosensory genetics (C6)  
2 C - Therapy of genetic diseases (C7 - C10)  
3 D - Current events Conference (C11)  
3 E - Genetic mechanisms (C12 - C15)

### 2 - ORAL COMMUNICATIONS PLENARY SESSIONS

- 4 A - Plenary Session 1 (C001 - C006)  
6 B - Plenary Session 2 (C007 - C010)  
8 C - Plenary Session 3 (C011 - C015)

### WORKSHOP

- 9 Bioinformatic tools for geneticists (C016-C018)

### 3 - ORAL COMMUNICATIONS SIMULTANEOUS SESSIONS

- 10 A - Monogenic diseases - From clinic to genes (CS01 - CS08)  
13 B - Constitutional cytogenetics and genomic diseases (CS09 - CS16)  
16 C - Multifactorial diseases and genetics of population (CS17 - CS24)  
18 D - Genes, chromosomes and cancer (CS25 - CS32)  
18 • Sporadic and hereditary cases  
20 • Rare diseases and cancers  
20 • High genetic risk of cancer: care and follow-up  
22 E - Developmental abnormalities, malformative syndromes and fetopathology (CS33 - CS40)  
25 F - Pathophysiology, animal and cellular models (CS41 - CS48)  
27 G - PND and PID, genetic council and ethics (CS49 - CS54)  
29 H - Monogenic diseases - From clinic to genes (CS55 - CS60)  
32 I - Care of genetic diseases: from genetic council to therapy (CS61 - CS66)

### 4 - POSTERS

- 34 1 - Developmental abnormalities and malformative syndromes (P001 - P097)  
64 2 - Constitutional cytogenetics and genomic diseases (P098 - P184)  
89 3 - Ethics, genetics and society (P185 - P199)  
94 4 - Genes, chromosomes and cancer (P200 - P282)  
121 5 - Genetics of populations, evolution (P283 - P293)  
124 6 - Human genome (P294 - P296)  
125 7 - Complicated diseases (P297 - P321)  
133 8 - Monogenic diseases - From clinic to genes (P322 - P545)  
204 9 - Pharmacogenetics (P546 - P552)  
206 10 - Pathophysiology, animal and cellular models (P553 - P604)  
223 11 - Prenatal diagnosis: PND, PID (P605 - P651)  
237 12 - Care of genetic diseases: from genetic council to therapy (P652 - P693)

### INDEX

- 251 Key words index  
257 Author index

#### 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 Champplain (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)



## > 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](http://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 - 2010**  
**Mensuel - 10 numéros/an**

**Abonnez-vous**  
**à Médecine/Sciences**

**Mon règlement :**

Par mail [edk@edk.fr](mailto: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

Je souhaite m'abonner à M/S :

Nom : ..... Prénom : .....

Adresse : .....

Code postal ..... Ville : .....

Pays : .....

E-mail-obligatoire : .....

Je choisis l'abonnement :

	Particuliers		Institutions		Étudiants*		Enseignants*	
	Papier + Électronique	Électronique seul	Papier + Électronique	Électronique seul	Papier + Électronique	Électronique seul	Papier + Électronique	Électronique seul
France	<input type="checkbox"/> 185 €	<input type="checkbox"/> 125 €	<input type="checkbox"/> 415 €	<input type="checkbox"/> Sur devis	<input type="checkbox"/> 95 €	<input type="checkbox"/> 75 €	<input type="checkbox"/> 120 €	<input type="checkbox"/> 100 €
UE + autres	<input type="checkbox"/> 245 €	<input type="checkbox"/> 125 €	<input type="checkbox"/> 505 €	<input type="checkbox"/> Sur devis	<input type="checkbox"/> 135 €	<input type="checkbox"/> 75 €	<input type="checkbox"/> 205 €	<input type="checkbox"/> 100 €

\* Joindre un justificatif

# 1 CONFÉRENCES

## A. Projet génome humain : quels impacts ? (C1 - C5)

### ■C1. CANCER DU POU MON ET RÉCEPTEURS NICOTINIQUES

Mark Lathrop

Évry, Paris

[Texte non parvenu]

### ■C2. GÈNES ET INTERACTIONS GÈNES-ENVIRONNEMENT DANS L'ASTHME : QUELS SONT LES NOUVEAUX DÉFIS ?

Florence Deme n a i s

Inserm U946-Université Paris Diderot-Paris 7, Fondation Jean-Dausset-CEPH, Paris, France

Email : [florence.deme n a i s@inserm.fr](mailto:florence.deme n a i s@inserm.fr)

L'asthme résulte de nombreux facteurs génétiques et environnementaux. En dépit des nombreuses études de liaison et d'association conduites à ce jour pour caractériser les déterminants génétiques de l'asthme, les gènes identifiés n'expliquent pas la totalité de la composante génétique de cette pathologie. Une meilleure compréhension des mécanismes à l'origine de cette maladie complexe et hétérogène nécessite de définir de manière plus fine les phénotypes associés à l'asthme (phénotypes de la réponse immunitaire, de l'inflammation, de la fonction ventilatoire), d'examiner conjointement ces phénotypes, d'analyser simultanément des ensembles de marqueurs génétiques et des facteurs de l'environnement pouvant modifier l'expression des gènes. C'est ce que nous réalisons dans l'étude française EGEA qui regroupe 2 047 sujets avec de nombreuses données phénotypiques et environnementales adossées à des collections biologiques. Nous avons ainsi mis en évidence plusieurs locus (5q13, 5q31, 6q14, 11p14, 21q21) pouvant contenir des gènes ayant un effet pleiotrope sur plusieurs phénotypes associés à l'asthme. À la suite de la première étude d'association pan-génomique qui a identifié un nouveau locus en 17q21 associé à l'asthme, nous avons montré que l'effet de ce locus était restreint à l'asthme à âge de début précoce et avons mis en évidence une interaction de ce locus avec l'exposition au tabac passif pendant la petite enfance. Des études d'association pan-génomiques sont mises en œuvre dans diverses populations européennes pour caractériser de nouveaux variants génétiques impliqués dans les nombreux phénotypes associés à l'asthme (consortium Gabriel). Il convient d'intégrer ces études aux autres approches de la biologie à grande échelle (transcriptome, protéome, épigénome) et de les coupler aux développements en bioinformatique et biostatistique pour caractériser les réseaux de gènes impliqués et identifier leurs interactions avec les facteurs de l'environnement.

### ■C3. MALADIE DE CROHN : QUE FAIRE DE TOUS CES GÈNES ?

Jean-Pierre Hugot

Groupement hospitalier universitaire Nord, Service de gastro-entérologie, mucoviscidose et nutrition, Paris, France

Email : [jean-pierre.hugot@rdb.ap-hop-paris.fr](mailto:jean-pierre.hugot@rdb.ap-hop-paris.fr)

Les maladies inflammatoires chroniques intestinales (MICI), (maladie de Crohn et rectocolite hémorragique) sont des maladies génétiques complexes dont le déterminisme repose sur des facteurs de risque à la fois génétiques et environnementaux. Ces dernières années, une dizaine de génome-scan en association (GWAS) et une méta-analyse ont été publiés portant le nombre d'allèles de susceptibilité à ces maladies à plus de 40 contre seulement quelques uns il y a seulement 3 ans. Les résultats obtenus par les GWAS sont donc remarquables. Il est par ailleurs attendu que plusieurs dizaines de gènes supplémentaires soient identifiés dans les mois à venir à travers des travaux collaboratifs internationaux.

En dehors des gènes NOD2 et IL23R, les allèles à risque identifiés ont des Odds Ratio inférieurs à 1.5. Dans plus d'un tiers des cas, les allèles à risque sont les allèles normaux. Au total, l'ensemble de ces allèles à risque n'expliquerait qu'une faible partie de la variance génétique, laissant ouverte la question des autres facteurs génétiques de prédisposition encore inconnus mais attendus jouer un rôle dans la maladie.

Les premières analyses ne montrent pas d'interaction épistatique entre variants génétiques. Des études portant sur une douzaine d'allèles montrent que les malades ont en moyenne deux allèles à risque de plus que les contrôles. Les tests prédictifs basés sur le nombre d'allèles à risque restent cependant médiocres et difficilement exploitables en pratique clinique.

Les études de corrélation génotype/phénotype restent rares et incomplètes. Pour la plupart des allèles à risque, il n'existe pas d'association avec un sous groupe phénotypique défini. Les exceptions notables sont pour le gène NOD2 associé aux formes iléales et de début précoce et le gène IL23R associé aux formes coliques. Il n'existe pas à notre connaissance d'allèle permettant de prédire une réponse thérapeutique. Il n'est donc pas attendu un fort impact clinique des découvertes récentes en génétique.

Finalement, l'impact le plus net sur la maladie porte sur les mécanismes physiopathologiques. Les GWAS ont permis d'identifier les gènes de susceptibilité aux MICI, là où les approches de gènes candidats et de clonage positionnel classique avaient en grande partie échoué. Les gènes identifiés ont mis en avant des fonctions biologiques inattendues et originales telles que l'immunité innée, l'autophagie, la voie de différenciation Th17, etc. Il reste cependant encore beaucoup de travail avant de comprendre les mécanismes moléculaires en cause. À titre d'exemple, on ne connaît toujours pas clairement les mécanismes par lesquels les mutations de NOD2 identifiées en 2001 conduisent à la maladie de Crohn.

### ■C4. SÉLECTION POSITIVE ET HISTOIRE RÉCENTE DU GÉNOME HUMAIN

Lluís Quintana-Murci

UP Human Evolutionary Genetics, CNRS URA3012, Institut Pasteur, Paris, France

Email : [quintana@pasteur.fr](mailto:quintana@pasteur.fr)

L'histoire démographique des populations, leur exposition différentielle à l'environnement, en y incluant les agents infectieux, et leur mode de vie vont laisser des traces importantes sur leur génome. La variabilité génétique résultant de ces processus va témoigner donc l'histoire évolutive des populations d'une part et leur adaptation aux différents environnements pathogéniques d'autre part. La détection des signatures de la sélection naturelle sur le génome humain est un outil puissant pour prédire des régions génomiques jouant un rôle majeur dans la survie de l'homme. À ce jour, certains des signes de sélection les plus forts du génome humain ont été observés dans des gènes impliqués dans la réponse immunitaire ou dans les relations hôte-pathogène. Par exemple, la sélection naturelle a agi sur les gènes du CMH, de la b-globine, du groupe sanguin Duffy ou sur G6PD. Dans le cadre de nos recherches, nous sommes intéressés aux pressions de sélection que les pathogènes ont pu exercer sur les gènes de l'immunité innée. Ainsi, les récepteurs Toll-like et les lectines de type C sont les principaux acteurs de la reconnaissance précoce des pathogènes, et le rôle crucial des protéines qu'ils codent font d'eux des cibles très probables de la sélection naturelle. Je vais résumer nos résultats les plus récents sur l'action de la sélection sur les gènes humains impliqués dans les interactions hôte-pathogène et dans la réponse immunitaire. Ces études, au niveau du génome entier mais également aux niveaux de gènes spécifiques ou de familles géniques, illustrent comment l'identification de gènes ou variants en relation à l'immunité sous sélection peut nous éclairer sur les gènes ou les voies de signalisation de l'hôte jouant un rôle important dans la résistance aux pathogènes.

### ■C5. GÉNÉTIQUE DES MALADIES MULTIFACTORIELLES ET SANTÉ : NOUVEAUX OUTILS, QUESTIONS NOUVELLES ?

Catherine Bourgain

INSERM, Université Paris SUD, U535 Génétique Épidémiologique et Structure des Populations Humaines, Villejuif, France

Email : [catherine.bourgain@inserm.fr](mailto:catherine.bourgain@inserm.fr)

L'étude génétique des maladies multifactorielles a connu de très forts bouleversements ces dernières années, principalement du fait de l'accélération des progrès technologiques. Aux études familiales détectant des signaux de liaison plus ou moins reproductibles ont succédé les études d'association mobilisant des échantillons de plus en plus larges et une description toujours plus fine des polymorphismes génomiques, ouvrant elles-mêmes la voie aux analyses de séquençage intégral. L'abondante moisson des facteurs de risque localisés a le goût de la récompense longtemps attendue après ces années d'efforts. Mais, elle est également le nouveau carburant de projets d'études toujours plus larges et automatisées où le chercheur, pris dans le tourbillon de la valse des techniques, peine parfois à percevoir l'utilité de son savoir-faire. Pourtant, l'extrême complexité de leur composante génétique est sans doute la leçon la plus manifeste de ces études dont les perspectives d'application en santé sont encore incertaines. Un résultat qui ne manque pas d'interroger sur la capacité des nouveaux projets à relever le défi.





## B. Conférence « Génétique neurosensorielle » (C6)

### ■C6. DES GÈNES IMPLIQUÉS DANS LA SURDITÉ HUMAINE À LA PHYSIOLOGIE ET PHYSIOPATHOLOGIE MOLÉCULAIRES DE LA COCHLÉE

Christine Petit

*Professeure au Collège de France, Unité de Génétique et Physiologie de l'Audition, INSERM UMRS 587, Institut Pasteur, Paris, France*  
Email : christine.petit@pasteur.fr

En quelques années, les recherches menées sur la surdité de l'enfant ont révélé la contribution majeure de l'hérédité à l'étiologie des surdités précoces en montrant que la plupart des cas de surdité prélinguale sévère ou profonde sont des atteintes monogéniques transmises sur le mode autosomique récessif ; elles impliquent plusieurs dizaines de gènes. Les mécanismes défectueux dans la plupart des formes pour lesquelles le gène a été identifié ont été décryptés, autorisant leur classification en quelques grands ensembles de processus pathogéniques. Le diagnostic moléculaire de la surdité a été développé. Enfin, une compréhension du fonctionnement de la cochlée, à l'échelle moléculaire, s'est ouverte. Ce dernier point sera illustré par l'étude du syndrome de Usher et celle de la surdité DFNB16.

Près d'une dizaine de gènes en cause dans le syndrome de Usher (rétinopathie pigmentaire associée à une surdité neurosensorielle) ont été identifiés. Un processus pathogénique semblable est à l'origine de la surdité des formes de Usher de type I, quel que soit le gène impliqué. Il met en jeu l'atteinte de liens fibreux de la touffe ciliaire (structure mécanoréceptrice de la cellule sensorielle auditive) et leur ancrage aux filaments d'actine. Ces liens sont essentiels à la cohésion de la touffe ciliaire durant sa morphogenèse, puis ces mêmes molécules sont impliquées dans la machinerie de mécanotransduction qui convertit le signal acoustique en signal électrique. Les gènes responsables du syndrome de Usher de type II codent aussi pour des composants des liens de la touffe ciliaire, et qui interviennent dans leur ancrage. Ils sont essentiels à la polarisation fonctionnelle de la touffe ciliaire. En revanche, les atteintes rétinienues de ce syndrome sont très mal comprises.

Nous verrons comment la compréhension de la physiopathologie des surdités héréditaires a déjà permis de modifier la prise en charge de certains patients et quels sont les défis diagnostiques et thérapeutiques à relever.

## C. Thérapeutique des maladies génétiques (C7 - C10)

### ■C7. IMPLANTS DE RÉTINE

Serge Picaud, José-Alain Sahel

*Centre de Recherche, Institut de la vision, UMR\_S968 Inserm/UPMC/CHNO des Quinze-Vingts, Paris, France*  
Email : j.sahel@gmail.com

La rétine est composée de plusieurs couches neuronales dont la couche des photorécepteurs. Cette couche de photorécepteurs dégénère dans différentes pathologies rétinienues comme la rétinopathie pigmentaire. Aucune stratégie thérapeutique ne permet actuellement de stopper ou ralentir cette dégénérescence conduisant les patients vers la cécité. Bien que les autres couches neuronales ne restent pas indemnes, il est possible de les stimuler électriquement et redonner une sensation visuelle. Les prothèses rétinienues ou rétine artificielles ont pour objet de stimuler des matrices d'électrodes afin de restaurer la vision de patients aveugles. La présentation présentera rapidement les maladies et la spécificité de ces prothèses en fonction des patients considérés. Une revue des prothèses existantes et de leurs performances sera ensuite exposée pour illustrer la validation du concept à la lumière de notre expérience clinique. Dans une seconde étape, nous reviendrons sur les spécifications requises pour que les patients puissent à nouveau lire un texte. La dernière partie de la présentation abordera notre projet de prothèses rétinienues réalisé au laboratoire sur des modèles animaux. Dans ce contexte, nous illustrerons plus particulièrement notre recherche de nouveaux matériaux biocompatibles.

### ■C8. APPROCHES THÉRAPEUTIQUES DU SYNDROME DE L'X FRAGILE

Vincent des Portes

*Service de neurologie pédiatrique, Hôpital Debrousse, Hospices civils de Lyon, France*

Email : vincent.desportes@chu-lyon.fr

Le syndrome de l'X fragile est la première cause de handicap mental héréditaire. Les patients présentent une déficience intellectuelle avec syndrome dysexécutif associée à une anxiété majeure, des difficultés de gestion des émotions, et des interactions sociales. Depuis la découverte du mécanisme moléculaire de cette pathologie par l'équipe de J.L. Mandel en 1991, la physiopathologie des conséquences de la perte de fonction de la protéine FMRP, a pu être étudiée sur des modèles murins d'inactivation du gène *fmr1*. La perte de fonction de FMRP interfère avec au moins deux types de neuromédiateurs : (i) une hypoactivation du système GABAergique avec diminution d'expression des récepteurs GABA-(A) et efficacité *in vivo* d'agonistes GABAergiques GABA(B) sur la susceptibilité aux crises épileptiques ; (ii) une hyperexcitabilité du système glutamatergique, plus spécifiquement après activation des récepteurs métabotropiques de type 5 (mGluR5). En 2007, l'équipe de Mark Bear (MIT) a démontré une correction proche du phénotype sauvage dans une lignée de souris double KO, résultant du croisement de souris KO *fmr1* et mGluR5 +/-, tant sur des tests comportementaux que des analyses biochimiques ou histologiques. Au vu de ces résultats expérimentaux, un essai thérapeutique de phase II chez l'homme a été réalisé chez 30 adultes atteints de l'X fragile, pour évaluer la tolérance et l'efficacité d'un antagoniste mGluR5.

### ■C9. PROGRÈS DANS LE TRAITEMENT DU SYNDROME DE MARFAN

Guillaume Jondeau

*Centre de référence « Syndrome de Marfan et Apparentés », Service de Cardiologie, Hôpital Bichat, Paris, France*

Email : guillaume.jondeau@bch.aphp.fr

Le syndrome de Marfan est très généralement en rapport avec une mutation de FBN1 et s'accompagne notamment d'une fragilité aortique, responsable de la surmortalité associée au syndrome. L'attitude thérapeutique classique consiste à « économiser » l'aorte, en évitant les à-coups tensionnels (sports violents notamment), en mettant en place un traitement bêtabloquant. Ce traitement étant préventif doit être proposé à tous les patients quelque soit le diamètre aortique, et l'ensemble de l'aorte étant fragile, le traitement doit être poursuivi après remplacement de l'aorte initiale.

Un modèle de souris animal KI a été réalisé. Dans la paroi aortique de ces souris, on a retrouvé des signes d'activation de la voie du TGF- $\beta$  ; de plus, la dilatation de l'aorte que présentent ces souris est bloquée par des anticorps anti-TGF- $\beta$  (qui font également disparaître le signal d'activation). Le Losartan, un antagoniste des récepteurs 1 de l'angiotensine 2, a les mêmes propriétés que les anticorps anti-TGF- $\beta$  dans ce modèle animal. Les études randomisées sont en cours chez l'homme.

L'activation des métallo-protéases a également été démontrée dans les parois aortiques anévrysmales des patients présentant un anévrysme aortique, et les anti-métallo-protéases semblent efficaces dans certains modèles animaux.

Le traitement chirurgical préventif de la dissection de l'aorte ascendante est proposé généralement à partir de 50 mm. Les interventions tentent maintenant généralement de préserver la valve aortique afin d'éviter anticoagulants, etc...

### ■C10. THÉRAPEUTIQUE CIBLÉE ET CIBLAGE THÉRAPEUTIQUE DANS LE CANCER COLO-RECTAL : DES BASES MOLÉCULAIRES AUX APPLICATIONS PRATIQUES

Thierry Frébourg

*Service de Génétique, CHU de Rouen, Inserm U614, IHU-IFRMP, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Rouen, France*

Email : frebourg@chu-rouen.fr

L'impact médical le plus important de la connaissance des bases moléculaires du cancer colorectal, en dehors de l'identification des formes mendéliennes, est le développement des thérapeutiques ciblées et la caractérisation de variations génétiques prédictives de la réponse à ces nouveaux traitements. Comme dans les autres types de cancer, ces thérapeutiques ciblées inhibent une des voies essentielles de l'oncogénèse correspondant à l'activation inappropriée de la cascade de transduction du signal. Dans le cancer colorectal, la cible principale est le récepteur de l'*Epidermal Growth Factor* (EGFR) et les molécules utilisées correspondent à des anticorps monoclonaux (cetuximab et panatutumab) ciblant l'ecto-domaine de l'EGFR. Ces anticorps anti-EGFR ont probablement deux mécanismes d'action, d'une part l'inhibition des cascades de transduction du signal



induites par l'activation de l'EGFR, voie RAS/RAF/MAPK et voie PI3K/AKT, et d'autre part la cytotoxicité anti-tumorale dépendante des anticorps ou ADCC. Depuis 2004, ces thérapeutiques ciblées ont permis une avancée significative dans le traitement du cancer colorectal métastatique puisque leur utilisation en monothérapie ou en association avec la chimiothérapie conventionnelle a permis de prolonger la médiane de survie au-delà de 20 mois chez les patients atteints d'un cancer du colon avec métastases. L'hétérogénéité de la réponse radiologique et clinique observée chez les patients recevant ces anticorps anti-EGFR a rapidement mis en exergue la nécessité d'identifier des marqueurs prédictifs de la réponse au traitement. Le premier marqueur caractérisé en 2006 correspond à la mutation du proto-oncogène *KRAS* qui est observée dans environ 40 % des cancers colorectaux, la mutation de *KRAS* activant la cascade de transduction en aval de l'EGFR. Toutes les études publiées ont montré que la mutation somatique de *KRAS* était associée à une résistance aux anticorps anti-EGFR, ce qui a conduit à restreindre depuis 2008 la prescription des anti-EGFR aux patients présentant un cancer colorectal métastatique sans mutation détectable de *KRAS*. Ainsi le génotypage du gène *KRAS* est devenu incontournable dans l'évaluation pré-thérapeutique d'un cancer colorectal. Les autres marqueurs somatiques prédictifs de la réponse aux anticorps anti-EGFR, dont l'utilisation n'a pas été à ce jour validée en clinique, sont : (1) L'amplification de l'*EGFR* détectable par FISH ou CISH, mais cette amplification de l'*EGFR* n'est retrouvée que dans une petite fraction de patients sensibles aux anti-EGFR et la surexpression de l'amphiréguline et de l'épiréguline, ligands de l'EGFR ; (2) les mutations activant les voies situées en aval de l'EGFR : comme la mutation de *KRAS*, la mutation de *BRAF* retrouvée dans moins de 10 % des cancers colorectaux est associée à une non réponse aux anti-EGFR ; les données sont moins consensuelles pour les mutations activatrices du gène *PI3KCA* ou la perte d'expression en immunohistochimie de la protéine PTEN qui régule négativement la voie PI3 kinase-AKT ; (3) les mutations somatiques de *TP53*. En effet, l'efficacité des anticorps anti-EGFR suppose que l'activation de l'EGFR soit oncogénique et plusieurs études récentes ont montré que l'activation de certaines cascades de transduction conduisait à l'apoptose lorsque la protéine p53 est sauvage. Dans une étude rétrospective incluant 64 patients traités par chimiothérapie et cetuximab, nous avons effectivement observé que chez les patients qui ne présentaient pas de mutation de *KRAS*, la présence d'une mutation somatique de *TP53* était associée à une meilleure survie sans progression (20 semaines *versus* 12 semaines). Il est légitime de penser que de nombreuses altérations somatiques moduleront la réponse aux anti-EGFR et le défi en pratique sera de stratifier ou de combiner l'analyse de marqueurs validés avant de prescrire des anticorps anti-EGFR. D'autre part, se pose la question de la source la plus appropriée de matériel génétique à partir duquel les analyses doivent être réalisées dans le cadre de ces thérapeutiques ciblées. Il est en effet paradoxal que le génotypage soit effectué en règle générale sur la tumeur primitive, alors que ces thérapeutiques ciblées visent à traiter la maladie métastatique et ceci se heurte à 3 écueils potentiels : la divergence génétique éventuelle entre tumeur primitive et les métastases ; la difficulté pratique d'obtenir rapidement le bloc tumoral correspondant à la tumeur primitive et enfin l'altération chimique et la fragmentation de l'ADN dans les blocs tumoraux fixés et inclus en paraffine. L'alternative est d'analyser les marqueurs prédictifs de la réponse à partir du sang périphérique puisque de nombreuses études ont démontré que chez les patients présentant des métastases, il existait de l'ADN tumoral libre provenant à la fois de la dégradation des cellules tumorales circulantes et de nécrose et apoptose de la tumeur et des métastases. Le test que nous avons développé est un test combiné ou « bi-test » comprenant dans un premier temps la détection de l'ADN tumoral circulant hyperméthylé et, dans un second temps, la détection spécifique et très sensible des mutations de *KRAS*, basée sur la PCR en temps réel réalisée en présence d'un PNA (*Peptide Nucleic Acid*) capable d'inhiber spécifiquement l'amplification de *KRAS* sauvage. En dehors des altérations somatiques conditionnant la réponse aux anti-EGFR, les variations polymorphiques constitutionnelles du génome doivent probablement moduler également la réponse. Dans ce cadre, une étude a montré que les variations polymorphiques présentes au niveau des récepteurs aux fragments FC des immunoglobulines et modulant l'affinité vis-à-vis des immunoglobulines sont à l'origine d'une variation de la réponse de traitement aux anticorps anti-EGFR. Le cancer colorectal illustre l'importance de la pharmacogénétique somatique et constitutionnelle en cancérologie pour un usage efficace et approprié des thérapeutiques ciblées.

## D. Conférence d'actualité (C11)

### ■C11. SÉQUENÇAGE : BIG-BANG OU CHAOS ?

Jean Weissenbach (1, 2, 3)

(1) CNRS UMR8030, France ; (2) CEA/IG/Genoscope, Évry, France ; (3) Université d'Évry, Val d'Essonne, France

Le monde du séquençage des acides nucléiques connaît une montée en puissance sans précédent et dont il est illusoire de vouloir définir des

limites. Plusieurs méthodes de séquençage à très haut débit sont apparues ces dernières années ou sont sur le point d'être lancées. Cette compétition débridée se fait en partie au détriment des utilisateurs, obligés d'essayer des plâtres qui n'ont jamais le temps de sécher. L'arrivée à maturité comme la durée de vie de ces méthodes est imprédictible. Parmi les aspects positifs de ce foisonnement de nouvelles techniques, retenir cependant la multiplication des domaines d'utilisation, le débit et la spectaculaire dégringolade des coûts. On peut aujourd'hui estimer que tout domaine, concerné par l'identification d'acides nucléiques, pourra bénéficier de l'une ou l'autre de ces technologies.

Mais les raisons de céder au vertige ne s'arrêtent pas à la technique. Que faire de toutes ces données, comment les conserver, comment les utiliser. Le coût de production de données brutes devient inférieur au coût de leur stockage. Quant aux capacités d'interprétation, elles restent très réduites et s'exerceront de plus en plus dans un nombre limité de lieux, capables de réunir les compétences humaines et d'accéder aux moyens de calculs massifs.

À défaut de pouvoir dresser un tableau d'ensemble ou prospectif du domaine du séquençage nous décrivons de manière plus détaillée certaines de ces nouvelles applications en génétique humaine.

## E. Mécanismes génétiques (C12 - C15)

### ■C12. LES FONCTIONS DES MICRORNAS

Olivier Voinnet

*Institut de Biologie Moléculaire des Plantes, UPR2357, Mécanismes et rôles biologiques du RNA Silencing, Strasbourg, France*

Email : olivier.voinnet@ibmp-ulp.u-strasbg.fr

[Texte non parvenu]

### ■C13. MÉCANISMES D'INACTIVATION DU CHROMOSOME X CHEZ LES MAMMIFÈRES

Edith Heard

*Mammalian Developmental Epigenetics Group, Unité de Génétique et Biologie du Développement, U934/UMR3215, Institut Curie – Centre de Recherche, Paris, France*

Email : Edith.heard@curie.fr

In female mammals, one of the two X chromosomes is converted from the active euchromatic state into inactive heterochromatin during early embryonic development. This process, known as X-chromosome inactivation, results in the transcriptional silencing of over a thousand genes and ensures dosage compensation between the sexes. Although the inactive X represents one of the largest known blocks of facultative heterochromatin, the exact mechanisms that bring about this massive differential treatment of the two X chromosomes and then maintain the inactive state in a highly stable and clonally heritable fashion remain mysterious. We are studying the mechanisms and kinetics of this process during early embryogenesis in different mammals including mouse, rabbit and humans. We are also interested in the epigenetic mechanisms that underlie the heritability of the inactive state in somatic cells and how these may be deregulated in tumors.

### ■C14. PHYSIOPATHOLOGIE DES MYOPATHIES CENTRO-NUCLÉAIRES

Jocelyn Laporte (1), Lama AlQusairi (1), Leonela Amoasii (1), Valérie Biancalana (1, 2), Johann Bohm (1), Belinda Cowling (1), Manuela D'Alessandro (1), Nicolas Haumesser (1), Karim Hnia (1), Catherine Koch (1), Olga Koutsopoulos (1), Christine Kretz (1), Barbara Royer-Zemmour (1), Valérie Tosch (1), Anne Toussaint (1), Nasim Vasli (1), Ivana Zivkovic (1), Jean-Louis Mandel (1, 2)

(1) Institut de Génétique et de Biologie Moléculaire et Cellulaire (IGBMC), INSERM U964, UMR7104, Collège de France, Illkirch, France ; (2) Laboratoire Diagnostic Génétique, Faculté de Médecine, CHRU, Strasbourg, France

Email : jocelyn@igbmc.fr

Centronuclear myopathies (CNM) are a group of rare genetic disorders characterized by muscle weakness and centralized nuclei in muscle fibers. Three forms exist: the X-linked neonatal form due to mutation in the MTM1 gene encoding for myotubularin, the milder autosomal dominant form with neonatal or adult onset and mutations in the DNM2 gene encoding for dynamin 2, and autosomal recessive forms for which we recently found mutations in BIN1 encoding for amphiphysin 2 in several cases. Preliminary data suggest the existence of other genes implicated in autosomal recessive forms and, as the size of families precludes classical

positional cloning, we are testing whole genome approaches as DNA microarrays and high throughput sequencing.

The three implicated proteins are all implicated in membrane remodelling and trafficking. Using animal models and patient cells and muscle biopsies, we could show that skeletal muscle affected by centronuclear myopathy display structural anomalies of the T-tubules, plasma membrane invaginations essential for the excitation-contraction coupling and calcium homeostasis. Importantly, these membrane structural defects are common to the different forms of CNM.

Identification of the implicated genes and a better characterization of the pathological mechanisms are prerequisite for a better molecular diagnosis and therapeutic trials, respectively.

#### ■C15. DYSTROPHIN RESCUE BY USING EXON SKIPPING AND/OR TRANS-SPLICING APPROACHES

Luis Garcia

UPMC UMR S 974, Institut de Myologie, Paris, France

Email : luis.garcia@upmc.fr

Dystrophin, with its modular structure, and in particular its central domain made up of 24 spectrin-like repeat motifs, is a protein that can support the deletion of certain internal areas provided that the final coding sequence is preserved. Taking into account the organization of exons in the DMD gene, one can imagine that a sequence eliminated by a mutation (deletion or point mutation) can be restored by the exclusion of one or more exons if the local sequence allows it. This is called therapeutic exon skipping (TES). Exon skipping is executed during the splicing process and can be induced by antisense oligonucleotide (modified to resist RNases) complementary to key-sequences, which lead the splicing of primary transcripts. It is possible to combine splicing therapy using antisense oligonucleotide with a traditional gene therapy technology, in order to obtain, with a single injection, an endogenous synthesis of antisense and a durable therapeutic

effect. Here, the product of the therapeutic gene consists of an appropriate antisense sequence attached to a small nuclear RNA, the snRNA U7. The U7 RNA chimera is continuously produced under the influence of its own promoter. The practical application of a clinically relevant gene therapy for DMD requires the treatment of the whole skeletal and cardiac musculature. This cannot be done by intramuscular injections. Only a systemic injection would allow to approach this objective, as demonstrated by initial trials in murine models. Such a method is not without risk and requires long and expensive developments. First of all, it is essential to be able to produce the required quantity of vector to treat many patients. Then, the systemic mode of administration needs to be developed and its safety should be guaranteed. We are currently testing the feasibility of a systemic administrations of an AAV(U7) vector in the GRMD dog model, in order to anticipate, on a rational basis, the adaptation of such protocols in man. On the other hand, TES is possible only in patients affected by genetic diseases in which (i) it restores a truncated but functional protein, or (ii) it destroys a target downstream of the cascade of events provoked by the mutation. Many pathological conditions escape these prerequisites. Then, we anticipate the development of a more universal strategy of RNA repair where the mutated exon is replaced by its normal form. This approach also makes it possible to reintroduce missing exons. This strategy, known as "trans-splicing", involves the construction of new vectors composed of promoters currently under investigation (CMV, U7, U2), of a coding sequence to be exchanged, framed by two RNA segments containing antisense sequences paired with the target pre-messenger RNA, which is flanked by donor and acceptor canonical splice sites. As an example, in our system of dystrophin restoration, we are trying to restore the wild type of exon 23 in the *mdx* mouse. We are also considering restoring the expression of a complete dystrophin in cells of patients presenting abnormalities in the C terminal segment, crucial to the construction of the multi-protein complex associated with dystrophin. Preliminary results confirm the validity of our constructions and potential of this strategy.

## 2

# COMMUNICATIONS ORALES EN SESSION PLÉNIÈRE

## A. Session plénière 1

#### ■CO01. PCDH19, UN NOUVEAU GÈNE RESPONSABLE D'ÉPILEPSIES DE SÉVÉRITÉ VARIABLE ASSOCIÉ À UN NOUVEAU MODE DE TRANSMISSION LIÉ À L'X AFFECTANT MAJORITAIREMENT LES FILLES

C. Depienne (1, 2), D. Bouteiller (2), B. Keren (1), E. Cheuret (3), O. Trouillard (1), K. Poirier (4), A. Afenjar (1), A. Gautier (5), F. Rivier (6), S. Meyer (7), P. Berquin (8), S. Rivera (9), A. Brice (1, 2), R. Nabbout (10), E. Leguern (1, 2)

(1) AP-HP, Département de génétique et cytogénétique, Fédération de Génétique, Hôpital de la Salpêtrière, Paris, France ; (2) INSERM U975 (Ex-U679) et Université Pierre-et-Marie-Curie-Paris 6, CNRS, UMR-S975, Paris, France ; (3) Service de neurologie pédiatrique, Hôpital des enfants, Centre Hospitalier Universitaire de Toulouse, Toulouse, France ; (4) Institut Cochin, Inserm U567, UMR 8104, Université René Descartes, Paris 5, France ; (5) Service de Neuropédiatrie, CHU Nantes, France ; (6) Service de Neuropédiatrie, Hôpital Gui de Chauliac, CHU de Montpellier, France ; (7) Service de Neuropédiatrie, Hôpital de Bordeaux, France ; (8) Service de Neuropédiatrie, CHU Hôpital Nord Amiens, France ; (9) Service de Pédiatrie, Hôpital de Bayonne, Bayonne, France ; (10) Département de Neuropédiatrie, AP-HP, Hôpital Necker-Enfants malades, Paris-Descartes, et Centre de référence épilepsies rares, Paris, France

Contact : christel.depienne@upmc.fr

Nous avons utilisé des puces SNP haute-densité pour identifier de nouveaux gènes impliqués dans le syndrome de Dravet, une encéphalopathie épileptique isolée causée dans 70 % des cas par une mutation *de novo* du gène SCN1A. Suite à la découverte chez un enfant de sexe masculin d'une délétion hémizygote *de novo* en Xq22.1 ne contenant que le gène PCDH19 (codant pour la protocadhérine 19), nous avons séquencé la région codante de ce gène chez 73 patients (45 filles and 28 garçons) atteints de syndrome de Dravet sans mutation de SCN1A. Neuf mutations différentes (4 faux-sens et 5 mutations entraînant l'apparition d'un codon stop précoce) ont été identifiées, chez 11 patientes de sexe féminin. Les mutations étaient survenues *de novo* chez 6 patientes, alors que les 5 autres mutations étaient

héritées d'un père asymptomatique. Des mutations de ce gène ayant entretenu été identifiées comme la cause d'épilepsie et de retard mental limités aux filles dans des familles australiennes (Dibbens *et al.*, 2008), nous nous sommes interrogés sur la présence d'un garçon atteint dans notre série et avons montré que la délétion de PCDH19 était à l'état mosaïque chez ce patient. Afin de caractériser plus précisément les spectres mutationnel et phénotypique associés aux mutations de PCDH19, nous avons analysé une seconde série de 151 patients (111 filles et 40 garçons) présentant divers phénotypes épileptiques avec ou sans retard mental. Des micro-réarrangements ont également été recherchés par PCR en temps réel dans l'ensemble des deux cohortes. Quatorze nouvelles mutations ponctuelles, deux délétions complètes, une délétion et une duplication partielles du gène PCDH19 ont été identifiées chez 18 patientes. Les tableaux cliniques associés aux mutations du gène PCDH19 se sont révélés extrêmement variables, la plupart incluant un retard intellectuel et étant proches phénotypiquement du syndrome de Dravet, et d'autres, sans retard mental, se rapprochant des formes familiales d'épilepsie associant convulsions fébriles et épilepsie généralisée (GEFS+). Toutefois, certains signes, comme la présence de crises convulsives en série, une forte sensibilité à la fièvre et l'association de crises généralisées et partielles ont fréquemment été retrouvés chez les patientes avec une mutation hétérozygote de PCDH19. L'ensemble de ces résultats montre que PCDH19 est un gène responsable d'épilepsies familiales ou isolées, de type et de sévérité variables, associées ou non à un retard intellectuel. Cette maladie se transmet sur un mode lié à l'X inhabituel puisque seules les filles avec une mutation hétérozygote sont atteintes tandis que les garçons porteurs d'une mutation à l'état hémizygote restent asymptomatiques. Le mécanisme en cause est très probablement dû à la co-existence de cellules exprimant et n'exprimant pas la protocadhérine 19 du fait de l'inactivation de l'X chez la femme, un mécanisme ayant précédemment été rapporté sous le nom d'« interférence cellulaire ».

**Mots-clés :** PCDH19, épilepsie, lié à l'X.

#### ■CO02. GÉNÉTIQUE DU NEUROBLASTOME

I. Janoueix-Lerosey (1, 2), D. Lequin (1, 2), L. Brugières (3), A. Ribeiro (4), L. de Pontual (5), V. Combaret (6), V. Raynal (1, 2), A. Puisieux (6, 7, 8), G. Schleiermacher (1, 2, 9), G. Pierron (4), D. Valteau-Couanet (3),



T. Frebourg (10), Y. Perel (11), J. Michon (9), S. Lyonnet (5), J. Amiel (5), O. Delattre (1, 2, 4)

(1) Institut Curie, Centre de Recherche, Paris, France ; (2) Inserm, U830, Paris, France ; (3) Institut Gustave-Roussy, Département de Pédiatrie, Villejuif, France ; (4) Institut Curie, Unité de Génétique Somatique, Paris, France ; (5) Département de Génétique, Université Paris Descartes, Faculté de Médecine et INSERM-U781, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France ; (6) Centre Léon Bérard, FNCLCC, Laboratoire de Recherche Translationnelle, Lyon, France ; (7) Inserm, U590, Lyon, France ; (8) Université de Lyon, Institut des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, Lyon, France ; (9) Institut Curie, Département de Pédiatrie, Paris, France ; (10) Service de Génétique, CHU de Rouen et Inserm U614, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Rouen, France ; (11) CHU Bordeaux, Unité d'onco-hématologie pédiatrique, Bordeaux, France  
Contact : janoueix@curie.fr

Le neuroblastome (NB) est une tumeur pédiatrique maligne du système nerveux périphérique, caractérisée par une grande hétérogénéité clinique, évolutive et génétique. Cette pathologie tumorale représente 8 à 10 % des tumeurs solides de l'enfant de moins de 15 ans et survient très majoritairement de façon sporadique. Néanmoins, de rares formes familiales sont décrites, compatibles avec une transmission dominante et une pénétrance incomplète. Par ailleurs, des tumeurs neuroblastiques sont observées chez des patients porteurs d'autres anomalies de la crête neurale, comme la maladie de Hirschprung, le syndrome d'Ondine ou la neurofibromatose de type 1, avec une fréquence bien supérieure à celle observée dans la population générale. Le gène PHOX2B (Paired-like homeobox 2B), codant pour un facteur de transcription jouant un rôle majeur dans le développement du système nerveux autonome, a été le premier gène identifié en tant que gène de prédisposition au NB. En effet, des mutations constitutionnelles de ce gène ont été caractérisées dans des formes familiales de NB ainsi que chez des patients présentant une association NB/maladie de Hirschprung. Néanmoins, le gène PHOX2B n'explique pas l'ensemble des formes familiales de NB. Récemment, notre groupe et d'autres équipes ont identifié le gène ALK (Anaplastic Lymphoma Kinase), comme gène de prédisposition au NB. Ce gène code pour un récepteur transmembranaire à activité tyrosine kinase préférentiellement exprimé au cours du développement dans le système nerveux central et périphérique. Différentes mutations constitutionnelles, affectant des résidus situés dans le domaine tyrosine kinase, ont été décrites dans des familles présentant plusieurs cas de NB. La pénétrance de ces mutations est incomplète, au vu des génotypes réalisés. Des mutations somatiques du gène ALK ont par ailleurs été caractérisées dans des tumeurs sporadiques. Nous avons démontré que les protéines ALK mutées sont hyper-phosphorylées et présentent une activité kinase constitutive. L'extinction du récepteur ALK dans des cellules de NB à l'aide de shRNA transduits par des lentivirus résulte en une très forte inhibition de la prolifération cellulaire, inhibition observée non seulement dans les cellules présentant une mutation de ALK mais aussi dans des cellules dans lesquelles aucune mutation n'a été détectée. À ce jour, cinq publications rapportent une fréquence de mutations du gène ALK de l'ordre de 8 % dans les tumeurs sporadiques de NB, et des amplifications de ce gène sont rapportées dans 4 % des cas. Les altérations du gène ALK sont observées dans des tumeurs de stade et de profil génomique variés. L'identification de mutations constitutionnelles du gène ALK va permettre d'améliorer la prise en charge des familles à risque en proposant une surveillance adaptée aux enfants porteurs d'une mutation. Enfin, l'utilisation d'inhibiteurs spécifiques du récepteur ALK ouvre de nouvelles perspectives thérapeutiques.

**Mots-clés :** neuroblastome, prédisposition, mutations.

### ■CO03. CARACTÉRISATION DANS LA DROSOPHILE DES MÉCANISMES DE NEUROTOXICITÉ À L'ORIGINE DES DÉMENCES FRONTO-TEMPORALES

L. Miguel, T. Frebourg, D. Campion, M. Lecourtois  
Inserm U614, Institut Hospitalo-Universitaire, Université de Rouen, Rouen, France  
Contact : magalie.lecourtois@univ-rouen.fr

La protéine TAR DNA-binding protein-43 (TDP-43) a récemment été identifiée comme étant le constituant majeur des inclusions retrouvées chez de nombreux patients atteints de sclérose latérale amyotrophique (SLA) ou de démences fronto-temporales avec inclusions ubiquitine positives (FTLD-U), qui représentent la seconde cause de démence précoce après la maladie d'Alzheimer. Dans les conditions physiologiques, la protéine TDP-43 est ubiquitaire et retrouvée majoritairement dans le noyau. Cette protéine multifonctionnelle a été impliquée dans le contrôle des différences étapes de l'expression génique, transcription, épissage, maturation, transport et traduction de l'ARNm. Elle pourrait également être impliquée dans

la formation des microARN. Chez les patients, les inclusions TDP-43 sont observées dans le cytoplasme et/ou le noyau des neurones et des cellules gliales. La protéine pathologique présente une signature biochimique particulière qui se caractérise par une phosphorylation anormale, une ubiquitination et la production d'un fragment C-terminal de ~25kDa. Si l'identification de mutations du gène TDP-43 a permis de démontrer que l'altération de la protéine est suffisante pour induire une neurodégénérescence, les mécanismes physiopathologiques restent inconnus. Dans le but de disséquer les mécanismes de toxicité de TDP-43, nous avons entrepris de développer les premiers modèles de drosophiles transgéniques capables d'exprimer différentes formes de la protéine TDP-43 humaine. Notre étude a révélé que l'expression de la forme pleine taille de TDP-43 dans la drosophile récapitule plusieurs caractéristiques clés des TDP-43 protéinopathies, neurodégénérescence progressive, mort prématurée et la phosphorylation anormale de la protéine sur un site spécifique des maladies. En utilisant des drosophiles exprimant des protéines TDP-43 défectueuses pour leurs signaux d'export nucléaire ou de localisation nucléaire, nous avons démontré que la toxicité de TDP-43 résulte de l'accumulation cytoplasmique de la protéine. Nos données indiquent que des formes oligomériques de haut poids moléculaire pourraient constituer les espèces toxiques. Bien que dans la drosophile la forme pleine longueur de TDP-43 humain soit métabolisée dans le cytoplasme pour générer des peptides de 25 kDa, leur surexpression dans les mouches n'est pas associée à une toxicité. Finalement, nous avons montré que les gènes des ataxines 1 et 2 étaient des modulateurs génétiques de la toxicité de TDP-43, ce qui suggère que la toxicité de TDP-43 *in vivo* pourrait résulter d'altérations de la maturation des ARN.

**Mots-clés :** drosophile, TDP-43, FTLD-U.

### ■CO04. DES RÉARRANGEMENTS RÉCURRENTS DANS DES GÈNES SYNAPTIQUES ET NEURODÉVELOPPEMENTAUX SUGGÈRENT L'EXISTENCE DE VOIES BIOLOGIQUES COMMUNES ENTRE LA SCHIZOPHRÉNIE, L'AUTISME ET LE RETARD MENTAL

A. Guilmatre (1), C. Dubourg (3), A.L. Mosca (1, 4), S. Legallic (1), G. Steel (13, 14), A. Goldenberg (5), V. Drouin-Garraud (5), V. Layet (6), A. Rosier (7), S. Briault (8), F. Bonnet-Brilhault (8), F. Laumonier (8), S. Odent (9), G. Le Vacou (1, 2), G. Joly-Helas (5), V. David (3), C. Bendavid (3), J.M. Pinoit (10), C. Henry (10), C. Impallomeni (11), E. Germano (11), G. Tortorella (11), G. Di Rosa (11), C. Barthelemy (8), C. Andres (12), L. Faivre (4), D. Valle (13, 14), T. Frebourg (1, 5), P. Saugier Veber (1, 5), D. Campion (1, 2)

(1) Inserm U614, Institut Hospitalo Universitaire, Faculté de Médecine, Université de Rouen, Rouen, France ; (2) Département de Recherche, Centre Hospitalier de Saint-Étienne-du-Rouvray, France ; (3) UMR 6061CNRS, Université de Rennes I, Rennes, France ; (4) Département de Génétique, CHU de Dijon, Dijon, France ; (5) Département de Génétique, CHU de Rouen, Rouen, France ; (6) Département de Génétique, Hôpital du Havre, Le Havre, France ; (7) Centre de Ressources Autisme de Haute Normandie, Saint-Étienne du Rouvray, France ; (8) Inserm U930, Université François-Rabelais et CHU de Tours, Tours, France ; (9) Département de Génétique, CHU de Rennes, Rennes, France ; (10) Centre de Ressources Autisme de Bourgogne, CHU de Dijon, Dijon, France ; (11) Département de Pédiatrie Médicale et Chirurgicale, CHU de Messine, Messine, Italie ; (12) Inserm U619, 37000 Tours, France ; (13) Howard Hughes Medical Institute, USA ; (14) Institute of Genetic Medicine, Johns Hopkins University School of Medicine, Baltimore, USA  
Contact : dominique.campion@univ-rouen.fr

Des études d'hybridation génomique comparative (CGH array) ont suggéré que de rares variations du nombre de copies (CNVs) à de nombreux loci seraient impliquées dans l'étiologie du retard mental (RM), de l'autisme (ASD) et de la schizophrénie (SZ). Nous avons analysé, grâce à la QMPSP (Quantitative Multiplex PCR of Short fluorescent Fragments), 28 loci candidats présentant des altérations du dosage génique dans des études de CGH array, chez 247 sujets avec RM, 260 avec ASD, 236 avec SZ ou troubles schizoaffectifs et 236 contrôles sains. Nous avons montré que la fréquence collective de CNVs à ces loci est significativement augmentée chez les patients autistes, schizophrènes et avec RM en comparaison aux contrôles ( $p=0.005$ ,  $p<0.001$  and  $p=0.001$  respectivement, test de Fisher). Ces résultats confortent l'hypothèse que des CNVs faiblement à modérément récurrents, soit transmis ou apparaissant *de novo*, sont des facteurs causaux ou contributifs pour ces maladies et montrent également que la plupart de ces CNVs, qui contiennent des gènes impliqués dans la neurotransmission ou la formation et la maintenance synaptiques, sont présents dans les 3 conditions pathologiques, suggérant l'existence de voies biologiques communes entre ces maladies neurodéveloppementales. Dans



cette étude, la significativité individuelle ( $p = 0.02$ ) a été atteinte pour l'association entre l'autisme et une délétion de 350 kb localisée en 22q11 et comprenant le gène *PRODH*. Dans une étude préalable, nous avons montré que les délétions homozygotes de *PRODH*, ainsi que la présence à l'état homozygote de mutations faux sens ayant un effet drastique sur l'activité enzymatique, sont responsables de l'hyperprolinémie de type I, une maladie récessive associant RM, autisme et épilepsie (Jacquet *et al.*, 2003, *J Med Genet*). Nous avons évalué la fréquence de ces variations génétiques dans une population contrôlée et caractérisé leur effet sur l'activité enzymatique, ce qui nous a permis d'établir des corrélations génotype/phénotype chez les patients. Nos résultats montrent la contribution des altérations du gène *PRODH* à la genèse des troubles cognitifs et psychiatriques.

**Mots-clés :** CNVs, autisme, hyperprolinémie.

#### ■CO05. PROBLÈMES ÉTHIQUES SOULEVÉS PAR L'UTILISATION EN DIAGNOSTIC DE LA TECHNIQUE DE CGH ARRAY

D. Sanlaville (1, 2), S. Julia (3), B. Keren (4), A. Labalme (1), C. Schluth-Bolard (1), D. Heron (4), M. Till (1), M. Kazes (5), A. Cambon-Thomsen (6), L. Sann (7), P. Ederly (1, 2)

(1) Service de Cytogénétique Constitutionnelle, CHU de Lyon, France ; (2) EA 4171, Université Claude Bernard, Lyon 1, France ; (3) Service de génétique, CHU de Toulouse, France ; (4) Département de génétique, Hôpital de la Pitié Salpêtrière, Paris, France ; (5) Service de soins de suite et réadaptation (SSR), CH Gériatrique des Mont d'Or, Albigny sur Saône, France ; (6) Département d'épidémiologie et de santé publique, U558, Université Paul Sabatier, Toulouse, France ; (7) Comité local d'éthique de Lyon, Lyon, France

Contact : damien.sanlaville@chu-lyon.fr

La technique de la CGH array permet d'offrir un niveau de résolution 100 fois plus important que le caryotype. Dans le cadre des pathologies constitutionnelles, elle permet de mettre en évidence 10 à 15 % de déséquilibres chromosomiques pathogènes non détectés sur le caryotype chez les patients présentant un retard mental avec ou sans syndrome malformatif. Outre son apport en diagnostic, cette technique a montré que nous sommes tous porteurs de variations du nombre de copies (CNV) au sein de notre génome. En effet, des CNV sont détectés chez la majorité des patients analysés et même chez tous les patients dès qu'un niveau de résolution de 30 kb est atteint. Lorsqu'elles sont retrouvées chez de nombreux sujets, elles sont considérées comme des polymorphismes (CNP). Néanmoins, de nouvelles données peuvent changer le statut d'un CNV de polymorphisme à pathogène, comme cela a été le cas pour les délétions 1q21. Depuis deux ans, grâce au soutien de la Direction et de l'Hospitalisation des Soins, la technique de CGH array a été implantée dans les laboratoires de cytogénétique et en 2008 environ 4 000 CGH array ont été réalisées en France. Le transfert de cette technologie à grande échelle, dans un contexte diagnostique nous a confronté à des problèmes d'ordre éthique. Nous avons pu en identifier 6 types : 1) Mise en évidence de CNV au niveau de gènes connus pour être des oncogènes comme TP53 ou BRCA1 ; 2) Détection d'un statut d'hétérozygote pour une maladie récessive par un mécanisme délétionnel ; 3) Détection d'une pathologie acquise (déséquilibre chromosomique en mosaïque dont le profil évoque une hémopathie) ; 4) Détection de CNV au niveau de gènes impliqués dans le développement de maladies multifactorielles ; 5) Diagnostic d'un statut de conductrice chez une jeune fille ; 6) Gestion des CNP qui pourraient se révéler plus tard comme pathogènes. Le principal problème est certainement celui de l'annonce non sollicitée. En effet, les patients ou les parents d'un enfant donnent leur consentement pour la recherche d'une anomalie expliquant les difficultés de l'enfant et permettant un conseil génétique. Doit-on informer les patients des prédispositions à des maladies multifactorielles, de leur statut d'hétérozygote pour telle ou telle maladie récessive, de la mise en évidence d'une pathologie acquise ou autre que celle pour laquelle le patient ou ses parents ont signé le consentement ? De même, doit-on rendre tous les CNV mis en évidence ? Avons-nous les moyens de suivre la littérature concernant l'évolution de statut des CNV ? Les réflexions menées avec le comité local d'éthique de Lyon nous ont donné de nombreuses pistes et notre réflexion nous a amené à modifier nos consentements et à exiger une consultation de génétique avant toute prescription de CGH array. Nous présentons l'état de nos réflexions sur ces questions qui restent ouvertes et qui méritent une réflexion plus large en nous appuyant sur des cas concrets provenant de plusieurs centres.

**Mots-clés :** CGH array, CNV, polymorphismes.

#### ■CO06. INTÉRÊT DU CHIEN COMME MODÈLE SPONTANÉ EN GÉNÉTIQUE MÉDICALE HUMAINE

C. André, A. Grall, M. Gillard, A. Vaysse, M. Le Gallo, L. Herbin, C. de Brito, N. Foyart, S. Planchais, L. Lagoutte, E. Lafont, C. Hitté, F. Galibert

Institut de Génétique et Développement de Rennes – UMR6061, CNRS/ Université de Rennes 1, Rennes, France

Contact : catherine.andre@univ-rennes1.fr

L'espèce canine, avec plus de 400 races correspondant à des isolats génétiques constitue un modèle particulièrement attractif pour identifier des gènes responsables, ou de prédisposition aux nombreuses maladies génétiques homologues entre l'homme et le chien. En effet, depuis 12000 ans, l'homme exerce sur le chien une intense sélection, visant à sélectionner de nombreux traits phénotypiques d'intérêts et spécifiques à chaque race (aptitudes, performances, beauté, comportements...). Ces pratiques ont entraîné la co-ségrégation d'allèles délétères et toutes les races sont aujourd'hui affectées par des maladies génétiques mendéliennes ou complexes. Ainsi, nous avons développé des outils de génomique canines (cartes, séquences, marqueurs, outils statistiques et BioBanque canine -CaniDNA-) maintenant utilisés pour des approches d'analyses d'association et de liaison génétique. Seront exposées (i) des projets sur des maladies rares chez l'homme, mais fréquentes et spécifiques d'une race canine (sarcome histiocytaire, ichtyoses...), (ii) des projets sur des maladies fréquentes dans plusieurs races, (épilepsies, Rétinites Pigmentaires) et (iii) des projets sur des traits fixés. (i) Dans le premier cas, les analyses consistent à réaliser des analyses d'association au sein d'une race donnée. Par cette approche, avec seulement 20 cas et 20 contrôles, nous avons récemment déterminé un nouveau gène ( $p$ -val corrigé Bonferroni  $4e-04$ ) dans lequel nous avons identifié une mutation, responsable d'une ichtyose chez le Golden Retriever ; la recherche de l'implication de ce nouveau gène chez des patients atteints d'ichtyose est en cours. (ii) Le modèle canin vaut également par sa capacité à décomposer l'hétérogénéité génétique observée en génétique humaine. Par exemple, près de cent races de chiens sont atteintes de Rétinites Pigmentaires, mais à une RP donnée, dans une race donnée correspondra une cause génétique unique. Il en est de même pour l'épilepsie ; ainsi, les analyses génétiques de ces affections dans différentes races canines représente une importante source de gènes candidats pour l'homme. (iii) Le chien constitue aussi un modèle unique pour l'étude de traits et d'affections complexes par la possibilité de combiner plusieurs races présentant des phénotypes extrêmes. Par une approche de méta-analyse incluant plusieurs races, il a été montré que la longueur et la texture des poils résultent de la combinaison allélique de seulement trois gènes. En cancérologie, cette approche est également prometteuse, puisque dans certaines races fortement prédisposées à différents cancers tels que les mélanomes, gliomes, ostéosarcomes, les mêmes approches génétiques sont applicables. L'identification de gènes de prédisposition et d'altérations génétiques ou épigénétiques permettra de proposer de nouveaux marqueurs pronostiques et cibles thérapeutiques potentielles au delà desquelles le chien s'avère également pertinent pour des essais pré-cliniques d'intérêt pour l'homme.

**Mots-clés :** chien, modèle, génétique.

## B. Session plénière 2

#### ■CO07. EFFET DES MUTATIONS NARP ET MELAS SUR LA SÉGRÉGATION DE L'ADN MITOCHONDRIAL AU COURS DU DÉVELOPPEMENT EMBRYO-FŒTAL HUMAIN

S. Monnot (1), N. Gigarel (2), N. Frydman (3), P. Bulet (2), S. Gobin (2), L. Hesters (3), B. Funalot (2), J. Martinovic (4), M. Rio (1, 2), A.S. Lebre (1, 2), A. Rotig (1), R. Frydman (3), A. Benachi (5), A. Munnich (1, 2), J.-P. Bonnefont (1, 2), J. Steffann (1, 2)

(1) Université Paris-Descartes, Faculté de Médecine ; Unité INSERM U781, Institut de Recherche Necker-Enfants Malades, Paris, France ; (2) service de génétique médicale, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France ; (3) Service de gynécologie et médecine de la reproduction, Hôpital Antoine-Béclère, Clamart, France ; (4) Service d'histo-embryologie cytogénétique ; (5) Maternité, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France

Contact : sophie.monnot@inserm.fr

Les mutations de l'ADN mitochondrial (ADNmt) sont responsables de nombreuses maladies graves d'hérédité maternelle, avec un risque élevé de transmission à la descendance. Les mutations les plus fréquentes sont la mutation m.3243A>G (syndrome MELAS, gène impliqué dans la traduction des ARNm mitochondriaux) et la mutation m.8993T>G (syndrome de Leigh/NARP, gène de la sous-unité 6 du complexe V de la chaîne respiratoire). Les facteurs qui déterminent la ségrégation des molécules mutantes et sauvages d'ADNmt durant le développement



embryo-foetal humain sont encore peu connus. Grâce à notre activité de diagnostic pré-implantatoire (DPI) et prénatal (DPN), nous avons mesuré les taux d'hétéroplasmie de ces deux mutations dans différents types de cellules isolées et tissus provenant de 41 embryons âgés de 3 à 5 jours (J3-J5) et de 27 fœtus âgés de 10 à 30 semaines, issus de 17 femmes mutées. Seuls 80 % des embryons et fœtus ont hérité de la mutation maternelle, quelle que soit sa nature. Le pourcentage d'hétéroplasmie, mesuré dans différents tissus somatiques maternels, n'est pas prédictif des taux observés dans les embryons ni dans les fœtus. Au stade J3-J5 du développement embryonnaire, le taux d'ADN mutant est stable dans les différents blastomères d'un même embryon, quelle que soit la mutation. La répartition des taux d'hétéroplasmie embryonnaires semble par contre varier selon la mutation. Ainsi, les embryons NARP (n = 3) sont homoplasmiques sauvages (<2 %) ou mutants (>95 %), en accord avec un « bottleneck » très étroit. Les embryons MELAS (n = 38) sont sauvages (<2 %) ou hétéroplasmiques, avec une hétérogénéité importante du pourcentage de mutation allant de 5 à 80 %, suggérant une ségrégation aléatoire de l'ADN muté au cours de l'ovogenèse maternelle, avec sélection négative envers les cellules germinales porteuses d'un taux élevé de mutation MELAS. Après 8 semaines de grossesse, les taux d'ADNmt mutant sont stables jusqu'au terme et sont répartis uniformément dans les différents tissus foetaux testés, indépendamment de la nature de la mutation. Par contre, les pourcentages d'hétéroplasmie NARP et MELAS sont variables d'un fœtus à l'autre. Des taux supérieurs à 80 % ne sont observés que dans le cas de la mutation NARP (5/14). Au sein d'un tissu foetal donné (trophoblaste ou amniocytes), il existe une importante variation intercellulaire des taux d'hétéroplasmie MELAS, dont l'amplitude semble fonction du taux moyen d'hétéroplasmie dans le tissu considéré. Ces données ont un impact direct sur les procédures de DPI/DPN. Elles indiquent également l'existence d'une sélection négative durant la maturation des cellules germinales porteuses de plus de 80 % de mutation MELAS. Cette sélection ne semble pas s'exercer pour la mutation NARP. Cette observation est cohérente avec l'existence en post-natal, d'une sélection négative dans les tissus à renouvellement rapide pour la mutation MELAS, absente pour la mutation NARP.

**Mots-clés :** ADN mitochondrial, MELAS, NARP.

■ **CO08. LE CIL PRIMAIRE RÉGULE L'ADIPOGÈNE PRÉCOCE**  
V. Marion (1), C. Stoetzel (1), D. Schlicht (1), E. Flori (2), J.M. Danse (1), J.L. Mandel (3), H. Dollfus (1)

(1) *Laboratoire de génétique médicale, Strasbourg, France*; (2) *Service de Cytogénétique, Hôpital de Hautepierre, Strasbourg, France*; (3) *Institut de génétique et de biologie moléculaire et cellulaire, Illkirch, France*

Contact : [Vincent.Marion@medecine.u-strasbg.fr](mailto:Vincent.Marion@medecine.u-strasbg.fr)

L'obésité est un problème de santé public aux origines complexes. La compréhension des mécanismes régulateurs impliqués dans le délicat équilibre dans le control du poids est d'importance capitale en raison des complications très graves associées à l'obésité. Les maladies héréditaires rares causant une obésité représentent une approche intéressante pour étudier les fonctions des gènes dont les formes mutées mènent à l'obésité. Une de ces maladies génétiques définie par une obésité majeure est le syndrome de Bardet Biedl (SBB) et a été associé à des défauts dans le complexe du cil primaire/centrosome. Nous avons étudié les mécanismes de l'obésité associée au SBB en examinant le rôle des protéines BBS dans la différenciation adipogénique. Nous avons ainsi trouvé une surexpression des gènes ciliaires du BBS pendant la phase précoce de la différenciation adipogénique dans des cellules en culture et accompagné de la formation transitoire d'un cil primaire de type 9+2 sur les préadipocytes portant les récepteurs pour les voies de signalisation de Wingless et Hedgehog. L'inhibition de l'expression de protéines de BBS empêche la formation du cil et active les voies pro-adipogéniques impliquant GSK3 et PPAR gamma. De plus, grâce à l'utilisation d'adipocytes dérivés des fibroblastes cutanés de patients SBB, nous avons pu mettre en évidence une accumulation accrue dans les adipocytes mutés pour les protéines BBS qui étaient associées à des niveaux plus élevés de leptine sécrétée comparé aux adipocytes issus de fibroblastes controls. Nos résultats semblent indiquer une double origine de l'obésité associée au SBB, l'origine du système nerveux central combinée avec une origine périphérique qui serait une adipogénèse accrue.

**Mots-clés :** obésité, syndrome de Bardet-Biedl, ciliopathies.

■ **CO09. LES NEUROPATHIES OPTIQUES RÉCESSIVES AUTOSOMIQUES (NORA) NON SYNDROMIQUES : UNE RECONNAISSANCE LONGTEMPS ATTENDUE**

J. Kaplan (1), S. Hanein (1), S. Gerber (1), J.L. Dufier (2), O. Roche (2), A. Munnich (1), J.M. Rozet (1)

(1) *INSERM U781 et Université Paris Descartes, CHU Necker-Enfants Malades, Paris, France*; (2) *Service d'Ophthalmologie, CHU Necker-Enfants Malades, Paris, France*  
Contact : [josseline.kaplan@inserm.fr](mailto:josseline.kaplan@inserm.fr)

Les neuropathies optiques héréditaires désignent un ensemble de maladies hétérogènes caractérisées par une perte partielle ou totale des cellules ganglionnaires de la rétine. Les neuropathies optiques récessives autosomiques (NORA) constituent, contrairement aux neuropathies optiques dominantes (NODA), un groupe d'affections cliniquement hétérogènes. Rarement isolées, elles sont le plus souvent multisystémiques. Originellement, la forme récessive autosomique isolée est décrite comme congénitale ou apparaissant très précocement dans la petite enfance et atteignant les fibres optiques maculaires et périphériques. L'existence de cette forme rare d'atrophie optique a longtemps été controversée. Moller demande en 1992 qu'un pedigree bien documenté soit publié pour être convaincu de l'existence de cette entité. Nous avons relevé ce défi en 2003 en rapportant la localisation du 1<sup>er</sup> gène responsable en 8q21 (OPA6) par l'étude d'une famille française consanguine et multiplex rassemblant 4 germains atteints d'atrophie optique strictement isolée. La révélation tardive de l'affection dans cette famille était très différente de la description clinique princeps. L'étude d'autres familles a apporté dès cette date la preuve de l'hétérogénéité clinique et génétique des NORA. Plus récemment, un tour de génome a été effectué dans une 2<sup>e</sup> famille, algérienne, multiplex et consanguine (5/11 germains atteints). Une unique région d'homozygotie a été reconnue sur le chromosome 11(OPA7) et une mutation non sens homozygote ségrégeant avec la maladie a été identifiée dans le gène TMEM126A. Cette mutation a été retrouvée dans trois autres familles indépendantes originaires des trois pays du Maghreb. L'expression clinique de la neuropathie optique était similaire dans les 4 familles et conforme à la description princeps des NORA. L'analyse des haplotypes au locus OPA7 a objectivé un déséquilibre de liaison avec un haplotype commun aux 4 familles, suggérant que la mutation relevait d'un effet fondateur vieux de 2 500 ans. Nous avons montré que le gène TMEM126A est exprimé de façon ubiquitaire et qu'il code une protéine mitochondriale. De ce fait, une exploration à la recherche de manifestations extra-oculaires a été effectuée chez 2 patients de 2/4 familles (une femme de 37 ans, un garçon de 11 ans) : bilans biochimiques et métaboliques, étude de la chaîne respiratoire sur fibroblastes, échographie cardiaque, audiométrie, IRM cérébrale avec recherche d'un pic de lactate. Ces examens étaient normaux chez les 2 patients à l'exception de quelques anomalies mineures sans traduction clinique mais caractéristiques d'une pathologie mitochondriale. La reconnaissance d'au moins deux gènes de NORA nous permet une confirmation éclatante de l'existence de ces neuropathies optiques non-syndromiques. L'identification du gène TMEM126A conforte le postulat selon lequel les neuropathies optiques héréditaires, toutes formes confondues, résultent d'un dysfonctionnement mitochondrial.

**Mots-clés :** Neuropathie optique isolée, hétérogénéité génétique, mitochondrie.

■ **CO10. SYNDROME DE KALLMANN DE MORSIER : MONOGÉNIQUE OU OLIGOGÉNIQUE ?**

C. Dode (1), J.P. Hardelin (2)

(1) *Institut Cochin, Département de génétique et développement, INSERM U567, Paris*; (2) *Institut Pasteur, Département de neuroscience, INSERM UMRS587, Paris, France*

Contact : [catherine.dode@inserm.fr](mailto:catherine.dode@inserm.fr)

Le syndrome de Kallmann associe un hypogonadisme hypogonadotrope, dû à un déficit en gonadolibérine (GnRH), et une anosmie (ou hyposmie) avec aplasie des bulbes olfactifs. À ces deux signes s'ajoutent parfois d'autres anomalies plus ou moins isolées. Ce syndrome, cliniquement et génétiquement hétérogène, atteint 1/8 000 garçons, et les filles avec une fréquence 3 à 5 fois moindre. Plusieurs modes de transmission ont été décrits dans les formes familiales : récessif lié au chromosome X, autosomique dominant, autosomique récessif. Cependant, la plupart des cas sont sporadiques, ce qui complique l'identification des gènes responsables de la maladie. Cinq gènes sont actuellement connus. Les deux premiers identifiés, KAL1 et FGFR1, l'ont été grâce à l'analyse de délétions chromosomiques chevauchantes chez de rares malades ayant un syndrome « de gènes contigus ». Environ 8 % des patients KS ont des mutations de KAL1 (forme liée à l'X), souvent associées à des syncynésies controlatérales (plus de 2/3 des cas) ou à une agénésie rénale (1/3 des cas). Environ 10 % des patients ont des mutations de FGFR1 (forme autosomique dominante à pénétrance incomplète ou mutations *de novo*), souvent associées à une fente labiale ou palatine (1/4 des cas) ou à des dents manquantes. Le produit du gène KAL1 est une protéine de la matrice extracellulaire impliquée dans la signalisation *via* FGFR1. L'invalidation chez la souris des gènes codant pour le récepteur PROKR2 de la prokinétine (récepteur couplé aux protéines G) et son ligand PROK2 avait montré, dans les deux cas, des anomalies des bulbes olfactifs associées à des signes d'hypogonadisme. La recherche de mutations dans ces gènes chez des malades, a

mis en évidence diverses mutations « perte de fonction » du récepteur ou du ligand chez environ 10 % d'entre eux. Une approche similaire a été utilisée pour l'identification de mutations de FGF8 chez environ 2 % des patients. Au total, à peine 30 % des patients atteints du syndrome de Kallmann (en dehors du syndrome CHARGE) ont une mutation dans un des gènes connus. Certaines observations font penser qu'à côté des cas de transmission monogénique de la maladie, il existe aussi des transmissions digéniques ou oligogéniques : 1) les souris hétérozygotes Prokr2 +/- et Prok2 +/- ont un phénotype normal, alors que la majorité des patients porteurs de mutations de PROKR2 ou PROK2 sont hétérozygotes ; 2) des mutations données dans ces gènes sont trouvées soit à l'état hétérozygote, soit à l'état homozygote, chez des patients sans différence apparente de phénotype ; 3) chez quelques patients, des mutations ont été trouvées dans plusieurs gènes. Le mode de transmission oligogénique pourrait expliquer la proportion élevée des cas sporadiques. Enfin, chez certains individus, le syndrome de Kallmann s'accompagne d'anomalies cliniques multiples définissant le syndrome CHARGE. Cette maladie résulte de néomutations du gène CHD7 dans environ 2/3 des cas.

**Mots-clés :** FGFR1, PROKR2, oligogénisme.

## C. Session plénière 3

**■CO11. TRAITEMENT DE LA PROGERIA PAR L'ASSOCIATION DE PRAVASTATINE ET D'ACIDE ZOLÉDRONIQUE : BILAN À 1 AN**  
S. Sigaudy (1), P. Bourgeois (1), R. Combalat (2), E. Jouve (2), N. Andre (3), J.C. Gentet (3), P. Roll (1, 4), P. Cau (1, 4), J. Micallef (2), A. De Sandre-Giovannoli (1, 4), N. Levy (1, 4)

(1) Département de génétique médicale et biologie cellulaire, Hôpital Timone Enfant, Marseille, France ; (2) CPCET, Hôpital Timone, Marseille, France ; (3) Service d'oncologie pédiatrique, Hôpital Timone Enfant, Marseille, France ;

(4) INSERM UMR\_S910, Faculté de Médecine de La Timone, Marseille, France

Contact : [sabine.sigaudy@ap-hm.fr](mailto:sabine.sigaudy@ap-hm.fr)

La Progeria est une affection rare, liée à une mutation dominante *de novo* du gène LMNA et affectant un produit spécifique de ce gène : la protéine Lamine A. Le tableau clinique est caractérisé par un vieillissement prématuré et accéléré. Les enfants décèdent principalement d'infarctus du myocarde ou d'accidents vasculaires cérébraux à un âge moyen de 13 ans, conséquences majeures d'une artériosclérose sévère et disséminée. L'incorporation de la Lamine A dans la lamina nucléaire nécessite une maturation post-traductionnelle effectuée sur un précurseur, la Prélamine A, incluant une étape de prénylation. Le groupe prényl est normalement éliminé à la fin du processus de maturation. La Prélamine A mutée reste anormalement et stablement prénylée et s'accumule dans les cellules où elle exerce des effets toxiques sur la structure et la fonction nucléaires. Cet essai thérapeutique utilise deux molécules déjà commercialisées, l'acide zolédronique et la pravastatine, visant à diminuer le niveau de prénylation de la Progerine au sein des cellules. Il s'agit d'un essai clinique de phase II, monocentrique, prospectif, en ouvert. Les patients inclus présentent tous une mutation de LMNA responsable de l'accumulation de prélamine prénylée. Le traitement consiste en l'administration de Pravastatine : Vasten® (Sanofi-Aventis) 10 mg/jour et de Zolédronate (acide zolédronique) : Zométa® (Novartis) sous la forme de perfusions par paliers de dose jusqu'à la dose de 0,05 mg/kg administrée tous les 1,5 à 3 mois. La durée totale de l'étude est de 3 ans avec 2 ans de traitement et 1 an surveillance. Notre objectif principal est d'évaluer la tolérance et l'efficacité à 2 ans de l'association Vastenâ / Zométaâ sur la prise de poids, la taille, et la densité minérale osseuse chez des enfants atteints de Progeria de Hutchinson Gilford. Depuis le début de l'étude en octobre 2008, 10 patients sont inclus dans l'étude sur les 15 initialement prévus. 3 sont traités depuis plus d'un an, 3 autres depuis plus de 6 mois. Nous présentons les résultats intermédiaires de l'étude sur la tolérance et l'efficacité du traitement chez les 6 patients traités de puis plus de 6 mois.

**Mots-clés :** progeria, traitement, essai.

**■CO12. NOT SO UNIQUE AFTER ALL: HUMAN AND OTHER PRIMATES ADAPT WITH THE SAME GENES**

D. Enard (1), F. Depaulis (2), H. Roest Crolius (1)

(1) DYOGEN Lab, CNRS UMR8541, École Normale Supérieure, Paris, France ; (2) Laboratoire Écologie et Évolution, CNRS UMR7625, École Normale Supérieure, UPMC Paris Universitatis, Paris, France

Contact : [enard@biologie.ens.fr](mailto:enard@biologie.ens.fr)

The extent to which genes positively selected in human may also present adaptive changes in other primates currently remains unknown. Answering

this question is important because it would help separate human specific phenotypic changes such as dietary habits or cognitive abilities from those that might be shared among multiple primates. Here we analysed heterozygous Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs) in the genomes of single human, chimpanzee, orangutan and macaque individuals using a new method aiming to identify selective sweeps genome wide. We found an unexpectedly high number of orthologous genes exhibiting signatures of a selective sweep simultaneously in several primate species, suggesting the presence of hotspots of positive selection. These include genes involved in a diverse array of functions, notably immunity, gametogenesis and brain development. We provide extensive evidence that the co-occurrence of positive selection in human and in other primates at the same genetic loci may be a relatively common phenomenon. The study of positive selection in human alongside other primates is a powerful tool to outline genes that were positively selected uniquely during recent human evolution.

**Mots-clés :** positive selection, human, primates.

**■CO13. TRMU, UN NOUVEAU GÈNE D'ATTEINTE HÉPATIQUE DE L'ENFANT ASSOCIÉE À UNE ANOMALIE DE TRADUCTION DES PROTÉINES CODÉES PAR L'ADN MITOCHONDRIAL**

M. Beinat (1), O. Elpeleg (2), A.M. Mager-Heckel (3), I. Tarassov (3), A. Saada (2), A. Munnich (1), A. Rötig (1)

(1) Université Paris Descartes, INSERM U781, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France ; (2) Department of Human Genetics and Metabolic Diseases, Hadassah, the Hebrew University Medical Center, Jerusalem, Israel ; (3) UMR 7156, Centre National de la Recherche Scientifique – Université de Strasbourg, France

Contact : [marine.beinat@inserm.fr](mailto:marine.beinat@inserm.fr)

Les maladies mitochondriales sont caractérisées par une très grande hétérogénéité clinique et génétique et pour seulement 20 % d'entre elles le gène responsable de la maladie a pu être identifié. Parmi notre série de patients atteints de maladies mitochondriales, nous avons identifié un groupe cliniquement homogène de patients présentant une atteinte hépatique néonatale ou apparaissant dès les premières semaines de vie, et un déficit de la chaîne respiratoire touchant plusieurs complexes. Une partie de ces patients présentent une déplétion de l'ADN mitochondrial (ADNmt) associée à des mutations de gènes DGUOK, POLG ou MPV17. Une déplétion de l'ADNmt a été exclue pour l'autre partie de ces patients et l'exclusion de mutation ponctuelle ou de délétion de l'ADNmt oriente vers une anomalie de traduction ou de transcription. Afin d'identifier un ou des gènes responsables de ce type de maladie mitochondriale nous avons réalisé une étude de cartographie génétique chez les enfants nés de parents consanguins et une étude de transcriptome pour tous les patients. Grâce à l'étude de cartographie par homozygotie, nous avons identifié des mutations dans le gène TRMU, codant une tRNA 5-méthylaminométhyl-2-thiouridylate méthyltransférase mitochondriale, enzyme de modification spécifique des ARNt mitochondriaux. Les mutations TRMU conduisent à une diminution du niveau de 2-thiouridylation des ARNt mitochondriaux et à un déficit de la traduction mitochondriale. Parmi notre série de 16 patients, deux seulement présentent des mutations de ce gène. L'étude comparée du transcriptome pour l'ensemble des 16 patients n'a pas permis d'identifier un transcrite sous-exprimé et commun à plusieurs patients, et qui pourrait être le gène responsable de la maladie. En revanche, elle a permis d'une part de montrer que les deux patients avec mutation TRMU avaient un profil d'expression similaire et d'autre part de détecter un groupe de six patients avec un profil d'expression des protéines de la traduction mitochondriale très homogène et légèrement différent de celui des deux patients avec mutation TRMU. Les gènes impliqués dans la maturation des ARNt mitochondriaux deviennent donc les premiers gènes candidats à tester et leur analyse est en cours.

**Mots-clés :** mitochondrie, traduction, hépatopathie.

**■CO14. ANALYSE MOLÉCULAIRE DU GÈNE DE LA GLUCO-CÉRÉBROSIDASE (GBA) DANS DES FAMILLES EUROPÉENNES ET NORD-AFRICAINES ATTEINTES DE LA MALADIE DE PARKINSON**

C. Condroyer (1, 2), C. Dupuits (1, 2), M. Anheim (1, 2), A. Troiano (1, 2), S. Lesage (1, 2), A. Durr (1, 2, 3), A. Brice (1, 2, 3)

(1) INSERM, UMR\_S75 (ex UMR\_S679), Paris, France ; (2) Université Pierre-et-Marie-Curie, Paris 6, UMR\_S975 CRicm, Pitié-Salpêtrière, Paris, France ; (3) AP-HP, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Département de génétique et cytogénétique, Paris, France

Contact : [alexis.brice@upmc.fr](mailto:alexis.brice@upmc.fr)

INTRODUCTION. La maladie de Parkinson (MP) est une maladie neurodégénérative, caractérisée par la bradykinésie, la rigidité et le tremblement de repos, dus à la dégénérescence des neurones dopaminergiques de



la voie nigro-striale. Des mutations homozygotes dans le gène de la Glucocérébrosidase (GBA) sont responsables d'un désordre lysosomal, la maladie de Gaucher. Des études antérieures ont montré que des mutations hétérozygotes de ce gène étaient associées à la susceptibilité à MP. BUT DU TRAVAIL Évaluer la fréquence de mutations du gène GBA dans les formes familiales et cas isolés de MP, d'origine européenne et nord-africaine et chez des contrôles. POPULATIONS ET MÉTHODES. 1) Patients et contrôles : • 1 264 cas index européens et nord-africains atteints de MP ont été étudiés : – Européens : n = 1 147, âge de début de la maladie 48,7 ± 13 ans (12-86), 676M/471F, 506 cas familiaux/641 cas isolés – Nord-Africains : n = 117, âge de début de la maladie 50,5 ± 14 ans (12-78), 66M/51F, 22 cas familiaux/95 cas isolés • 390 contrôles sains – Européens : n = 246, âge à l'examen 57,9 ± 12 ans (31-85), 140M/106F – Nord-Africains : n = 144, âge à l'examen 48,9 ± 15 ans (19-84), 54M/81F 2) Méthodes : Séquençage du gène GBA en 3 fragments sur séquenceur automatique (ABI 3730, Applied Biosystems) et analyse des données avec le programme SeqScape v 6.2. RÉSULTATS. 1) Nous avons identifié : – 20 variations potentiellement pathogéniques : N370S, L444P, D409H, G377S, R131C, R329C, R463H, T323I, S125N, F246L, E388K, G80R, I119L, P452L, G202R, A456P, V460V, G113A, K(-27)R, del263-1317, dont 13 sont connues et 7 nouvelles, portées par 68 cas européens et 6 d'origine nord-africaine – 59 porteurs sont hétérozygotes, 3 sont homozygotes, 8 sont des hétérozygotes composites et 4 ont des complexes alléliques. 2) La fréquence des mutations est : chez les Européens, 5,7 % dans les formes familiales, 4,5 % chez les cas isolés vs 0,4 % chez les contrôles (p<0,001) ; chez les Nord-Africains, 5,1 % pour l'ensemble des patients et 0 % chez les contrôles (p<0,001). – Les mutations de GBA sont aussi fréquentes chez les cas européens que les cas nord-africains et aussi dans les formes familiales que les cas isolés, du moins chez les Européens. – Le risque de MP associé aux mutations de GBA, mesuré par l'odds ratio est de 21.43 (IC : 2,96-154,92) pour l'ensemble des 2 populations étudiées. 3) Les études préliminaires de corrélation génotype/phénotype ne montrent pas de différences significatives dans les signes cliniques entre les porteurs et les non porteurs de mutations GBA, ni entre les porteurs de mutations hétérozygotes et ceux porteurs de plusieurs mutations. CONCLUSION Nous avons montré par cette première grande étude que les mutations de GBA sont un facteur de risque important pour MP, en Europe et plus particulièrement en France, et en Afrique du Nord, aussi bien dans les formes familiales que les formes isolées. Les patients porteurs de mutations de GBA ressemblent cliniquement aux patients non porteurs.

**Mots-clés :** Parkinson, GBA, facteur de susceptibilité.

#### ■CO15. ÉTUDE PGL.NET : ANALYSE DES GÈNES SDHB, SDHC ET SDHD DANS UNE COHORTE DE 445 PATIENTS PORTEURS DE PARAGANGLIOMES

N. Burnichon (1, 2, 3, 4), V. Rohmer (5), L. Amar (2, 3, 4, 6), P. Herman (7), S. Leboulleux (8), V. Darrouzet (9), P. Niccoli (10), D. Gaillard (11), G. Chabrier (12), F. Chabolle (13), I. Coupier (14), P. Thieblot (15), P. Lecomte (16), J. Bertherat (4, 17), N. Wion-Barbot (18), A. Murat (19), A. Vénisse (1), P.F. Plouin (2, 3, 4, 6), X. Jeunemaitre (1, 2, 3, 4), A.P. Gimenez-Roqueplo (1, 2, 3, 4) for the PGL.NET network  
(1) Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Hôpital Européen Georges Pompidou, Département de Génétique, Paris, France ; (2) INSERM, U772, Paris, France ; (3) Collège de France, Paris, France ; (4) Université Paris Descartes, Faculté de Médecine, Paris, France ; (5) Service d'Endocrinologie, CHU Angers, France ; (6) Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Hôpital Européen Georges Pompidou, Unité d'Hypertension Artérielle, Paris, France ; (7) Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Hôpital Lariboisière, Service d'otorhinolaryngologie et de chirurgie de la face et du cou, Paris, France ; (8) Institut Gustave Roussy, Service de Cancérologie Endocrinienne, Villejuif, France ; (9) Service

d'otorhinolaryngologie, Hôpital Pellegrin, CHU de Bordeaux, France ; (10) Assistance Publique-Hôpitaux de Marseille, Service d'Endocrinologie, CHU de La Timone, Marseille, France ; (11) Service de génétique, IFR53, UFR de médecine, CHRU de Reims, France ; (12) Service de Médecine Interne et Nutrition, Hôpital de Hautepierre, CHU de Strasbourg, France ; (13) Service d'otorhinolaryngologie, Hôpital Foch, Suresnes, France ; (14) Service de génétique médicale, Hôpital Arnaud-de-Villeeneuve, CHU de Montpellier, France ; (15) Service d'Endocrinologie, Hôpital Gabriel Montpied, CHU de Clermont-Ferrand, France ; (16) Service d'Endocrinologie, Hôpital Bretonneau, CHU de Tours, France ; (17) Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Hôpital Cochin, Service des Maladies Endocriniennes et Métaboliques, Paris, France ; (18) Service d'Endocrinologie, CHU Albert-Michallon, Grenoble, France ; (19) Service d'Endocrinologie, Hôpital de l'Hôtel-Dieu, CHU de Nantes, France

Contact : nelly.burnichon@inserm.fr

Les paragangliomes (PGL) sont des tumeurs rares, qui se développent aux dépens du tissu paraganglionnaire. Ces tumeurs peuvent être bénignes ou malignes, sécréter ou non des catécholamines. Elles peuvent être localisées au niveau de la médullasurrénale (elles sont alors appelées phéochromocytomes, PH), dans la région thoraco-abdomino-pelvienne (PGL TAP) ou bien au niveau 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. Afin de mieux préciser les indications du diagnostic génétique de PGL/PH et de définir des recommandations pour mener à bien le génotypage, nous avons mené une étude sur 445 patients porteurs de PGL de la tête et du cou et/ou de TAP PGL, recrutés durant 5 ans via les 20 centres de références français du réseau PGL.NET. Ont été exclus de cette étude : les patients porteurs d'un phéochromocytome unique sans autre localisation ni histoire familiale de PGL/PH ; les patients atteints de maladie de Von Hippel Lindau et de néoplasie endocrinienne multiple de type 2. Pour chaque patient, une recherche de mutation des gènes de prédisposition a été réalisée par séquençage direct des gènes SDHB, SDHC et SDHD. Le génotypage a été complété systématiquement par une recherche de grands réarrangements par les techniques QMPSF (quantitative multiplex PCR of short fluorescent fragments) et MLPA (Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification). Une mutation sur l'un des gènes SDHB, SDHC ou SDHD a été identifiée chez 220 patients par séquençage direct et chez 22 patients (9,1 %) par QMPSF et MLPA. Ainsi 242 (54,4 %) patients étaient porteurs de mutations : 130 sur SDHD, 96 sur SDHD et 16 sur SDHC. Les patients porteurs de mutations étaient plus jeunes et présentaient plus souvent une forme multiple ou maligne de la maladie que les patients sans mutation. Un PGL de la sphère ORL était présent chez 97,7 % des SDHD-mutés, 87,5 % des SDHC-mutés mais seulement chez 42,7 % des SDHB-mutés. Une localisation thoraco-abdomino-pelvienne était retrouvée chez 56,3 % des porteurs de mutation sur le gène SDHB, 12,3 % sur le gène SDHD et 12,5 % sur le gène SDHC. Une forme multiple de PGL était diagnostiquée chez 66,9 % des SDHD-mutés et une forme maligne a été retrouvée chez 37,5 % des SDHB-mutés, 3,1 % des SDHD-mutés mais aucune parmi les SDHC-mutés. En conclusion, il apparaît qu'une recherche de mutation est indiquée chez l'ensemble des patients porteurs de PGL à l'exception des porteurs de PGL tympaniques uniques. Notre étude a permis la mise en place d'un algorithme, destiné aux généticiens et aux laboratoires de diagnostic, permettant de cibler la recherche de mutation en fonction de critères cliniques simples présentés par les patients au moment du diagnostic. Par ailleurs, nous recommandons de procéder à la recherche de grande délétion par QMPSF ou MLPA lorsque le séquençage direct s'avère négatif.

**Mots-clés :** paragangliomes, SDHB, SDHC, SDHD, diagnostic moléculaire.

## 3

### ATELIER

#### Outils bioinformatiques pour les généticiens

#### ■CO16. ATLAS DE GÉNÉTIQUE DES CANCERS ENCYCLOPÉDIE/JOURNAL/BASE DE DONNÉES EXPERTISÉE SUR INTERNET : [HTTP://ATLASGENETICSONCOLOGY.ORG](http://atlasgeneticsoncology.org)

J.L. Huret (1, 2), M. Ahmad (1), M. Arsaban (1), A. Bernheim (3), M. Cordon (1), I. Dabin (1), M.C. Jacquemot (4), M. Labarussias (1), A. Malo (1), F. Vigié (1, 5), S. Yau Chun Wan (1), A. Zasadzinski (4), Ph. Dessen (3)

(1) « Atlas in Poitiers » ; (2) Genetics, Dept Medical Information, University and Hospital of Poitiers, France ; (3) Genome and cancers, FRE 2939 CNRS-Institut Gustave Roussy, Villejuif, France ; (4) INIST-CNRS, Nancy, France ; (5) Cytogenetics, CHU Hôtel Dieu, Paris, France  
Contact : j.l.huret@chu-poitiers.fr

Problématique : Le pronostic d'une leucémie dépend des gènes impliqués : médiane de survie de 3 mois en cas d'inv(3) versus 95 % de patients guéris en cas de dic(9;12). Or, les traitements dépendent de la gravité de la



maladie. Mais si certaines pathologies sont fréquentes, d'autres sont rares (1 seul cas publié), en particulier pour certaines sous-entités cytogénétiques de leucémies... et il y a plus de 650 sous types leucémies ! De 2 000 à 9 000 gènes sont peut être impliqués dans le cancer, et 25 000 nouvelles publications concernant la génétique des cancers chez l'homme ont été ajoutées en 2008 sur PubMed. Ainsi, même le meilleur spécialiste ne peut connaître tout ce qu'il devrait pourtant connaître. Il est donc essentiel que cette masse de savoirs soit à disposition de quiconque, soignant comme chercheur. Hypothèse : Pour cela il fallait créer une base de données sur internet. Etat des lieux : L'Atlas est un journal/encyclopédie/base de données consacrée aux gènes, entités cytogénétiques ou cliniques du cancer, et maladies héréditaires à risque accru de cancer. Il est le résultat de l'effort collectif de cliniciens et chercheurs, au service de tous, y compris enseignants et étudiants. Objectifs : L'Atlas participe au projet génome et aux recherches en épidémiologie des cancers. L'Atlas est au carrefour de la recherche, de l'enseignement universitaire et post-universitaire (université médicale virtuelle, formation médicale continue) et de la télémédecine (aide au diagnostic). Il contribue à la « meta-médecine », médiation entre le flux débordant d'informations apporté par la communauté scientifique d'une part, et le médecin praticien d'autre part. Il aide le cytogénéticien dans son diagnostic et le clinicien dans son choix thérapeutique. L'Atlas est en accès libre, gratuit, ce qui est crucial pour nos collègues du tiers monde. Spécificité de l'Atlas : L'Atlas combine différents savoir sur un seul site : gènes et leur fonction, biologie cellulaire, maladies et implications cliniques, cytogénétique, bien sûr, mais aussi génétique clinique, avec les maladies héréditaires à risque accru de cancer. Cela unifie en un même concept les différents aspects de la génétique des cancers, ailleurs dispersés entre divers sites. L'iconographie aussi est diverse diverse (imagerie médicale, ana-path, chromosomes, structure 3-D des protéines, cartographie génétique...) et abondante (plus de 1 800 images). C'est enfin le seul site de génétique où le pronostic est donné ! Résultats attendus : En un an, l'Atlas a accepté et publié plus de 230 articles. L'Atlas atteint maintenant 30 000 pages, écrites par 1 100 auteurs... et we need more authors ! Nous développons maintenant une version 'électronique' comprenant 60 volumes, de 1997 à fin 2009, comportant environ 1 800 articles, soit 9 500 pages pdf. Devenir un véritable journal international indexé dans PubMed sera une étape majeure dans le développement de l'Atlas.

**Mots-clés** : gènes, chromosomes, cancers.

#### ■CO17. MICROARNs, GÈNES ET MALADIES GÉNÉTIQUES : L'OUTIL BIOINFORMATIQUE MIRIFIX

C. Mugnier, S. Bandiera, M. Girard, M. Le Merrer, A. Munnich, S. Lyonnet, A. Henrion-Caude

*Inserm U781, Université Paris Descartes, Département de Génétique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France*  
Contact : alexandra.caude@inserm.fr

La découverte des microARNs (miRNAs) permet d'envisager la fonction complexe et multifactorielle jouée par les petits ARNs non codants en tant que régulateurs de gènes codants pour des protéines. Leur implication dans les maladies génétiques peut être envisagée à deux niveaux : soit en tant que gène candidat au sein du locus de la maladie, soit en tant que gène modificateur putatif, associé à la régulation du gène causal de la maladie. Nous présentons une nouvelle ressource bioinformatique dont le but est de lier les miRNAs aux maladies génétiques : miRiFix.com. Notre modèle fournit via un accès internet un outil de travail et une base de données,

permettant de croiser l'information actualisée sur les miRNAs et la base de données GenAtlas intégrant les données de cartographie des gènes et les maladies. L'outil miRiFix permet d'explorer de manière systématique l'implication computationnelle des miRNAs dans les maladies génétiques en produisant : (i) une table de gènes candidats miRNAs au niveau d'un locus, via la compilation actuelle des miRNAs et de leur cartographie, (ii) une table des polymorphismes de nucléotide unique (SNP) prédictifs d'une fonction régulatrice différentielle par les miRNAs, (iii) un ensemble de miRNAs prédits pour réguler un gène responsable de maladie au niveau de son 3'UTR et de ses séquences codantes, et (iv) une méthodologie unique permettant de tester l'effet de variants sur le ciblage des miRNAs au niveau de leur séquence cible et leur influence sur le duplex formé. À partir de la littérature, nous avons pu vérifier l'efficacité de cet outil à proposer les SNPs et les miRNAs d'intérêt, effectivement étudiés pour leur implication dans diverses maladies. Nous avons réalisé un atlas des maladies impliquant potentiellement des miRNAs. Enfin, nous explorons l'organisation génomique originale de certains miRNAs et leurs liens potentiels avec des maladies.

**Mots-clés** : microARN, maladie génétique, bioinformatique

#### ■CO18. ESTIMATION DU RISQUE INDIVIDUEL DE CANCER DU SEIN : INTÉRÊT ET LIMITES DES MODELES DE CALCUL DE RISQUE

A. De Pauw (1, 2, 3), B. Asselain (1, 4, 5), B. Buecher (1), M. Gauthier-Villars (1), M. Fassy-Colcombet (1, 2), N. Andrieu (1, 4, 5), D. Stoppa-Lyonnet (1, 3, 6)

(1) Institut Curie-Hôpital, Paris, France ; (2) Association Française des Conseillers en Génétique, Marseille, France ; (3) Inserm U830-Institut Curie, Paris, France ; (4) Inserm U900-Institut Curie, Paris, France ; (5) École des Mines, Paris Tech, France ; (6) Université Paris-Descartes, Paris, France

Contact : antoine.depauw@curie.net

Le cancer du sein est le cancer le plus fréquent chez la femme. En 2005, près de 50 000 nouveaux cas étaient diagnostiqués en France. L'un des facteurs de risque le plus important est la présence d'une histoire familiale de cancer du sein et/ou de l'ovaire. Une part de ces histoires est maintenant expliquée par la transmission de gènes de prédisposition, BRCA1 et BRCA2. Ces deux gènes ne sont cependant impliqués que dans une très faible proportion des cancers du sein, moins de 5 %. En pratique, une mutation de BRCA1 ou BRCA2 n'est identifiée que dans environ 15 % des patientes testées. Pouvoir estimer le risque de cancer du sein et de l'ovaire des patientes porteuses de mutation de BRCA1 et BRCA2 mais également de patientes appartenant à une famille où aucune mutation n'a pu être identifiée, reste aujourd'hui un défi important. En effet, ces estimations sont indispensables pour définir les stratégies de dépistage et de prise en charge des patientes et de leurs apparentées. Depuis une vingtaine d'années, plusieurs modèles d'estimation des risques tumoraux ont été proposés. Tous ces modèles intègrent les antécédents familiaux de cancer mais les modélisent différemment. Les modèles les plus fréquemment utilisés aujourd'hui seront présentés : Gail, Claus, BRCAPRO, BOADICEA et IBIS. Leurs avantages et leurs limites seront discutés à partir de cas cliniques. L'utilisation de ces modèles semble envisageable en pratique clinique dans un contexte d'histoire familiale de cancer du sein et/ou de l'ovaire complexe.

**Mots-clés** : cancer du sein, calcul de risque, modèle prédictif

## 4

### COMMUNICATIONS ORALES EN SESSIONS SIMULTANÉES

#### A. Session simultanée : Maladies monogéniques – de la clinique aux gènes

##### ■CS01. MUTATIONS IN THE *DDR2* GENE CAUSE SMED WITH SHORT LIMBS AND ABNORMAL CALCIFICATIONS

R. Bargal (1), V. Cormier-Daire (3), Z. Ben-Neriah (1), M. Le Merrer (3), J. Sosna (2), J. Melki (1), S. F. Smithson (4), Z. Borochowitz (5), R. Belostotsky (6), A. Raas-Rothschild (1)

(1) Department of Human Genetics, Hadassah Hebrew University Hospital, Jerusalem, Israel ; (2) Department of Radiology, Hadassah Hebrew University Hospital, Jerusalem, Israel ; (3) Department of Human Genetics, Necker-Enfants Malades Hospital, Paris, France ; (4) Department of

Clinical Genetics, St Michael's Hospital, Southwell Street, Bristol, United Kingdom ; (5) Simon Winter Institute for Human Genetics, Bnai-Zion Medical Center, Technion-Faculty of Medicine, Haifa, Israel ; (6) Division of Pediatric Nephrology, Shaare Zedek Medical Center, Jerusalem, Israel  
Contact : annick.rothschild@gmail.com

The spondylo-meta-epiphyseal dysplasia [SMED] short limb-hand type [SMED-SL] is a rare autosomal-recessive disease, first reported by Borochowitz *et al.* in 1993. Since then, 14 affected patients have been reported. We diagnosed 6 patients from 5 unrelated consanguineous Arab Muslim families from the Jerusalem area with SMED-SL. Additionally, we studied two patients from Algerian and Pakistani ancestry and the parents of the first Jewish patients reported. Using a homozygosity mapping strategy, we located a candidate region on chromosome 1q23 spanning 2.4 Mb. The

position of the Discoidin Domain Receptor 2 (DDR2) gene within the candidate region and the similarity of the ddr2 knockout mouse to the SMED patients' phenotype prompted us to study this gene. We identified three missense mutations c.2254 C>T [R752C], c. 2177 T>G [I726R], c.2138C>T [T713I] and one splice site mutation [IVS171g>a] in the conserved sequence encoding the tyrosine kinase domain of the DDR2 gene. The results of this study will permit an accurate early prenatal diagnosis and carrier screening for families at risk.

**Mots-clés :** SMED, calcifications, discoidin domain receptor 2.

**■CS02. L'HAPLOINSUFFISANCE DE MEF2C, DUE SOIT À DES MICRODÉLÉTIONS 5q14.3 SOIT À DES MUTATIONS DU GÈNE, EST RESPONSABLE D'UN RETARD MENTAL SÉVÈRE AVEC DES STÉRÉOTYPES GESTUELS, UNE ÉPILEPSIE ET/OU DES MALFORMATIONS CÉRÉBRALES**

D. Bonneau (1), N. Le Meur (2), M. Holder-Espinasse (3), A. Goldenberg (4), P. Amati-Bonneau (1), H. Journel (5), J.P. Kerckaert (6), S. Manouvrier (3), V. David (7), P. Saugier-Verber (4, 9), S. Jaillard (7), C. Dubourg (7), J. Andrieux (8), T. Frebourg (4, 9)

(1) INSERM 694 et CHU, Angers, France ; (2) Laboratoire de Cytogénétique, EFS-Normandie, Bois-Guillaume, France ; (3) Service de Génétique Clinique, CHU Lille, France ; (4) Service de Génétique, CHU Rouen, France ; (5) Service de Génétique, Vannes, France ; (6) Plateforme de Génétique Fonctionnelle, Université de Lille II, France ; (7) CNRS UMR 6061, Université de Rennes 1 et Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHU Rennes, France ; (8) Laboratoire de Génétique Médicale, Hôpital CHU Lille, France ; (9) INSERM U614, Rouen, France  
Contact : dobonneau@chu-angers.fr

L'utilisation de la CGH a permis la détection de remaniements chromosomiques de petite taille chez les patients atteints de retard mental, d'anomalies du développement et de troubles neuro-psychiatriques et a conduit à l'identification de plusieurs gènes responsables de ces affections. En utilisant des puces de CHG-array pan-génomiques, nous avons mis en évidence des microdélétions de la région 5q14.3 allant de 216 à 8,8 Mb chez 5 patients non apparentés présentant : un retard développemental sévère (5/5), une hypotonie (5/5), une absence de langage (5/5), des mouvements stéréotypés (3/5), une épilepsie (3/5). Les IRM montraient des anomalies cérébrales : agénésie du corps calleux (2/5), des anomalies de la gyration (1/5), une atrophie front-pariétale (1/5) et un élargissement du 4ème ventricule (2/5). La région critique minimale ne comprenait que le gène MEF2C connu pour intervenir dans la neurogénèse. Chez un 6<sup>e</sup> patient avec un phénotype similaire non avoisinés par la suite une mutation non-sens de novo dans le gène MEF2C. Le rôle de MEF2C dans l'origine du phénotype observé est en accord avec la fonction biologique de la protéine MEF2C et avec le phénotype observé chez les modèles murins. En effet, MEF2C appartient à la famille des protéines Myocyte Enhancer Factor (MEF2) qui régulent dans le cerveau le nombre des synapses excitatrices, la morphogénèse dendritique et la mise en place des structures post-synaptiques. MEF2C est l'isoforme majoritaire dans le cortex cérébral au cours du développement. Dans le cerveau mature, MEF2C est fortement exprimée dans les cortex frontal et entorhinal, le cervelet, le gyrus dentelé et l'amygdale. Chez la souris, l'inactivation conditionnelle de mef2c dans le cerveau (Li et al. PNAS 2008 ;105 :9397-9402 ; Barbossa et al. 2008 ;105 : 9391-9396) conduit à des altérations de l'apprentissage et de la mémoire dépendant de l'hippocampe et à une augmentation très importante du nombre de synapses excitatrices. Ces souris ont également des anomalies comportementales avec une anxiété anormale, une diminution des fonctions cognitives ainsi que des stéréotypies gestuelles identiques à celles observées chez les modèles murins de syndrome de Rett avec inactivation de MECP2. En conclusion, nos résultats montrent que l'haploinsuffisance de MEF2C, causée soit par des microdélétions soit par des mutations, est responsable d'un retard mental sévère avec des mouvements stéréotypés, une épilepsie et/ou des malformations cérébrales.

**Mots-clés :** microdélétion 5q14.3, retard mental, MEF2C.

**■CS03. A MUTATION IN THE 3'UTR OF THE HDAC6 GENE ABOLISHING THE POST-TRANSCRIPTIONAL REGULATION MEDIATED BY HSA-MIR-433 IS LINKED TO A NEW FORM OF DOMINANT X-LINKED CHONDRODYSPLASIA**

B. Arveiler (1, 3), D. Simon (1), B. Laloo (2), M. Barillot (1), T. Barneche (1), C. Rooryck (1, 3), I. Burgelin (1), M. Marche (1), I. Coupry (1), N. Chassaing (4), C. Grosset (2), D. Lacombe (1, 3)

(1) Laboratoire de Génétique Humaine, EA 4137, Bordeaux, France ; (2) Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale (INSERM), U889, Bordeaux, France ; (3) Service de Génétique Médicale, Hôpital Pellegrin,

CHU Bordeaux, France ; (4) Service de Génétique Médicale, Hôpital Purpan, CHU Toulouse, France

Contact : benoit.arveiler@u-bordeaux2.fr

A family with dominant X-linked chondrodysplasia was previously described. The disease locus was ascribed to a 24 Mb interval spanning the pericentromeric region Xp11.3-q13.1. We have identified a variant (c.\*281A>T) in the 3'UTR of the HDAC6 gene that totally segregates with the disease. HDAC6 codes for Histone Deacetylase 6, a ubiquitously expressed protein that has multiple regulatory functions in the cytoplasm and nucleus of cells. The single-base variation is located in the seeding sequence of hsa-miR-433. A set of functional analyses were performed in order to investigate the molecular consequences of this variation on HDAC6 expression *in vitro*. Our data showed that, in MG63 osteosarcoma cells, hsa-miR-433 down-regulated both the expression of endogenous HDAC6 and that of an eGFP-reporter mRNA bearing the wild-type 3'UTR of HDAC6. More importantly, this effect was totally abrogated when the reporter mRNA bore the mutated HDAC6 3'UTR. Finally, HDAC6 protein was found to be over-expressed in thymus from an affected male foetus by comparison with that from control fetuses. Concomitantly, the level of total alpha-tubulin, a target of HDAC6, was found to be increased in the affected foetal thymus, whereas the level of acetylated alpha-tubulin was found to be profoundly decreased. Overexpression of HDAC6 was also observed in fibroblasts obtained from a female patient of this family. Altogether these results strongly suggest that the single mutation found in the HDAC6 3'UTR suppressed hsa-miR-433-mediated post-transcriptional regulation causing the overexpression of HDAC6 and an underacetylation of the HDAC6 substrate alpha-tubulin. This single-base variation is likely to constitute the molecular cause of this new form of X-linked chondrodysplasia. This represents to our knowledge the first example of a skeletal disease caused by the loss of a miRNA-mediated post-transcriptional regulation on its target mRNA.

**Mots-clés :** chondrodysplasie, micro-ARN, HDAC6.

**■CS04. IDENTIFICATION DES MUTATIONS DU GÈNE ENAC ET DÉTERMINATION D'UNE CORRÉLATION GÉNÉTIQUE-PHÉNOTYPE CHEZ DES PATIENTS RWANDAIS PRÉSENTANT DES SYMPTÔMES DE MUCOVISCIDOSE**

L. Mutesa (1, 2), C. Verhaeghe (2), V. Dhennin (3), J.F. Vanbellinghen (2), V. Dideberg (2), K. Segers (2), A. Uwizeza (1), H. Cuppens (4), C. Korbmayer (5), V. Bours (2)

(1) Centre de Génétique Médicale, Université Nationale du Rwanda, Rwanda ; (2) Centre de Génétique Humaine, Université de Liège, Belgique ; (3) GIGA Genomics Facility, CHU de Liège, Belgique ; (4) Department of Human Genetics, Katholieke Universiteit Leuven, Leuven, Belgique ; (5) Institut für Zelluläre und Molekulare Physiologie, Universität Erlangen-Nürnberg, Germany  
Contact : lmutesa@nur.ac.rw

La mucoviscidose (Cystic fibrosis, en anglais) pose un réel problème de diagnostic dans les pays en voie de développement en raison de la fréquence de phénotypes liés à la malnutrition protéino-énergétique (MPE) et/ou aux infections respiratoires chroniques. Classiquement, la mucoviscidose est caractérisée par la présence des mutations dans le gène CFTR (Cystic Fibrosis Transmembrane conductance Regulator). Cependant, plusieurs données récentes montrent que des mutations dans le gène ENaC (Epithelial Sodium Channel) entraînent un phénotype de mucoviscidose (Cystic fibrosis-like phenotype) chez des patients porteurs ou non d'un allèle CFTR muté. Le défaut de transport du sodium à travers l'épithélium chez ces patients est une conséquence de la perte d'interaction fonctionnelle entre les gènes CFTR et ENaC. Nous avons montré dans nos travaux antérieurs (Mutesa et al., Chest, 2009 ; 135 : 1233-42) la présence de plusieurs mutations du gène ENaC associées, à l'état hétérozygote, à des mutations classiques du gène CFTR dans un groupe de patients Rwandais présentant des symptômes de mucoviscidose (Cystic fibrosis-like). Dans ces travaux antérieurs, nous avons analysé les gènes CFTR et ENaC dans un groupe de 60 patients Rwandais. Seulement, l'entièreté du gène ENaC n'a été séquencée que chez 5 patients. Dans le présent travail, nous avons séquencé le gène ENaC dans le groupe de 55 patients restant. Les mutations identifiées chez ces patients ont été analysées par des études fonctionnelles pour déterminer leurs conséquences physiopathologiques chez les patients. Nos résultats suggèrent que les mutations des gènes CFTR et ENaC pourraient être associées à des symptômes de mucoviscidose (CF-like) chez les patients d'origine africaine. Probablement, en association avec les mutations CFTR et/ou avec un milieu non favorable, d'autres gènes pourraient jouer un rôle physiopathologique important dans les symptômes de mucoviscidose (CF-like).

**Mots-clés :** mutations, gène ENaC, mucoviscidose.

### ■CS05. UN VARIANT RARE DANS UN ÉLÉMENT RÉGULATEUR D'ÉPISSAGE DU GÈNE SMN2 INDUIT L'INCLUSION DE L'EXON 7 ET RÉDUIT LA SÉVÉRITÉ CLINIQUE DE L'AMYOTROPHIE SPINALE INFANTILE

M. Vezain (1), P. Saugier-Verber (1, 2), E. Goïna (3), R. Touraine (4), V. Manel (5), A. Toutain (6), S. Fehrenbach (1, 2), T. Frebourg (1, 2), F. Pagani (3), M. Tosi (1), A. Martins (1)

(1) Inserm U614, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Institut Hospitalo-Universitaire, Université de Rouen, France ; (2) Service de Génétique, CHU de Rouen, France ; (3) Human Molecular Genetic, International Centre for Genetic Engineering and Biotechnology, Trieste, Italy ; (4) Service de Génétique, CHU de Saint-Étienne, France ; (5) Service de Neurologie, CHU de Lyon, France ; (6) Service de Génétique, CHU de Tours, France

Contact : Pascale.Saugier-Verber@chu-rouen.fr

Les amyotrophies spinales infantiles (SMA) constituent un groupe d'affections récessives autosomiques caractérisées par une dégénérescence des neurones de la corne antérieure de la moelle épinière conduisant à une paralysie musculaire avec atrophie musculaire. Les patients sont classés en trois groupes, type I, II ou III, en fonction de l'âge de début de l'affection et de son évolution. La SMA résulte de l'inactivation à l'état homozygote du gène SMN1 en 5q11-q13. Le gène SMN1 et son gène copie, le gène SMN2, sont extrêmement homologues. L'une des différences nucléotidiques, en +6 de l'exon 7, modifie un site régulateur d'épissage. Aussi, le gène SMN1 produit un transcrite pleine longueur incluant l'exon 7 (FL) tandis que le gène SMN2 génère principalement un transcrite sans exon 7 (Deltq7) mais également une faible proportion de transcrits FL. La protéine produite à partir du transcrite Deltq7 est instable. La protéine SMN est donc essentiellement produite par le gène SMN1 mais également en faible proportion par le gène SMN2. La sévérité de la maladie est inversement corrélée au nombre de copies du gène SMN2. Cette corrélation n'est pas absolue, suggérant l'existence de facteurs modificateurs encore inconnus. Nous avons identifié une variation rare, c.859G>C, localisée en position +25 de l'exon 7 du gène SMN2 chez un patient atteint de SMA de type III avec 2 copies du gène SMN2, chacune de ces 2 copies portant la variation c.859G>C. Le génotype très inhabituel de ce patient atteint de SMA de type III portant seulement 2 copies du gène SMN2 nous a conduit à explorer le retentissement sur l'épissage de l'exon 7 de la variation c.859G>C. Nous avons démontré, à la fois *in vivo*, sur les lymphocytes de ce patient et d'un second patient non apparenté portant également la variation, et *ex vivo*, au moyen de tests d'épissage utilisant des mimigènes, que cette variation induit l'inclusion de l'exon 7 dans l'ARNm SMN2. Nous avons ensuite cherché à vérifier si la variation c.859G>C altérerait la fixation de protéines régulatrices d'épissage sur l'exon 7. Il avait été précédemment montré que cette région centrale de l'exon 7 possédait un site de fixation pour la protéine Htra2b, protéine qui se comporte comme un facteur activateur d'épissage. Par des expériences de pontage UV et de pull down, nous avons montré que la variation c.859G>C n'affecte pas la liaison de Htra2b mais interrompt un site de liaison pour hnRNP A1, protéine qui se comporte comme un facteur inhibiteur d'épissage. La co-existence de signaux activateurs et inhibiteurs au sein d'éléments régulateurs d'épissage composites (CERES) illustre la complexité de la régulation de l'épissage. Cette observation, qui montre que l'augmentation de l'inclusion de l'exon 7 du gène SMN2 conduit à l'atténuation du phénotype, conforte les stratégies actuellement développées, basées sur la modulation de l'épissage de l'exon 7 du gène SMN2 chez les patients atteints de SMA.

**Mots-clés :** amyotrophie spinale infantile, élément régulateur de l'épissage, gène modificateur.

### ■CS06. MUTATIONS IN THE ANKRD1 GENE ENCODING CARP ARE RESPONSIBLE FOR HUMAN DILATED CARDIOMYOPATHY

L. Doboscq-Bidot (1, 2), P. Charron (1,2), V. Ruppert (3), L. Fauchier (4), M. Komajda (1, 2), R. Isnard (1, 2), E. Villard (1, 5)

(1) UMR956 INSERM/Université Paris VI, Paris, France ; (2) Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France ; (3) Universitätsklinikum Gießen und Marburg GmbH, Marburg, Germany ; (4) CHU Trousseau, Tours, France ; (5) Centre d'investigation Biomédicale Groupe Hospitalier Pitié Salpêtrière, Paris, France

Contact : eric.villard@upmc.fr

Dilated Cardiomyopathy (DCM) is familial in about 30% of cases, and to date, 15 responsible genes have been identified in isolated forms and up to 25 associated with additional phenotypes including myopathy, arrhythmias or more complex syndromes. No major gene for the disease has been identified, underlining the genetic heterogeneity of DCM. However, in a

majority of families the responsible genes are still to be discovered. The ANKRD1 gene is overexpressed during cardiac hypertrophy and/or heart failure in human or animal models. The encoded protein CARP is sought to be a nuclear co-repressor but is also interacting with partners such as Myopalladin or Titin, two sarcomeric proteins previously involved in DCM. Based on pleiotropic CARP functional involvement, we hypothesised that mutations in ANKRD1 could be responsible for DCM. We have screened a DCM affected population consisting of 231 caucasian independent familial (158) and sporadic (73) cases by direct sequencing of PCR-amplified coding exons. We identified 5 missense mutations : 3 sporadic (mutations p.Glu57Gln, p.Arg66Gln and p.Leu199Arg) and 2 familial (mutations p.Thr116Met and p.Ala276Val) absent from 400 controls and affecting highly conserved residues throughout evolution. Expression of the mutant CARP proteins in rat neonate cardiomyocytes indicated that at least 3 of the mutations identified (p.Glu57Gln, p.Leu199Arg, p.Ala276Val) led both to significant less repressor activity and to greater phenylephrin induced hypertrophy suggesting altered function of CARP mutant proteins. Based on genetic and functional analysis of CARP mutations, we conclude that ANKRD1 is a new gene associated with DCM, accounting for about 2 % of cases.

**Mots-clés :** ANKRD1, cardiomyopathy, mutation.

### ■CS07. CORRÉLATION GÉNOTYPE-PHÉNOTYPE DANS LA NEUROFIBROMATOSE DE TYPE 1 : ÉTUDE DE 579 FAMILLES RECRUTÉES PAR LE RÉSEAU NF-FRANCE DANS LE CADRE D'UN PHRC NATIONAL

B. Parfait (1, 2), K. Le Tessier (1), A. Sabbagh (1, 2), J. Cohen (2) C. Belanne-Chantelot (3), G. Leroy (3), S. Pinson (4), M. Vidaud (1, 2), S. Ferkal (5), P. Wolkenstein (5), D. Vidaud (1, 2) : Réseau NF-France

(1) UMR745 INSERM, Faculté de Pharmacie, Paris, France ; (2) Service de Biochimie, Hôpital Beaujon, AP-HP, Clichy, France ; (3) Génétique Moléculaire, Hôpital Pitié-Salpêtrière, AP-HP, Paris, France ; (4) Génétique Moléculaire, Hôpital É.-Herrriot, Lyon, France ; (5) Service de Dermatologie, Hôpital H.-Mondor, AP-HP, Créteil, France

Contact : beatrice.parfait@parisdescartes.fr

La neurofibromatose de type I (NF1, MIM162200) est une des maladies héréditaires à transmission autosomale dominante les plus fréquentes (1/3500) caractérisée par une expressivité variable inter et intra familiale. Le PHRC national « Étude de l'expressivité de la neurofibromatose de type 1 : constitution d'une base de donnée génotype/phénotype » a permis de recruter dans 24 services cliniques, 1 737 sujets dont 1099 patients atteints de NF1, appartenant à 579 familles. Pour chacun des patients, une évaluation clinique exhaustive et standardisée a été réalisée et la mutation délétère du gène NF1 recherchée. L'étude moléculaire du gène NF1 (17q11.2, 300 kb, 60 exons) réalisée par une double approche de séquençage DNA/cDNA a permis de mettre en évidence une mutation hétérozygote chez 512 des 543 cas index étudiés à ce jour (94 %). Les délétions complètes du gène correspondent à 24 cas sur 512 (4,7 %). Les 488 autres mutations identifiées correspondent à 349 mutations distinctes réparties en délétions et/ou insertions (41 % dont 95 % hors phase), des mutations conduisant à une altération de l'épissage (32 % dont 80 % hors phase), des mutations non sens (17 %) et faux sens (10 %). Afin d'évaluer l'influence de la nature de la mutation NF1 sur la variabilité d'expression de la maladie, une étude de corrélations génotype-phénotype a été réalisée sur 427 patients non apparentés. Seuls les patients porteurs soit d'une mutation conduisant à une protéine tronquée (n = 389), soit d'une mutation faux-sens (n = 38) ont été inclus dans cette étude. L'analyse de corrélation a porté sur 11 traits cliniques de prévalence supérieure à 5 %. Nos résultats montrent pour la première fois un phénotype clinique plus modéré chez les patients NF1 porteurs d'une mutation faux sens comparativement aux patients porteurs d'une mutation tronquante, avec notamment une prévalence plus faible de neurofibromes cutanés (69 % vs 81 %, p = 0,019), de gliome des voies optiques (0 % vs 13 %, p = 0,031) et un nombre plus faible de taches café au lait (moyenne de 17 vs 24, p = 0,038). Parmi les 31 proposant pour lesquels nous ne retrouvons pas de mutation de NF1, deux présentent une mutation du gène SPRED1 responsable du phénotype particulier « NF1-like » ou syndrome de Legius. L'analyse de ségrégation des haplotypes du locus NF1 réalisée dans 19 familles a permis d'exclure le locus dans un seul cas. La mise en œuvre d'une approche génome entier par l'utilisation d'une technique de CGH array (Agilent® 244K) permettra d'identifier un/des nouveau/x locus responsable/s de la maladie chez les patients non mutés sur les gènes NF1 et SPRED1.

**Mots-clés :** NF1, SPRED1, corrélation génotype-phénotype.



### ■CS08. MUTATIONS DU GÈNE *SUFU* ET SYNDROME DE GORLIN

M. Lartigau (1), P. Fergelot (2), J. Deforges (2), N. Aladjidi (3), P. Gorry (2), M. Longy (4), N. Sévenet (4), B. Arveiler (2, 5), D. Lacombe (2, 5), B. Richard (1, 2)

(1) *Faculté d'Odontologie, Université de Bordeaux 2, Bordeaux, France* ; (2) *Service de Génétique Médicale, CHU de Bordeaux, Bordeaux, France* ; (3) *Service de Pédiatrie Médicale, CHU de Bordeaux, Bordeaux, France* ; (4) *Institut Bergonié, Bordeaux, France* ; (5) *Laboratoire de Génétique Humaine, Université de Bordeaux 2, Bordeaux, France*

Contact : [beatrice.richard@u-bordeaux2.fr](mailto:beatrice.richard@u-bordeaux2.fr)

Le syndrome de Gorlin (OMIM 109400, AD) associe une prédisposition tumorale et un syndrome dysmorphique avec une pénétrance complète et une expressivité variable des signes cliniques qui en rend parfois le diagnostic difficile et justifie la recherche du gène atteint (PTCH1, 9q22.3). Cependant, la sensibilité de la stratégie de diagnostic moléculaire de PTCH1 ne dépasse pas les 50 %, compromettant la possibilité de suivi des apparentés à risque tumoral élevé. Des données cliniques et bibliographiques ont permis d'émettre l'hypothèse d'une hétérogénéité génétique dans ce syndrome. En effet, des mutations du gène *SUFU* (10q24-q25), qui agit en aval de PTCH1 dans la voie de signalisation Hedgehog, ont été associées à des formes héréditaires de médulloblastome, tumeur dont la fréquence est augmentée dans le Gorlin (Taylor *et al.*, 2002) ; d'autre part, la publication du phénotype de la souris *SUFU*(+/-), qui présente des anomalies proches de celles observées dans le Gorlin (Svard *et al.*, 2006), confirme l'hypothèse selon laquelle ce gène pourrait représenter un gène candidat dans ce syndrome. C'est ainsi que dans deux familles suivies à Bordeaux, présentant des cas de médulloblastomes et pas de mutation de PTCH1, des variants délétères ont été mis en évidence dans le gène *SUFU* par séquençage direct et PCR génomique multiplex fluorescente semi-quantitative de l'ADN germlinal. Le variant ségrégeant dans l'une des familles a par ailleurs été retrouvé au niveau de l'ADN tumoral extrait du médulloblastome du cas index, associé à un deuxième variant du gène *SUFU*. Ces données sont appuyées par la publication récente d'une mutation germinale de *SUFU* dans un cas de syndrome de Gorlin peu typique chez un père et son fils (Pastorino *et al.*, 2009). La mise en évidence de variants délétères de *SUFU*, dans des familles de Gorlin à présentation atypique, voire atténuée en terme de nombre de signes cliniques, pose les questions de la pénétrance et du phénotype associé aux mutations de ce gène. Une étude rétrospective des altérations germinales de *SUFU* dans notre cohorte de patients diagnostiqués cliniquement avec syndrome de Gorlin, mais chez lesquels aucune mutation ponctuelle de PTCH1 n'a été identifiée, permettra la constitution d'une base de données et l'ébauche d'une corrélation génotype/phénotype. Si la responsabilité de ce gène est prouvée dans le Gorlin, son analyse sera proposée en routine afin d'améliorer le dépistage et la prise en charge des patients atteints. Pastorino L, Ghiorzo P, Nasti S, *et al.* Identification of a *SUFU* germline mutation in a family with Gorlin syndrome. *Am J Med Genet A*. 2009 Jul ; 149A(7) : 1539-43. Svard J, Heby-Henricson K, Persson-Lek M, *et al.* Genetic elimination of Suppressor of fused reveals an essential repressor function in the mammalian Hedgehog signaling pathway. *Dev Cell*, 2006, 10(2) : 187-97. Taylor MD, Liu L, Raffel C, *et al.* Mutations in *SUFU* predispose to medulloblastoma. *Nat Genet*, 2002, 31(3) : 306-10.

Mots-clés : syndrome de Gorlin, médulloblastome, *SUFU*.

## B. Session simultanée : Cytogénétique constitutionnelle et maladies génomiques

### ■CS09. VISUALISATION DIRECTE DES HAPLOTYPES 4QTER ET 10QTER PAR PEIGNAGE MOLÉCULAIRE, UN NOUVEAU TEST DIAGNOSTIQUE DE LA DYSTROPHIE FACIO-SCAPULO-HUMÉRALE

K. Nguyen (1, 2), P. Walrafen (3), C. Chaix (3), C. Vo Van (1), R. Bernard (1, 2), S. Attarian (2, 4), J. Pouget (2, 4), A. Vannier (3), N. Dufrane (3), A. Bensimon (3), N. Levy (1, 2)

(1) *Département de Génétique Médicale, Hôpital d'enfants de la Timone, Marseille, France* ; (2) *INSERM UMR S910 « Génétique et génomique fonctionnelle », Université de la Méditerranée, Marseille, France* ; (3) *Genomic Vision, Paris, France* ; (4) *Service de Neurologie, centre de référence pour la prise en charge des maladies neuromusculaires, Hôpital d'adultes de la Timone, Marseille, France*

Contact : [karine.nguyen@ap-hm.fr](mailto:karine.nguyen@ap-hm.fr)

La dystrophie facio-scapulo-humérale (FSHD) est associée à une contraction hétérozygote des unités répétées (UR) D4Z4 dans la région subtélomérique 4q35. Les allèles normaux sont polymorphes et contiennent de 11 à 150 UR D4Z4 alors que les allèles pathologiques contiennent un nombre réduit de 1 à 10 UR. La contraction D4Z4 en 4q35 n'est pathogène que si elle ségrége avec l'un des deux variants de séquence distaux, appelé 4qA. Les contractions de type 4qB ne sont pas pathogènes. De plus, une zone d'homologie très forte contenant également des UR D4Z4 polymorphes existe dans la région subtélomérique 10q26 et cela est à l'origine de remaniements subtélomériques fréquents entre les chromosomes 4 et 10. Une contraction des UR D4Z4 en 10q26 n'est pas pathogène. Actuellement, le diagnostic de routine de la FSHD repose sur la détermination du nombre d'UR D4Z4 en 4q35 et de l'allèle 4qA, en southern blot avec la sonde p13E11 et les sondes spécifiques qA et qB et l'électrophorèse linéaire ou en champ-pulsé. Les caractéristiques moléculaires du locus FSHD compliquent grandement ce test diagnostique qui n'est ni assez sensible ni assez spécifique, en particulier pour la détection de variants tels que les translocations 4/10, les contractions non canoniques, les mosaïques somatiques. Nous avons développé une approche diagnostique nouvelle basée sur la visualisation directe du locus FSHD à haute résolution grâce à l'hybridation de sondes fluorescentes spécifiques sur des molécules d'ADN génomique individualisées et étirées par la technique du peignage moléculaire. En une seule manipulation pour un même patient, on peut identifier et distinguer les UR D4Z4 des chromosomes 4qA, 4qB et 10q et mesurer la longueur de ces allèles. Un test prototype a montré la validité de cet outil diagnostique pour la FSHD, qui s'avère rapide, fiable, et pertinent car basé sur la détermination d'un haplotype FSHD. De plus, la détection de réarrangements complexes de la région, impossible par d'autres techniques est rendue possible. Enfin, des développements futurs de cet outil diagnostique permettront d'explorer les aspects épigénétiques de la FSHD.

Mots-clés : peignage moléculaire, dystrophie facio-scapulo-humérale, FSHD.

### ■CS10. CONTRÔLE DE QUALITÉ EXTERNE RÉTROSPECTIF EN CYTOGÉNÉTIQUE, L'EXPÉRIENCE FRANÇAISE DE L'ACLF

M. Doco-Fenzy (1), D. Sanlaville (2), C. Sarrauste de Menthère (3), C. Cartier (3), I. Luquet (1), N. Dastugue (4), M.C. Combrisson (5), S. Dahoun (6), A. Moncla (7), F. Mugneret (8), L. Taine (9), S. Tapia (10), F. Vialard (11), F. Thepot (12), C. Terre (13), J.M. Dupont (14)

(1) *Service de Génétique, CHU-Reims, France* ; (2) *Service de Cytogénétique Constitutionnelle, Hospices Civils de Lyon, France* ; (3) *Institut de Génétique Humaine (CNRS UPR1142), Montpellier, France* ; (4) *Génétique des Hémapathies, Laboratoire d'hématologie, Hôpital Purpan, Toulouse, France* ; (5) *Laboratoire Cytogénétique, Nantes, France* ; (6) *Laboratoire Cytogénétique, CMU, Genève, France* ; (7) *Département de Génétique Médicale, hôpital Timone enfant, Marseille, France* ; (8) *Laboratoire de Cytogénétique, CHU Dijon, France* ; (9) *service de Cytogénétique, CHU Pellegrin, Bordeaux, France* ; (10) *Laboratoire LCL, Paris, France* ; (11) *Laboratoire Cytogénétique, CHI Poissy Saint-Germain, France* ; (12) *Agence de Biomédecine, Paris, France* ; (13) *Laboratoire de cytogénétique, Hôpital Mignot, Le Chesnay, France* ; (14) *Laboratoire Cytogénétique, APHP, Hôpital Cochin, Paris, France*

Contact : [mdocofenzy@chu-reims.fr](mailto:mdocofenzy@chu-reims.fr)

Le Contrôle de qualité externe (CQE) en cytogénétique a été initié en France depuis 2005. Dès 2006 l'ACLF (Association des Cytogénéticiens de Langue Française) a mis en place un site en ligne pour les CQE rétrospectif en cytogénétique constitutionnelle et prospectif en cytogénétique onco-hématologique (Groupe Français Cytogénétique Hémato-Oncologique). (<http://www.eaclf.org/infoCQE>). Le but du CQE rétrospectif est d'évaluer la qualité technique du travail des laboratoires et la qualité biologique et clinique de l'interprétation des résultats. Les laboratoires participants soumettent en ligne leurs dossiers conclus dans l'année précédente, avec trois images de classement chromosomique pour chaque dossier, 3 images des mitoses correspondantes, une autre mitose et la feuille de conclusion. Tous les documents sont anonymisés pour le nom du patient et du laboratoire. Le site permet une manipulation rapide et sécurisée des documents et des images. Les experts sont des cytogénéticiens agréés et sont partagés en 6 groupes. Les experts examinent les dossiers et transmettent leurs conclusions via le site. Les résultats finaux sont sauvegardés et rendus de manière anonyme par mail. Un total de 50/70 laboratoires participent en prénatal et/ou en postnatal. En 2007, 131 dossiers de postnatal et 181 de prénatal (131 liquide amniotique + 50 villosité chorionales) ont été chargés sur le site. Ceci représente 934 mitoses évaluées. Les résultats montrent que 74,3 % des dossiers avaient 3/3 classement corrects en bandes R et ou G. Les participants ont évalué correctement le niveau de résolution des chromosomes dans 76,1 % des mitoses. L'interprétation des



cas était correcte dans 94,87 % mais la nomenclature ISCN était incorrecte dans 26,7 % des dossiers. Ces résultats vont nous aider à améliorer la pratique et la qualité du travail des laboratoires de cytogénétique (accrédité en cours d'accréditation). Nous rapporterons notre expérience sur les 3 dernières années et les projets à venir pour ce CQE qui a été soutenu par l'agence de Biomédecine.

**Mots-clés :** contrôle de qualité externe, cytogénétique, retrospectif.

**■CS11. DESCRIPTION DU PREMIER PATIENT PORTEUR D'UNE MICRODÉLÉTION 15Q13.3 HOMOZYGOTE ET PRÉSENTANT UNE ENCÉPHALOPATHIE CONVULSIVANTE ASSOCIÉE À UNE RÉTINOPATHIE ET DES MOUVEMENTS CHORÉO-ATHÉTOSIQUES**

A. Masurel-Paullet (1), J.M. Cuisset (2), J. Andrieux (3), L. Vallée (2), C. Thauvin-robinet (1), D. Sanlaville (4), P. Callier (5), L. Faivre (1)

(1) Centre de génétique et Centre de Référence Anomalies du développement et Syndromes malformatifs, Hôpital d'enfants, CHU Dijon, France ; (2) Service de Neuropédiatrie, CHRU, Lille, France ; (3) Laboratoire de Génétique Médicale, Hôpital Jeanne-de-Flandre, CHRU, Lille, France ; (4) Laboratoire de cytogénétique constitutionnelle, Hospices civils de Lyon, Bron, France et Université Claude-Bernard Lyon 1, EA 4171, France ; (5) Service de cytogénétique, Plateau technique de Biologie, CHU Le Bocage, Dijon, France

Contact : alice.masurel@chu-dijon.fr

Grâce aux avancées de la CGH-array, un nouveau syndrome microdélétionnel a été décrit en 2008, impliquant le plus souvent une délétion de 1.5 Mb à l'état hétérozygote entre les régions répétées BP4 et BP5 en 15q13.3. Presque 100 cas ont été rapportés à ce jour, semblant expliquer 0,35 % des retards mentaux. Cette microdélétion a également été retrouvée de façon récurrente dans des cohortes de patients présentant une épilepsie généralisée idiopathique ou des troubles psychiatriques, avec ou sans retard mental, et une pénétrance incomplète a été notée au sein des familles. Nous rapportons le premier cas d'un patient porteur d'une microdélétion 15q13.3 à l'état homozygote. Ce garçon de 5 ans est né de 2 parents non consanguins, présentant tous les 2 une déficience intellectuelle isolée ayant nécessité une éducation spécialisée puis une prise en charge en milieu protégé. Il est né à terme sans souffrance avec des paramètres de croissance normaux. Une hypotonie sévère a été notée dès la naissance, une dystrophie choriocoréenne a été diagnostiquée à l'âge de 3 mois devant des mouvements oculaires anormaux. Une épilepsie pharmacorésistante est apparue à l'âge de 3 ans. À l'âge de 6 ans, il présente une dysmorphie faciale légère avec des grandes oreilles, sa croissance est normale, la tenue de tête n'est pas acquise, il ne présente pas de signes pyramidaux, il n'a aucune utilisation volontaire des mains, il présente un comportement autistique avec des stéréotypies et une communication par cris, il n'a pas de contact visuel, et présente des mouvements choréoathétosiques permanents des extrémités. Cette association avait fait évoquer les diagnostics de cerioïde lipofuscinose ou de cytopathie mitochondriale qui ont été infirmés. Un bilan métabolique large s'est révélé sans particularité. Le bilan polymalformatif s'est révélé normal en dehors d'un kyste arachnoïdien de la fosse postérieure. L'audition est normale, de même qu'un électromyogramme avec vitesses de conduction nerveuses. Une récente étude en CGH array a permis de mettre en évidence une délétion 15q13.3 de 1.5 Mb entre BP4 et BP5 à l'état homozygote, retrouvée chez les 2 parents. Cette association clinique très inhabituelle fait indiquer une étude en CGH-array pour rechercher cette microdélétion. Seule l'étude d'autres observations permettra de savoir si le phénotype des microdélétions 15q13.3 à l'état homozygote est plus homogène que celui des microdélétions à l'état hétérozygote.

**Mots-clés :** microdélétion homozygote 15q13.3, encéphalopathie convulsivante, rétinopathie.

**■CS12. PHÉNOTYPE DISCORDANT CHEZ DES JUMELLES MONOZYGOTES EN RAPPORT AVEC UNE ANOMALIE CHROMOSOMIQUE SUBMICROSCOPIQUE DETECTÉE PAR CGH ARRAY**

M. Rio, M.C. De Blois, C. Turleau, S. Gobin, C. Ozilou, L. Colleaux, A. Munnich, M. Vekemans, V. Malan

Département de génétique, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris, France  
Contact : marlene.rio@nck.aphp.fr

L'observation d'un phénotype discordant chez des jumeaux monozygotes est très rare. Le plus souvent, la discordance est en rapport avec une anomalie du nombre des chromosomes, rarement avec une anomalie de

structure. Nous rapportons les caractéristiques cliniques et cytogénétiques de deux jumelles monozygotes âgées de 4 ans ayant des signes cliniques discordants. La jumelle 1 a un retard global de développement avec une marche acquise à 35 mois, une absence totale de langage contrastant avec une compréhension relativement conservée et l'existence d'une communication gestuelle. Une hyperactivité et des rires immotivés s'associent à ce retard de développement. La jumelle 2 n'a pas eu de retard dans ses acquisitions motrices mais a un trouble envahissant du développement avec traits autistiques. Le caryotype et le bilan métabolique sont sans anomalie chez les deux enfants, ainsi que l'IRM cérébrale. L'étude de 12 marqueurs polymorphes chez les deux sœurs montre qu'il s'agit de jumelles monozygotes. L'analyse en CGH array 1 Mb chez la jumelle 1 a révélé une délétion 2p25.3 qui a été confirmée par FISH sur cellules leucocytaires. L'étude par FISH réalisée sur leucocytes chez la jumelle 2 avec les mêmes sondes localisées en 2p25.3 montre une mosaïque cellulaire : cette région est disomique dans 1/3 des cellules, monosomique dans 1/3 des cellules et trisomique dans le dernier tiers des cellules. En accord avec ces observations, la CGH array ne retrouve pas de déséquilibre génomique chez la jumelle 2. Pour expliquer la discordance cytogénétique entre les jumelles, une recombinaison post-zygotique non-allélique entre les bras courts des chromosomes 2 homologues a pu survenir avant le clivage du zygote, suivie d'une répartition inégale des cellules entre les deux embryons. À notre connaissance, il s'agit de la première observation de jumeaux monozygotes ayant un phénotype discordant en rapport avec une anomalie de structure des chromosomes détectée par CGH array.

**Mots-clés :** retard mental, cgh array, monozygotie.

**■CS13. INTÉRÊTS DE LA CYTOGÉNÉTIQUE CONVENTIONNELLE DANS LA CARACTÉRISATION DES REMANIEMENTS COMPLEXES : À PROPOS D'UNE DUPLICATION MECP2**

A. Vigouroux-Castéra (1), S. Julia (1), L. Monteil (1), C. Cancès (2), E. Bieth (1), G. Bourrouillou (1), P. Calvas (1)

(1) Service de génétique médicale, Hôpital Purpan, Centre Hospitalier Universitaire de Toulouse, France ; (2) Service de Neurologie Pédiatrique, Hôpital des Enfants, Centre Hospitalier Universitaire de Toulouse, France

Contact : vigouroux.a@chu-toulouse.fr

Les duplications de la région chromosomique Xq28 impliquant le gène MECP2 ont été décrites chez plus de 50 patients. Le tableau clinique inclut une encéphalopathie sévère, une hypotonie, une spasticité, un retard de croissance et des anomalies génitales. Notre jeune patient présente un retard de croissance pré et post natal, des troubles de la déglutition, une laryngomalacie, une cryptorchidie, une CIA, des infections à répétition, une hypotonie axiale majeure avec l'apparition progressive d'un syndrome pyramidal. Le bilan neuroradiologique et malformatif n'a pas retrouvé d'anomalie. Le dosage génique comparatif (technique QMPSF au locus MECP2) est compatible avec un processus duplicatif. La recherche de microremaniement en CGH Array a permis de confirmer cette duplication et de la borner, par la présence d'un gain de matériel chromosomique pour la région Xq28 comprenant 26BACs et couvrant 7 Mb. La confirmation des résultats de CGH-array a été réalisée par une analyse en FISH, qui confirme bien la duplication de cette grande région, mais qui a également démontré que cette duplication était localisée sur le bras long d'un chromosome 19, démontrant un mécanisme de duplication-insertion. L'intégrité du chromosome 19 a été vérifiée en FISH, aucun autre remaniement n'a été identifié. La découverte de ce remaniement a conduit à la réalisation des caryotypes parentaux à la recherche d'une insertion équilibrée, qui aurait pu être transmis à notre patient sur un mode déséquilibré. Ces examens n'ont pas retrouvé d'anomalie structurale. Les remaniements Xq cytogénétiquement visibles sont très rares et la plupart des cas décrits font suite à la détection d'une duplication de la région en CGH de découverte non ciblée dans le cadre de l'exploration d'un retard mental. Les études récentes montrent que les duplications MECP2 seraient impliquées dans 1 % des déficiences mentales liées à l'X et 2 % des encéphalopathies progressives sévères. Les méthodes de biologie moléculaire permettent la recherche ciblée de remaniements complexes du gène MECP2, cependant ces méthodes d'analyse semi quantitative ne peuvent mettre en évidence les remaniements chromosomiques tels que des translocations ou des insertions sur un autre chromosome, remaniements importants à diagnostiquer pour le conseil génétique. Nous voulons par cette observation rappeler l'intérêt des méthodes de cytogénétique conventionnelle et moléculaire dans la caractérisation des remaniements complexes, notamment des duplications. En effet la mise en évidence de remaniements équilibrés familiaux modifie considérablement le conseil génétique apporté aux familles.

**Mots-clés :** FISH, MECP2, duplication-insertion.

### ■CS14. TRIPLICATION INTERSTITIELLE 11Q23.3-11Q24.1 CHEZ DEUX SUJETS NON APPARENTÉS : UN NOUVEAU SYNDROME ?

C. Beneteau (1, 4, 6), E. Elandais (2), M. Doco-Fenzy (2), C. Gavazzi (3, 6), C. Philippe (3, 6), J. Vigneron (4), P. Walrafen (5), J.M. Hascoet (4), B. Leheup (1, 6), P. Jonveaux (3, 6)

(1) Centre de référence Est Syndromes Malformatifs et Anomalies du Développement, Service de Génétique Clinique, CHU de Nancy, France ; (2) Service de Génétique et EA3801, IFR53, UFR de médecine, CHRU de Reims, France ; (3) Laboratoire de Génétique, CHU Nancy, France ; (4) Service de Néonatalogie-Génétique, Maternité Régionale Universitaire, Nancy, France ; (5) Genomic Vision, Hôpital Cochin, Paris, France ; (6) EA4368 Faculté de médecine de Nancy-Université Université Henri-Poincaré, Nancy, France

Contact : c.beneteau@chu-nancy.fr

L'avènement des techniques de CGH Array permet la découverte de plus en plus de remaniements complexes. À ce jour, seulement 43 observations de tripliques interstitielles ont été rapportées. Toutes ces tripliques sont 'privées' et aucun cas de récurrence interfamiliale n'a été décrit. Nous rapportons dans cette étude deux cas de triplique interstitielle 11q23.3-11q24.1 chez deux sujets ayant un phénotype clinique, des caractéristiques cytogénétiques et moléculaires identiques. Les deux patients présentent une dysmorphie faciale associant des yeux en amande, des fentes palpébrales petites, légèrement obliques en haut et en dehors, un synphris discret, une dystopie canthale interne, un nez large et épaté, des lèvres épaisses, un philtrum court et une discrète bascule postérieure des oreilles. Les deux patients présentent un retard mental profond prédominant sur le langage, un kératocône bilatéral, une obésité, des extrémités courtes, une petite taille finale. Un des deux a une surdité de perception profonde. Des techniques comparatives de CGH Array, FISH, PCR, Q-PCR et peignage moléculaire démontrent qu'il s'agit d'un remaniement intrachromatidien *de novo*, d'origine maternelle et paternelle, avec segment intermédiaire inversé, sans mosaïcisme. Ce remaniement ne fait intervenir que deux allèles, un d'origine maternel et un d'origine paternel. Il existe une isodisomie uniparentale maternelle 11qter. Les points de cassure sont différents mais proches avec une région commune de 1,8 Mb. Ils sont localisés à proximité de sites fragiles par répétition de triplets CCG identifiés dans le syndrome de Jacobsen. Le mécanisme de remaniement fait vraisemblablement intervenir un évènement pré et un évènement post zygotique durant les premières divisions méiotiques. Huit gènes OMIM sont présents en quatre exemplaires chez les deux patients dont SORL1, incriminé en perte de fonction dans le retard mental léger, et ASAM impliqué dans l'obésité. Il est intéressant de noter que le gène TECTA, mis en cause dans les surdités non syndromiques en délétion, est tripliqué uniquement chez le patient qui présente une surdité. Nous démontrons l'intérêt de l'utilisation des nouveaux outils de cytogénétique moléculaires (CGH Array, peignage moléculaire) dans la compréhension des remaniements complexes et rapportons deux cas de triplique 11q23.3-11q24.1 qui présentent des caractéristiques cliniques et biologiques communes.

**Mots-clés :** Triplique 11q2, retard mental, TECTA.

### ■CS15. SYNDROME DE POTOCKI-LUPSKI : EXTENSION DU PHÉNOTYPE À PARTIR DE 6 NOUVEAUX CAS DÉTECTÉS EN CGH ARRAY

C. Putin (1), J. Andrieux (2), J. Puechberty (3, 8), M. Till (1), F. Petit (4), C. Beche (1), A. Labalme (1), B. Delobel (5), O. Boute-Benejean (4), B. De Fremerville (6), A. Schneider (3), D. Sanlaville (1, 7), S. Manouvrier-Hanu (4), P. Sarda (8), P. Edery (1, 7)

(1) Service de Cytogénétique Constitutionnelle, CHU de Lyon, France ; (2) Laboratoire de Génétique Médicale, Hôpital Jeanne-de-Flandre, CHRU de Lille, France ; (3) Laboratoire de Génétique Chromosomique, CHU de Montpellier, France ; (4) Service de Génétique Clinique, Hôpital Jeanne-de-Flandre, CHRU de Lille, France ; (5) Centre de Génétique Chromosomique, Hôpital St Vincent-de-Paul, GHICL, France ; (6) Service de Génétique, CHU de Saint-Étienne, France ; (7) EA 4171, Université Claude-Bernard, Lyon 1, France ; (8) Service de Génétique, CHU de Montpellier, France

Contact : cyril.putin@chu-lyon.fr

Le syndrome de Potocki-Lupski (PLS) est associé à une microduplication de la région 17p11.2, région délétée dans le syndrome de Smith-Magenis (SMS). Ses caractéristiques cliniques incluent un retard des acquisitions, des malformations congénitales, des troubles du comportement ainsi que des traits autistiques. Le gène RAI1 serait en grande partie responsable des signes cliniques observés dans ces syndromes. Nous rapportons 6 patients présentant un PLS diagnostiqué par CGH-array. Il s'agit de

patients pour lesquels le diagnostic a été porté à l'âge de 2, 6, 10, 19, 24 et 36 ans respectivement. Les 6 patients décrits ici présentent tous des troubles du langage associés à une dysmorphie faciale comparable, bien qu'elle soit évolutive. Trois d'entre eux présentent un retard psychomoteur et 3 un retard mental modéré. Parmi ces 6 patients, 4 ont présenté un retard de croissance intra-utérin, 4 ont eu un reflux gastro-œsophagien, et 3 présentent des traits autistiques. La dysmorphie faciale est caractérisée par un front étroit, des fentes palpébrales obliques en bas et en dehors, une racine du nez saillante avec une columelle descendant sous les ailes du nez (hypoplasiques), une lèvre supérieure fine, des troubles de la dentition, et une micrognathie. L'un des patients présentait une atteinte rénale découverte lors des échographies fœtales, dont le cadre nosologique n'a pas pu être clairement établi, mais qui a nécessité une transplantation rénale à l'âge de 11 ans. Ce même patient présentait également une hypoplasie du vermis cérébelleux mise en évidence à l'IRM cérébrale. À notre connaissance, l'hypoplasie vermienne n'a jamais été décrite dans le PLS et les anomalies rénales sont rares (contrairement à ce qui est rapporté dans le SMS). Chez une patiente, l'étude en CGH-array avait été réalisée afin de caractériser un remaniement du chromosome X *de novo* en mosaïque. *A posteriori*, la présentation clinique de cette patiente est évocatrice du PLS. Cette observation confirme que l'utilisation de la technique de CGH-array permet d'identifier des déséquilibres chromosomiques de petite taille pathogènes, lors de la caractérisation d'anomalies mise en évidence par le caryotype. Chez ces 6 patients, la CGH-array a permis de poser le diagnostic de PLS. Les duplications ont été vérifiées en FISH ou qPCR et sont toutes survenues *de novo*. Toutefois, les éléments cliniques nous semblent pouvoir permettre à l'avenir d'orienter le diagnostic et de proposer une étude ciblée de la région 17p11.2 en FISH. Au total, cette série de 6 patients, rappelle que le diagnostic de PLS sur les seuls éléments cliniques reste difficile, ce qui peut expliquer en partie la sous-estimation des cas de duplication 17p11.2, au regard de l'incidence du SMS. Cette étude permet également d'étendre et de préciser le phénotype du PLS et souligne à nouveau l'intérêt de la CGH-array dans le bilan étiologique des retards mentaux ou psychomoteurs syndromiques inexpliqués.

**Mots-clés :** Syndrome de Potocki-Lupski, CGH array, microduplication.

### ■CS16. DÉLÉTION 16P11.2 CHEZ 15 SUJETS : VERS UNE PRÉCISION DU PHÉNOTYPE

S. Bouquillon (1), J. Andrieux (1), N. Calmels (2), C. Vincent-Delorme (3), O. Boute-Bénéjean (3), J.M. Cuisset (4), M.P. Lemaitre (4), S. Joriot (4), G. Plessis (5), M. Mathieu (6), M.B. Dehouck (7), J. Ghommid (8), B. Duban-Bedu (8), F. Stutzmann (9), J.L. Mandel (2), B. Delobel (8)

(1) Laboratoire de Génétique Médicale, Hôpital Jeanne-de-Flandre, CHRU de Lille, France ; (2) Laboratoire de Diagnostic Génétique, Nouvel hôpital civil, Strasbourg, France ; (3) Service de Génétique Clinique, Hôpital Jeanne-de-Flandre, CHRU de Lille, France ; (4) Service de Neuropédiatrie, Hôpital Salengro, CHRU de Lille, France ; (5) Département Génétique et Reproduction, Génétique post-natale, CHU Hôpital Clémenceau, Caen, France ; (6) Service de Génétique Clinique, CHU d'Amiens, France ; (7) Service de Neuropédiatrie, Hôpital Saint-Vincent de Paul, GHICL, Lille, France ; (8) Centre de Génétique Chromosomique, Hôpital Saint-Vincent de Paul, GHICL, Lille, France ; (9) CNRS-UMR-8090, Institut de Biologie de Lille, Université Lille 2, Institut Pasteur, Lille, France

Contact : sonia@syslo.fr

La délétion 16p11.2 est un nouveau microremaniement récurrent mis en évidence ces dernières années par l'utilisation de plus en plus large de la CGH-array dans le cadre du retard mental. Cette microdélétion est le prototype des « nouveaux syndromes microdélétionnels » qui allient une pénétrance incomplète et une expressivité variable, plaçant le clinicien face à un conseil génétique délicat. Cette anomalie chromosomique a d'abord été étudiée dans des populations de patients autistes où elle est détectée à une fréquence estimée à 1 % (Kumar *et al.*, Weiss *et al.* et Marshall *et al.*, 2008). Mais c'est de façon prospective que son spectre phénotypique a pu être élargi devant sa détection dans des cohortes de patients présentant un retard mental isolé ou syndromique (Bijlsma *et al.*, 2009). Le phénotype reste difficile à préciser tant la variabilité d'expression est grande, cependant, il est noté une tendance à l'obésité et un caractère léger à modéré du retard mental. Sur près de 2 000 analyses par CGH-array 44K réalisées dans notre laboratoire dans le cadre du retard mental, cette délétion récurrente d'environ 600 kb a été détectée chez 11 patients (0,55 %) et, pour deux d'entre eux, associée à une 2<sup>de</sup> CNV (Copy Number Variation). L'anomalie est survenue *de novo* dans deux cas, héritée dans 6. Pour deux patients, l'anomalie était détectée chez une sœur atteinte. Au total nous présentons les observations de 15 patients (11 propositus, 4 apparentés) chez qui sont observés un surpoids ou une obésité (53 %) et un retard mental léger à modéré (73 %), sévère pour deux d'entre eux. Un retard de

langage est noté pour quatre d'entre eux, 7 présentent des troubles du comportement (instabilité, hyperactivité) et des traits de la série autistique pour un seul patient. On relève également chez quatre d'entre eux des malformations vertébrales. L'obésité dans les populations européennes d'individus déficients intellectuels est estimée entre 15 et 35 % (Melville *et al.*, 2006). Devant la fréquence importante du surpoids chez nos 15 patients, nous avons recherché la microdélétion 16p11.2 par qPCR chez des patients chez qui avait été évoqué et infirmé le diagnostic de syndrome de Willi-Prader. Huit délétions ont été détectées parmi 279 patients testés, soit une fréquence de 2,87 % (*versus* 0,55 % dans notre population de retards mentaux,  $p < 0,0011$ ). Ceci semble confirmer que l'anomalie chromosomique prédisposerait au surpoids. Parmi les 25 gènes de la région délétée, plusieurs candidats pour la déficience intellectuelle ont été discutés dans la littérature (SLC6A8, HIRIP3...). En ce qui concerne les malformations vertébrales, TBX6 nous semble intéressant car impliqué dans la somitogénèse et responsable de malformations vertébrales chez la souris knock-out (White and Chapman, 2005). De plus, il active l'expression de DLK1, impliqué dans l'adipogénèse et lui-même gène candidat pour l'obésité commune chez l'Homme (Walley *et al.*, 2009).

**Mots-clés :** 16p11.2, retard mental.

## C. Session simultanée : Maladies multifactorielles et génétique des populations

### ■CS17. UNE MÉTA-ANALYSE GWA DE LA GLYCÉMIE APRÈS 2H A RÉVÉLÉ QUE GIPR EST ASSOCIÉ AVEC LA SÉCRÉTION DE L'INSULINE EN RÉPONSE AU GLUCOSE ET QUE ADCY5 EST UN NOUVEAU GÈNE DE SUSCEPTIBILITÉ AU DIABÈTE DE TYPE 2

N. Boutia-Naji (1, 2), R. Saxena (3, 4), M.F. Hivert (3), C. Langenberg (5), T. Tanaka (6), J.S. Pankow (7), P. Vollenweider (8), V. Lyssenko (9), C. Levy-Marchal (10), R. Sladek (11, 12), F. Pattou (2, 13), R.M. Watanabe (14), P. Froguel (15) for MAGIC

(1) CNRS-UMR8090, Institut Pasteur de Lille ; (2) Université de Lille Nord de France, Lille ; (3) Massachusetts General Hospital, Boston, MA, USA ; (4) Broad Institute of Harvard and MIT, Cambridge, MA, USA ; (5) MRC Epidemiology Unit, Cambridge, UK ; (6) Medstar Research Institute, Baltimore, MD, USA ; (7) University of Minnesota, Minneapolis, MN, USA ; (8) Centre Hospitalier Universitaire Vaudois, Lausanne, Switzerland ; (9) Lund University, Malmö, Sweden ; (10) Inserm U690, Hôpital Robert-Debré, Paris, France ; (11) McGill University, Montreal, Canada

(12) Genome Quebec Innovation Centre, Montreal, Canada ; (13) INSERM U859, CHRU de Lille, France ; (14) University of Southern California, Los Angeles, CA, USA ; (15) Imperial College London, London, UK

Contact : nabila.bouatia-naji@good.ibl.fr

Les études GWA (Genome-wide association studies) ont identifié et confirmé plus de 20 loci confirmés de susceptibilité au diabète de type 2 (DT2) et ont significativement contribué à mieux comprendre ses mécanismes physiopathologiques. Le DT2 est défini par une hyperglycémie chronique à jeun (GJ), et/ou 2 heures après une hyperglycémie provoquée par voie orale (G2h). Des études épidémiologiques ont montré qu'une glycémie élevée à jeun ou après 2h prédit un risque augmenté de maladie coronaire, de morbidité et de mortalité, y compris chez les sujets non-diabétiques. Par l'approche GWA, nous avons identifié d'abord la glucose-6-phosphatase spécifique du pancréas (G6PC2) comme déterminant de la variabilité physiologique de la GJ ainsi que le récepteur à la mélatonine (MTNR1B) qui de plus lie la régulation du rythme circadien au DT2. Dans ce travail nous avons étudié la génétique de la G2h à l'aide de l'approche GWA, afin de caractériser la base génétique de ce trait important pour le DT2 et tester ainsi l'hypothèse que les gènes qui contrôlent la G2h chez des sujets sains joueraient également un rôle dans la susceptibilité au DT2. Nous avons donc réalisé une méta-analyse GWA sur la G2h dans le cadre du groupe collaboratif international MAGIC (Meta-Analysis of Glucose and Insulin related traits Consortium) qui a inclus 9 études GWA (N = 15234). La phase de réplication (N = 6958-30121) de 29 signaux d'association ( $p$ -value < 0,05) a identifié 5 loci confirmés au niveau génomique ( $p < 5$ ).

**Mots-clés :** genome wide association, diabète de type 2, variants génétiques fréquents.

### ■CS18. IMPLICATION DU GÈNE MODIFICATEUR D'UNE MALADIE MENDELÉNIENNE DANS UN PROCESSUS DE SÉLECTION NÉGATIVE

I. Jéru (1, 2, 3), H. Hayrapetyan (4), P. Duquesnoy (1), E. Cochet (3), J.L. Serre (5), J. Feingold (1), G. Grateau (6), T. Sarkisian (4), M. Jeanpierre (7), S. Amsellem (1, 2, 3)

(1) INSERM, U933, Paris, France ; (2) Université Pierre-et-Marie-Curie, Paris 6, UMR S\_933, Paris, France ; (3) Service de Génétique et Embryologie médicales, Hôpital Trousseau, Paris, France ; (4) Center of Medical Genetics and Primary Health Care, National Academy of Sciences, Yerevan, Armenia ; (5) Équipe Structure-Fonction, EA2493, Université de Versailles-Saint Quentin en Yvelines, Versailles, France ; (6) Centre de référence Amyloses d'origine inflammatoire et Fièvre méditerranéenne familiale, Hôpital Tenon, Paris, France ; (7) INSERM U567, Faculté de médecine, site Cochin, Paris, France

Contact : isabelle.jeru@trs.aphp.fr

L'identification et la caractérisation de gènes modificateurs représentent des enjeux majeurs en génétique humaine. SAA1 fait partie des quelques gènes modificateurs identifiés chez l'homme. Ce gène contrôle le risque d'amylose rénale (AR) chez les patients atteints de fièvre méditerranéenne familiale (FMF), une maladie auto-inflammatoire de transmission autosomique récessive associée à des mutations du gène MEFV. En effet, le génotype SAA1 alpha homozygote et le génotype p.Met694Val homozygote au locus MEFV sont deux facteurs de risque majeurs d'AR. Nous avons investigué des patients présentant une FMF et des sujets contrôles originaires de deux régions voisines : l'Arménie, où la prévalence d'AR chez les patients FMF est très élevée (24 %), et le Karabakh, où l'AR est une complication rare (2,5 %). Le séquençage de MEFV a mis en évidence une fréquence similaire du génotype p.Met694Val homozygote dans les deux populations. En revanche, la fréquence observée du génotype SAA1 alpha homozygote chez les patients du Karabakh (4 %) est très inférieure à celle retrouvée chez les patients Arméniens (24 %) ( $p = 5.10^{-5}$ ). De plus, l'étude des distributions génotypiques au locus du gène modificateur SAA1 a révélé une déviation à la loi de Hardy-Weinberg (HW) dans les deux groupes de patients, mais de manière très inattendue, en sens opposés (excès du génotype alpha/alpha en Arménie et déficit de ce génotype au Karabakh), alors que dans les deux populations contrôles ces distributions génotypiques sont similaires et en accord avec la loi de HW. L'excès de sujets SAA1 alpha homozygotes parmi les patients Arméniens peut s'expliquer par le recrutement de patients ayant un phénotype sévère. En revanche, au Karabakh, l'analyse fine des données de génétique des populations a révélé que le déficit des patients alpha/alpha résulterait d'une sélection négative des patients FMF porteurs de ce génotype. Cette étude, qui ouvre de nouvelles perspectives sur le rôle de SAA1 chez les patients FMF, constitue le premier exemple de déséquilibre à la loi de HW et de sélection impliquant le gène modificateur d'une maladie mendélienne.

**Mots-clés :** gène modificateur, Hardy-Weinberg, SAA1.

### ■CS19. VARIANTES DU GÈNE ABCB4 ASSOCIÉS À DIFFÉRENTES PATHOLOGIES HÉPATO-BILIAIRES : EXPÉRIENCE DU RÉSEAU NATIONAL

A. Spraul (1), B. Parfait (2), C. Gendrot (3), E. Jacquemin (1), Y. Bacq (3), O. Rosmorduc (4), R. Poupon (4), S. Hillaire (2), K. Belabbas (4), D. Vidau (2), O. Lascols (4), C. Baussan (1), V. Barbu (4)

(1) AP-HP, Hôpital Bicêtre, Kremlin-Bicêtre, France ; (2) AP-HP, Hôpital Beaujon, Clichy, France ; (3) Hôpital Bretonneau, Tours, France ; (4) AP-HP, Hôpital Saint-Antoine, Paris, France

Contact : veronique.barbu@inserm.fr

Des études moléculaires ont permis l'identification de gènes codant des transporteurs hépatocytaires impliqués dans la sécrétion biliaire (ABCB4/MDR3 ; ABCB11/BSEP ; ATP8B1/FIC1). Depuis 2000, la recherche des anomalies des gènes ABCB4, ABCB11 et ATP8B1 est réalisée dans 4 laboratoires regroupés dans un réseau national « Hereditary Cholestasis and Cholelithiasis ». Ce réseau a permis 1) de définir une attitude collégiale vis à vis des demandes d'examen en s'aidant d'arbres décisionnels et de fiches cliniques 2) de constituer une base de données des mutations 3) de valider les nouvelles mutations pathogènes associées aux phénotypes (dosage des lipides biliaires, immunomarquage canaliculaire BSEP et MDR3) et confirmées par des analyses de prédiction *in silico*. Nous rapportons les premières données du réseau pour le gène ABCB4 impliqué dans la sécrétion des phospholipides dans la bile, et en cas de dysfonction dans la cholestase intrahépatique progressive familiale de type 3 (PFIC3), la « Low Phospholipid Associated Cholelithiasis » (LPAC), certaines cholestases gravidiques (ICP) ou induites par les oestrogènes (CholOP) ainsi que dans d'autres cholestases chroniques (CC) fibrogènes de l'adulte. Patients et Méthodes : Le gène ABCB4 a été séquencé

chez 51 enfants présentant un tableau compatible avec une PFIC3 et chez 1463 adultes susceptibles de présenter un déficit en MDR3 (894 lithiases biliaires dont 455 LPAC, 316 ICP ou CholOP et 253 CC). Résultats : Tous phénotypes confondus, nous avons identifié 256 mutations différentes du gène ABCB4 : 27 mutations d'épissage et 229 mutations exoniques correspondant soit à des délétions ou insertions, soit à des mutations ponctuelles non sens ou faux sens. Le variant polymorphe R652G a été retrouvé avec une fréquence allélique de 10 %. Grâce aux corrélations avec les phénotypes et aux prédictions in silico, 90 % des mutations ont pu être validées. Le diagnostic de PFIC3 a été confirmé au plan moléculaire chez 73 % des enfants avec des mutations bi-alléliques dans 86 % des cas. Chez les adultes, 50 % des patients lithiasiques avec les critères de LPAC et 25 % des patientes avec ICP ou CholOP sont porteurs d'une anomalie du gène ABCB4. Cette altération n'a été trouvée que chez 13 % des autres lithiases et 8 % des CC. Soixante quinze % des adultes mutés sont hétérozygotes et 25 % portent au moins 2 mutations. Chez ces derniers, la présence d'une CC avec fibrose biliaire n'est pas rare. L'identification d'un déficit en MDR3 chez les patients lithiasiques justifie le traitement par l'acide ursodésoxycholique qui permet d'éviter les récidives dans 80 % des cas. Parmi les patients PFIC3, la réponse au traitement peut être bonne si au moins un des allèles porte une mutation faux sens. Conclusion : Les résultats d'analyse du gène ABCB4, collectés au sein du réseau, ont permis de recenser des nouvelles mutations, d'améliorer la prise en charge thérapeutique des patients et d'établir des corrélations génotype-phénotype.

**Mots-clés :** MDR3, cholestase, lithiase.

#### ■CS20. RECHERCHE DE GÈNES MODIFICATEURS DE L'HÉMOCHROMATOSE DE TYPE 1

A. Monnier (1), J. Millet (2), A.M. Jouanolle (3), R. Bouvet (3), L. Kautz (4), C. Bourgain (2), H. Coppin (4), M.P. Roth (4), Y. Deugnier (5), J. Mosser (1, 3)

(1) CNRS, UMR 6061, Univ. Rennes 1, France ; (2) INSERM, U535, Villejuif, France ; (3) Service de Génétique Moléculaire et Génomique, CHU de Rennes, France ; (4) INSERM, U563, Toulouse, France ; (5) Service des Maladies du Foie, CHU de Rennes, France

Contact : annabelle.monnier@univ-rennes1.fr

Contexte : L'hémochromatose constitue la forme la plus commune de maladie génétique de surcharge en fer. Elle peut conduire notamment à des atteintes sévères du foie (cirrhose, hépatocarcinome) et/ou du cœur (arythmies, insuffisance cardiaque). L'hémochromatose de type 1 représentée plus de 95 % des formes d'hémochromatoses, elle est principalement due à l'homozygotie C282Y (p.Cys282Tyr/p.Cys282Tyr) du gène HFE. Toutefois, ce génotype apparaît comme une condition nécessaire mais non suffisante à la constitution d'un tableau clinico-biologique symptomatique de surcharge en fer. Ainsi, La pénétrance de l'homozygotie C282Y est largement incomplète et serait en partie modulée par des gènes modificateurs encore peu connus. Objectif : L'objectif de notre étude est de caractériser ces gènes modificateurs en (i) cherchant des variants alléliques associés à l'expression clinico-biologique de la maladie et (ii) des profils d'expression génique corrélés à la surcharge hépatique. Méthodes : Nous abordons la caractérisation de ces gènes par deux approches complémentaires : – La première consiste à rechercher des corrélations génotype – phénotype de manière dédiée ou pangénomique en tirant profit de la cohorte rennaise de patients homozygotes C282Y. – La seconde approche repose sur l'exploitation d'un pedigree de souris Hfe<sup>-/-</sup> issus de 2 fonds génétiques présentant un degré de surcharge hépatique variable. Dans ce contexte, nous décrivons les variations du transcriptome hépatique et splénique de ces souris en fonction de la charge martiale acquise ou génétique. Résultats : Les premiers résultats obtenus appuient le rôle clé que jouerait la voie de signalisation BMP dans la modulation de la pénétrance biologique (SNP de BMP2, BMP4 et HJV associés à la ferritinémie au diagnostic) et dans la régulation de l'expression de l'hepcidine (BMP6). Par ailleurs, à ce stade de l'étude, nous avons pu sélectionner plus d'une centaine de gènes dont l'expression est associée, chez la souris Hfe<sup>-/-</sup>, aux variations de surcharge hépatique d'origine génétique (liées aux fonds génétiques). Conclusion : Nos résultats décrivent : – l'association entre variants alléliques communs et la pénétrance biologique de l'hémochromatose, – les variations du transcriptome hépatique en fonction du degré de surcharge hépatique de souris hémochromatosiques. Cette étude se poursuit actuellement – chez l'homme, en initiant une étude d'association à l'échelle du génome – chez la souris, en intégrant les données liaison génétique aux mesures de l'expression génique.

**Mots-clés :** HFE, transcriptomique.

M/S hors série n° 1, vol. 26, janvier 2010

#### ■CS21. VARIATION DU RISQUE DE CANCER DU SEIN DANS LA COHORTE GENEPSO (COHORTE FRANÇAISE DE PORTEURS DE MUTATIONS SUR LES GÈNES BRCA1 ET BRCA2)

J. Lecarpentier (1, 2, 3), C. Noguès (4), E. Mouret-Fourme (4), GENEPSO, R. Lidereau (5), N. Andrieu (1, 2, 3)

(1) Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale, Unité U900, Paris, France ; (2) Institut Curie, Centre de recherche et Service de Biostatistiques, Paris, France ; (3) École des Mines de Paris, Paris Tech, Fontainebleau, France ; (4) Centre René Huguenin, Service d'Épidémiologie Clinique, Oncogénétique clinique, Saint-Cloud, France ; (5) Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale, Unité U735 et Laboratoire d'Oncogénétique, Centre René Huguenin, Saint-Cloud, France  
Contact : julie.lecarpentier@curie.net

État de la question : De nombreux facteurs de risque du cancer du sein (CS) ont été étudiés, dont les mutations sur les gènes BRCA1 et BRCA2. L'estimation du risque de CS chez les femmes porteuses d'une mutation sur les gènes BRCA1 et BRCA2 est cependant très variable d'une étude à l'autre. Cette variabilité pourrait être due à l'existence de facteurs modificateurs environnementaux et/ou génétiques comme la localisation et le type de la mutation. C'est pourquoi nous proposons d'étudier la variation du risque du CS associée à ces deux facteurs en prenant en compte l'effet des facteurs de risque tels que la consommation de tabac, d'alcool et l'exposition thoracique aux radiations. Données et Méthode : Les analyses ont été menées sur 990 femmes de la cohorte GENEPSO. Les données de suivi rétrospectif ont été censurées à la date du diagnostic de cancer (quelque soit le type) ou à la date de l'interview pour les femmes indemnes de cancer. Les variations du risque de CS ont été estimées par les hazard ratios (HR) à l'aide d'un modèle de Cox modifié pour prendre en compte la probabilité d'être inclus dans la cohorte en fonction du statut vis-à-vis du CS, de l'âge et du gène muté. BRCA1 et BRCA2 ont été divisés en 20 zones correspondant aux « vigiles » des localisations des mutations des femmes indemnes. Les HR ont été calculés par zone puis par groupe de zones adjacentes de même HR. Résultats : Nous avons mis en évidence une diminution du risque de CS associé aux mutations de type non sens localisées sur le gène BRCA1 entre les codons 374 et 1161 (HR = 0,65 ; p = 0,037) par rapport aux mutations localisées à l'extérieur de cette zone. Pour le gène BRCA2, nous avons observé une zone à risque diminué de CS entre les codons 957 et 1827 (HR = 0,33 ; p = 0,004) et une zone à risque augmenté entre les codons 2546 et 2968 (HR = 3,37 ; p = 0,003) comparé aux mutations localisées à l'extérieur de ces zones. D'autre part, une augmentation du risque de CS associé à une consommation de tabac de plus de 20 paquets-année (HR = 3,16 ; p = 0,023) et à une exposition à des radiations ionisantes au thorax (mammographies exclues) (HR = 3,96 ; p < 10<sup>-3</sup>) a été mise en évidence. En revanche nous n'avons pas mis en évidence de variation du risque associé à la consommation d'alcool. Conclusion : Les zones de variation de risque identifiées dans cette étude sont concordantes avec celles décrites dans la littérature. Les risques de CS associés au tabac et aux radiations ionisantes sont significatifs et semblent plus élevés que ceux trouvés dans la population générale. La recherche d'interactions entre ces facteurs et la localisation des mutations est en cours et sera présentée. Ces études sur les facteurs modificateurs peuvent avoir des implications importantes sur la prise en charge des femmes porteuses d'une mutation puisque des variations de risque relatif d'amplitude même modérée sont associées à des variations importantes du risque absolu.

**Mots-clés :** BRCA, cancer du sein, variation de risque.

#### ■CS22. INTERACTION GÈNE-ENVIRONNEMENT ET ÉTUDE D'ASSOCIATION : FAUT-IL VRAIMENT TOUT SAVOIR SUR LES TÉMOINS ?

R. Kazma (1, 2), M.C. Babron (2, 3), E. Génin (2, 3)

(1) Université Paris-Sud, Le Kremlin Bicêtre, France ; (2) Inserm, UMR-S946, Paris, France ; (3) Université Paris-Diderot, Paris, France  
Contact : remi.kazma@inserm.fr

L'utilisation de panels de témoins de référence dans les études d'association pangénomiques est une solution intéressante pour réduire le coût des études génétiques des maladies complexes. Cette stratégie consiste à n'utiliser qu'un seul et unique groupe d'individus issus de la population générale qui sert d'échantillon témoin à plusieurs échantillons de cas atteints de différentes maladies. On teste ainsi l'association à l'échelle du génome entier en comparant les distributions des génotypes (ou des allèles) entre les cas et les témoins de référence. Généralement dans ces études, les facteurs environnementaux (E) pertinents ne sont collectés que chez les cas ce qui rend impossible la prise en compte des interactions gène-environnement (GxE) avec les outils traditionnels disponibles en génétique épidémiologique. Cependant, le fait de négliger de telles interactions peut





entraver la détection d'un facteur de risque génétique (G). Il est donc nécessaire de développer des tests qui puissent prendre en compte l'interaction GxE lorsque l'information sur E est disponible pour les malades mais pas pour les témoins. Dans ce contexte, nous proposons une nouvelle méthode statistique basée sur une régression logistique multinomiale permettant de comparer les deux groupes des cas exposés et non exposés au groupe de témoins de référence sans information sur E. Pour chacun de ces deux groupes de cas, un paramètre mesurant l'effet du facteur G est estimé et un test de rapport de vraisemblance à 2 degrés de liberté permet de tester conjointement les effets de G et de l'interaction GxE. Pour évaluer la performance de cette méthode, nous avons simulé des échantillons de 500 cas et de 500 témoins sous différents modèles d'interaction GxE. En présence d'une interaction, notre approche surpasse celle ignorant E dans les deux échantillons de cas et de témoins mais également, et de façon surprenante, l'approche qui prend en compte l'information sur E dans les deux échantillons et qui teste conjointement le paramètre d'effet de G et le paramètre d'interaction GxE. En outre, la méthode que nous proposons semble particulièrement améliorer la puissance de détection des facteurs G en situation d'interaction antagoniste c'est-à-dire pour lesquels l'allèle conférant la susceptibilité change selon le statut d'exposition. Cette méthode démontre que l'information sur E des cas peut être suffisante pour prendre en compte les interactions GxE dans les études génétiques des maladies complexes.

**Mots-clés :** interaction gène-environnement, témoins de référence, association.

#### ■CS23. LA MALADIE DE HIRSCHSPRUNG DANS LES CILIOPATHIES A RÉVÉLÉ LE RÔLE DU CIL PRIMAIRE DANS LE DÉVELOPPEMENT NORMAL DU SYSTÈME NERVEUX ENTÉRIQUE

S. Thomas (1), L. De Pontual (1), N.A. Zaghoul (2), E.E. Davis (2), D.M. McGaughey (2), H. Dollfus (3), C. Baumann (4), S.L. Bessling (2), C. Babarit (1), A. Pelet (1), C. Gascue (5), P. Beales (6), A. Munnich (1, 7, 8), S. Lyonnet (1, 7, 8), H.C. Etchevers (1), T. Attie-Bitach (1, 7, 8), J.L. Badano (5), A.S. McCallion (2), N. Katsanis (2, 9, 10), J. Amiel (1, 7, 8)

(1) INSERM U-781, Hôpital Necker-Enfants-Malades, AP-HP, Paris, France ; (2) McKusick-Nathans Institute of Genetic Medicine, Johns Hopkins University School of Medicine, Baltimore, Maryland, USA ; (3) Service de Génétique Médicale, Hôpital de Haute-Pierre, Strasbourg, France ; (4) Service de Génétique Médicale, Hôpital Robert Debré, Paris, France ; (5) Institut Pasteur de Montevideo, CP11400 Montevideo, Uruguay ; (6) MolecularMedicine Unit, Institute of Child Health, University College London, London, UK ; (7) Service de Génétique, Hôpital Necker-Enfants-Malades, AP-HP, Paris, France ; (8) Université Paris Descartes, Faculté de Médecine, Paris, France ; (9) Department of Molecular Biology and Genetics, Johns Hopkins University School of Medicine, Baltimore, Maryland, USA ; (10) Wilmer Eye Institute, Johns Hopkins University School of Medicine, Baltimore, Maryland, USA

Contact : [jeanne.amiel@inserm.fr](mailto:jeanne.amiel@inserm.fr)

Parmi les ciliopathies, les syndromes de Bardet-Biedl (BBS), Jeune et Joubert prédisposent à la maladie de Hirschsprung (MH) définie comme une neurocristopathie simple entraînant une aganglionose de l'intestin distal. En effet, environ 5 % des patients BBS présentent une MH, le plus souvent de forme courte et sans effet du sexe. Le gène majeur de la MH est le proto-oncogène RET et aucune interaction entre la voie de signalisation de RET et la fonction ciliaire n'est connue. Nous avons mis en évidence une sur-représentation de l'allèle hypomorphe de RET, ou un autre variant intronique du gène RET, dans des cas sporadiques et familiaux de BBS + MH (N = 23, X<sup>2</sup> = 10,2, p < 0.001). In vitro, ces 2 variations de séquence au locus RET modifient l'expression du gène rapporteur luciférase après expression transitoire dans des cellules SK-N-SH et Hela. Par ailleurs, l'analyse du transcriptome de 5 cultures primaires de cellules de crête neurale issues d'embryons humains révèle l'expression de nombreux gènes codant des protéines du cil primaire dont les gènes BBS. De plus, un co-marquage avec un anticorps spécifique de l'alpha tubuline acétylée et de RET montre la présence d'un cil primaire dans les cellules de la crête neurale exprimant RET. Enfin, nous avons testé in vivo l'effet de l'inactivation simultanée de Ret et Bbs 4, 5 ou 7 sur le développement du système nerveux entérique chez le poisson zèbre. La co-injection des morpholinos (Ret et l'un des Bbs) induit une augmentation significative de l'aganglionose par rapport à celle observée après injection d'un seul morpholino (Ret ou l'un des Bbs). Cette observation indique une interaction épistatique entre RET et BBS. Les résultats de ces différentes approches convergent pour démontrer le rôle insoupçonné du cil primaire dans le développement normal des neurones entériques dérivés des cellules de la crête neurale.

**Mots-clés :** ciliopathies, système nerveux entérique, genetic interaction.

#### ■CS24. GENETIC AND FUNCTIONAL ALTERATIONS OF THE MELATONIN PATHWAY IN AUTISM AND HYPERACTIVITY DISORDERS

C. Pagan (1), H. Goubran Botros (1), P. Chaste (1), N. Clement (2), R. Delorme (3), F. Fauchereau (1), G. Huguet (1), J.M. Launay (4), M. Leboyer (5), R. Jockers (2), C. Gillberg (6), T. Bourgeron (1) Institut Pasteur, Université Paris 7, CNRS URA 2182, Paris, France ; (2) Institut Cochin, Université Paris Descartes, CNRS (UMR 8104), Paris, France ; (3) Hôpital Robert-Debré, Paris, France ; (4) Service de Biochimie, IFR 139, Hôpital Lariboisière, Assistance Publique-Hopitaux de Paris EA 3621, Paris, France ; (5) INSERM U513, Faculté de Médecine, Université Paris XII, Créteil, France ; (6) Department of Child and Adolescent Psychiatry, Göteborg University, Göteborg, Sweden

Contact : [thomasb@pasteur.fr](mailto:thomasb@pasteur.fr)

Sleep-wake cycles are frequently disturbed in patients with Autism Spectrum Disorders (ASD) and Attention Deficit and Hyperactivity Disorder (ADHD). Several studies have shown melatonin deficiency in ASD, and significant improvement of sleep disturbances after melatonin treatment of ASD patients. We hypothesized that sleep troubles reported in ASD and ADHD patients may be the consequence of impaired circadian clock setting, resulting from abnormal melatonin synthesis or signalling. A total of 758 individuals, including 350 patients with ASD, 108 patients with ADHD and 300 geographically matched controls were genotyped for 156 SNP located in five genes related to melatonin synthesis (AA-NAT and ASMT) and signalling (MTNR1A, MTNR1B and GPR50), and sequenced for the entire coding sequence of these five genes. Melatonin-synthesizing enzyme ASMT was assessed at enzyme activity level in blood platelets, and at mRNA level in B lymphoblastoid cell lines, for a subset of patients with ASD and age-matched controls. ASMT enzyme activity and mRNA in blood cells displayed dramatic reduction in patients with ASD compared with controls. Several rare genetic variations were found in ASMT gene in patients with ASD and ADHD, including a splice-site mutation and several non-synonymous variations that were shown to strongly affect enzyme activity *in vitro*. A cluster of SNPs in ASMT promoter B was significantly associated with ASD. Rare genetic variations were also identified in AA-NAT, MTNR1A, MTNR1B and GPR50. genes, including one stop mutation in MTNR1A (Y170X, found in a patient with ADHD) and several non-synonymous variations in MTNR1A and MTNR1B that were shown to affect receptor binding *in vitro*. Furthermore, we could identify clusters of SNPs within MTNR1B (rs10830961) displaying significant difference in allelic frequency between ADHD patients and controls. Taken together, these results shed light on one new compelling candidate pathway for susceptibility to ASD and ADHD, and provide support for melatonin treatment of patients with ASD and ADHD.

**Mots-clés :** autism, circadian, sleep

### D. Session simultanée : Gènes, chromosomes et cancer

#### Cas sporadiques et héréditaires

#### ■CS25. CARTOGRAPHIE GÉNOMIQUES HAUTE RÉOLUTION DES ALTÉRATIONS CHROMOSOMIQUES DES LYMPHOMES DE BURKITT

S. Toujani (1), P. Dessen (2), N. Itzhar (1), C. Téaud (3), C. Richon (2), P. Léopoldie (4), S. Forget (4), J. Bosq (4), G. Danglot (1), J. Wiels (3), A. Bernheim (1, 4)

(1) FRE2939 CNRS et Université Paris XI, France ; (2) Unité de Génomique Fonctionnelle, Institut Gustave-Roussy, Villejuif, France ; (3) UMR8126 CNRS et Université Paris XI, France ; (4) Pathologie Moléculaire, Institut Gustave-Roussy, Villejuif, France

Contact : [saloua.toujani@igr.fr](mailto:saloua.toujani@igr.fr)

Dans les lymphomes de Burkitt (BL), les anomalies chromosomiques additionnelles à la translocation d'un gène d'immunoglobuline avec MYC sont observées dans la moitié des cas et les gènes impliqués restent indéterminés. Nous avons entrepris l'étude de 13 tumeurs primaires et 15 lignées cellulaires de BL par CGH array pan-génomique de 44K et 244K respectivement. Les résultats de la CGH array sont validés par la cytogénétique conventionnelle et moléculaire (FISH). Plus de la moitié (n = 145) des CNA < 2 Mb correspondent à des polymorphismes (CNV). Les locus polymorphes mendéliens ont été détectés exclusivement par les lames 244K. Ces CNV ont été décelés dans les gènes des récepteurs olfactifs, des enzymes



UGT2B17, UGT2B28, du groupe HLA et les pseudogènes de NF1. D'autres CNV ont été observés dans les gènes GSTT1 et BIRC6. Ce dernier code pour une protéine antiapoptotique prédisposant probablement aux cancers pancréatiques familiaux. Des CNV somatiques acquis, restreints aux locus IGLK(2p11), IGH(14q32) et IGHL(22q11) ont été détectés uniquement par les lames 244K. Ils reflètent les remaniements des immunoglobulines des proliférations lymphoïdes B monoclonales. La distribution des CNA ( $n = 136$ ) > 2Mb est bi modale. Dans deux lignées avec une t(8;22), le point de cassure est cloné virtuellement en 8q24.2 via un CNA impliquant les miRNA mir-1205, mir-1206 et mir-1207. Les gains intéressent les régions suivantes (par ordre de fréquence) : 1q, 13q, 7q, 8q, 2p, 11q et 15q. Les pertes, moins fréquentes, intéressent : 3p, 4p, 4q, 9p, 6p, 17p, 6q, 11pterp13 et 14q12q21.3. Vingt MCR (Minimal Critical Region) de taille variant entre 0.07 et 71.36 Mb ont été isolées. Les MCR gagnées les plus fréquentes sont : -Sur le 1q, La région 1q21.1q25.2 contient un amplicon de 6.3 Mb (1q21.1q21.3) avec deux gènes candidats BCA2 and PIAS3. Deux autres régions 1q32.21 et q44 contiennent les oncogènes MDM4 et AKT3. -Sur le 13q, une MCR en 13q31.3q32.1 contient un amplicon contenant ABCC4, gène de résistance à la chimiothérapie, qui apparaît comme le gène candidat, mais aussi le polycistron mir-17. -Sur le 2p, une MCR de 0,04 Mb (2p16.1) contient l'oncogène REL, sous unité de la famille NF-KB, amplifié comme dans 23 % des lymphomes B à grandes cellules. Les pertes fréquentes sont : - Sur le 3p, une MCR de 0,1 Mb, localisée en 3p14.2, avec inactivation d'une copie de FHIT, gène suppresseur de tumeur qui est impliqué dans de nombreux cancers. - Sur le 9p une MCR (9p21.3) implique le gène CDKN2A/CDKN2B, autre gène suppresseur de tumeur rarement altéré dans les BL. La haute résolution des lames 244 K a, seule, permis de voir la complexité des remaniements d'IG ainsi que des MCR. L'hétérogénéité génétique observée des BL conduira à définir de nouveaux sous groupes. Les lignées cellulaires sont plus complexes que les tumeurs primaires mais constituent des outils pour valider sur le plan fonctionnel les gènes altérés.

**Mots-clés** : lymphomes de Burkitt, chromosome, aCGH, FISH.

#### ■CS26. SIGNIFICATION CLINIQUE ET BIOLOGIQUE DE L'AMPLIFICATION DE CDK4 DANS LES LIPOSARCOMES BIEN DIFFÉRENCIÉS ET DÉDIFFÉRENCIÉS

L. Bianchini (1), A. Italiano (1), F. Keslair (1), M. Marty (2), J.M. Coindre (2), J. Haudebourg (3), C. Mainguené (4), D. Ranchere-Vince (5), F. Pedeutour (1)

(1) *Laboratoire de Génétique des Tumeurs Solides, CHU de Nice et CNRS UMR6543, Nice, France* ; (2) *Laboratoire d'anatomopathologie, Institut Bergonié, Bordeaux, France* ; (3) *Laboratoire d'anatomopathologie, CHU de Nice, Nice, France* ; (4) *Laboratoire d'anatomopathologie Hôpital Princesse Grace, Monaco* ; (5) *Laboratoire d'anatomopathologie, Centre Léon Bérard, Lyon, France*  
Contact : laurence.bianchini@unice.fr

Introduction. MDM2 (12q15), HMGA2 (12q14.3) et CDK4 (12q14.1) sont les principaux gènes cibles de l'amplicon 12q14-15 dans les liposarcomes bien différenciés et dédifférenciés (LBD/LDD). Alors que MDM2 et HMGA2 sont amplifiés de façon systématique, l'amplification de CDK4 n'est pas détectée dans environ 10 % des LBD/LDD. Notre objectif était de déterminer si l'absence d'amplification de CDK4 était - i) associée à des caractéristiques clinico-pathologiques spécifiques - ii) compensée par un événement génomique alternatif impliquant la voie CCND1/CDK4/P16INK4a/RB1/E2F. Matériel et Méthodes. Nous avons comparé les caractéristiques cliniques d'une série de 143 cas de LBD/LDD avec amplification de MDM2 et CDK4 (MDM2+/CDK4+) avec celles d'une série de 45 cas de LBD/LDD avec amplification de MDM2 sans amplification de CDK4 (MDM2+/CDK4-). Nous avons utilisé l'hybridation *in situ* en fluorescence (FISH), la RT-PCR quantitative en temps réel (Q-RT-PCR) ainsi que l'immunohistochimie pour déterminer le statut de CCND1, CDKN2A (P16INK4a et P14ARF) et RB1. Résultats et discussion. Nous démontrons que les LBD/LDD MDM2+/CDK4- constituent un sous-type clinique distinct. En effet, en comparaison des LBD/LDD MDM2+/CDK4+, les cas MDM2+/CDK4- sont plus fréquemment des lésions de bas grade de type « lipoma-like » (64 % vs 40 %,  $p = 0,0039$ ) et localisées dans la majorité des cas dans les tissus mous profonds des extrémités (71 % vs 47 %,  $p = 0,0045$ ). La localisation rétroperitonéale est très rare pour ces cas (7 % vs 35 %,  $p = 0,0002$ ). Le taux de récurrence locale est plus élevé chez les patients avec tumeurs MDM2+/CDK4+ que chez les patients avec tumeurs MDM2+/CDK4- (47 % vs 12,5 %,  $p = 0,0064$ ). Par analyse FISH nous montrons que des alternatives génomiques à l'amplification de CDK4 telles que les délétions de RB1 ou CDKN2A ou l'amplification de CCND1 sont absentes. En revanche, une étude d'expression par Q-RT-PCR et immunohistochimie nous a permis de montrer que

les LBD/LDD présentent une expression réduite de RB1 et une surexpression de P16INK4a, P14ARF et CCND1 indépendamment du statut de CDK4. Conclusion : Les LBD/LDD MDM2+/CDK4- constituent un sous-groupe clinique distinct présentant des caractéristiques de pronostic favorables. Alors que la délétion de CDKN2A est un événement fréquent dans les cancers humains, nos résultats montrent que cette aberration n'est pas impliquée dans la pathogenèse des LBD/LDD même dans le sous-groupe ne présentant pas d'amplification de CDK4. En revanche, nous avons observé une surexpression élevée des deux suppresseurs de tumeur codés par le locus CDKN2A : p16INK4a et p14ARF. Ces résultats soulignent la complexité de la régulation coordonnée des voies de contrôle de la prolifération RB et p53 dans les LBD/LDD. L'absence d'amplification de CDK4 ne semble pas être compensée par une altération génomique de la voie CCND1/CDK4/p16/RB1/E2F. L'amplification de CDK4 pourrait ne pas être aussi indispensable que l'amplification de MDM2 et HMGA2 dans les LBD/LDD.

**Mots-clés** : liposarcomes, CDK4, amplification.

#### ■CS27. SIGNATURE MOLÉCULAIRE DES CANCERS DU REIN DE LA MALADIE DE VON HIPPEL-LINDAU COMPARÉS AUX CANCERS DU REIN SPORADIQUES OU COMMENT UNE MALADIE ORPHELINE DEVIENT LE MODÈLE DE L'ONCOGÈNE RÉNALE ?

S. Gad (1), V. Roux (2), B. Job (2), B. Gardie (1), S. Giraud (1, 3, 10), V. Molinié (1, 4), V. Vasiliu (5), V. Verkarre (5, 10), S. Ferlicot (6, 10), A. Méjean (7, 10), G. Benoît (8, 10), V. Lazar (2), P. Dessen (2), B.T. Teh (9), S. Richard (1, 10) pour le Réseau national et le Centre de Référence INCa « Maladie de VHL et prédispositions héréditaires au cancer du rein de l'adulte (PREDIR) »

(1) *Laboratoire de Génétique Oncologique EPHE et INSERM U753, Institut de Cancérologie Gustave-Roussy, Villejuif, et Faculté de Médecine Paris-Sud, Le Kremlin-Bicêtre, France* ; (2) *Unité de Génomique Fonctionnelle, Institut de Cancérologie Gustave-Roussy, Villejuif, France* ; (3) *Laboratoire de Génétique, Hôpital Herriot, Lyon, France* ; (4) *Service d'Anatomie et de Cytologie Pathologiques, Hôpital Saint Joseph, Paris, France* ; (5) *Laboratoire d'Anatomie Pathologique, Hôpital Necker, Paris, France* ; (6) *Laboratoire d'Anatomie Pathologique, Hôpital de Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre, France* ; (7) *Service d'Urologie, Hôpital Necker, Paris, France* ; (8) *Service d'Urologie, Hôpital de Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre, France* ; (9) *Laboratory of Cancer Genetics, Van Andel Research Institute, Grand Rapids MI, Etats-Unis* ; (10) *Centre de Référence Cancers Rares INCa « Maladie de VHL et prédispositions héréditaires au cancer rénal de l'adulte » (PREDIR), Service d'Urologie, AP-HP, Hôpital de Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre, France*  
Contact : gad@igr.fr

Le cancer du rein représente 3 % des cancers de l'adulte et les prédispositions héréditaires sont estimées à 3 % de l'ensemble des cas. La principale affection est la maladie de von Hippel-Lindau (VHL) qui prédispose au développement d'hémangioblastomes, de phéochromocytomes, de kystes et de tumeurs endocrines du pancréas, de kystes et de cancers du rein à cellules claires (75 % des patients). Les cancers du rein de la maladie de VHL sont bilatéraux, multiples et précoces mais moins agressifs que les cancers sporadiques, habituellement uniques et souvent découverts à un stade avancé. Le gène VHL, dont les mutations germinales sont responsables de la maladie de VHL, est également inactivé dans 75 % des cancers du rein à cellules claires sporadiques. VHL est un suppresseur de tumeur dont le rôle est crucial dans la réponse à l'hypoxie, en ciblant le facteur de transcription HIF (Hypoxia-inducible factor) pour sa dégradation. HIF contrôle l'expression de nombreux gènes cibles impliqués notamment dans l'angiogenèse. L'inactivation de VHL entraîne une surexpression de HIF, découverte qui a ouvert la voie au développement des thérapies anti-angiogéniques ciblées pour le cancer du rein sporadique. Le gène VHL est considéré comme un « gatekeeper » précoce dans le développement d'un cancer du rein mais son inactivation bi-allélique conduirait « seulement » au développement de kystes bénins : des altérations d'autres gènes surviennent très certainement pour la transformation maligne. Nous avons voulu mettre en évidence une signature moléculaire spécifique des cancers du rein de la maladie de VHL par comparaison avec des cancers du rein sporadiques présentant une mutation somatique du gène VHL. Le but de cette étude était d'identifier les gènes distinctifs dérégulés pour ces 2 types de tumeurs et en particulier les gènes associés à l'agressivité et à la dissémination tumorale. Nous avons donc mené un projet d'analyse comparative des altérations du génome et du transcriptome de 12 cancers du rein issus de patients VHL et 16 cancers du rein sporadiques par 3 approches de génomique (CGH-array, Gene Expression et micro-RNA microarrays) sur la plate-forme de l'IGR. Les analyses

bio-informatiques ont montré que les 2 types de tumeurs sont très proches et qu'il n'y a pas de signature moléculaire spécifique de chacun. Nous venons de débiter une collaboration avec le Pr B. TEH qui dispose d'un autre type de plate-forme de génomique et a analysé de nombreuses tumeurs du rein sporadiques. La comparaison de nos données est en cours. Si nos résultats sont validés, nous aurons montré qu'il n'existe pas de signature moléculaire spécifique des cancers du rein à cellules claires sporadiques comparés aux cancers du rein héréditaires. La maladie de VHL, au cours de laquelle il est possible d'analyser des tumeurs à différents stades d'évolution chez les mêmes patients, contrairement aux cancers sporadiques, constituerait alors un modèle d'étude privilégié de l'oncogénèse rénale.

**Mots-clés :** maladie de von Hippel-Lindau, cancers du rein, génomique.

## Maladies et cancers rares

### ■CS28. IDENTIFICATION DE *MDM2* COMME GÈNE MODIFICATEUR DU RÉTINOBLASTOME

L. Castéra (1), A. Sabbagh (2, 3), C. Dehainault (1), D. Michaux (1), B. Patillon (1), E. Lamar (1), I. Aerts (4), L. Lumbruso-le Rouic (5), J. Couturier (1), D. Stoppa-Lyonnet (1, 6, 7), M. Gauthier-Villars (1), C. Houdayer (1, 7)

(1) Service de Génétique Oncologique, Institut Curie, Paris, France ; (2) UMR INSERM 745, Université Paris Descartes, France ; (3) Service de Génétique Moléculaire, Hôpital Beaujon, Clichy, France ; (4) Service d'Oncologie Pédiatrique, Institut Curie, Paris, France ; (5) Service d'Ophthalmologie, Institut Curie, Paris, France ; (6) INSERM U830, Pathologie Moléculaire des Cancers, Institut Curie, Paris, France ; (7) Université Paris Descartes, Paris, France

Contact : laurent.castera@curie.net

Le rétinoblastome (Rb) est la plus fréquente tumeur oculaire de l'enfant. L'inactivation bi-allélique du gène RB1 est à l'origine du développement tumoral. Dans les formes non prédisposées, les deux mutations apparaissent dans une cellule rétinienne unique ; le rétinoblastome est alors unilatéral. Dans les formes prédisposées, la première mutation est constitutionnelle et la deuxième est somatique. La mutation constitutionnelle est une néo-mutation pré- ou post-zygotique dans les formes sporadiques alors qu'elle est héritée dans les formes familiales. Dans les formes prédisposées, la bilatéralisation du rétinoblastome est généralement la règle. Néanmoins, de rares familles présentent une pénétrance réduite et une variabilité phénotypique (Rb bilatéral, unilatéral, rétinome, porteur sain) suggérant l'existence de facteurs modificateurs du phénotype. Ces facteurs modificateurs peuvent être des partenaires des voies de signalisation de p53 et de pRB, toutes deux impliquées dans le développement du rétinoblastome. Ainsi, MDM2, favorisant la dégradation médiée par le protéasome de p53 et de pRB, est un bon candidat. De plus, l'allèle G d'un polymorphisme fonctionnel situé sur le promoteur de MDM2 en position 309 (SNP309 ; rs2279744) est connu pour augmenter l'expression de MDM2 et entraîner une tumorigénèse accélérée chez les patients atteints du syndrome de Li Fraumeni. Par analogie et afin d'évaluer l'impact de MDM2 sur le développement du rétinoblastome, nous avons étudié le déséquilibre de transmission allélique du SNP309 dans 70 familles de rétinoblastome représentant 212 porteurs d'une mutation constitutionnelle (113 Rb bilatéraux, 40 Rb unilatéraux, 53 porteurs sains, et 6 patients atteints de rétinome). Le génotype du SNP309 a été corrélé au statut tumoral. Les tests d'association basés sur l'analyse de trios (FBAT package) montrent une association significative de l'allèle G du SNP309 de MDM2 avec les patients bilatéraux et unilatéraux dans un modèle récessif ( $Z = 3.305$ , exact  $P$  value = 0.001). Ainsi, cette forte association suggère que, sous l'influence de l'allèle G du SNP309 de MDM2, l'exacerbation de l'haploinsuffisance du gène RB1 ainsi que l'augmentation de la résistance à l'apoptose induite par p53 sont deux événements favorisant l'apparition de la tumeur et désignent MDM2 comme le premier gène modificateur du rétinoblastome.

**Mots-clés :** rétinoblastome, prédisposition, modificateur.

### ■CS29. MISE EN PLACE DU DIAGNOSTIC MOLÉCULAIRE DE LA MALADIE DE FANCONI

C. Dubois D'Enghien (1), A. Laugé (1), N. Vasquez (2), E. Gluckman (3), T. Leblan (4), J. Couturier (1), J. Soulier (2), D. Stoppa-Lyonnet (1, 5)

(1) Service de Génétique Oncologique, Institut Curie, Paris, France ; (2) Laboratoire d'Hématologie, APHP, INSERM U944 Hôpital Saint Louis, Paris, France ; (3) Service d'Hématologie, Hôpital Saint-Louis, Paris, France ; (4) Service d'Hématologie Pédiatrique, Hôpital Saint-Louis, Paris, France ; (5) Université Paris Descartes, Paris, France

Contact : cdu@curie.net

La maladie de Fanconi est caractérisée par une insuffisance médullaire, un syndrome malformatif variable et un risque de leucémie aiguë myéloïde et de carcinomes, en particulier de la sphère ORL. Le diagnostic est rarement fait à un stade précoce (avant l'apparition de l'aplasie) et peut être difficile devant une insuffisance médullaire isolée, modérée et dissociée. C'est une maladie génétique transmise selon le mode récessif, très hétérogène : 13 gènes FANCD ont été identifiés. Cependant 3 gènes rendent compte de 95 % des cas dans la littérature : 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. L'analyse de l'ubiquitination de FANCD2 permet de classer les patients selon le niveau de l'atteinte de la voie FA/BRCA et oriente le diagnostic moléculaire. Depuis 2006, nous avons mis successivement au point au laboratoire, l'étude moléculaire par séquençage direct de 9 gènes : FANCA, FANCD1 (BRCA2), FANCC, FANCG, FANCF, FANCG, FANCF, FANCF (BRIP1), FANCN (PALB2) et enfin FANCD2. Pour les patients ayant une atteinte du complexe FA Core, FANCA est criblé en première intention ; si le résultat est négatif, FANCG, FANCC, FANCF et FANCF sont étudiés ensuite. L'ubiquitination de FANCD2, un tableau malformatif sévère ou la survenue très précoce de cancers (T Wilms, tumeurs cérébrales) orientent l'étude vers FANCD1, FANCD2, FANCN, et FANCF. Les réarrangements de grande taille représentant environ 40 % du spectre mutationnel du gène FANCA, sont étudiés en MLPA®. Pour FANCD1, bien qu'étant rares, ils sont étudiés en QMPSF ; la technique étant au point pour l'étude de la prédisposition aux cancers du sein. Ces gènes ont une partie codante de 1 612 à 10 258 pb distribuée dans 1 (FANCF) à 44 exons (FANCD2). Le gène FANCD2 a 2 isoformes (de 43 et 44 exons). Il est, de plus, entouré de 2 pseudogènes qui rendent son étude délicate. Au total, 155 patients ont été étudiés et 254 mutations détectées. Au moins une mutation inactivatrice de l'un des 9 gènes étudiés a été identifiée chez 141 patients (91 %). FANCA est impliqué dans 81,5 % des cas, FANCG 8,5 %, FANCD2 5,7 %, FANCC 2 %, FANCF 1,5 %, FANCD1 0,7 %. Aucune mutation n'a été identifiée dans le gène FANCF. Cette répartition montre l'implication moindre de FANCC. L'identification du locus de la maladie via la caractérisation d'au moins une mutation inactivatrice autorise le diagnostic prénatal et le diagnostic pré-implantaire pour les parents ayant un enfant atteint : depuis novembre 2007, 6 DPN ont été pratiqués. Remerciements : T. Leblanc, A. Baruchel, L. Degos, F. Bernaudin, H. Esperou, L. Faivre-Olivier, B. Florin, C. Francannet, P. Frange, V. Gandemer-Delignières, A. Guichet, O. Hermine, C. Kerdudo, J. Landman Parker, B. Leheup, Y. Mialou, I. Mortemousque, B. Nelken, P. Petropoulos, C. Pondarré, V. Rocha, P. Rohrlisch, A. Rossi, J. Roume, Y. Sznajder, G. Socié, C. Thauvin-Robinet, A. Toutain, P. Turlure.

**Mots-clés :** maladie de Fanconi, mutation, FANCA.

## Haut risque génétique de cancer : prise en charge et suivi

### ■CS30. ESTIMATION DES RISQUES TUMORAUX DANS LE SYNDROME DE LYNCH : RÉSULTATS DE L'ÉTUDE FRANÇAISE ERISCAM

V. Bonadona (1, 2), B. Bonaïti (3, 4), E. Yhuel (4), S. Olschwang (5), S. Grandjouan (6), S. Lejeune-Dumoulin (7), B. Buecher (8, 9), R. Guimbaud (10, 11), M. Longy (12), F. Soubrier (13), O. Caron (14), C. Nogues (15), T. Frebourg (16, 17), le Groupe « Génétique et Cancer »\*, C. Lasset (1, 2), C. Bonaïti-Pellie (4, 18)

(1) Université Lyon 1, CNRS, UMR 5558, Lyon, France ; (2) Centre Léon-Bérard, Lyon, France ; (3) INRA-GABI, Jouy-en-Josas, France ; (4) Inserm, U535, Villejuif, France ; (5) Inserm, UMR 599, Institut Paoli-Calmettes, Marseille, France ; (6) Hôpital Cochin, Paris, France ; (7) CHU, Lille, France ; (8) Institut Curie, Paris, France ; (9) Hôpital Européen Georges-Pompidou, Paris, France ; (10) Institut Claudius-Régaud, Toulouse, France ; (11) CHU, Toulouse, France ; (12) Institut Bergonié, Bordeaux, France ; (13) Hôpital de la Pitié-Salpêtrière, Paris, France ; (14) Institut Gustave-Roussy, Villejuif, France ; (15) Centre René-Huguenin, Saint-Cloud, France ; (16) Inserm, U614, Rouen, France ; (17) CHU, Rouen, France ; (18) Univ Paris-Sud, Villejuif, France ; \* S. Baert-Desurmont, P. Berthet, Y.-J. Bignon, D. Bonneau, J. Chiesa, A. Chompret, C. Colas, P. Collignon, M.-A. Collonge-Rame, I. Coupiér, F. Desseigne, H. Dreyfus, J. Duffour, C. Dugast, F. Eisinger, L. Faivre, M. Frénay, J.P. Fricker, M. Gauthier-Villard, P. Gesta, B. Gilbert, S. Giraud, L. Hiuart, P. Laurent-Puig, D. Leroux, J.-M. Limacher, S. Manouvrier,

T.D. Nguyen, G. Plessis, F. Prieur, P. Pujol, J.C. Saurin, H. Sobol, D. Stoppa-Lyonnet, L. Venat-Bouvet, H. Zattara-Cannoni  
Contact : bonadona@lyon.fnclcc.fr

Le syndrome de Lynch/HNPCC est une prédisposition héréditaire liée à la présence d'une mutation constitutionnelle d'un gène MMR (Mismatch Repair), principalement les gènes MLH1, MSH2 et MSH6, impliqués dans la réparation des mésappariements de l'ADN lors de la réplication. Ce syndrome qui se caractérise par un large spectre tumoral, confère des risques élevés de développer un cancer colorectal (CCR) et un cancer de l'endomètre (CE) et des risques plus modérés de développer un cancer de l'intestin grêle, des voies excrétrices urinaires, de l'estomac, des voies biliaires et de l'ovaire. Il est essentiel de connaître précisément les risques tumoraux pour chaque localisation afin de proposer une prise en charge optimale aux patients. L'étude ERISCAM a pour objectif d'estimer de façon fiable et précise les risques des différentes tumeurs chez les sujets porteurs d'une mutation d'un gène MMR, en utilisant une méthode statistique, la GRL, corrigeant le biais de sélection des familles (Carayol et Bonaiti-Pellié, 2004). Cette étude rassemble les données de 537 familles françaises avec une mutation d'un gène MMR identifiée (248 MLH1, 256 MSH2, 33 MSH6), recrutées par les 40 centres d'oncogénétique participants, tous membres du Groupe Génétique et Cancer. Le risque cumulé de CCR à 70 ans est estimé à 39,9 % (Intervalle de confiance 95 % : 26,8-56,2 %) chez l'homme et 29,2 % (16,0-46,8 %) chez la femme. Le risque cumulé de CE à 70 ans est estimé à 28,2 % (15,9-46,9 %) et le risque de cancer de l'ovaire à 6,8 % (2,9-20,7 %). Les risques des autres localisations sont estimés pour les voies excrétrices urinaires à 1,9 % (0,4-4,6 %), l'intestin grêle à 0,6 % (0,2-1,2 %), l'estomac à 0,7 % (0,08-5,5 %), les voies biliaires à 0,6 % (0,07-1,8 %). Une différence significative est retrouvée entre les gènes mutés ( $p < 0,001$ ). Le risque de CCR est plus faible chez les porteurs d'une mutation du gène MSH6, 11,2 % à 70 ans (7,6-19,7 %) contre 41,3 % (23,8-69,7 %) et 47,2 % (30,9-62,9 %), respectivement pour les gènes MLH1 et MSH2. Le risque de CE atteint 48,1 % (23,8-69,7 %) pour MLH1, contre 14,0 % (5,3-42,6 %) et 15,5 % (7,9-30,3 %) respectivement pour MSH2 et MSH6. À partir de l'une des plus importantes séries de familles de syndrome de Lynch rapportée à ce jour, l'étude ERISCAM, avec une méthode d'estimation exempte de biais, confirme des risques de CCR plus faibles que les premières estimations de la littérature, particulièrement pour le gène MSH6. Elle montre également une variation du risque de CE selon le gène muté : élevé pour MLH1 et modéré pour MSH2 et MSH6. Les risques des autres localisations sont faibles hormis le risque de cancer de l'ovaire. Ces résultats confortent les recommandations de prise en charge de l'expertise INSERM-FNCLCC publiées en 2004 et incitent à réserver la discussion d'une éventuelle chirurgie prophylactique utérine aux porteurs de mutation MLH1.

**Mots-clés** : syndrome de Lynch/HNPCC, gènes MMR, estimations des risques de cancer.

### ■CS31. CONSTITUTION D'UNE COHORTE DE PERSONNES PRÉSENTANT UN SYNDROME HNPCC PRISES EN CHARGE EN SERVICE D'ONCOGÉNÉTIQUE : MODALITÉS DE SURVEILLANCE COLORECTALE ET UTÉRINE

J. Moretta-Serra (1), L. Huiart (1), F. Eisinger (1), A. Contrain (1), M. Giovannini (3), G. Monges (4), B. Lelong (5), L. Rabayrol (1), V. Bourdon (2), S. Olschwang (1, 2), H. Sobol (1, 2)

(1) Département d'oncologie génétique, de prévention et de dépistage, Institut Paoli-Calmettes, Marseille, France ; (2) Laboratoire d'oncogénétique moléculaire, Institut Paoli-Calmettes, Marseille, France ; (3) Unité d'endoscopies diagnostiques et thérapeutiques en oncologie digestive, Institut Paoli-Calmettes, Marseille, France ; (4) Laboratoire de biopathologie, Institut Paoli-Calmettes, Marseille, France ; (5) Chirurgie oncologique, Institut Paoli-Calmettes, Marseille, France  
Contact : jessica.moretta@yahoo.fr

La prise en charge des sujets porteurs de mutation constitutionnelle délétère (MCD) de gènes MMR s'est récemment standardisée. Cependant leur adhésion aux mesures de dépistage recommandées est peu connue ; nous nous sommes donc intéressés aux modalités de leur surveillance colorectale et utérine. Nous avons constitué, à partir de dossiers de consultation et du laboratoire, une cohorte de 107 sujets porteurs d'une MCD de MLH1, MSH2 ou MSH6. Ont été exclus 9 sujets décédés, 30 non informés de leur statut biologique et 1 suivi dans un autre centre. Au total nous avons recensé 67 sujets ayant été informés de leur statut entre juin 2000 et juin 2009 répartis dans 53 familles, âgés de 19 à 67 ans au moment du rendu de résultat (moyenne 43,5 ans). Parmi eux 50,7 % sont des hommes ; 46,3 % sont indemnes de tout cancer. Parmi ceux âgés de plus de 25 ans ( $n = 62$ ), 4,8 % n'ont jamais réalisé de coloscopie. Tous les sujets indemnes de cancer ( $n = 26$ ) ont fait au moins une coloscopie dans leur vie. Si l'on

considère un intervalle de temps de 24 mois glissant autour du rendu de résultat, 83,9 % ( $n = 52$ ) des sujets ont eu une coloscopie, et 9 des 10 personnes n'en ayant pas eu sont indemnes de cancer. Parmi les sujets pour lesquels le délai entre deux coloscopies est évaluable ( $n = 30$ ), 76,7 % continuent de réaliser des coloscopies avec des délais conformes aux recommandations de surveillance systématique et adaptée aux résultats des coloscopies. Sur 28 femmes âgées de plus de 30 ans, une surveillance endométriale adaptée n'est mentionnée que dans 10,7 % des cas. Par ailleurs concernant les modalités de réalisation des coloscopies ( $n = 156$ ), la qualité de la préparation est non satisfaisante ou non renseignée pour 73,7 % des coloscopies. 70,5 % de celles réalisées après 1997 ne mentionnent pas l'usage d'un colorant. 66,7 % des coloscopies n'ont visualisé aucun polype (personnes déjà atteintes d'un cancer : 67,3 %/indemnes : 65,5 %, NS). Concernant les caractéristiques des polypes, 82,1 % sont infracentimétriques. 62,5 % sont adénomateux, 21,9 % hyperplasiques, 3,1 % juvéniles et 12,5 % ont une histologie bénigne autre. En conclusion les données recueillies révèlent une adhésion globale correcte des patients aux examens recommandés de dépistage colorectal : la majorité a bénéficié d'au moins une coloscopie et continue ce suivi à une fréquence adéquate. Dans un intervalle de 24 mois autour du rendu de résultat biologique, la compliance à la surveillance endoscopique semble meilleure pour les patients ayant déjà eu un cancer que pour les indemnes. Par ailleurs on relève des informations manquantes dans les comptes rendus de coloscopie : la qualité de la préparation et l'utilisation d'un colorant sont rarement mentionnées. Enfin près de 90 % des femmes n'ont pas de suivi endométrial. La constitution de cette cohorte a pour but d'améliorer la surveillance des sujets à risque de cancer du spectre HNPCC en leur proposant un programme personnalisé de suivi géré par une structure spécifique.

**Mots-clés** : gène MMR, dépistage, compliance.

### ■CS32. REPRÉSENTATIONS DES PATIENTES DE L'INFORMATION DÉLIVRÉE DANS LE CONTEXTE D'UN RENDU DE RÉSULTAT NÉGATIF DES ANALYSES GÉNÉTIQUES INITIALES AU CANCER DU SEIN

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

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

Contact : woerle@lyon.fnclcc.fr

Objectif. Notre objectif est d'évaluer la compréhension de l'information transmise, concernant le résultat négatif des analyses génétiques initiales, dans les prédispositions héréditaires au cancer du sein. Cette information est complexe et présente une certaine ambiguïté du fait que le médecin annonce un résultat non concluant ne permettant pas d'éliminer un risque de cancer. Ainsi notre but est d'évaluer les représentations des patientes quant à cette information délivrée, leur compréhension de cette information et la manière dont elles se la réapproprient. Population Sur 60 entretiens réalisés initialement, nous avons retenu uniquement les patientes pour qui le risque de cancer familial est très élevé (score familial INSERM ? 5), c'est-à-dire 37 patientes atteintes d'un cancer du sein pour lesquelles une prédisposition héréditaire est évoquée, mais dont l'analyse des gènes BRCA1/2 est négative. Méthodologie. Elle s'appuie sur l'élaboration d'entretiens cliniques de recherche, enregistrés et retranscrits, réalisés deux mois après la consultation de rendu de résultat et une analyse qualitative des données. Nous avons procédé à une analyse de contenu de ces entretiens (Crabtree, B. F., 1991). Les enregistrements ont été analysés et codés, à partir d'une grille de décryptage commune, afin de dégager les contenus spécifiques émergents au cours de chaque entretien. Résultats. Nous rapportons les représentations des patientes de l'information transmise par le médecin oncogénéticien, au cours de la consultation de rendu de résultat négatif, réalisée deux mois auparavant. Plusieurs thématiques ont été explorées : les ressentis des patientes face à l'annonce du résultat négatif (1), la réappropriation par les patientes du risque majoré de cancer (2) et du risque de mutation génétique (3) et leurs représentations quant à l'étiologie de la maladie (4). Nous avons observé une discordance entre l'information délivrée par le médecin et ce qu'en rapportent les patientes au cours des entretiens. Nous avons également remarqué des propos ambivalents et des paradoxes dans le discours de ces femmes, qui renforcent encore ce déséquilibre entre l'information transmise et leurs représentations du risque de cancer. Conclusions. Les résultats qui seront présentés nous permettront de mieux



évaluer les discordances qui existent entre l'information dispensée par le médecin et la manière dont les patientes appréhendent et se réapproprient l'information transmise. Nous souhaitons remercier la Ligue contre le Cancer et la Fondation de France pour leur soutien financier.

**Mots-clés :** information, analyses des gènes BRCA1 et BRCA2, cancer du sein.

## E. Session simultanée : Anomalies du développement, syndromes malformatifs et fœtopathologie

### ■CS33. ALTÉRATIONS GÉNOMIQUES À GRANDE DISTANCE (>1,4 MB) ET DÉRÉGULATION D'EXPRESSION TISSU-SPÉCIFIQUE AU LOCUS SOX9

S. Benko (1, 5), J.A. Fantes (2), J. Amiel (1, 3), D.J. Kleinjan (2), J. Ramsay (2), N. Jamshidi (4), A. Essafi (2), V. Abadie (5, 6), M. Holder-Espinasse (7), H. Roest Crolius (8), H. Etchevers (1), A. Munnich (1, 3, 5), A. Pelet (1), P.G. Farlie (4), D.R. FitzPatrick (2), S. Lyonnet (1, 3, 5) (1) INSERM U-781, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France ; (2) MRC Human Genetics Unit, Edinburgh, United Kingdom ; (3) AP-HP, Département de Génétique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France ; (4) Murdoch Children's Research Institute, Royal Children's Hospital, Parkville, Australia ; (5) Université Paris Descartes, Faculté de Médecine, Paris, France ; (6) AP-HP, Service de Pédiatrie, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France ; (7) CHRU de Lille, Hôpital Jeanne-de-Flandre, Lille, France ; (8) École Normale Supérieure, CNRS UMR-8541, Département de Biologie, Paris, France

Contact : sabinabenko@gmail.com

La majorité des régions hautement conservées au cours de l'évolution est non-codante et a un rôle régulateur (Highly Conserved Non-coding Element ; HCNE). Les gènes majeurs du développement sont souvent inclus dans des déserts géniques particulièrement riches en HCNE. Certains HCNE régulent une transcription tissu-spécifique. C'est le cas pour la régulation transcriptionnelle du gène SOX9 puisqu'une perte de régions localisées à très grande distance (plus de 1,4 Mb en amont et en aval) de SOX9 est à l'origine de la Séquence de Pierre Robin isolée (SPRi). Nous avons d'abord établi une liaison dans une famille dominante (F1) entre le phénotype SPRi et la région 17q24.3, où sont par ailleurs concentrés les points de cassure de 3 translocations familiales indépendantes (T1, T2 et T3) ségrégant avec la SPRi. Puis, nous avons identifié par CGH de haute résolution des microdélétions impliquant des HCNE chez 2/12 patients SPRi, situées à 1,4 Mb et 1,5 Mb, respectivement en amont et en aval de SOX9. Cette cartographie physique, par délétions et translocations, indique un vaste domaine de régulation à grande distance de part et d'autre de SOX9. De plus, une mutation ponctuelle localisée dans un HCNE (HCNE-F2) délété dans la famille F1, a été identifiée dans une seconde famille (F2). Une transgène transitoire du gène rapporteur lacZ en aval de l'HCNE-F2 et d'un promoteur minimal, montre que cet élément active la transcription de façon tissu-spécifique dans le mésenchyme mandibulaire. La mutation F2 abolit cette fonction activatrice de l'HCNE-F2. L'immunoprécipitation de la chromatine (ChIP) montre que l'HCNE-F2 lie le facteur de transcription MSX1, connu comme répresseur transcriptionnel et impliqué dans le développement craniofacial. Par EMSA, nous concluons que la perte de l'activité activatrice de l'HCNE-F2, comprenant la mutation F2, est médiée par la plus grande affinité de liaison de MSX1 à la séquence mutée de l'HCNE-F2. Pour finir, l'étude des modifications des histones au niveau de l'élément HCNE-F2 et de l'élément HCNE compris par la délétion SP2, dans les cellules du mésenchyme mandibulaire et du mésenchyme maxillaire, montre que ces régions génomiques arborent la signature d'activateurs transcriptionnels tissu-spécifique (immunoprécipitation de H3K4me et p300), ici restreinte aux cellules du mésenchyme mandibulaire au cours du développement. Le développement de la mandibule requiert donc l'action d'éléments régulateurs, activateurs de transcriptions spécifiques de tissu, situés à très grande distance de part et d'autre du gène SOX9. Leur perte conduirait à une diminution d'expression de SOX9 restreinte au mésenchyme mandibulaire. Cela aura comme conséquence une hypoplasie mandibulaire, primum movens de la séquence de Pierre Robin isolée. On peut étendre ce concept à d'autres malformations congénitales par altérations génomiques (délétions ou duplications), à distance de SOX9.

**Mots-clés :** séquence de Pierre Robin, SOX9, régulation d'expression.

### ■CS34. MUTATIONS DU GÈNE OFD1 DANS LES CILIOPATHIES CHEZ LE GARÇON : SYNDROME DE JOUBERT AVEC OBÉSITÉ, POLYDACTYLIE ET ANOMALIES RESPIRATOIRES

S. Thomas (1), C. Thauvin-Robinet (2), C. Gomes (1), E. Escudier (3), B. Aral (2), J. Amiel (1, 4, 5), H. Etchevers (1), N. Boddaert (6), L. Faivre (2), L. Burglen (3), S. Lyonnet (1, 4, 5), M. Vekemans (1, 4, 5), T. Attié-Bitach (1, 4, 5)

(1) INSERM U-781, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France ; (2) Centre de Génétique, Hôpital d'Enfants, CHU Dijon, France ; (3) Service de Génétique et Embryologie Médicale, Hôpital Trousseau, Paris, France ; (4) Université Paris Descartes, Paris France ; (5) Département de Génétique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France ; (6) Radiologie Pédiatrique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France  
Contact : tania.attie@inserm.fr

Le syndrome orofaciodigital de type I (OFD1) est caractérisé par des malformations de la face, de la cavité orale et des extrémités, transmis selon un mode d'hérédité dominante liée à l'X, létal chez le garçon. Des anomalies dentaires et du système nerveux central sont fréquentes. Il est distinct des autres types de syndrome OFD par la présence fréquente de reins polykystiques spécifiques au type I et par son hérédité. Pourtant, en 2006, Budny *et al.* ont rapporté une mutation du gène OFD1 dans une famille d'hérédité récessive liée à l'X, présentant un syndrome associant retard mental, obésité, macrocéphalie, anomalies des extrémités et des anomalies respiratoires attribuées à une hypomotilité ciliaire. De fait, OFD1 a été impliqué dans la fonction ciliaire par son expression au niveau du cil primaire, de l'inactivation chez la souris et chez le zebrafish (morpholinos) qui entraîne des anomalies du cil primaire associées à des signes appartenant au spectre des ciliopathies et notamment une hydrocéphalie et anomalie de latéralité. Ces données sont cohérentes avec le patron d'expression du gène OFD1, que nous avons étudié par hybridation *in situ* au cours du développement précoce humain : OFD1 est notamment exprimé au niveau de la face dans le mésenchyme entourant les cavités orales et nasales, la langue et les bourgeons dentaires, au niveau du rein, des épithéliums pulmonaires et digestifs, du neuroépithélium et de la rétine neurosensorielle. Nous avons analysé le gène OFD1 chez un garçon présentant un phénotype évoquant une ciliopathie : une obésité, une polydactylie post-axiale des 2 membres, et des anomalies respiratoires attribuées à un reflux gastro-oesophagien, sans atteinte rénale ni génitale. Il présentait de plus une apraxie oculomotrice et une atteinte rétinienne. Une délétion de 5 paires de bases située dans l'exon 21 entraînant l'apparition prématurée d'un codon stop a été mise en évidence. Les parents sont asymptomatiques et la mère sera analysée prochainement. L'imagerie cérébrale a mis en évidence une hypoplasie vermineuse avec une image de dent molaire, signant le diagnostic de syndrome de Joubert (JBS) chez ce garçon. Nous avons entrepris le séquençage direct du gène OFD1 chez 20 garçons atteints de JBS et chez 12 fœtus des 2 sexes atteints de syndrome de Meckel au vu de l'allélie entre ces 2 syndromes. Aucune autre mutation n'a été identifiée à ce jour. L'analyse du cil primaire par immunomarquage ainsi que l'exploration de la motilité sont programmées sur une biopsie de muqueuse nasale du garçon muté pour OFD1, afin de définir le phénotype exact de l'atteinte ciliaire tant sur le plan de la motilité que sur le plan ultrastructural. Ces résultats confirment l'existence de mutations récessives du gène OFD1 chez le garçon, étendent l'hétérogénéité clinique des phénotypes résultant de mutations du gène OFD1 transmises sous un mode dominant ou récessif lié à l'X, et l'hétérogénéité génétique du JBS.

**Mots-clés :** OFD, Joubert, ciliopathie.

### ■CS35. MODÈLES CELLULAIRES ET ANIMAUX D'INVALIDATION DES GÈNES NPHP1 ET NPHP4 MUTÉS DANS LA NÉPHRONOPHTISE JUVÉNILE

M. Delous (1), C. Burcklé (1), H. Gaudé (1), F. Silbermann (1), N. Hellman (1, 2), R. Salomon (1, 3), S. Schneider-Maunoury (4), C. Antignac (1, 5), S. Saunier (1)

(1) INSERM U574, Hôpital Necker-Enfants Malades, Université Paris Descartes, Paris, France ; (2) Nephrology Division, Massachusetts General Hospital, Charlestown, Massachusetts, USA ; (3) Néphrologie pédiatrique, Hôpital Necker-Enfants Malades, AP-HP, Paris, France ; (4) CNRS UMR 7622, Université Pierre-et-Marie-Curie, Paris, France ; (5) Département de Génétique, Hôpital Necker-Enfants Malades, AP-HP, Paris, France  
Contact : sophie.saunier@inserm.fr

La néphronophtise (NPH) est une néphropathie autosomique récessive caractérisée par une fibrose interstitielle et la formation de kystes. Onze gènes, NPHP1-11, ont été identifiés à ce jour, et leurs produits, les néphrocystines, sont localisés au niveau du cil primaire dans les cellules épithéliales rénales. Nous avons généré des cellules tubulaires rénales MDCK

invalidées pour les gènes NPHP1 et NPHP4 (NPHP-KD) par la technique d'interférence à l'ARN à l'aide d'un système lentiviral permettant l'expression stable des séquences shRNA (small hairpin RNA). La perte des gènes NPHP1 ou NPHP4 dans les cellules MDCK entraîne un défaut de formation des jonctions serrées et des structures désorganisées en culture 3D en gel de collagène. Les cils des cellules NPHP-KD sont plus courts que dans les cellules contrôles. Ce phénotype est similaire à celui rapporté pour les cellules invalidées pour des protéines des jonctions serrées, et de façon intéressante, nous avons montré une interaction physique et une co-localisation cellulaire des néphrocystines avec les protéines des jonctions serrées PALS1/PATJ et Par6. Ceci démontre pour la première fois l'implication des néphrocystines dans l'organisation de la polarité épithéliale et la formation du cil, possiblement *via* leur interaction avec les protéines des jonctions serrées. Nous avons analysé le rôle de la néphrocystine-4 *in vivo* par la génération et la caractérisation d'un modèle de perte fonction de Nphp4 chez le poisson zèbre à l'aide d'oligonucléotides morpholinos antisens. L'inhibition de Nphp4 chez le poisson zèbre entraîne des défauts de convergence-extension au cours de la gastrulation, caractéristiques d'un défaut de polarité planaire (PCP). Le phénotype est plus sévère chez le poisson également porteur d'une mutation de Vangl2, protéine clé de la voie Wnt/PCP, indiquant une interaction génétique entre Nphp4 et Vangl2. Tous les morphants Nphp4 présentent une courbure de l'axe ventral et dans la majorité des cas des kystes pronéphriques, qui s'accompagnent d'un défaut de ciliogénèse dans la vésicule de Kupffer et le canal pronéphrique. Par ailleurs, nous avons montré que la néphrocystine-4 pourrait favoriser la voie Wnt/PCP, en caractérisant son interaction avec Dishevelled, un élément clé de l'activation de cette voie. L'ensemble de ces résultats démontrent le rôle crucial des néphrocystines -1 et -4 dans la mise en place de la polarité apico-basale et planaire ainsi que dans la ciliogénèse et suggère des mécanismes pathophysiologiques menant aux altérations observées dans la néphronophtise.

**Mots-clés :** néphronophtise, cil primaire, poisson zèbre.

#### ■CS36. DES MUTATIONS DANS UNE NUCLÉOTIDASE, CANT1, SONT RESPONSABLES DU SYNDROME DE DESBUQUOIS DE TYPE 1

C. Huber\* (1), B. Oules\* (1), M. Bertoli (1), M. Chami (1, 2), M. Fradin (1), Y. Alanay (3), L.I. Al-Gazali (4), M.G.E.M. Ausems (5), P. Bitoun (6), D.P. Cavalcanti (7), G. Mortier (8), Y. Shafeghati (9), A. Superti-Furga (10), S.P. Robertson (11), M. Le Merrer (1), C. Le Goff (1), A. Onetti Muda (12), P. Paterlini-Brechot (1), A. Munnich (1), V. Cormier-Daire (1) (1) Université Paris Descartes, Département de Génétique, INSERM U 781 et 807, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris, France ; (2) Institut Italien de Technologie, Genova, Italie ; (3) Unité de Génétique, Département de Pédiatrie, Faculté Universitaire de Médecine d'Hacettepe, Ankara, Turquie ; (4) Département de Pédiatrie, Faculté de Médecine & de Sciences de la Santé, Université des Émirats Arabes Unis, Al-Ain, Émirats Arabes Unis ; (5) Département de Génétique Médicale, Université Médicale, Utrecht, Hollande ; (6) Hôpital Jean-Verdier, Bondy, France ; (7) Programme de Génétique Périnatale, Département de Génétique Médicale, Campus UNICAMP, Sao Paulo, Brésil ; (8) Centre de Génétique Médicale, Hôpital Universitaire, Ghent, Belgique ; (9) Département de Génétique Médicale, Hôpital Sarem Women, Téhéran, Iran ; (10) Centre de Médecine pédiatrique et de l'Adolescent, Hôpital Universitaire, Freiburg, Allemagne ; (11) Département de Pédiatrie et de Santé de l'Enfant, Université d'Otago, Dunedin, Nouvelle Zélande ; (12) Département de Pathologie, Campus Universitaire Bio-Médical, Rome, Italie. \* Ces auteurs ont contribué à part égale aux travaux présentés  
Contact : valerie.cormier-daïre@inserm.fr

Le syndrome de Desbuquois (DBQD (MIM 231450)) est une chondrodysplasie transmise sur un mode autosomique récessif appartenant au groupe des luxations multiples et caractérisé par un retard de croissance pré et postnatal (<-5DS), une hyperlaxité articulaire, des extrémités courtes et une scoliose progressive. Les principales caractéristiques radiologiques sont des os longs trapus, avec un évasement métaphysaire, un aspect en clé anglaise de la tête fémorale du à une hypertrophie du petit trochanter, une avance d'âge osseux du carpe et du tarse associée à une phalange « delta ». Nous avons précédemment distingué 2 formes de syndrome de Desbuquois basées sur la présence (type 1) ou l'absence d'anomalies caractéristiques des mains (type 2) et nous avons localisé le gène responsable du syndrome de Desbuquois de type 1 en 17q25. Neuf familles comprenant un total de dix enfants porteurs d'un syndrome de Desbuquois de type 1 ont été inclus dans cette étude. Parmi elles, 8/9 étaient consanguines et originaires de Turquie (3), Sri Lanka (1), Iran (1), Émirats Arabes Unis (1), Maroc (1) et France (1). Dans la dernière famille d'origine brésilienne, deux enfants étaient atteints. Nous avons identifié 7 mutations distinctes

dans le gène CANT1 (Calcium-Activated Nucleotidase 1), présentes à l'état homozygote (8) ou hétérozygote composite (2 cas brésiliens). CANT1 code pour une 5' nucléotidase appartenant à la famille des apyrases qui comporte 8 régions conservées. Parmi les 7 mutations, 4 sont des mutations non sens (del 5' UTR et exon1, p.P245RfsX3, p.S303AfsX20, p.W125X) et 3 sont des mutations faux sens (p.R300C, p.R300H, p.W299L) responsables de changements d'acides aminés localisés dans la 7<sup>ème</sup> région conservée des nucléotidases (NRC7) et non retrouvées chez 200 contrôles. La substitution de l'arginine au codon 300 a été identifiée dans 5/9 familles. La fonction de CANT1 n'est pas encore connue mais ses substrats (préférentiellement UDP, GDP et UTP) sont impliqués dans plusieurs voies de signalisation dont la diffusion du calcium *via* l'activation des purinorécepteurs P2Y. L'analyse en RT-PCR montre une expression spécifique dans les chondrocytes. Nous avons également montré dans les fibroblastes de patients la présence d'un réticulum endoplasmique dilaté. En conclusion, nous montrons pour la première fois l'implication d'une nucléotidase dans le processus d'ossification endochondrale. Les études en cours devraient contribuer à la compréhension de sa fonction spécifique.

**Mots-clés :** syndrome de Desbuquois, nucléotidase, chondrodysplasie.

#### ■CS37. ÉTUDE DES GÈNES DE LA JONCTION NEUROMUSCULAIRE DANS LES SÉQUENCES D'AKINÉSIE FŒTALE

S. Whalen (1), M. Gonzales (2, 3, 4), A. Laquerrière (4, 5, 6), S. Quijano-Roy (7), A.L. Delezoide (4, 8, 9), F. Giuliano (10), K. Dieterich (11), P. Richard (12), A. Le Bail (12), N. Monnier (13), D. Hantai (14), B. Hainque (12, 15), A. Chevallier (16), D. Avila-Smirnow (7), P.S. Jouk (11, 17), D. Héron (1), D. Sternberg (12, 14)

(1) Département de Génétique, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Assistance Publique Hôpitaux de Paris, France ; (2) Unité de Pathologie Foetale et Placentaire, Service de Génétique et d'Embryologie Médicales, Hôpital Armand-Trousseau, Assistance Publique Hôpitaux de Paris, France ; (3) UFR de Médecine, Université Pierre-et-Marie-Curie, Paris, France ; (4) Société Française de Foetopathologie (SOFFOET), France ; (5) Service d'Anatomie et Cytologies Pathologiques, Hôpital Charles-Nicolle, CHU Rouen, France ; (6) UFR de Médecine et de Pharmacie, Université de Rouen, France ; (7) Service de Pédiatrie, Réanimation et Rééducation Infantiles, Hôpital Raymond-Poincaré, Assistance Publique Hôpitaux de Paris, France ; (8) Unité de Foetopathologie, Service de Biologie du Développement, Hôpital Robert-Debré, Assistance Publique Hôpitaux de Paris, France ; (9) UFR de Médecine, Université Denis-Diderot, Paris, France ; (10) Service de Génétique Médicale, Centre de Référence des Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs, CHU de Nice, France ; (11) Service de Génétique Médicale, Centre de Référence des Arthrogryposes, Hôpital Couple-Enfant, CHU de Grenoble, France ; (12) Service de Biochimie Métabolique, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Assistance Publique Hôpitaux de Paris, France ; (13) Service de Biochimie et Génétique Moléculaire, Hôpital de La-Tronche, CHU de Grenoble, France ; (14) UMR\_S975, Centre de Recherche de l'Institut du Cerveau et de la Moëlle, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France ; (15) Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, Université René-Descartes, Paris, France ; (16) Laboratoire d'Anatomie et Cytologie Pathologiques, CHU de Nice, France ; (17) UFR de Médecine, Université Joseph-Fourier, Grenoble, France  
Contact : sandra.whelen@psl.aphp.fr

Introduction. Les séquences d'akinésies foetales (FAS) sont des affections de la mobilité foetale pour lesquelles le diagnostic peut être prénatal ou post-natal rétrospectif. Le spectre de gravité va des formes létales in utero à des formes viables de bon pronostic accessibles à la rééducation. Les causes des FAS peuvent être génétiques ou acquises et se situent au niveau du système nerveux central ou périphérique, de la jonction neuromusculaire (JNM) ou du muscle. Le typage par examen foetopathologique oriente les études génétiques. Certaines FAS sont dues à des mutations de gènes à expression embryonnaire transitoire (p.ex. CHRNG dans la JNM) avec possibilité de récupération de mobilité en postnatal. Des gènes de la voie du récepteur post-synaptique à l'acétylcholine (RACH) sont responsables de FAS liées à la JNM, létales (syndrome létales des ptérygius multiples), ou non létales (syndrome d'Escobar, arthrogryposes). Des mutations ont été rapportées à ce jour dans les gènes CHRNG, RAPSN, CHRND, CHRNA1 et DOK7. Patients et Méthodes. Les prélèvements de 32 patients ou fœtus nous ont été adressés après consultation de pédiatrie, de génétique ou de foetopathologie, pour exploration des gènes de la JNM devant un diagnostic de FAS. Les données cliniques, échographiques ou foetopathologiques étaient compatibles avec une implication de la JNM. 8 patients vivants et âgés de plus d'un an présentaient une arthrogrypose avec ou sans ptérygius. 18 fœtus présentaient une séquence d'akinésie foetale ayant conduit à une IMG. Les 6 autres cas regroupaient des morts foetales

in utero et des formes infantiles d'évolution létale ou réservée. Les gènes CHRNA1, RAPS1, CHRND, CHRNA1 et DOK7 sont en cours de séquençage (PCR-séquençage des exons et bordures introniques). Les objectifs de l'étude sont de (i) fournir un diagnostic génétique à certains cas, (ii) estimer la fréquence d'implication de ces gènes et (iii) préciser les phénotypes et améliorer ainsi les algorithmes diagnostiques dans les FAS. Résultats préliminaires. Trois atteintes bialléliques du gène CHRNA1 codant pour la sous-unité foetale gamma du RACH ont été identifiées chez deux patients vivants nés avec arthrogrypose et ptérygiums multiples (syndrome d'Escobar) et chez un fœtus porteur d'un hygroma kystique avec ptérygiums ayant conduit à une IMG. Ces mutations de CHRNA1, à l'état homozygote ou hétérozygote composite correspondent à des mutations stop, d'épissage ou décalages du cadre de lecture ayant pour effet présumé une absence de synthèse, ou l'expression de formes tronquées. Conclusion et Perspectives. Les gènes de la JNM sont en cours d'exploration chez les 29 autres patients. Un diagnostic génétique positif est utile pour le conseil génétique aux parents, permettant d'informer du risque de récurrence et de proposer éventuellement un DPN précoce. Les critères d'orientation diagnostique vers une anomalie génétique de la JNM devant une FAS, létale ou non, restent à préciser.

**Mots-clés :** akinésie foetale, jonction neuromusculaire, arthrogrypose.

### ■CS38. ANOMALIE DU TRANSPORTEUR DE LA T3 (MCT8) ET SYNDROME D'ALLAN-HERNDON-DUDLEY : À PROPOS DE 3 PATIENTS

A. Afejar (1, 2, 3, 4), F. Renaldo (1), D. Doumar (1), G. Ponsot (1), D. Rodriguez (1), R. Touraine (5), L. Burglen (2, 6)

(1) Service de Neuropédiatrie, AP-HP, Hôpital Trousseau, Paris, France ; (2) Service de Génétique Médicale, AP-HP, Hôpital Trousseau, Paris, France ; (3) Service de Génétique Médicale, Hôpital Pitié Salpêtrière, AP-HP, Paris, France ; (4) Centre de référence pathologies du développement et syndrome malformatif, AP-HP ; Hôpital Trousseau et Hôpital, Pitié Salpêtrière, Paris, France ; (5) Service de génétique clinique chromosomique et moléculaire, CHU de Saint-Étienne, France ; (6) Centre de référence des malformations et maladies congénitales du cervelet, AP-HP, Hôpital Trousseau, Paris, France

Contact : alexandra.afejar@trs.aphp.fr

Les hormones thyroïdiennes ont un rôle essentiel dans le développement cérébral (neurogénèse, synaptogénèse, myélinisation). Longtemps a primé l'hypothèse d'une diffusion passive des hormones thyroïdiennes dans les cellules jusqu'à l'identification récente de transporteurs spécifiques. Pour la T3 (forme active de la T4) un transporteur au niveau des neurones, MCT8 a été identifié, codé par un gène en Xq13.2. En 2005, la mise en évidence chez des patients présentant un syndrome d'Allan-Herndon-Dudley, pathologie récessive liée à l'X, décrite en 1944, d'un profil thyroïdien caractéristique a conduit à étudier le gène MCT8 et permis d'identifier des mutations chez ces patients. Depuis une trentaine de cas a été rapporté avec chez certains un tableau classique de syndrome d'Allan-Herndon-Dudley et chez d'autres une encéphalopathie plus sévère. Nous rapportons 3 nouveaux garçons non apparentés âgés de 4, 6 et 7 ans. Ils présentent une encéphalopathie sévère avec hypotonie, absence de tenue de tête, absence de langage, syndrome pyramidal et extrapyramidal, mouvements anormaux (dystonie et dyskinesies paroxystiques) et épilepsie précoce et sévère (2/3). Chez tous on retrouve des particularités morphologiques (visage allongé et étroit, oreilles grandes et dysplasiques, extrémités fines et étroites, amyotrophie). Chez les 3, l'IRM a montré un retard de myélinisation et le bilan thyroïdien une T3 élevée. Orientés par ces anomalies thyroïdiennes une étude du gène MCT8 a été réalisée retrouvant des mutations transmises par la mère pour 2 et de novo pour 1. L'étude de nos patients et de ceux de la littérature permet de préciser le phénotype associé aux anomalies du transporteur de la T3. Il s'agit de garçons avec dysmorphie (visage allongé et étroit, ptosis, oreilles grandes et dysplasiques) hypotonie marquée, amyotrophie globale, syndrome pyramidal et extrapyramidal, mouvements anormaux (dystonie, dyskinesie), retard de développement de modéré à sévère avec marche absente (60 %) ou ataxique, langage absent (70 %) ou dysarthrique et épilepsie chez

**Mots-clés :** MCT8, T3, maladie neurologique.

### ■CS39. « TUBULINOPATHIES » : SOUS-UNITÉS TUBULINES ET MALFORMATIONS CORTICALES

K. Poirier, N. Bahi-Buisson, Y. Saillour, J. Rambaud, X. Jaglin, J. Chelly et l'ensemble des cliniciens et foetopathologistes ayant participé à cette étude

Institut Cochin, Inserm U567, CNRS UMR8104, Laboratoire de génétique et physiopathologie des maladies neurodéveloppementales, Paris, France  
Contact : Karine.poirier@inserm.fr

Le cortex cérébral, provenant du télencéphale, est une structure plissée couvrant les hémisphères cérébraux et responsable de nos capacités cognitives et perceptuelles. Au cours de l'embryogénèse, le cortex cérébral se forme en trois étapes successives correspondant à (i) la prolifération des cellules progénitrices neuronales au niveau des ventricules (ii) la migration radiale et tangentielle des cellules neuronales (Marin and Rubenstein, 2001) (iii) la différenciation des neurones et leur organisation en couches cellulaires bien caractérisées. Lorsqu'une ou plusieurs de ces étapes sont altérées, une malformation corticale peut apparaître chez l'humain : – Les « lissencéphalies de type 1 » sont des pathologies de la migration neuronale associées à des anomalies de la lamination du cortex cérébral. Elles sont associées à un épaississement cortical et à des agyries (absence de circonvolutions) et/ou des pachygyries (diminution du nombre de circonvolutions) chez les patients atteints. – Les polymicrogyries sont des malformations cérébrales caractérisées par une surface corticale irrégulière avec un nombre excessif de petits gyri partiellement fusionnés séparés par des sillons peu profonds. L'implication récente dans les lissencéphalies de protéines ayant en commun un lien avec le cytosquelette (DCX, LIS1...) a suggéré un rôle très important des microtubules dans la formation des structures cérébrales au cours du développement. Ces données, confortées par l'interaction prédite entre l'alpha tubuline et DCX, nous ont orienté vers l'implication du gène TUBA1A, dans un large spectre de dysgénésies corticales humaines appartenant au spectre des lissencéphalies de type 1 (Keays, 2007, Poirier, 2007, Bahi et Poirier 2008). Par la suite, l'exploration moléculaire de 14 sous unités alpha et beta tubulines exprimées dans le cerveau fœtal chez des patients atteints de différentes malformations corticales nous a permis d'impliquer les gènes TUBB2B et TUBB, respectivement, dans des formes de polymicrogyries asymétriques et bilatérales (Jaglin et Poirier, 2009) et dans les cas foetaux de TUBB2B, dans une variante atypique de lissencéphalie de type 2 (données personnelles). Les travaux, présentés ici, suggèrent le rôle important et commun des sous unités tubulines dans la formation du cortex en développement et plus particulièrement dans la migration neuronale. Toutefois, l'implication de ces différentes sous unités tubulines dans des formes de malformations corticales distinctes (lissencéphalie type 1 vs polymicrogyrie vs lissencéphalie type 2) suggère donc un rôle spécifique de ces sous unités lors du développement neuronal.

**Mots-clés :** tubulines, lissencephalie, polymicrogyrie.

### ■CS40. À PROPOS DE GPR56 : CARACTÉRISATION PHÉNOTYPIQUE ET ÉVOLUTION RADIOLOGIQUE DE LA 1<sup>RE</sup> SÉRIE FRANÇAISE

J. Rambaud (1), K. Poirier (1), N. Bahi-Buisson (1, 2), Y. Saillour (1), N. Carion (4), L. Villard (3), C. Beldjord (1, 4), J. Chelly (1, 4)

(1) Institut Cochin, INSERM U567, CNRS U8104, Département Génétique et développement, Paris, France ; (2) Service de Neuropédiatrie, Hôpital Necker, Paris, France ; (3) Faculté de médecine de la Timone, INSERM 910, Marseille, France ; (4) Institut Cochin, Département de génétique et pathologie moléculaire, Équipe génétique et physiopathologie des retards mentaux, Paris, France

Contact : jerome.rambaud@yahoo.fr

Les polymicrogyries sont des malformations cérébrales secondaires à une anomalie de la migration tardive et de l'organisation corticale. Les polymicrogyries en rapport avec des mutations dans le gène GPR56 représentent des formes rares, autosomiques récessives, responsables de polymicrogyries bifronto-pariétales symétriques associées à des anomalies de la substance blanche, une atrophie cérébelleuse et du tronc cérébral. Les patients présentent un retard mental, un syndrome cérébelleux, un strabisme et une épilepsie. Objectifs : Étudier le spectre des mutations GPR56, définir l'expression clinique et l'histoire naturelle, étudier l'influence des mutations sur la sévérité du phénotype. Résultats : 7 nouvelles mutations dans le gène GPR56 ont été identifiées : 1 mutation stop (Q123X), 3 mutations faux-sens (C418W, S485P, C91Y), 3 délétions (E59RfsX24 et 224WfsX96, L449del). 4 de ces mutations sont situées dans le domaine N-terminal (C91Y, Q123X, E59RfsX24, 224WfsX96) et 3 dans le domaine transmembranaire de la protéine (C418W, S485P, L449del). Ces mutations ont été identifiées chez 14 patients (âgé de 5 à 33 ans), appartenant à 8 familles consanguines. Tous les patients ont été adressés pour un retard de développement psychomoteur. 11/14 sont normocéphales et 3 sont microcéphales. Tous ces patients présentent un retard mental et moteur modérée (4/14) à sévère. L'examen clinique retrouve un strabisme (9/9), un syndrome cérébelleux (8/9), une dyspraxie oro-faciale (6/8), un syndrome pyramidal (8/9), une épilepsie (9/13) débutant entre 1 et 10 ans. L'IRM met en évidence une polymicrogyrie bifrontopariétale symétrique et une hypoplasie cérébelleuse chez tous les patients, des anomalies en motte du

signal de la substance blanche (10/11), une hypoplasie du tronc cérébral (6/8). Les noyaux gris centraux et le corps calleux sont toujours normaux. L'évolution radiologique a pu être analysée chez 2 patients. Dans les 2 cas, une atteinte massive de la substance blanche associée à la polymicrogyrie a fait évoquer de lissencéphalie de type 2 sur l'IRM réalisée avant 1 an. L'IRM cérébrale de contrôle réalisée après 5 ans (respectivement à 5 et à 9 ans), ces anomalies de signal ont totalement disparu et ont évolué vers les hypersignaux en motte retrouvés chez les autres patients. Discussion : Cette première série française de patients mutés dans le gène GPR56 confirme le phénotype clinique et radiologique initialement décrit par Piao, mais permet aussi de mettre en évidence d'autres atteintes cliniques évocatrices comme la dyspraxie oro-faciale, le syndrome pyramidal. La consanguinité familiale est un critère diagnostique essentiel. L'étude des caractéristiques cliniques de ces patients n'a pas permis de mettre en évidence une corrélation entre le type de mutation, la localisation de la mutation au sein du gène et la sévérité de l'atteinte clinique. Enfin, il semblerait que l'atteinte de la substance blanche soit étroitement corrélée à la maturation cérébrale.

## F. Session simultanée : Physiopathologie, modèles cellulaires et animaux

### ■CS41. RÉGULATION DES EXTRÉMITÉS CHROMOSOMIQUES À LA PÉRIPHÉRIE DU NOYAU. QUELLES CONSÉQUENCES EN PATHOLOGIE ?

C. Schluth-Bolard (1), A. Ottaviani (1), N. Arnoult (2), A. Londono-Vallejo (2), E. Gilson (1), F. Magdinier (1)  
(1) *Laboratoire de Biologie Moléculaire de la Cellule, CNRS UMR5239, École Normale Supérieure de Lyon, UCBL1, IFR128, Lyon, France* ; (2) *Telomeres & Cancer Laboratory, Institut Curie, Paris, France*  
Contact : [caroline.schluth-bolard@ens-lyon.fr](mailto:caroline.schluth-bolard@ens-lyon.fr)

Les régions subtélomériques sont des régions complexes, extrêmement dynamiques et polymorphes, contenant de nombreux gènes. Elles sont impliquées dans l'évolution du génome mais sont aussi associées à de nombreuses pathologies. Cependant, leur rôle reste mal connu. D4Z4 est une séquence macrosatellite de 3,3 kb répétée en tandem dans la région subtélomérique du bras long du chromosome 4 (4q35) dont la diminution du nombre de copies est impliquée dans la dystrophie facio-scapulo-humérale (FSHD). Les patients possèdent un faible nombre de répétitions (< 11) tandis que ce nombre peut aller jusqu'à 150 chez les individus non affectés. L'ensemble des données de la littérature suggère qu'un mécanisme épigénétique complexe interviendrait dans la survenue de cette maladie et la régulation du subtélomère 4q. Grâce au procédé de fragmentation télomérique permettant l'insertion d'un gène rapporteur à proximité d'un télomère néo-formé, nous avons généré une collection de modèles cellulaires reproduisant l'organisation génomique du locus 4q35 afin d'étudier le rôle de D4Z4 dans l'organisation spatiale, la régulation de l'expression génique et la chronologie de réplication des télomères. Nous avons ainsi démontré que D4Z4 permet de localiser un télomère à la périphérie du noyau. Cette activité est localisée dans une séquence de 80bp et nécessite la présence de la protéine CTCF et des Lamines de type A. Lors de la multimérisation de D4Z4, la localisation des télomères en périphérie du noyau est perdue ainsi que la liaison de CTCF. Ces résultats suggèrent donc un rôle de la lamina nucléaire dans la survenue de la FSHD qui pourrait être due à un mécanisme de type gain de fonction de CTCF. D4Z4 est la première séquence identifiée dans l'espèce humaine permettant la localisation d'un locus à la périphérie du noyau. De façon intéressante, ce macrosatellite inclut un motif de 30 bp qui contient le site de liaison à CTCF et qui est présent à différents points du génome, en particulier au niveau de certains subtélomères. Nous étudions la fonction de ce motif dans différents contextes génomiques. Par ailleurs, nous avons montré que la séquence D4Z4 est suffisante pour retarder la réplication du télomère auquel elle est associée et que les télomères de réplication tardive sont préférentiellement associés à la périphérie nucléaire. En conclusion, ce travail suggère un rôle de séquences subtélomériques spécifiques dans la compartimentalisation nucléaire des télomères et la régulation épigénétique des extrémités chromosomiques. Les implications en pathologie seront discutées.

**Mots-clés** : télomère, D4Z4, périphérie nucléaire.

### ■CS42. MODULATION OF WNK1 EXPRESSION BY MIR-192

E. Elvira-Matelot (1, 2), X. Zhou (1, 2, 3), N. Farman (4, 5), G. Beaurain (1, 2, 6), A. Henrion-Caude (2, 7, 8), J. Hadchouel (1, 2), X. Jeunemaitre (1, 2, 3, 6)

(1) *INSERM U970, Paris Centre for Cardiovascular research, Paris, France* ; (2) *University Paris-Descartes, Faculty of Medicine, Paris, France* ; (3) *Sino-French Research Center for Life Science and Genomics, Ruijin Hospital, Shanghai Jiaotong University School of Medicine, Shanghai, China* ; (4) *INSERM U872, Centre de Recherche des Cordeliers, Paris, France* ; (5) *University Pierre & Marie Curie, Paris, France* ; (6) *AP-HP, Département de Génétique, Hôpital Européen Georges-Pompidou, Paris, France* ; (7) *Inserm U781, Paris, France* ; (8) *Hôpital Necker-Enfants Malades, AP-HP, Paris, France*  
Contact : [emilie.elvira-matelot](mailto:emilie.elvira-matelot)

The WNK1 and WNK4 genes cause Familial Hyperkalemic Hypertension (FHH), a rare form of human hypertension, also known as Pseudohypoaldosteronism type 2 or Gordon Syndrome. WNK1 mutations are large deletions of the first intron of the gene that lead to overexpression of the kidney-specific (KS-WNK1) and ubiquitously expressed (L-WNK1) isoforms. Conversely, reducing L-WNK1 expression by 50 % in mice induces a decrease in blood pressure. These results highlight the physiological importance of a tight control of WNK1 expression in the regulation of ion transport and blood pressure. We previously showed that WNK1 expression is controlled by a combination of promoters, enhancers, repressors and insulators. Here we show that WNK1 expression can also be regulated by miR-192, a microRNA expressed in the gastrointestinal tract and the kidney. Computational analysis of WNK1 sequence revealed the presence of a target sequence for miR-192 and miR-215 in the 3'UTR of both L- and KS-WNK1, that we functionally validated by transient transfection and reporter assays. Both miRs were expressed all along the distal nephron but only miR-192 regulated the expression of endogenous WNK1 *ex vivo*. We found that miR-192 expression was regulated by sodium and potassium intake and by aldosterone, in a way opposite to WNK1. While renal L-WNK1 protein expression was increased in mice submitted to a chronic infusion of aldosterone, miR-192 expression was decreased. Taken together, these results show that WNK1 protein expression could be modulated by aldosterone and suggest that miR-192 could play an important role in this process.

**Mots-clés** : WNK, micro-RNA, hypertension.

### ■CS43. EFFET POSITIF DES INHIBITEURS DE TYROSINE KINASES SUR LA CROISSANCE OSSEUSE D'UN MODÈLE MURIN FGFR3Y367C/+ DE CHONDRODYSPLASIE

A. Jonquoy (1), E. Mugniery (1), C. Benoist-Lasselin (1), L. Le Corre (2), P. Busca (2), Y. Le Merrer (2), A. Munnich (1), L. Legeai-Mallet (1)  
(1) *INSERM U781, Université Paris Descartes, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France* ; (2) *UMR 8601 CNRS, Université Paris-Descartes, Paris, France*  
Contact : [aurelie.jonquoy@inserm.fr](mailto:aurelie.jonquoy@inserm.fr)

L'achondroplasie est le nanisme le plus fréquent et fait partie d'une famille de chondrodysplasies, de sévérité variable, comprenant l'hypochondroplasie et le nanisme thanatophore. Les individus atteints présentent un nanisme rizo-homérique accompagné d'une macrocéphalie. Le gène responsable de ces chondrodysplasies est le gène Fibroblast Growth Factor Receptor 3 (FGFR3). Les mutations identifiées dans ce récepteur à activité tyrosine kinase entraînent une activation constitutive du récepteur en absence de ligand. Actuellement, aucun traitement n'existe pour l'achondroplasie et l'hypochondroplasie, d'où la nécessité de développer de nouvelles approches thérapeutiques. En collaboration avec un laboratoire de chimie, notre projet est de synthétiser de nouveaux inhibiteurs de tyrosine kinase, de type mime-ATP, capables de bloquer la phosphorylation du récepteur muté. Après avoir testé une vingtaine de molécules sur des lignées chondrocytaires humaines, nous avons sélectionné celles dont l'IC50 est inférieure à 100 microM (ALG-31 et ALG-42). Nous avons montré par western-blot et immunocytochimie, après transfection transitoire du cDNA FGFR3 muté, qu'ALG-31 et ALG-42 inhibaient la phosphorylation constitutive du récepteur FGFR3. Afin de confirmer ces résultats obtenus *in vitro*, nous avons étudié le modèle murin *Fgfr3Y367C/+*. Ces souris expriment la mutation activatrice Y367C et présentent un nanisme sévère. Leurs fémurs sont courts et trapus et la plaque de croissance est désorganisée avec des zones proliférative et hypertrophique réduites. Ces souris, qui ont un phénotype proche de la pathologie humaine, sont un bon modèle pour nos études pharmacologiques. Nous avons réalisé des cultures organotypiques des fémurs embryonnaires (E16.5) des souris *Fgfr3Y367C/+* en présence ou en absence d'ALG-31 ou d'un inhibiteur commercial des FGFRs (PD173074). Après 5 jours de culture, les fémurs, à l'origine courts et trapus, se sont allongés et ont retrouvé une taille normale. L'analyse histologique de la plaque de croissance a montré que ces inhibiteurs entraînaient une modification de la taille des chondrocytes et une augmentation de la hauteur de la zone hypertrophique confirmée



par l'expression du collagène de type X. De plus, l'analyse du marqueur de prolifération PCNA montre que les inhibiteurs modifient la localisation des cellules marquées au sein de la plaque de croissance chez le mutant, alors qu'aucune modification n'est observée chez le contrôle. Ces résultats préliminaires permettent de conclure que ces mimes-ATP modifient la balance prolifération/différenciation des cellules du cartilage. Une telle stratégie pourrait être, à plus ou moins long terme, envisagée pour bloquer l'activation constitutive de FGFR3 dans cette famille de chondrodysplasies.

**Mots-clés :** inhibiteur de tyrosine kinase, chondrodysplasie, FGFR3.

**■CS44. SIRNA STRATEGY TO PROMOTE ENDOGENOUS MIS-FOLDING PROTEIN TRAFFICKING IN CYSTIC FIBROSIS EPITHELIAL CELLS**

D. Raveau, F. Becq, C. Norez

*Institut de Physiologie et Biologie Cellulaires, Université de Poitiers, CNRS UMR6187, Poitiers, France*

Contact : caroline.norez@univ-poitiers.fr

Numerous human genetic diseases are caused by the retention of a client protein in intracellular compartments due to gene mutations (classified as class II mutations) with subsequent proteasome-dependent degradation. In one of these diseases, cystic fibrosis (CF), the most common mutation F508del, results in CFTR (CF transmembrane conductance regulator) protein that is retained in the endoplasmic reticulum. The two hallmarks of CF correspond to chloride impermeability due to abnormal location of CFTR at the plasma membrane and to sodium hyperabsorption due to overactivity of the amiloride-sensitive epithelial sodium channel ENaC. Previously, we have shown that miglustat, an ER alpha-glucosidase inhibitor, corrects the trafficking of F508del-CFTR and hypothesized that by inhibiting the interaction of F508del-CFTR with calnexin, miglustat prevents its retention and degradation (Norez *et al.*, 2006, 2009). The purpose of the present study was to determine the effect of small interfering RNA (siRNA) on endogenous F508del-CFTR trafficking targeting chaperones involved in the calnexin cycle (calnexin, ERp57, alpha-glucosidase). siRNA chaperone transfection was performed in the CF-KM4 human tracheal gland cell line. The level of chaperone expression was verified by biochemical technique and the activity of two ionic channels, CFTR and ENaC, was assessed using single-cell fluorescence imaging. Disturbance of the calnexin cycle using siRNA-ERp57, siRNA-glucosidase or siRNA-calnexin partially rescues endogenous F508del-CFTR trafficking. Decreasing calnexin expression not only restores F508del-CFTR activity at the plasma membrane but also decreases ENaC activity. Similar functional results were obtained with the other chaperones. In conclusion, this work is in favor of a role of the calnexin cycle in the F508del-CFTR retention and suggests siRNA strategy as a valuable mean to rescue class II protein mutant. Supported by Vaincre la Mucoviscidose and CNRS.

**Mots-clés :** siRNA, cystic fibrosis, calnexin cycle.

**■CS45. RNA-BASED GENE THERAPY TO INHIBIT EXPANDED CUG-RNA TOXICITY IN MYOTONIC DYSTROPHY**

V. Francois, A. Klein, C. Beley, A. Jollet, C. Lemerrier, L. Garcia, D. Furling  
*Institut de Myologie, UMR974/UMR7215, UPMC Univ. Paris6/Inserm/ CNRS, Paris, France*

Contact : denis.furling@upmc.fr

Myotonic Dystrophy type 1 or DM1 is one of the most common form of inherited neuromuscular disorders in adults characterized by myotonia, progressive muscle weakness and wasting as well as many other multisystemic defects. DM1 is an autosomal dominant disease caused by an expanded trinucleotide repeat (CTG, n >50) located in the 3'UTR of the DMPK gene. The variable and progressive phenotype observed in DM1 patients is most likely caused by a complex molecular pathogenesis. An increasing body of evidence suggests that DM1 is a RNA-mediated disorder caused by the expression of the mutant DMPK transcripts containing expanded CUG repeats. The expanded CUG-RNAs are retained into the nuclei as foci and alter the functions of splicing factors such as MBNL1 and CUG-BP1 leading to misregulation of RNA homeostasis that contribute to the DM1 physiopathology. Several therapeutic strategies are currently under development to reverse the toxic effects of the CUG-RNAs that play a major role in DM1 pathogenesis. In this study, we have investigated the ability of an antisense delivered within a modified sU7-snrRNA gene to target the DMPK CUG expanded transcripts since modified U7-snrRNAs have a nuclear localization and are able to direct RNA maturation machinery. Different antisense sequences were imbedded within a sU7-snrRNA-derived lentiviral vector and their efficacy were evaluated *in vitro* using DM1 muscle cells. An efficient reduction (up to 90 %) of the mutant DMPK mRNA was measured in the DM1 cells expressing a modified sU7-snrRNA. The normal DMPK transcripts were not affected and there was

no cellular toxicity. The number of DM1 cells without any nuclear foci was significantly increased, the MBNL1 proteins were no longer sequestered and several aberrant pre-mRNA splicing were largely corrected in DM1 myotubes. Restoration of myogenic differentiation in the DM1 myoblasts confirms that the sU7-snrRNA abolishes the cellular defects induced by the expanded CUG-transcripts. In conclusion, we have developed a new RNA based gene therapy to remove the expanded CUG-RNAs and inhibit their cellular toxicity, and we propose a novel function for the modified sU7-snrRNA.

**Mots-clés :** DM1, ARN, thérapie.

**■CS46. ALLERGIE ET INFLAMMATION CUTANÉES PAR DÉFAUT D'INHIBITION DE LA KALLIKRÉINE 5 : IDENTIFICATION D'UNE NOUVELLE CASCADE BIOLOGIQUE LEKTI/ KLK5/PAR2/TSLP DANS LE SYNDROME DE NETHERTON**

A. Briot (1), C. Deraison (1), M. Lacroix (1), C. Bonnart (1), A. Robin (1), A. Hovnanian (1, 2, 3)

(1) *INSERM, U563, Département de Génétique, Toulouse, France* ; (2) *Services de Génétique et de Dermatologie, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris, France* ; (3) *Université Paris V René-Descartes, Paris, France*

Contact : alain.hovnanian@inserm.fr

Le Syndrome de Netherton (SN, OMIM 256500) est une gémomatose rare et sévère, à transmission autosomique récessive, caractérisée par une érythrodermie desquamative généralisée et des manifestations atopiques constantes. Le SN est dû à des mutations du gène SPINK5 conduisant à une perte d'expression de l'inhibiteur de protéase LEKTI normalement exprimé dans la couche granuleuse de l'épiderme, les muqueuses et le thymus. LEKTI joue un rôle crucial dans la fonction de barrière cutanée *via* la régulation de l'activité des protéases kallikréines (KLK) 5 et 7, qui dégradent les structures d'adhésion intercornéocytaires et entraînent un détachement anormal de la couche cornée. Les souris *Spink5*<sup>-/-</sup> (KO) mourant en période périnatale, nous avons développé un modèle de greffe de peau KO sur souris nude. Ce modèle reproduit les anomalies cutanées du SN et présente une inflammation marquée de type allergique. Cette inflammation est secondaire à la surexpression de molécules pro-inflammatoires et pro-Th2 (TSLP) par les kératinocytes KO *in vivo* dès le jour embryonnaire 19,5. L'étude de kératinocytes primaires de patients SN confirme que la surexpression de TSLP est une caractéristique intrinsèque des kératinocytes SPINK5<sup>-/-</sup>. Elle est induite par la KLK5 hyperactive qui clive le récepteur PAR2 présent à la surface des kératinocytes. Cette nouvelle cascade biologique KLK5/PAR2/TSLP est directement responsable de l'émission de signaux pro-Th2 indépendamment des stimuli exogènes et du système immunitaire adaptatif. Ces résultats identifient la KLK5 comme une cible thérapeutique pertinente dans le SN jouant un rôle majeur dans le défaut de barrière cutanée et dans la mise en place d'un microenvironnement pro-allergique. L'étude d'animaux *Spink5*<sup>-/-</sup>/*Par2*<sup>-/-</sup> a confirmé le rôle de cette cascade dans l'induction des messages pro-allergiques précoces. Cependant, le contrôle de cette voie ne rétablit pas la fonction de barrière cutanée et ne prévient que partiellement le développement du phénotype inflammatoire dans la peau adulte. Ces résultats soulignent l'importance du contrôle de l'inflammation mais aussi du maintien de la fonction de barrière épidermique pour l'amélioration des symptômes cliniques de la maladie. Le SN partage des caractéristiques cliniques avec la dermatite atopique et les maladies allergiques. Si l'altération de la barrière cutanée peut faciliter la pénétration des allergènes, induisant l'inflammation cutanée et l'hyper-IgE dans le SN, la majorité des autres ichtyoses, ne s'accompagnent pas de signes d'atopie. L'association de polymorphismes de SPINK5 avec des manifestations atopiques, ainsi que son expression dans le thymus, suggèrent que LEKTI puisse jouer un rôle dans l'homéostasie du système immunitaire. Ainsi l'élucidation des mécanismes épithéliaux et immunitaires impliqués dans cette maladie rare et monogénique pourrait permettre d'éclairer d'un jour nouveau la physiopathologie de la dermatite atopique, maladie fréquente et polygénique.

**Mots-clés :** syndrome de Netherton, allergie, protéase.

**■CS47. LES GRANDS PROGRAMMES EUROPÉENS DE GÉNOMIQUE FONCTIONNELLE DE LA SOURIS : DES OUTILS PUIS-SANTS ET ACCESSIBLES POUR MODÉLISER LES MALADIES GÉNÉTIQUES**

A. Ayadi(1), E. Bedu (1), M.C. Birling (1), M.F. Champy (1), R. Combe (1), H. Meziane (1), L. Monassier (1, 2), S. Muller (1), G. Pavlovic (1), M. Selloum (1), L. Vasseur (1), T. Sorg (1), J.L. Mandel (1, 3), Y. Herault (1, 3)

(1)*Institut Clinique de la Souris (ICS), Illkirch, CU Strasbourg, France* ; (2) *INSERM U-715, Faculté de Médecine, Strasbourg, France* ; (3) *IGBMC (CNRS, INSERM, Université de Strasbourg), Illkirch, France*

Contact : jlmandel@igbmc.u-strasbg.fr

Trois programmes majeurs de génomique fonctionnelle de la souris ont été initiés et sont financés par la Commission Européenne. Ces programmes

utilisent des approches à haut-débit pour la création systématique, la caractérisation phénotypique, l'archivage et la distribution de souris Knock-out. Ils ont placé l'Europe comme leader mondial dans le domaine. EUCOMM (European Conditional Mouse Mutagenesis, [www.eucomm.org/](http://www.eucomm.org/)) a pour but de générer des lignées de cellules ES portant une mutation KO conditionnelle (cKO) pour 8000 gènes de souris : ceci comprend la création des vecteurs de ciblage (comportant en général un gène beta gal pour les utilisations de lignage cellulaire), et la création des cellules ES porteuses d'un événement de recombinaison homologue. Le programme comprend également le passage en lignée de souris pour 500 gènes. À l'heure actuelle, plus de 4000 vecteurs ont été construits, des cellules ES ciblées et recombinées ont été obtenues pour 2 339 gènes, et des lignées de souris KO générées pour 279 gènes (au 7.10.09). Vecteurs de ciblage, cellules ES ciblées et lignées de souris sont disponibles pour la communauté scientifique internationale. Par croisement avec des souris transgéniques Cre adéquat, il est possible d'inactiver le gène choisi dans des organes ou types cellulaires spécifiques, et avec des systèmes de type Cre ERT2 (cf poster Venteo *et al.*) au moment choisi, après induction par le tamoxifène. EUMODIC (European Mouse Disease Clinic, [www.eumodic.eu/](http://www.eumodic.eu/)) a entrepris, dans 4 Cliniques de la Souris Européennes (dont l'ICS) le phénotypage systématique et standardisé de 500 lignées KO (KO complet homozygote, ou hétérozygote en cas de létalité des homozygotes). Les données de phénotypage seront déposées dans une base de donnée accessible (EUROPHENOME) qui vient d'être mise en place. Les lignées montrant un phénotype intéressant pourront être caractérisées de manière plus approfondie par un panel élargi de laboratoires. EMMA (European Mouse Mutant Archives, [www.emmanet.org/](http://www.emmanet.org/)) est en charge d'archiver et distribuer les lignées de souris construites dans le cadre de ces programmes ou d'autres programmes européens. L'Institut Clinique de la Souris ([www.mci.u-strasbg.fr](http://www.mci.u-strasbg.fr)) est un partenaire majeur des ces 3 programmes, notamment par la génération, le phénotypage standardisé (Protocole EMPReSS slim) et l'archivage de 125 lignées KO. L'ICS génère et caractérise également des lignées transgéniques Cre ERT2. La génération de cellules ES ciblées et de souris KO est effectuée dans le cadre d'un concertation internationale avec les programmes US (KOMP) et Canadien (NorCOMM). Vous pouvez voir l'état d'avancement pour le ou les gènes qui vous intéressent, et les outils qui vous sont accessibles dès maintenant, sur le site IKMC (International Knockout Mouse Consortium, [www.knockout-mouse.org/](http://www.knockout-mouse.org/)). À vous de vous en servir (des exemples seront présentés), pour les études pathophysiologiques et précliniques de maladies génétiques.

**Mots-clés :** modèles souris, phénotypage, souris KO.

#### ■CS48. MODÉLISATION DE L'ATAXIE DE FRIEDREICH PAR LE DÉVELOPPEMENT DE CELLULES SOUCHES PLURIPOTENTES INDUITES PORTANT DES EXPANSIONS (GAA)<sub>n</sub> PATHOGÉNIQUES

M. Wattenhofer-Donzè (1), P. Tropel (2), N. Vaucamps (1), L. Reutenauer (1), M. Levy (1), S. Viville (2), H. Puccio (1)

(1) Département de Neurobiologie & Génétique, Institut de Génétique et de Biologie Moléculaire et Cellulaire (IGBMC), Inserm U964, CNRS-UdS UMR7104, Illkirch, France ; (2) Département de Biologie Cellulaire & Développement, IGBMC, Illkirch, France

Contact : [hpuccio@igbmc.fr](mailto:hpuccio@igbmc.fr)

La dérivation de cellules pluripotentes (iPS) à partir de cellules somatiques représente une stratégie innovante et prometteuse pour la mise en place de modèles cellulaires pour les maladies génétiques. Notamment, cette stratégie représente un enjeu scientifique majeur pour l'ataxie de Friedreich (AF), une maladie neurodégénérative autosomique récessive due à la perte de fonction partielle d'une protéine mitochondriale, la frataxine. En effet, la mutation majoritaire (96 % des patients) est une expansion (GAA)<sub>n</sub> intronique conduisant à une hétérochromatization du locus. Or, l'instabilité de l'expansion (GAA)<sub>n</sub> rend difficile la génération de modèles cellulaires pertinents. Bien que la fonction exacte de la frataxine soit encore débattue, cette protéine joue un rôle central dans la biogénèse des protéines à noyau Fe-S et dans l'homéostasie mitochondriale du fer. Dans le but d'obtenir un modèle cellulaire comportant des grandes expansions (GAA), nous avons généré des iPS à partir de fibroblastes de deux patients FRDA (porteur d'expansions entre 400-900 GAA) ainsi que d'un control sain par transduction de lentivirus exprimant les facteurs de pluripotence Oct4, Sox2, Lin28 et Nanog. Entre 28 et 58 jours après la transduction, nous avons obtenu des clones qui présentent les caractéristiques morphologiques des cellules iPS (n = 8 contrôle ; n = 5 FRDA1 ; n = 18 FRDA2). L'analyse des marqueurs de pluripotence endogènes ainsi que la capacité des clones à se différencier en corps embryonnaires exprimant les marqueurs des trois feuillets embryonnaires démontrent une reprogrammation réussie des

fibroblastes et la génération de clones iPS portant les propriétés de cellules souches embryonnaires. De façon intéressante, nous observons qu'à la fois pendant la reprogrammation ainsi qu'au cours des passages, les répétitions (GAA)<sub>n</sub> sont instables, montrant à la fois des expansions et des rétractions. Le taux de frataxine dans les iPS FRDA est fortement diminué par rapport au contrôle, suggérant que les conséquences de l'expansion au niveau épigénétique sont conservées. Afin de générer des lignées neuronales, nous avons établi un protocole permettant la différenciation des iPS en neurosphères, cellules souches neuronales pouvant être différenciées en neurones et en cellules gliales. La différenciation des neurosphères en neurones est actuellement en cours. Ces iPS sont les premières iPS développées pour FRDA et sont un outil essentiel à la fois pour étudier les conséquences d'une insuffisance en frataxine au niveau neuronal, mais aussi pour tester des molécules thérapeutiques visant à augmenter le niveau de frataxine de par leur action sur l'expansion (GAA)<sub>n</sub>.

**Mots-clés :** ataxie de Friedreich, cellules souches induites (iPS), modèles cellulaires.

## G. Session simultanée : DPN et DPI, Conseil génétique et éthique

### ■CS49. DIAGNOSTIC PRÉSYMPTOMATIQUE CHEZ LE MINEUR DANS LES MALADIES NEUROMUSCULAIRES : QUAND, POUR QUI, POURQUOI ?

C. Nava (1), M. Gargiulo (1), A. Herson (1), S. Fosse (2), O. Rosenblum (2), D. Héron (1)

(1) Département de Génétique et Cytogénétique, Unité Fonctionnelle de Génétique Clinique, Hôpital de La Pitié-Salpêtrière, Paris, France ; (2) Service de Psychiatrie de l'enfant et de l'adolescent, Hôpital de La Pitié-Salpêtrière, Paris, France

Contact : [caro.na@wanadoo.fr](mailto:caro.na@wanadoo.fr)

Les avancées de la génétique moléculaire permettent la réalisation de tests présymptomatiques : ceux-ci consistent à déterminer le statut génétique d'un individu non malade mais à risque pour une maladie génétique familiale, lorsque l'anomalie moléculaire est identifiée. La pratique de tels tests est encadrée par les lois de bioéthique. Chez l'adulte, les principes suivants doivent être respectés : bénéfique, autonomie, choix éclairé, confidentialité et égalité. Chez le mineur, ces conditions ne peuvent pas toujours être respectées, ce qui soulève des questions d'ordre éthique, psychologique et légal. La loi française stipule que, chez le mineur asymptomatique, « les examens ne peuvent être prescrits que si le mineur ou sa famille peuvent personnellement bénéficier de mesures préventives ou curatives immédiates ». Mais en l'absence de bénéfice médical, les recommandations internationales sont plus nuancées et font intervenir la maturité intellectuelle et émotionnelle du mineur, qui peut accéder au test s'il est en mesure d'en comprendre les enjeux et d'exprimer son consentement. Pour les enfants les plus jeunes, le bénéfice psychologique et social de l'enfant et de sa famille doit être pris en considération. Du fait des implications lorsqu'il n'y a pas de bénéfice médical franc, la prise en charge du diagnostic présymptomatique (DPS) chez le mineur nécessite des précautions. Nous rapportons ici notre expérience du DPS de maladies neuromusculaires, réalisés chez des enfants mineurs, dans un contexte de pluridisciplinarité et de temporalité. Patients et méthodes : Entre 2001 et 2008, 16 enfants et adolescents âgés de 1 an à 17 ans et 3 mois (âge médian : 12 ans) ont été vus en consultation de génétique à La Pitié-Salpêtrière pour une demande de DPS d'une maladie neuromusculaire de transmission autosomique dominante : dystrophie myotonique de Steinert (11 cas), dystrophie facio-scapulo-humérale (2 cas) et laminopathie (3 cas). Les 16 enfants et leurs parents ont été reçus par un généticien, une psychologue et un pédopsychiatre. Résultats et conclusion : Huit mineurs ont réalisé le DPS : le résultat a été favorable pour 4 d'entre eux et défavorable pour les 4 autres. Huit mineurs ont choisi de ne pas faire le test pour le moment, notamment lorsque le vécu de la maladie familiale était douloureux ou lorsque le climat familial était perturbé. Notre expérience a montré que la temporalité dans la réalisation du DPS permettant à chacun de cheminer à son rythme, la prise en charge par une équipe pluridisciplinaire, et l'implication personnelle du mineur dans la démarche sont des conditions importantes pour la prise de décision et pour assumer le cas échéant les conséquences du résultat. Dans notre expérience, le fait de savoir a été bénéfique pour plusieurs familles et nous n'avons pas noté de réactions psychopathologiques à court terme chez les enfants ayant un résultat défavorable. Une évaluation à plus long terme est néanmoins nécessaire.

**Mots-clés :** diagnostic présymptomatique, mineurs, éthique.

## ■CS50. ANOMALIES DIGESTIVES FŒTALES, MUCOVISCIDOSE ET GÉNOTYPES CFTR : IMPORTANCE DE LA RECHERCHE DE GRANDS RÉARRANGEMENTS ET DÉCOUVERTE INATTENDUE DE FORMES MODÉRÉES

A. de Becdelièvre, C. Costa, A. Le Floch, J. Martin, R. Medina, B. Bois-sier, C. Gameiro, I. Giurgea, M. Goossens, E. Girodon  
Service de Biochimie et Génétique, GHU Mondor-Chenevier, APHP, Créteil, France

Contact : [alix.de-becdelievre@inserm.fr](mailto:alix.de-becdelievre@inserm.fr)

La mucoviscidose (CF) (MIM#219700), causée par des mutations du gène CFTR (OMIM 602421), est une des maladies autosomiques récessives d'évolution létale les plus fréquentes dans la population caucasienne. Le diagnostic est parfois révélé chez des fœtus devant des anomalies digestives aux échographies des 2<sup>ème</sup> et 3<sup>ème</sup> trimestres [1, 2]. Au travers d'une étude rétrospective menée dans notre laboratoire entre 1992 et 2008 sur les cas de signes d'appel échographiques chez les fœtus, nous rapportons une hétérogénéité des génotypes CFTR et la corrélation entre les génotypes et les signes observés. Les anomalies fœtales combinaient hyperéchogénicité intestinale, dilatation digestive et anomalie ou absence de la vésicule biliaire. Selon les recommandations européennes [3], l'analyse moléculaire du gène CFTR a été réalisée en 2 étapes : (i) recherche des mutations fréquentes, en tenant compte des origines géographiques (ii) si présence d'une mutation fréquente chez un des parents et/ou le fœtus, recherche de mutations rares incluant les grands réarrangements. Parmi 603 cas au total, 408 (groupe 1) nous étaient directement adressés et 195 (groupe 2) nous étaient transmis par d'autres laboratoires pour complément d'analyse. Au sein du groupe 1, 104/408 fœtus étaient atteints d'une forme classique de mucoviscidose (2,4 %), 4 de pathologie CFTR (CFTR-RD) – hétérozygotes composites pour une mutation sévère et une mutation modérée ou pour 2 modérées –, et 2 fœtus étaient de statut indéterminé. Les mutations retrouvées sont principalement des mutations fréquentes, mais 15 % sont de larges réarrangements, soit près de 7 fois plus que dans la population des malades étudiés sur symptômes. L'étude additionnelle des 16/195 cas (groupe 2) de CF classique montre un risque résiduel de mucoviscidose chez un fœtus hétérozygote pour une mutation fréquente évalué à 20,8 %. La corrélation entre les signes échographiques et les génotypes montre une différence de profils entre d'une part les fœtus atteints de forme classique (n = 26) et d'autre part ceux atteints de CFTR-RD (n = 9), les hétérozygotes simples (n = 64) et les non porteurs (n = 465). Les fœtus CF présentaient dans 31 % des cas une hyperéchogénicité intestinale isolée (vs 60 % chez les fœtus non porteurs) et dans 50 % des cas une hyperéchogénicité associée à d'autres signes (vs 28 % chez les fœtus hétérozygotes et 20 % chez les fœtus non porteurs). La non-visualisation de la vésicule biliaire apparaît comme un signe majeur, puisque si elle est associée à une hyperéchogénicité intestinale, le risque que le fœtus soit atteint est porté à 15,4 %. Cette étude montre l'importance des anomalies de la vésicule biliaire parmi les images évocatrices de CF, et la nécessité de rechercher de grands réarrangements lorsqu'une seule mutation est identifiée. Néanmoins, les anomalies digestives fœtales révèlent aussi des formes modérées, ce qui peut rendre le conseil génétique délicat.

### Références

1. Muller, 2002.
2. Scotet, 2002.
3. Dequeker, 2009.

**Mots-clés :** mucoviscidose, CFTR, échographie.

## ■CS51. LIMITES DU DIAGNOSTIC PRÉNATAL « MOLÉCULAIRE » DANS LE CADRE DE L'HOLOPROSENCÉPHALIE : EXPÉRIENCE DU CHU DE RENNES

C. Dubourg (1), M. Belleguic (2), S. Mercier (2), L. Pasquier (2), G. Viot (3), V. Layet (4), A. Moncla (5), H. Journel (6), J. Attia-Sobol (7), J. Roume (8), S. Blesson (9), P. Loget (10), J. Lucas (11), V. David (1), S. Odent (2)

(1) Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHU Hôpital Pontchaillou, Rennes, France ; (2) Service de Génétique Clinique, CHU Hôpital Sud, Rennes, France ; (3) GHU Cochin-Saint-Vincent-de-Paul, Service de gynécologie obstétrique 1, Paris, France ; (4) Unité de Génétique, CH Le Havre, Le Havre, France ; (5) Département de Génétique Médicale, CHU La Timone, Marseille, France ; (6) Service de Pédiatrie et Génétique, CH Bretagne Atlantique, Vannes, France ; (7) Service de Génétique Clinique, CHU Hôtel Dieu, Lyon, France ; (8) Unité de Génétique Médicale, CH intercommunal Poissy-Saint Germain, France ; (9) Service de Génétique, CHU Bretonneau, Tours, France ; (10) Laboratoire d'Anatomie Pathologique, CHU Pontchaillou, Rennes, France ; (11) Laboratoire de Cytogénétique, CHU Hôpital Pontchaillou, Rennes, France  
Contact : [sylvie.odent@chu-rennes.fr](mailto:sylvie.odent@chu-rennes.fr)

L'holoprosencéphalie (HPE) est une malformation cérébrale complexe résultant d'un défaut de clivage médian du prosencéphale. Les formes classiques d'HPE comprennent par ordre de sévérité décroissante l'HPE alo-baire, semi-lobaire et lobaire. Les formes alobaires et semi-lobaires sont le plus souvent repérées par l'échographie du premier et deuxième trimestre de la grossesse, la forme lobaire étant plus difficile à repérer. Un autre sous-type est décrit : la syntélencéphalie correspondant à une fusion interhémisphérique médiane. Mais le spectre phénotypique de l'HPE comprend également des microformes qui sont caractérisées par des anomalies mineures (incisive médiane unique, hypotélorisme...). Depuis l'identification en 1996 du premier gène majeur associé à l'holoprosencéphalie (SHH : Roessler *et al.*, 1996), puis de 3 autres gènes étudiés en routine dans notre laboratoire (ZIC2, SIX3, TGIF), la possibilité de recherche prénatale d'une mutation ou d'un micro réarrangement est devenue possible à partir d'un prélèvement de villosités chorales ou de liquide amniotique. L'étude de l'ADN a été effectuée pour 532 proposants, et une mutation ou délétion a été identifiée dans l'un des 4 gènes dans 23 % des cas. Cependant, l'absence de corrélation stricte génotype phénotype rend cette démarche de diagnostic prénatal difficile. Il est maintenant admis que l'HPE qui était considérée au départ de transmission dominante autosomique est une maladie multigénique, voire multifactorielle. Nous rapportons l'expérience de 15 cas de diagnostic prénatal réalisés par génétique moléculaire depuis 2002 pour 12 familles qui étaient concernées par un premier cas d'HPE sévère. La démarche a été accompagnée de la proposition d'une surveillance échographique orientée, et de la réalisation d'une IRM cérébrale fœtale. La famille a pu être rassurée 8 fois, devant l'absence de la mutation identifiée auparavant, avec la naissance d'un enfant normal ; la mutation a été retrouvée 7 fois chez le fœtus. Trois grossesses ont été poursuivies, l'IRM fœtale étant normale. Deux enfants porteurs d'une mutation de SHH sont nés avec des formes moins sévères d'HPE que le cas index (fente labio-palatine et colobome – mutation p.Pro347Arg, sténose choanale, glossoptose et incisive médiane unique – mutation p.Cys102Tyr). Un enfant est né sans dysmorphie apparente, alors qu'il était porteur d'une mutation de SIX3 héritée de son père (p.Arg257Trp) et son développement psycho-moteur est dans les limites de la normale avec un recul de 5 ans. Dans deux cas par contre, une récurrence sous une forme sévère a conduit à une IMG, alors qu'un parent était porteur d'une microforme associée à une mutation de SIX3 (c.556\_557dup) ou de SHH (p.Cys102Tyr). Au total, le diagnostic prénatal par génétique moléculaire de l'HPE intervient dans une démarche plus globale intégrant avant tout l'imagerie fœtale, et permet surtout d'être plus rassurant lorsque la mutation connue chez un cas index est absente chez le fœtus.

**Mots-clés :** holoprosencéphalie, diagnostic prénatal, conseil génétique.

## ■CS52. LE DIAGNOSTIC PRÉIMPLANTATOIRE COUPLÉ AU TYPAGE HLA : L'EXPÉRIENCE FRANÇAISE

P. Burllet (1), N. Frydman (2), N. Gigarel (1), V. Kerbrat (3), R. Cabry (1), L. Hesters (2), G. Tachdjian (2), R. Frydman (3), A. Munnich (1), J. Stef-fann (1)

(1) Service de génétique médicale, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France ; (2) Laboratoire de biologie de la reproduction, Hôpital Antoine-Béclère, Clamart, France ; (3) Service de gynécologie obstétrique, Hôpital Antoine-Béclère, Clamart, France

Contact : [philippe.burllet@nck.aphp.fr](mailto:philippe.burllet@nck.aphp.fr)

Le diagnostic préimplantatoire (DPI) repose sur l'analyse génétique de une à deux cellules embryonnaires (blastomères), prélevées sur des embryons obtenus par fécondation *in vitro* au troisième jour de leur développement. La Loi française qui cantonnait l'application du DPI au diagnostic d'affections génétiques, lorsque la ou les anomalies avaient été préalablement identifiées chez au moins l'un des parents, a été modifiée en 2004. Elle ouvre ainsi la possibilité de recourir au DPI pour procéder à une sélection d'embryons en vue de faire naître un enfant qui, non seulement est indemne de l'affection génétique affectant un membre de sa fratrie, mais présente également des caractéristiques HLA compatibles avec la réalisation d'une allogreffe au bénéfice de ce dernier. Parmi les 24 demandes de DPI avec typage tissulaire reçues depuis 2004, et entrant dans le cadre réglementaire, seules 12 ont été maintenues par le couple. Chaque dossier a fait l'objet d'une demande d'autorisation auprès de l'agence de la biomédecine qui a été accordée dans 9 cas. Les maladies concernées étaient : drépanocytose (n = 7), bêta-thalassémie/hémoglobine Génova (n = 1), et thalasso-drépanocytose (n = 1). Dans tous les cas l'enfant atteint du couple présentait une affection sévère et était sous programme transfusionnel mensuel. Malgré la recevabilité de leur dossier, la majorité des couples (n = 5) n'a pas souhaité poursuivre la procédure. Sept cycles de DPI ont été débutés pour 4 couples. Dans 3 cas, la stimulation ovarienne a été interrompue.

Trois diagnostics pour drépanocytose (7 embryons) et un pour bêta-thalassémie/hémoglobine Genova (5 embryons) ont été réalisés. Après amplification pan-génomique préalable de l'ADN des blastomères, l'amplification de seize marqueurs microsatellites des régions A, B et C du complexe HLA, a été couplée à l'analyse de la mutation et/ou étude indirecte du gène de la bêta-globine. Parmi les 8 embryons indemnes, 2 étaient HLA compatibles. Chaque cycle a abouti au transfert d'embryons, les parents ayant accepté le transfert d'embryons sains non HLA compatibles, et une grossesse d'un enfant sain, mais non HLA compatible, est actuellement en cours. Cette double « sélection » n'est pas sans poser de nombreux freins psychologiques, qui sont probablement à l'origine du nombre impressionnant d'abandon de cette procédure. Les questions éthiques qu'elle soulève, les conditions réglementaires strictes, et les limites techniques en freinent vraisemblablement le développement en France.

**Mots-clés :** DPI, HLA, allogreffe.

**■CS53. PROBLÈMES PARTICULIERS POSES PAR LE DIAGNOSTIC PRÉNATAL DE LA DYSTROPHIE MUSCULAIRE FACIO-SCAPULO-HUMÉRALE : NÉCESSITÉ D'UNE RÉFLEXION SUR LA PRISE EN CHARGE DES FAMILLES**

R. Bernard (1, 2), C. Vo Van (1), K. Nguyen (1, 2), C. Castro (1), S. Sigaudy (1, 2), P. Malzac (1), N. Lévy (1, 2)

(1) Département de Génétique Médicale, Hôpital Timone Enfants, Marseille, France ; (2) UMR INSERM 910, Faculté de Médecine de la Timone, Marseille, France

Contact : rafaella.bernard@ap-hm.fr

La dystrophie musculaire Facio-Scapulo-Humérale (FSHD) ou myopathie de Landouzy-Déjerine est une affection relativement fréquente (1 à 2 cas sur 10 000) de transmission autosomique dominante. Sa pénétrance est incomplète, en partie âge-dépendante et possiblement liée au sexe, et son expressivité est très variable, y compris sur un plan intra-familial. La physiopathologie exacte de la maladie n'est pas connue mais de nombreux arguments plaident actuellement en faveur d'un mécanisme de type « épigénétique », en relation avec la zone de répétition du motif « D4Z4 » subtélomérique sur le chromosome 4qter. En effet, chez 95 % des patients atteints de FSHD, le nombre d'unités D4Z4 répétées (chaque unité ayant une taille de 3,3 kb) est compris entre 1 et 10, tandis qu'il est de 11 et plus chez les contrôles. C'est sur la détection en Southern Blot de cette contraction de la région D4Z4 du chromosome 4 qu'est basé, depuis qu'il est proposé, le diagnostic moléculaire de confirmation de la FSHD. Afin de répondre à une demande régulière à visée diagnostique de la part des cliniciens neurologues et neurogénétiens, notre laboratoire a développé ce test depuis 1996.

Outre les difficultés techniques liées à la taille et à la séquence de la région génomique étudiée nous devons faire face à des difficultés d'interprétation. Or l'identification possible de l'anomalie moléculaire dans les familles et l'observation de formes sévères de la maladie sont à l'origine d'un nombre non négligeable, voire croissant, de demandes de diagnostic prénatal (DPN). Dans certains cas, cette demande est formulée dans le contexte de diagnostic pré-symptomatique en début de grossesse. Nous souhaitons mettre en lumière les difficultés spécifiques de la mise en œuvre de la démarche de diagnostic prénatal dans le cas de la FSHD, en particulier lorsqu'il s'agit de familles dans lesquelles la caractérisation moléculaire n'a pas pu être menée à son terme avant le début de la grossesse, c'est-à-dire sans que le conseil génétique ait pu être donné avec précision. Nous insistons sur la complexité de l'étude moléculaire de la région D4Z4 4qter, l'incompressibilité des délais de rendu de résultats, la nécessité pour le laboratoire d'étudier les prélèvements d'apparentés parfois éloignés ou indisponibles, et l'impact de ces éléments sur la prise en charge des patients, en particulier dans le contexte de la grossesse et du DPN. Nous souhaitons pouvoir en discuter autour de situations rencontrées dans notre expérience pratique.

**Mots-clés :** FSHD, diagnostic moléculaire, diagnostic prénatal.

**■CS54. ÉVALUATION DES PUCES À ADN POUR LA DÉTECTION ET LA CARACTÉRISATION DES DÉSÉQUILIBRES CHROMOSOMIQUES EN DIAGNOSTIC PRÉNATAL À PARTIR DE 2 ML DE LIQUIDE AMNIOTIQUE**

P. Callier (1), A.L. Mosca (1), N. Marle (1), T. Rousseau (2), S. Couvreur (2), C. Thauvin-Robinet (1), A. Masurel-Paulet (1), M. Payet (1), C. Rangon (1), R. Caillot (3), B. Aral (1), P. Sagot (2), L. Faivre (1), F. Mugneret (1)

(1) Département de Génétique, Hôpital Le Bocage, Dijon, France ; (2) Service de Gynécologie-Obstétrique, CHU le Bocage, Dijon, France ; (3) Département de Biostatistique, CHU Dijon, France

Contact : patrick.callier@chu-dijon.fr

L'hybridation génomique comparative sur puces à ADN ou CGH-array a été très développée ces dernières années en diagnostic postnatal dans le retard mental. En diagnostic prénatal, il a été montré que les cellules fœtales extraites du liquide amniotique étaient analysables par CGH-array. Récemment plusieurs études ont été publiées utilisant des quantités de liquide amniotique variables et des puces de différentes résolutions. Le volume minimum de liquide amniotique non cultivé était de 10 ml, après amplification. Cependant, les techniques d'amplification semblent introduire un biais dans les résultats générés. Le coté novateur de notre étude est l'utilisation de 2 ml de liquide amniotique non cultivé sans amplification afin d'évaluer la capacité d'une puce à ADN Agilent 4\*44k à détecter des micromaniements chromosomiques en prénatal. Nous avons effectué une étude rétrospective réalisée grâce à notre banque de liquides amniotiques, constituée de 1 400 échantillons de 2 ml de liquide amniotique de fœtus ayant présenté un signe d'appel échographique ou une anomalie chromosomique. Nous avons ainsi étudié 14 liquides amniotiques de fœtus porteurs d'anomalies chromosomiques. Parmi ceux-ci trois avaient une anomalie de nombre : une trisomie 18, 21 et un marqueur surnuméraire dérivant du chromosome 22 *de novo* en mosaïque à 71 %. Onze présentaient une anomalie de structure de taille variable : sept anomalies ont été diagnostiquées par le caryotype prénatal (délétions 5pter, 7q33-qter, 22q11.2, duplication 17p12-pter, duplications/délétions 6qter et 11qter, un anneau du chromosome 13 en mosaïque à 25 % et une translocation déséquilibrée avec monosomie 18p), trois lors d'un diagnostic postnatal dont une délétion 2q24.3-q31.2 sur le caryotype postnatal et deux par CGH-array 1Mb (Integrage) (délétion 3p13 d'environ 4Mb et délétion 9q33.3 d'environ 3.5Mb). Résultats : tous les déséquilibres chromosomiques des liquides amniotiques analysés par puces à ADN 4\*44K ont été détectés et caractérisés. Nous concluons que cette puce à ADN 4\*44K Agilent constitue un outil utile pour le dépistage des déséquilibres chromosomiques en prénatal. Cette analyse montre que l'on peut détecter et caractériser par CGH-array les anomalies de nombre (trisomies et marqueurs surnuméraires en mosaïque *de novo*) mais aussi les anomalies de structure (délétions, duplications, translocations déséquilibrées et anneaux). Cette technique représente un gain de temps car la CGH-array est effectuée directement sur le liquide amniotique et non pas après culture. Avec seulement 2ml de liquide amniotique et sans amplification, il est possible de détecter des anomalies chromosomiques de très petites tailles, en évitant les biais générés par l'amplification. Le conseil génétique sera facilité grâce à cette technique plus résolutive et réalisable avec très peu de liquide amniotique.

**Mots-clés :** CGH-array, déséquilibres chromosomiques, liquide amniotique.

**H. Session simultanée : Maladies monogéniques – de la clinique aux gènes**

**■CS55. ANALYSE MOLÉCULAIRE DE LA MALADIE DE RENDU-OSLER : BILAN DE 8 ANNÉES D'ÉTUDE GÉNÉTIQUE**

S. Giraud (1), S. Dupuis-Girod (2), N. Ricard (3), G. Lesca (1), C. Gressier (1), C. Chretien (1), S. Rivière (4), S. Odent (5), C. Goizet (6), G. Plessis (7), L. Olivier-Faivre (8), O. Boute (9), B. Gilbert (10), J.J. Feige (3), S. Bailly (3), H. Plauchu (2), A. Calender (1)

(1) Hospices Civils de Lyon, Hôpital É.-Herriot, Service de Génétique moléculaire et clinique, Lyon, France ; (2) Hospices Civils de Lyon, Hôpital de l'Hôtel-Dieu, Service de Génétique et centre de référence pour la maladie de Rendu-Osler, Lyon, France ; (3) Institut National de la Recherche médicale, U878, Grenoble, France ; (4) CHU de Montpellier, Hôpital Saint-Éloi, Service de Médecine Interne, Montpellier, France ; (5) CHU de Rennes, Hôpital Sud, Unité de Génétique Médicale, Rennes, France ; (6) CHU de Bordeaux, Groupe hospitalier Pellegrin, Service de Génétique Médicale, Bordeaux, France ; (7) CHU de Caen, Département Génétique et Reproduction, Caen, France ; (8) CHU de Dijon, Hôpital d'enfants, Centre de Génétique, Dijon, France ; (9) CHRU de Lille, Hôpital Jeanne-de-Flandre, Service de Génétique clinique, Lille, France ; (10) CHU de Poitiers, Hôpital J.-Bernard, Service de Génétique Médicale, Poitiers, France

Contact : sophie.giraud@chu-lyon.fr

Le diagnostic clinique de maladie de Rendu Osler (RO) repose sur plusieurs critères : la transmission autosomique dominante, les télangiectasies, les épistaxis et les malformations artérioveineuses viscérales dont la prise en charge bénéficie d'un dépistage systématique. La maladie de RO est considérée comme certaine si trois de ces critères sont présents, probable en présence de deux critères et suspecte si un seul critère est présent. Les



mutations des gènes ENG et ALK1 sont responsables de 90 % des cas cliniquement certains de maladie de Rendu-Osler, les mutations du gène SMAD4 sont beaucoup plus rares et associent un phénotype de polypose juvénile. L'identification d'une mutation de l'un de ces trois gènes peut confirmer le diagnostic lorsque la présentation clinique est incomplète. Nous avons commencé l'analyse moléculaire des gènes ENG et ALK1 en 2002 et de SMAD4 en 2008 (par un criblage des gènes en dHPLC suivi de séquençage). La QMPSF a été utilisée à partir de 2005 pour la recherche des grands réarrangements. Nous avons étudié 513 cas index sans lien d'apparement évident. Nous avons retrouvé un variant de l'un de ces trois gènes respectivement chez 88 % patients avec une maladie de RO certaine, 48 % avec une maladie probable et 17 % avec une maladie suspecte. Nous avons identifié 105 variants différents dans ENG, 117 dans ALK1 et 2 dans SMAD4 ; de nombreuses mutations sont récurrentes. Parmi ces variants 9 sont des grands réarrangements dont 7 dans ENG. Nous avons pu identifier 161 nouveaux variants dont 55 ont déjà été publiés ; parmi les 106 qui ne sont pas présents dans la database de mutations HHT, 47 sont des faux sens ou des substitutions introniques affectant des nucléotides distincts des sites consensus d'épissage. De plus chez 20 patients nous avons identifié la présence d'au moins deux variants différents, parfois tous deux préalablement rapportés comme des mutations. Les logiciels de prédiction, les études de coségrégation et parfois l'étude de l'ADNc nous ont permis de définir certains variants comme des polymorphismes ou des mutations délétères. De plus, grâce à une collaboration avec le laboratoire du Dr Feige, nous avons pu mettre au point un test fonctionnel permettant d'étudier l'expression, la localisation et les conséquences sur la voie de signalisation en réponse à BMP9 des variants faux-sens du gène ALK1. Nous avons pu ainsi tester plusieurs variant dont le caractère pathogène n'était pas évident soit parce qu'ils n'étaient pas encore rapportés soit parce qu'un variant du gène ENG était également retrouvé chez le cas index. Ce test fonctionnel nous a permis de montrer que plusieurs faux-sens préalablement considérés comme pathogènes dans des études antérieures étaient en fait dépourvus de conséquences fonctionnelles.

**Mots-clés :** Rendu-Osler, ENG, ALK1.

**■CS56. LA RUDATAIXINE, MUTÉE DANS UNE NOUVELLE FORME D'ATAXIE RÉCESSIVE, DÉFINIT UNE VOIE PHYSIO-PATHOLOGIQUE LIÉE AU TRAFIC VÉSICULAIRE**

M. Assoum (1), M.A. Salih (2), N. Drouot (1), D. H'mida-Benbrahim (1), C. Lagier-Tourenne (1), A. Aldriss (3), S.A. Elmaliq (3), T.S. Ahmed (3), M.Z. Seidahmed (4), M.M. Kabiraj (5), M. Koenig (1)  
 (1) *IGBMC, Illkirch, France ;* (2) *Division of Pediatric Neurology, College of Medicine, King Saud University, Riyadh, Saudi Arabia ;* (3) *Department of Physiology, College of Medicine, King Saud University, Riyadh, Saudi Arabia ;* (4) *Department of Pediatrics, Security Forces Hospital, Riyadh, Saudi Arabia ;* (5) *Department of Neurosciences, Armed Forces Hospital, Riyadh, Saudi Arabia*  
 Contact : mkoenig@igbmc.fr

Nous avons analysé une famille consanguine d'Arabie Saoudite, avec trois sœurs atteintes d'une nouvelle forme d'ataxie récessive et 5 enfants sains. Les patients présentent une ataxie cérébelleuse précoce débutant avant l'âge de 7 ans, des difficultés à la marche et de langage et une dysarthrie. Ils ne présentent aucune spasticité ni de neuropathie périphérique. Cependant, 2 patients présentaient précocement une épilepsie bien traitée et sans rechute après l'âge de 3 ans et un retard mental modéré. Le génotypage des trois sœurs sur puces Affymetrix GeneChip 10K et le génotypage du reste de la famille à l'aide de marqueurs microsatellites sur des loci ciblés a permis de localiser le gène responsable dans un intervalle de 10 Mb en 3qter. Le séquençage de l'ensemble des gènes de cet intervalle nous a permis d'identifier une seule mutation, une délétion d'un seul nucléotide (2927delC), au niveau de l'exon 19 du gène KIAA0226. Ce gène code pour une protéine de 108 kDa que nous avons baptisée rudataixine (RUN-DAG-ataxine) car l'analyse bioinformatique a révélé la présence de 2 domaines : un domaine RUN et un domaine C-terminal très conservé riche en cystéines et contenant un motif potentiel de liaison au diacylglycérol (motif DAG). Les domaines RUN sont en général impliqués dans les voies de signalisation liées aux petites GTPases Ras-like et dans l'interaction des protéines avec le cytosquelette. Au niveau protéique, la mutation (p.Ala875ValfsX146) crée une nouvelle phase de lecture de 146 acides aminés et entraîne l'absence du motif DAG. L'homologie la plus proche de la rudataixine est la pleckstrine M1 (PLEKHM1) puisqu'elle est la seule à avoir à la fois un domaine RUN et le même motif de liaison potentielle au DAG. Des mutations de la PLEKHM1 sont responsables d'une forme intermédiaire d'ostéopétrose humaine et d'un modèle spontané d'ostéopétrose avec absence d'incisives chez le rat. PLEKHM1 colocalise avec Rab7, un marqueur des endosomes tardifs, ce qui suggère une fonction dans le

transport vésiculaire au niveau des ostéoclastes. Cette homologie, ainsi que l'homologie avec les protéines RUFY (RUN-FYVE), suggère que la rudataixine serait également impliquée dans le trafic vésiculaire. Nous avons produit des anticorps polyclonaux contre des peptides de la rudataixine, afin de déterminer la localisation subcellulaire de la rudataixine et de vérifier cette hypothèse. Ces études permettront de déterminer si la rudataixine participe à des voies physiopathologiques communes avec les autres protéines du cytoplasme impliquées dans des ataxies récessives (sacine, SYNE1, SIL1...) ou si elle est impliquée dans une nouvelle voie physiopathologique responsable d'ataxie.

**Mots-clés :** ataxie récessive, rudataixine, trafic vésiculaire.

**■CS57. DES MUTATIONS DU GÈNE FHL1 SONT RESPONSABLES D'UNE FORME LIÉE À L'X DE DYSTROPHIE MUSCULAIRE D'ÉMERY-DREIFUSS**

L. Gueneau (1, 2), A.T. Bertrand (1, 2), J.P. Jais (3), M.A. Salih (4), T. Stojkovic (1, 2, 5), M. Wehnert (6), S. Saitoh (7), A. Verschueren (8), C. Tranchant (9), M. Beuvin (1, 2), E. Lacène (5, 10), N.B. Romero (1, 2, 5, 10), T. Voit (1, 2, 5, 10), B. Eymard (5), R. Ben Yaou (1, 2, 10), G. Bonne (1, 2, 11)  
 (1) *Inserm, U974, Paris, France ;* (2) *Université Pierre-et-Marie-Curie, Paris 6, UMR-S974, CNRS, UMR7215, Institut de Myologie, IFR14, Paris, France ;* (3) *Université Paris-Descartes, EA 4067, Faculté de Médecine, Biostatistique et Informatique Médicale, GH Necker-Enfants Malades, Paris, France ;* (4) *Division of Pediatric Neurology, College of Medicine, King Saud University, Riyadh, Arabie Saoudite ;* (5) *AP-HP, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Centre de référence des maladies rares neuromusculaires, Paris, France ;* (6) *Institute of Human Genetics, Greifswald, Allemagne ;* (7) *Hokkaido University Graduate School of Medicine, Department of Pediatrics, Sapporo, Japon ;* (8) *AP-HM, Hôpital de la Timone, Service de neurologie et maladies neurologiques, Marseille, France ;* (9) *Service de Neurologie, Hôpitaux universitaires, Strasbourg, France ;* (10) *Association Institut de myologie, Unité de Morphologie Neuromusculaire, Groupe hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France ;* (11) *AP-HP, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, U.F. Cardiogénétique et Myogénétique, Service de Biochimie Métabolique, Paris, France*  
 Contact : l.gueneau@institut-myologie.org

La dystrophie musculaire d'Émery-Dreifuss (EDMD) est une maladie rare caractérisée par la survenue de rétractions tendineuses précoces, une dystrophie musculaire et des troubles de conduction et du rythme cardiaques. Jusqu'à présent, seulement 35 % des cas d'EDMD sont élucidés au niveau génétique et associés à des mutations des gènes EMD ou LMNA, suggérant l'existence de nouveaux gènes majeurs additionnels. Par une analyse du tour du génome, nous avons identifié une liaison au locus Xq26.3 dans trois familles informatives appartenant à notre cohorte de patients non mutés dans les gènes EMD et LMNA. Ce locus contenait un gène candidat codant une protéine fortement exprimée dans les muscles striés, le gène FHL1. L'analyse de ce gène a identifié 7 mutations, affectant les exons distaux de FHL1 dans ces trois familles, ainsi que dans trois familles additionnelles, et un cas isolé. Ces mutations affectent différemment les trois isoformes protéiques de FHL1 : deux mutations faux-sens affectent des cystéines fortement conservées des domaines LIM de FHL1, une abolit le codon stop de FHL1A, et quatre sont des insertions ou délétions décalant le cadre de lecture. Le phénotype prédominant chez les 7 propositus est caractérisé par une myopathie de distribution scapulo-péronéale et/ou axiale, des rétractions tendineuses, associés à une atteinte cardiaque particulière avec des défauts conductifs et rythmiques et une cardiomyopathie hypertrophique. Les femmes transmettrices hétérozygotes pour la mutation sont soit asymptomatiques soit présentent une atteinte cardiaque associée ou non à une myopathie modérée. De manière intéressante, quatre apparentés masculins porteurs de mutations FHL1 ont une atteinte cardiaque isolée avec une cardiomyopathie hypertrophique franche chez deux d'entre eux. L'étude de l'expression protéique montre que la quantité de protéines FHL1 est sévèrement réduite chez tous les patients testés et l'étude de la différenciation *in vitro* des myoblastes de 2 patients, révèle un retard sévère de la formation des myotubes. En conclusion, notre travail suggère que FHL1 doit être considéré comme un nouveau gène responsable du phénotype EDMD lié à l'X, mais aussi de cardiomyopathie hypertrophique isolée.

**Mots-clés :** dystrophie musculaire d'Émery-Dreifuss, tour du génome, FHL1.

**■CS58. EXPÉRIENCE LILLOISE DE L'ANALYSE DES GÈNES IMPLIQUÉS DANS LE DÉVELOPPEMENT DES MEMBRES : UNE SÉLECTION CLINIQUE RIGOREUSE EST UN GAGE DE BONNE ORIENTATION DES ANALYSES DE GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE DEMANDÉES**

S. Manouvrier-Hanu (1, 2), M. Holder-Espinasse (1, 2), A. Verloes (3), S. Odent (4), L. Ollivier-Faivre (5), P. Edery (6), N. Philip (7), P. Sarda (8),

D. Lacombe (9), A. Mezel (10), P. Saugier-veber (11), C. Vincent-Delorme (1), A. Dieux-Coeslier (1), O. Boute-Bénéjean (1), J. Andrieux (12,2), M.P. Buisine (13, 2), F. Escande-Narducci (13) et tous les membres de la FéCLAD

(1) CLAD Nord de France, Génétique clinique, CHRU Lille, France ; (2) Université Lille 2, France ; (3) CLAD Ile de France, Département de Génétique, CHU Robert-Debré Paris, France ; (4) CLAD Ouest, Génétique clinique, CHU Rennes, France ; (5) CLAD Est, Département de Génétique, CHU Dijon, France ; (6) CLAD Centre-Est, Département de Génétique, CHU Lyon, France ; (7) CLAD Sud-Est, Département de Génétique, CHU Marseille, France ; (8) CLAD Languedoc-Roussillon, Département de Génétique, CHU Montpellier, France ; (9) CLAD Sud-Ouest, Département de Génétique, CHU Bordeaux, France ; (10) Orthopédie de l'enfant, CHRU Lille, France ; (11) Département de Génétique, CHU Rouen, France ; (12) Laboratoire de génétique, CHRU Lille, France ; (13) Biochimie et Génétique Moléculaire, CHRU Lille, France  
Contact : sylvie.manouvrier@chru-lille.fr

Depuis 10 ans nous avons mis en place à Lille l'analyse d'un certain nombre de gènes impliqués dans le développement des membres (TBX3, 4, et 5 ; SALL1 et 4 ; CDMP1 ; ROR2 ; IHH ; P63 ; LMX1B ; et la ZRS). Pour chacun nous avons établi une fiche de renseignements cliniques, nous permettant de classer les pathologies en 3 groupes : « typique », « atypique » et « exclu », avant même la réalisation de l'examen demandé. Nous souhaitons ainsi évaluer nos critères de jugement diagnostiques. Patients : 345 cas index nous ont été adressés en provenance de France, de CEE et de Turquie, avec une hypothèse diagnostique et la demande d'analyse d'un ou plusieurs gènes. 393 analyses génétiques ont été réalisées (115 TBX5, 67 SALL4, 65 P63, 39 SALL1, 33 LMX1B, 27 CDMP1, 21 ROR2, 14 TBX3, 7 IHH, 3 TBX4, 2 ZRS) Méthode : pour chacun des gènes étudiés, a été réalisé d'une part l'analyse des exons et des séquences introniques par PCR-séquence, d'autre part la recherche de réarrangements par MLPA ou Q-PCR. Résultats : 173 observations avaient été jugées comme « typiques », 142 « atypiques » et 47 « exclues ». 129 (37,4 %) anomalies géniques ont été identifiées dont 124 parmi les cas « typiques » (71,6 %), et 5 parmi les cas « atypiques » (3,5 %), aucun parmi les diagnostics « exclus ». Les cas « atypiques » sont intéressants puisqu'il s'agissait de 5 patients adressés pour syndrome de Holt-Oram jugé « atypique », sans mutation TBX5. Quatre d'entre eux se sont révélés porteurs d'une mutation de SALL4, et avaient une symptomatologie compatible avec une mutation de ce gène. Le dernier portait une délétion emportant TBX3 et 5. Par ailleurs la clinique ou des analyses complémentaires (CGH-array, ou analyse génétique orientée par la clinique adressée à des collègues étrangers) ont permis d'aboutir à un diagnostic dans 19 observations. Au total, sur cette série de 345 cas index, un diagnostic a pu être confirmé dans 42,5 % des cas. Selon les gènes étudiés, la fréquence d'identification de mutations parmi les cas « typiques » est variable. Elle est de 83 % pour TBX5 (syndrome de Holt-Oram), 82 % pour CDMP1 (brachydactylie de type B, ailes d'ange, syndrome de Grebe), 80 % pour LMX1B (syndrome Nail Patella), 58 % pour SALL4 (syndrome de Okihiro), 43 % pour P63 (Syndrome des pieds et mains fendus, EEC = Ectrodactylie-dysplasie Ectodermique-Fente,...) Conclusion : en cette période où les restrictions budgétaires doivent nous faire réfléchir à la correcte orientation des analyses de génétique moléculaire prescrites, cette étude démontre que cela est possible puisqu'une sélection clinique rigoureuse permet de multiplier par deux le pourcentage d'anomalies identifiées.

**Mots-clés :** malformation congénitale des membres, gènes du développement des membres, sélection clinique.

#### ■CS59. LOSS-OF-FUNCTION MUTATIONS IN THE HUMAN ORTHOLOG OF *CHLAMYDOMONAS REINHARDTII* ODA7 DISRUPT DYNEIN ARM ASSEMBLY AND CAUSE PRIMARY CILIARY DYSKINESIA

P. Duquesnoy (1), E. Escudier (1), L. Vincensini (1, 2), J. Freshour (3), A.M. Bridoux (1), A. Coste (4), A. Deschildre (5), J. De Blic (6), M. Legendre (1), G. Montantin (1), H. Tenreiro (1), A.M. Vojtek (7), C. Loussert (8), A. Clement (9), D. Escalier (1), P. Bastin (2), D.R. Mitchell (3), S. Amselem (1)

(1) INSERM U.933, Hôpital Armand-Trousseau, Paris, France ; (2) Trypanosome Cell Biology Unit, Institut Pasteur, CNRS URA2581, Paris, France ; (3) Cell and Developmental Biology, SUNY Upstate Medical University, Syracuse, New York, USA ; (4) Service d'ORL, Hôpital Intercommunal et GH Henri-Mondor, Créteil, France ; (5) Unité de Pneumologie Pédiatriques, Hôpital Jeanne-de-Flandre, Lille, France ; (6) Service de Pneumologie Pédiatrique, GH Necker-Enfants Malades, Paris, France ; (7) Laboratoire de Microscopie Electronique, Hôpital Intercommunal, Créteil, France ; (8) Plate-forme de Microscopie Ultrastructurale, Institut

Pasteur, Paris, France ; (9) Unité de Pneumologie Pédiatrique, Centre de Référence des Maladies Respiratoires Rares, Hôpital Armand-Trousseau, Paris, France

Contact : serge.amslem@trs.aphp.fr

Defects in motile cilia result in primary ciliary dyskinesia (PCD), the most prominent ciliopathy characterized by the association of respiratory symptoms, male infertility, and, in nearly 50 % cases, situs inversus. So far, most identified disease-causing mutations involve genes encoding structural ciliary proteins, such as those belonging to the dynein arms that are essential for ciliary motion. Following a candidate-gene approach based on data from a mutant strain of the biflagellated alga *Chlamydomonas reinhardtii* (Cr) carrying an ODA7 defect (Croda7-1 strain), we identified four families with a PCD characterized by the absence of outer and inner dynein arms (ODA and IDA) and loss-of-function mutations in the human orthologous gene (LRR50). In one of these families, the patients carry a homozygous missense mutation (p.Leu175Arg) involving an invariant leucine residue from the third leucine rich repeat (LRR) domain of the protein. To test whether this mutation disrupts a conserved function, we mutated the equivalent residue in CroDA7 (Leu92), and expressed the modified proteins in the null Croda7-1 mutant strain. Expression of wild-type tagged ODA7\_HA rescued the oda7-1 strain to wild-type motility. Western blot analysis of cell fractions showed that over 99 % of ODA7 resides in the cytoplasm, rather than in the flagellar compartment. This result is consistent with the hypothesis that a lack of ODA7 leads to the disruption of dynein pre-assembly in the cytoplasm. Modifying Leu92 to an alanine did not affect the ability of ODA7\_HA to support assembly of ODAs, whereas introducing an arginine or an aspartate residue at this position blocked dynein assembly. Additional studies were performed in another flagellated protist, *Trypanosoma brucei* (Tb). TbODA7 RNAi silencing led to an abnormal motility phenotype resulting in cell sedimentation, a result consistent with the absence of ODAs documented by transmission electron microscopy. The fate of DNAI1, an ODA component, over the course of TbODA7 knock-down was further examined by biochemical analysis. In control cells, the majority of TbDNAI1 pool was resistant to detergent-extraction as the protein was found to be associated with the cytoskeleton. Knock-down of TbODA7 did not affect the total amount of DNAI1 but led to its striking shift to the detergent soluble fraction. This reveals that dynein arm components are properly synthesized, but remain in the cytoplasm. Overall, these data, which demonstrate the involvement of LRR50 in PCD, support a key role for the corresponding protein, a member of the LRR superfamily, in cytoplasmic pre-assembly of dynein arms.

**Mots-clés :** primary ciliary dyskinesia, *Chlamydomonas reinhardtii*, ODA7, LRR50.

#### ■CS60. ASSOCIATION DE LA CARTOGRAPHIE PAR AUTOZYGOTIE ET DE L'APPROCHE TRANSCRIPTOMIQUE POUR IDENTIFIER DES GÈNES RESPONSABLES DE RETARD MENTAL ISOLÉ RÉCESSIF : CARACTÉRISATION D'UN NOUVEAU GÈNE IMPLIQUÉ DANS LA VOIE NF-KAPPA B

O. Philippe (1), M. Rio (1), A. Carioux (3), J.M. Plaza (4), P. Guigüe (1), F. Molinari (1), N. Boddaert (2), C. Bole-Feysot (3), P. Nitschke (4), A. Smahi (1), A. Munnich (1), L. Colleaux (1)

(1) INSERM U781 et Département de Génétique, France ; (2) Département de Radiologie Pédiatrique, Université Paris Descartes, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France ; (3) Plateforme de Génomique de la Fondation Imagine Paris, France ; (4) Plateforme de Bioinformatique de l'Université Paris-Descartes, Paris, France

Contact : orianne.philippe@inserm.fr

Le retard mental (RM) est défini comme un fonctionnement intellectuel significativement inférieur à la moyenne et se caractérise par un quotient intellectuel inférieur à 70. Il touche près de 3 % des naissances en France. À ce jour, près de 45 % des RM restent encore inexpliqués, et c'est sur ces formes cryptogéniques que nous portons un intérêt particulier. Mettant à profit la méthode de cartographie par autozygotie et le recrutement de familles multiplex et consanguines, nos travaux portent principalement sur les RM autosomiques récessifs. Dans le cadre de cette étude nous avons eu l'opportunité de suivre une fratrie issue de l'union de 2 parents cousins germains, d'origine Algérienne, dont trois enfants sur quatre sont atteints d'un RM sévère et non syndromique. La cartographie par autozygotie a permis d'identifier deux régions homozygotes communes aux trois enfants atteints (EA) : une région de 15 Mb en 8q24 et une seconde de 30 Mb en Xq25-q28. Ces deux régions codent 172 gènes connus. Afin de sélectionner les meilleurs gènes candidats à étudier, nous avons fait l'hypothèse que la mutation responsable de la maladie puisse causer une instabilité de l'ARN messager du gène porteur de l'anomalie. Nous avons donc réalisé une analyse transcriptomique sur des fibroblastes provenant soit d'un des

EA soit de trois individus sains du même âge et du même sexe. L'analyse a ensuite été orientée sur les deux régions candidates et le gène NIBP (NIK and IKKbeta Binding Protein) localisé en 8q24 a été sélectionné comme meilleur gène candidat. En effet, l'expression de NIBP dans les cellules du patient est diminuée de 40 % comparée aux contrôles. Ce résultat a été confirmé par PCR quantitative, puis par séquençage en identifiant une mutation nonsense dans ce gène. Ce variant co-ségrège avec la maladie dans la famille et n'a pas été retrouvé parmi 600 chromosomes contrôlés. NIBP a été initialement identifiée comme une protéine interagissant avec NF-kappaB Inducing Kinase (NIK) et IkappaB Kinase Complex beta (IKK-beta), suggérant un rôle dans la voie de signalisation NF-kappaB. Grâce à des tests de stimulations au TNFalpha sur des fibroblastes contrôlés ou issus d'un EA, nous avons montré des anomalies de réponse tant de la voie principale NF-kappaB (médiée par IKKbeta) que de la voie alternative (médiée par NIK). En conclusion, cette étude démontre l'intérêt de combiner des études de cartographie par autozygotie et d'analyses transcriptomiques pour l'identification de gènes responsables de maladies autosomiques récessives rares. Plus important, nous montrons pour la première fois qu'un défaut de la voie NF-kappaB est responsable d'un RM isolé, démontrant ainsi le rôle de cette voie dans le développement et/ou la mise en place du système nerveux central (SNC). Des études sont en cours pour comprendre comment une anomalie d'une voie aussi ubiquitaire et importante que la voie NF-kappaB conduit à un phénotype restreint au SNC, et pour déterminer les conséquences d'un déficit de NIBP dans le cerveau.

**Mots-clés :** retard mental, Transcriptome, NF-kappaB.

## I. Session simultanée : Prise en charge des maladies génétiques : du conseil génétique au traitement

### ■CS61. LA MUTATION CFTR R117H EST EXCEPTIONNELLEMENT ASSOCIÉE AU PHÉNOTYPE DE MUCOVISCIDOSE CLASSIQUE – CONSÉQUENCES POUR LE CONSEIL GÉNÉTIQUE ET LE DÉPISTAGE NÉONATAL

C. Thauvin-Robinet (1, 3), A. Muncik (2, 3, 4), F. Huet (2, 3, 5), E. Génin (6), G. Bellis (7), E. Gautier (8), M.P. Audrézet (9, 10), C. Férec (9, 10), G. Lalau (9, 11), M. Des Georges (9, 12), M. Claustres (9, 12), T. Bienvenu (9, 13), B. Gérard (9, 14), P. Boisseau (9, 15), F. Cabet-Bey (9, 16), D. Cheillan (9, 16), D. Feldmann (9, 17), C. Clavel (9, 18), E. Bieth (9, 19), A. Iron (9, 20), B. Simon-Bouy (9, 21), C. Costa (9, 22), R. Medina (22), J. Leclerc (9, 11), D. Hubert (3, 23), R. Nové-Josserand (3, 24), I. Sermet-Gaudelus (3, 25), G. Rault (3, 26), J. Flori (27), S. Leroy (3, 28), N. Wizla (3, 29), G. Bellon (3, 30), A. Haloun (3, 31), S. Perez-Martin (3, 5), G. d'Acremont (3, 32), H. Corvol (3, 33), A. Clément (3, 33), E. Houssin (2), C. Binquet (8), C. Bonithon-Kopp (8), C. Alberti-Boulmé (34), M.A. Morris (35), L. Faivre (1), M. Goossens (9, 22), M. Roussey (2, 3, 36), le groupe collaboratif Français sur R117H et E. Girodon (9, 22) (1) Centre de Génétique, Hôpital d'Enfants, CHU de Dijon, France ; (2) AFDPE, Paris, France ; (3) Fédération française des CRCM, France ; (4) CRCM et Service de gastro-entérologie-mucoviscidose et nutrition pédiatriques, Hôpital Robert Debré, APHP, Paris, France ; (5) CRCM et Service de Pédiatrie 1, Hôpital d'Enfants, CHU Dijon, France ; (6) Inserm U794 et Fondation Jean Dausset/CEPH, Paris, France ; (7) INED, Paris, France ; (8) Unité INSERM U866 CIEI, Faculté de médecine de Dijon, CHU Dijon, France ; (9) French CF Laboratory Network, France ; (10) Laboratoire de Génétique Moléculaire et d'Histocompatibilité, CHU de Brest, France ; (11) Pôle de Biochimie et Biologie Moléculaire, Centre de Biologie Pathologie, CHU de Lille, France ; (12) Laboratoire de Génétique Moléculaire, IURC, CHU de Montpellier, France ; (13) Laboratoire de Biochimie-Génétique, Hôpital Cochin, APHP, Paris, France ; (14) Laboratoire de Biochimie Génétique, Hôpital Robert Debré, APHP, Paris, France ; (15) Service de Génétique Médicale, Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHU Hôtel Dieu, Nantes, France ; (16) Service d'Endocrinologie Moléculaire et Maladies rares, Centre de Biologie et Pathologie Est, CHU de Lyon, Bron, France ; (17) Laboratoire de Biochimie et Biologie Moléculaire, Hôpital d'Enfants Armand Trousseau, APHP, Paris, France ; (18) Laboratoire Pol-Bouin, UF Biologie Cellulaire, Hôpital de la Maison Blanche, CHU de Reims, France ; (19) Service de Génétique Médicale, Hôpital Purpan, CHU de Toulouse, France ; (20) Laboratoire de Génétique Moléculaire, Groupe Hospitalier Pellegrin, CHU de Bordeaux, France ; (21) Laboratoire SESEP, Centre hospitalier de Versailles, Le Chesnay, France ; (22) Service de Biochimie-Génétique et Inserm U955 équipe 11, Groupe Henri Mondor-Albert Chenevier, APHP, Créteil, France ; (23) CRCM et Service de Pneumologie, Hôpital Cochin, APHP,

Paris, France ; (24) CRCM et Service de Médecine interne, Centre hospitalier Lyon sud, Pierre-Bénite, France ; (25) CRCM et Service de Pédiatrie générale, Hôpital Necker-Enfants-Malades, APHP, Paris, France ; (26) CRCM et Centre de Perharidy, Roscoff, France ; (27) Service de Néonatalogie, SIHCUS – CMCO, Schiltigheim, France ; (28) CRCM et Service de pneumologie et immunoallergologie, CHRU de Lille, France ; (29) CRCM et Clinique de pédiatrie, CHRU de Lille, France ; (30) CRCM Lyon Pédiatrie, Groupement Hospitalier Lyon Est, Bron, France ; (31) CRCM et Unité de transplantation thoracique, CHU Hôpital Guillaume-et-René-Laënnec, Nantes, France ; (32) CRCM et Service de Pédiatrie, CHI de Créteil, France ; (33) CRCM et Service de pneumologie pédiatrique, Hôpital d'Enfants Armand-Trousseau, APHP, Paris, France ; (34) Centre d'Épidémiologie Clinique, Hôpital Robert-Debré, APHP, Paris, France ; (35) Laboratoire de Diagnostic moléculaire, Service de Médecine Génétique, Hôpitaux Universitaires, Geneva, Switzerland ; (36) CRCM et Département de médecine de l'enfant et de l'adolescent, Hôpital Sud, CHU de Rennes, France

Contact : christel.thauvin@chu-dijon.fr

Plus de 1 600 mutations du gène CFTR sont décrites, associées à des phénotypes variés, de la mucoviscidose classique de l'enfant à des atteintes monosymptomatiques de l'adulte. La mutation R117H, à l'état hétérozygote composite avec la mutation sévère F508del, a été identifiée chez des patients ayant une mucoviscidose avec atteinte respiratoire, des hommes avec une infertilité isolée et des individus asymptomatiques. Ces observations rendent le conseil génétique délicat pour les patients et leurs familles, difficulté accrue depuis la mise en place du dépistage néonatal systématique de la mucoviscidose en France du fait d'une prévalence élevée de R117H parmi les enfants dépistés. Afin d'établir des corrélations phénotype-génotype, d'évaluer la pénétrance de la mucoviscidose chez les patients porteurs de la mutation R117H et d'aider au diagnostic et au conseil génétique, deux études rétrospectives ont été menées : 1) une étude phénotypique de 265/278 patients français porteurs de deux mutations du gène CFTR dont R117H ; 2) une étude épidémiologique, réalisée sur 5245 individus sains de la population générale de 2002 à 2005, pour déterminer les prévalences alléliques de R117H et F508del. Parmi les 278 individus porteurs de deux mutations dont R117H (208 hommes et 70 femmes), 99 étaient recrutés par le dépistage néonatal (âge médian : 21 mois) et 179 par la présence de symptômes cliniques ou d'antécédents familiaux (âge médian : 31.5 ans). Les phénotypes étaient les suivants : 1 mucoviscidose classique dans l'enfance, 4 atteintes pulmonaires sévères de début tardif, 83 infertilités isolées par absence des canaux déférents, 89 autres phénotypes de la pathologie CFTR (principalement une atteinte pulmonaire modérée), 88 patients asymptomatiques (principalement des nouveau-nés avec une courte période de suivi). Malgré une atteinte pulmonaire fréquente chez les patients non dépistés en période néonatale et le diagnostic positif de mucoviscidose d'après une mesure du chlore sudoral > 60 mmol/L pour 42,5 % d'entre eux, le phénotype était globalement modéré. Aucune corrélation particulière n'a été mise en évidence selon la mutation présente en trans de R117H. Les données épidémiologiques montraient une prévalence allélique de R117H en cis du variant T7 ([R117H;T7]) à 0,27 % et celle de F508del à 1,06 %, permettant ainsi d'évaluer chez les patients hétérozygotes composites [R117H;T7]+[F508del] la pénétrance de la mucoviscidose classique à 0,03 % et celle de l'atteinte pulmonaire tardive sévère chez l'adulte à 0,06 %. L'ensemble de ces résultats incite à ne plus considérer R117H comme une mutation associée à la mucoviscidose classique et ainsi à la retirer des trousseaux utilisés aussi bien pour le dépistage néonatal que pour les études familiales. Son identification, quel que soit le contexte, doit être un élément rassurant pour le conseil génétique des patients et de leurs familles.

**Mots-clés :** R117H, CFTR, mucoviscidose.

### ■CS62. SYNDROME DE SILVER RUSSELL : APPROCHE DIAGNOSTIQUE ET THÉRAPEUTIQUE, CORRÉLATION PHÉNOTYPIQUE-ÉPIGÉNÉTIQUE DANS UNE GRANDE SÉRIE DE PATIENTS

I. Netchine (1), S. Rossignol (1), S. Azzi (1), V. Steunou (1), T.A. Vu-Hong (1), B. Dubern (2), N. Thibaud (1), F. Danton (1), M. Le Jule (1), S. Cabrol (1), C. Gicquel (3), Y. Le Bouc (1) (1) Explorations Fonctionnelles Endocriniennes, Hôpital Armand Trousseau, APHP, UPMC, INSERM UMR-S938, équipe 4, Paris, France ; (2) Nutrition et gastro-entérologie pédiatrique, Hôpital Armand Trousseau, APHP, UPMC, INSERM U872, équipe 7, Paris, France ; (3) Baker Medical Research Institute, Melbourne, Australia

Contact : irene.netchine@trs.aphp.fr

Le syndrome de Silver-Russell (SRS) se caractérise par un retard de croissance à début intra-utérin (RCIU) avec un périmètre crânien relativement préservé, une petite taille post-natale associée à une dysmorphie faciale typique avec un grand front bombant, des difficultés alimentaires majeures dans les premières années de vie et, de façon inconstante une asymétrie corporelle (hémihypotrophie). Sur le plan moléculaire, la disomie maternelle du chromosome 7 était jusqu'à récemment la principale anomalie identifiée pour les patients SRS concernant 5 à 10 % des cas. Notre groupe a récemment identifié qu'une perte de méthylation du centre d'empreinte ICR1 en 11p15 dans le domaine où se situe le gène IGF2 (gène jouant un rôle primordial au cours de la croissance fœtale) était un mécanisme moléculaire fréquent présent pour ~ 50 % des patients SRS. Actuellement, nous avons diagnostiqué 125 patients SRS avec épimutation de la région 11p15. Cette anomalie d'empreinte est spécifique du SRS puisque nous ne l'avons pas retrouvée pour 70 patients RCIU non atteints de SRS. Les patients SRS avec épimutation de la région 11p15 ont un poids de naissance, une taille de naissance et un indice de masse corporelle significativement plus bas que ceux des patients SRS sans anomalie de la région 11p15. Les patients nés après assistance médicale à la procréation sont surreprésentés parmi les patients SRS ayant une épimutation de la région 11p15 (~ 4 à 5 % *versus* 1 à 2 % dans la population générale) soulignant le rôle probable de l'environnement dans la survenue de ces anomalies d'empreinte. Nous avons tout récemment montré que ~ 10 % des patients SRS avec épimutation de la région 11p15 ont également des pertes de méthylation à d'autres loci soumis à empreinte et dont les anomalies de méthylation sont impliquées dans différents syndromes humains. D'une manière remarquable, 2/3 de ces patients ont une anomalie du locus DLK1/GTL2 IG DMR, l'un des rares loci méthylés comme en 11p15 ICR1 sur l'allèle paternel et dont les anomalies de méthylation sont également associées à un RCIU et à la survenue de puberté précoce. La prise en charge thérapeutique des patients SRS avec épimutation de la région 11p15 est particulièrement délicate. Si les premières années de vie sont marquées par des troubles nutritionnels majeurs, avec hypoglycémies et aggravation du retard statural, la progression rapide de l'âge osseux et de la puberté ainsi que la survenue de résistance à l'insuline sont ensuite particulièrement difficiles à prendre en charge. Les anomalies orthopédiques, maxillo-faciale et cognitives nécessitent également une prise en charge adaptée. La complexité de la prise en charge diagnostique et thérapeutique des patients SRS nécessite donc la mise en place de consultations multidisciplinaires spécialisées.

**Mots-clés :** syndrome de Silver Russell, empreinte parentale, score diagnostique.

### ■CS63. THÉRAPIE GÉNÉRIQUE DES ÉPIDERMOLYSES BULLEUSES DYSTROPHIQUES PAR SAUT D'EXON

M. Titeux (1), S. Turczynski (1), V. Pendaries (1), A. Eckenfelder (2), N. Pironon (1), A. Décha (1), A. Vulin (3), L. Tonasso (4), G. Gasc (1), C. Belet (3), L. Garcia (3), O. Danos (2), A. Hovnanian (1, 5, 6)  
(1) INSERM, U563, Département de Génétique, Toulouse, France ; (2) INSERM, U781, Hôpital Necker Enfants-Malades, Paris, France ; (3) UMR 787, Institut de Myologie, Paris, France ; (4) Université Toulouse III Paul Sabatier, Toulouse, France ; (5) Services de Génétique et de Dermatologie, Hôpital Necker Enfants-Malades, Paris, France ; (6) Université Paris V René Descartes, Paris, France  
Contact : alain.hovnanian@inserm.fr

Les épidermolyses bulleuses dystrophiques (EBD) sont dues à des mutations du gène COL7A1 codant le collagène VII. Elles sont transmises selon un mode autosomique récessif (EBDR) ou dominant (EBDD) suivant la nature et la position des mutations. Les patients souffrent dès la naissance de décollements bulleux cutanés et muqueux. Le collagène VII s'assemble en fibres d'ancrage qui sont des structures clés pour l'adhésion dermo-épidermique. Il n'existe aucun traitement spécifique pour ces maladies, mais différentes approches de thérapie génique sont à l'étude. Nous développons une approche innovante de thérapie génique par saut d'exon basée sur la capacité de petites molécules antisens d'interférer avec la machinerie d'épissage lors de la maturation de l'ARN pré-messager en ARN messager en induisant le saut du ou des exons ciblés porteurs de mutations. Parmi les 118 exons de COL7A1, 84 codant le domaine collagène central de la protéine sont dans la même phase ouverte de lecture. Plus particulièrement, les exons 73, 74 et 80 portent un grand nombre de mutations récessives ou dominantes. Dans notre cohorte française de patients EBD qui comporte 167 familles (193 patients), 40 % des patients atteints de forme récessive pourraient bénéficier du saut des exons 73, 74 ou 80 ; et 90 % des patients atteints de forme dominante pourraient bénéficier du saut de l'exon 73. Nous avons dans un premier temps démontré que les séquences codées par ces exons n'étaient pas indispensables à la fonction de la protéine en utilisant un modèle de xéno greffe de peau humaine reconstruite

génétiqumment modifiée à l'aide de vecteurs rétroviraux exprimant l'ADNc de COL7A1 délété des séquences des exons 73,74 ou 80. Puis, nous avons choisi 10 oligoribonucléotides antisens 2'O-méthyl-phosphorothioate (OAS) ciblant des séquences essentielles pour l'épissage des exons 73, 74 et 80 : sites donneurs, sites accepteurs, point de branchement et Exonic Splicing Enhancer (ESE). La transfection de ces OAS dans une lignée de kératinocytes humains en culture a permis de démontrer le saut efficace des 3 exons : 90 % d'efficacité pour l'exon 73, 50 % pour l'exon 74 et 40 % pour l'exon 80. Les prochaines étapes consistent à traiter des cellules de patients EBDR porteurs de mutations dans les exons ciblés par transfection d'OAS *in vitro*, puis par application locale ou systémique d'OAS *in vivo* sur des souris SCID greffées avec des peaux reconstruites. Dans les 2 cas, l'efficacité du saut d'exon sera évaluée par RT-PCR et western-blot. En parallèle, nous générons de nouveaux modèles murins (souris knock-in et transgéniques) afin de tester l'efficacité de cette approche et de déterminer les meilleures voies d'administration des OAS *in vivo*. Si l'efficacité est suffisamment élevée, cette approche par saut d'exon permettrait un traitement *in vivo* local ou systémique à la fois pour les formes récessives et dominantes de la maladie.

**Mots-clés :** saut d'exon, collagène VII, épidermolyses bulleuses dystrophiques.

### ■CS64. EXPÉRIENCE DU TEST PRÉSYPMTOMATIQUE CHEZ 1 554 PERSONNES À RISQUE POUR DES MALADIES NEUROLOGIQUES À RÉVÉLATION TARDIVE

C. Gaudebout (1, 3), M. Gargiulo (1, 2), A. Herson (1), J. Feingold (1), A. Dürr (1, 2)  
(1) APHP, Département de Génétique et Cytogénétique, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France ; (2) INSERM/UPMC/NEB, UMR\_S975, Génétique des affections neurodégénératives du système nerveux central, Centre de Recherche Institut du Cerveau et de la Moelle, Paris, France ; (3) AFCG, Association Française des Conseillers en Génétique, Marseille, France  
Contact : cecile.gaudebout@psl.aphp.fr

De 1992 à Aout 2009, la consultation pluridisciplinaire de prise en charge des tests présymptomatiques a accueilli 1 554 personnes à risque pour des maladies neurologiques à révélation tardive. La structure propose une démarche en plusieurs temps : un entretien d'information, des entretiens de préparation, puis, si le demandeur le décide, analyse génétique et rendu du résultat. Les consultants étaient à risque pour la maladie de Huntington (MH, n = 1329/85 %), les ataxies cérébelleuses autosomiques dominantes (SCA, n = 179/11,5 %), les paraparésies spastiques (SPG, n = 33/2,1 %), la maladie de Creutzfeldt Jacob et les démences frontotemporales (CJD/DFT n = 13/0,8 %). L'âge moyen au premier contact (34,7 ans ± 11,9) était similaire dans les 4 affections et allait de 10 à 90 ans. Il est à noter que l'âge moyen au premier contact est proche de celui d'apparition des premiers signes dans ces maladies. Plus la maladie est sévère et atteint les fonctions cognitives, plus le besoin d'obtenir un résultat est ressenti par les personnes à risque. En effet, pour les CJD/DFT, 85 % vont jusqu'au bout de leur démarche, contre 68 % pour la MH, 53 % pour les SCA et seulement 45 % dans les SPG (p<0,001). Les motivations évoquées par rapport à la réalisation du test sont tout d'abord le besoin de savoir pour soi (34,4 %), suivi par le projet parental (16,9 %), puis le besoin d'anticiper et de préparer le futur (10,9 %), et d'informer les enfants de leur risque (9,8 %). La crainte d'avoir déjà des signes de la maladie représente 10,3 % des motivations, et ce, plus particulièrement dans le groupe à risque pour les SCA (20,1 %, p<0,002). Une minorité fait la démarche pour un tiers (3 %) ou ne sait pas quelle est sa motivation (3,2 %). De façon intéressante, les motivations sont différentes chez ceux qui continuent la démarche après la phase d'information par rapport à ceux qui décident de ne pas la poursuivre : besoin de savoir chez 37,6 % *versus* 28,4 % (p<0,001), projet parental chez 18,7 % *versus* 13,6 % (p = 0,012), informer les enfants chez 11,4 % *versus* 6,9 % (p = 0,005) et anticiper le futur chez 12,7 % *versus* 7,5 % (p = 0,002). Un résultat a été rendu à 981 personnes (63 %) avec une distribution en faveur d'un résultat favorable avec 56 % *versus* 40,5 % pour la MH, 58,9 % *versus* 37,9 % dans les SCA et 80 % *versus* 20 % dans les SPG. Le test présymptomatique pour des maladies neurologiques à révélation tardive reste une demande peu fréquente avec en moyenne 100 demandes par an dans notre centre. Les demandes de diagnostic prénatal à l'issue du test présymptomatique sont peu nombreuses : 16,5 % (60/363) chez les personnes porteuses MH, 8 % SCA, 0 % SPG et CJD/DFT. En conclusion, la sévérité de la maladie et le fait d'avoir des motivations explicites semblent décisifs dans la poursuite de la démarche de diagnostic présymptomatique et la réalisation du test.

**Mots-clés :** diagnostic présymptomatique, diagnostic prénatal, maladies neurologiques à révélation tardive.





## ■CS65. CONTRIBUTION DE L'HYBRIDATION GÉNOMIQUE COMPARATIVE DANS L'ÉVALUATION DE LA RELATION ENTRE LE PHÉNOTYPE ET LA PRÉSENCE D'UN REMANIEMENT CHROMOSOMIQUE APPAREMMENT ÉQUILIBRÉ : ÉTUDE D'UNE SÉRIE DE 20 PATIENTS

C. Missirian, C. Popovici, J. Martinez, S. Sigaudy, N. Philip, A. Moncla  
Département de Génétique Médicale, CHU Timone enfants, Marseille, France

Contact : amoncla@ap-hm.fr

L'incidence des remaniements chromosomiques équilibrés est de 1/2 000 dans la population. Dans 6 % des cas, ils sont associés à un phénotype anormal. La communauté scientifique s'intéresse particulièrement à ces cas et bon nombre de gènes humains ont pu être clonés à partir de ces situations très exceptionnelles comme par exemple le gène de la myopathie de Duchenne. En situation clinique, ils restent un problème dans le conseil génétique. Deux questions essentielles se posent : y a-t-il un lien entre le remaniement observé et le phénotype ? Quel est le risque d'observer un phénotype anormal lorsqu'on découvre ce type de remaniement en situation de diagnostic prénatal ? Les mécanismes connus pour expliquer le lien entre remaniement et phénotype anormal sont l'interruption d'un gène aux points de cassure, une délétion ou duplication, un effet de position, l'interruption de séquences de type ARN non codant. Ces mécanismes ayant pour conséquence l'haploinsuffisance d'un ou plusieurs gènes, ou au contraire une surexpression ou enfin la création d'un gène de fusion. Mais il faut également ne pas négliger que cette association peut être fortuite. Mais ces études ne sont pas encore accessibles dans un laboratoire de routine hospitalier et sont réservées à des équipes de recherche. Nous avons voulu évaluer la contribution de la CGH sur puces à ADN, récente avancée de la cytogénétique, dans le conseil génétique des remaniements apparemment équilibrés associés à des phénotypes anormaux. Nous avons étudié 20 observations : Dans 14 cas, le remaniement est apparu *de novo* : une enfant présentée un syndrome connu, le syndrome de Waardenburg Shaah associé à un remaniement impliquant le chromosome 22, 5 cas d'enfants présentant un retard mental avec dysmorphie et malformations, 4 cas avec retard modéré et dysmorphie, une patiente autiste, une patiente avec un retard et hypotonie majeure et un fœtus présentant une anomalie corticale. Le deuxième groupe composé de 6 patients avec remaniement hérité d'un des parents présentant des tableaux associant retard mental, dysmorphie et malformation. L'analyse en CGH (Agilent 244 k) montre : – dans le premier groupe : 5 anomalies sur 14 cas (35 %). Trois sont des délétions sur l'un ou les deux points de cassure ; deux sont des anomalies dans une autre région du génome. – dans le deuxième groupe : 2 anomalies situées dans une autre région du génome (délétion 15q13.3 et duplication du gène ARX). La comparaison de nos résultats est en accord avec les données de la littérature (Gregory *et al.*, J Med Genet 2007 et Andrieux J Eu J Hum Genet, 2009). Notre étude contribue à démontrer que cette analyse est essentielle et permet dans un nombre non négligeable de cas de répondre à un lien potentiel et d'évaluer un risque précis.

**Mots-clés :** remaniement chromosomique apparemment équilibré, puces à ADN, phénotype anormal.

## ■CS66. QUEL ACCOMPAGNEMENT POUR LES CONSULTANTS EN ONCOGÉNÉTIQUE ET DANS QUEL CAS ? INTÉRÊT D'UNE APPROCHE INTRA-INDIVIDUELLE SUR LA QUESTION DE L'ÉMOTIONNALITÉ

C. Fantini-Hauwel (1), B. Dauvier (1), T. Arciszewski (1), S. Lejeune-Dumoulin (2), S. Manouvrier (2)

(1) Université de Provence, Laboratoire Psyclé, Aix-en-Provence, France ;

(2) Service de Génétique Clinique Guy-Fontaine, Hôpital Jeanne-de-Flandre, CHRU de Lille, France

Contact : carole.fantini@univ-provence.fr

Le nombre de demande de dépistages génétique des cancers héréditaires ne cesse de croître et les syndromes de lynch ont été l'objet de nombreuses études dont les résultats sont plutôt consensuels, mettant en avant l'absence d'effet psychologiques délétères. Cependant, la diversité des réactions observées au cours de nos consultations nous amène à questionner l'absence de répercussion mentionnée si fréquemment dans les publications. Si l'idée ici n'est pas de remettre en cause les résultats observés, il s'agit de mieux comprendre les réactions psychologiques que nous constatons chez certains patients et de nous attarder sur les sujets en difficultés. Nous avons centré notre recherche sur les stratégies de régulation émotionnelle mise en place pour faire face à l'annonce du résultat dans une perspective multifactorielle considérant à la fois les facteurs antérieurs à la démarche génétique mais aussi consécutifs de l'annonce diagnostique. Nous avons plus particulièrement interrogé la question de l'expression émotionnelle au cours du processus de dépistage. Méthode : 71 sujets ont complété des auto-questionnaires portant sur l'alexithymie (TAS 20), le style et les stratégies de coping (WCC) et l'anxiété état (STAI). Il s'agit d'un protocole de type test-retest. Nous avons utilisé une analyse en piste causale non paramétrique (Partial Least Square path Modeling, PLSPM). Résultats : Nos résultats mettent en exergue l'importance des stratégies de régulation émotionnelle mise en place à proximité de l'annonce du résultat, notamment chez les sujets porteurs de l'anomalie génétique. L'anxiété éprouvée à l'issue du test met directement en avant le rôle de l'alexithymie et des stratégies de coping utilisées, suggérant un fonctionnement cognitivo-émotionnel différent selon le statut génétique. Nos résultats soulignent l'aspect secondaire, réactionnel de l'alexithymie, mettent l'accent sur une augmentation du recours au coping émotionnel, associée à une diminution de l'utilisation des stratégies centrées sur le problème ou le soutien social, chez les sujets mutés. Plus leur niveau d'alexithymie est élevé, plus ils utilisent un coping émotionnel au détriment de stratégies plus cognitives, ce qui en retour accroît l'anxiété. Pour les sujets non porteurs, le niveau d'anxiété de départ prédit l'anxiété à l'issue du test. Il apparaît dans cette étude que les sujets mutés observent une réorganisation de leur fonctionnement émotionnel, réorganisation dont la valeur pronostique est prédite par leur capacité d'expression émotionnelle initiale. Ainsi, il est pertinent d'interroger ces aspects au cours des consultations d'information et d'envisager un détour par l'expérience que fait le sujet inscrit dans cette démarche, afin d'évaluer les possibilités d'expression des émotions qui ont ici une valeur fonctionnelle, de pronostic favorable quant aux capacités à faire face à l'annonce d'un résultat défavorable.

**Mots-clés :** oncogénétique, émotions, prise en charge

## 5

## POSTERS

### Anomalies du développement et syndromes malformatifs

#### ■P001. SYNDROME DE MECKEL : HÉTÉROGÉNÉITÉ GÉNÉTIQUE ET CORRÉLATIONS PHÉNOTYPE-GÉNOTYPE

S. Mougou-Zrelli (1, 2), S. Thomas (1), N. Elkhartoufi (3), H.M. Gaudé (2, 4) M.C. Gubler (4), F. Encha-Razavi (1, 2), A. Munnich (1, 2, 3), R. Salomon (2, 4), C. Johnson (5), A. Saad (6), S. Saunier (4), M. Veke-mans (1, 2, 3), T. Attié-Bitach (1, 2, 3)

(1) INSERM U-781, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France ; (2) Université Paris-Descartes, Paris, France ; (3) Département de Génétique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France ; (4) INSERM U-574, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France ; (5) Department of Ophthalmology and Neurosciences, University of Leeds, U.K. ; (6) Service de Cytogénétique, Génétique moléculaire et Biologie de la reproduction, Hôpital Farhat Hached, Sousse, Tunisie

Contact : tania.attie@inserm.fr

Le syndrome de Meckel (MKS) est un syndrome léthal, autosomique récessif, caractérisé par une atteinte rénale multikystique, une malformation cérébrale, une polydactylie, et une prolifération des canaux biliaires. Depuis 2006, 5 gènes ont été identifiés sur 6 loci : MKS1/FLJ20345 en 17q23 et MKS3/TMEM67 en 8q24, MKS4/CEP290 en 12q21, MKS5/RPGRIPL1 en 16q12 et récemment MKS6/CC2D2A. MKS1 et CC2D2A ont été identifiés dans une population finlandaise, avec une mutation majeure par effet fondateur pour chaque gène. Tous codent pour des protéines impliquées dans la fonction ciliaire. L'analyse moléculaire du dernier gène identifié, CC2D2A, nous a permis de mettre en évidence des mutations chez 11 fœtus d'origine ethnique diverse, confirmant son implication et montrant une contribution importante de ce gène dans le MKS. Dans une grande série de 150 fœtus MKS et MKS-like, l'analyse moléculaire des 5 gènes MKS nous a permis d'estimer l'implication de chacun dans notre cohorte, d'étendre la variabilité phénotypique du syndrome à des formes intermédiaires entre le syndrome de Joubert et le syndrome de Meckel dont nous avons démontré l'allélisme en 2007. Nous avons également pu observer des corrélations phénotype-génotype concernant le type de malformation du CNS, la fréquence de la polydactylie, l'existence

d'anomalies osseuses ou d'anomalies sévères de la ligne médiane. L'analyse des fibroblastes des fœtus mutés a permis de mettre en évidence des défauts variables de la ciliogenèse. En ce qui concerne le locus MKS2, un tour de génome réalisé à l'aide de familles consanguines excluant MKS1, MKS3-MKS6 a permis d'affiner la région et l'identification du gène est en cours.

**Mots-clés :** syndrome de Meckel, ciliopathie, syndrome de Joubert.

**■P002. HYDROCÉPHALIE/ANENCÉPHALIE – POLYDACTYLIE CHEZ 4 FŒTUS D'UNE MÊME FRATRIE : CARTOGRAPHIE D'UN NOUVEAU LOCUS HYLS2 SUR LE CHROMOSOME 15**

M. Gonzales (1), D. Buzas (2), C. Bole (3), S. Patrier (1), M.H. Saint Frison (4), L. Rigonnot (2), F. Razavi (5), N. Joye (1), J.P. Siffroi (1), M. Vekemans (5), T. Attie-Bitach (5)

(1) *Service de Génétique et d'Embryologie Médicales, Hôpital Trousseau, APHP, Paris, France*; (2) *Service de Gynécologie-Obstétrique, CH Sud Francilien, Evry, France*; (3) *Plateforme génomique, Fondation IMAGINE, Hôpital Necker-Enfants Malades, France*; (4) *Service d'Anatomie Pathologique, CH Victor-Dupouy, Argenteuil, France*; (5) *Département de Génétique et INSERM U-781, Hôpital Necker- Enfants Malades, Paris, France*

Contact : [tania.attie@inserm.fr](mailto:tania.attie@inserm.fr)

Résumé : L'hydrocéphalie est un syndrome léthal, autosomique récessif qui associe une polydactylie postaxiale aux mains et préaxiale aux pieds, une micrognathie et des anomalies du système nerveux central à type d'hydrocéphalie avec anomalie de l'os occipital en arrière du foramen magnum, en forme de trou de serrure. La prévalence à la naissance a été estimée à 1/20 000 en Finlande. Elle est exceptionnelle ailleurs. Par étude de liaison génétique, une mutation D211G du gène HYLS1 a été identifiée chez les fœtus finlandais, avec un effet fondateur. Aucune autre mutation d'HYLS1 n'a été rapportée à ce jour.

Nous rapportons ici un ensemble polymalformatif à caryotype normal, récurrent chez 4 fœtus, d'un couple apparenté, d'origine algérienne. La première grossesse s'est terminée spontanément à 10 SA. La deuxième grossesse a été interrompue à 15 SA.

**Mots-clés :** hydrolethalus, ciliopathie.

**■P003. FORME SÉVÈRE DU SYNDROME HYPOGLOSSIE HYPODACTYLIE ASSOCIÉE À UNE CARDIOPATHIE COMPLEXE : À PROPOS D'UNE OBSERVATION**

S. Chafai Elaloui (1), I. Ratbi (1, 2), M. Malih (3), M. Bounasse (3), A. Sefiani (1, 2)

(1) *Département de génétique médicale, Institut National d'Hygiène, Rabat, Maroc*; (2) *Centre de génomique humaine, Faculté de médecine et de pharmacie de Rabat, Université Mohammed V Souissi, Rabat, Maroc*; (3) *Service de Pédiatrie, Hôpital Militaire Mohammed V, Rabat, Maroc*

Contact : [sihamgen@yahoo.fr](mailto:sihamgen@yahoo.fr)

Le syndrome hypoglossie hypodactylie est une affection très rare décrite pour la première fois en 1971. Cette anomalie congénitale est caractérisée cliniquement par une hypoglossie, une micrognathie, des anomalies des membres de gravité variable, associées parfois à des anomalies des dents et de la cavité buccale. Nous présentons dans ce travail le cas d'un nouveau-né de sexe féminin, consanguine, âgée de 9 jours adressé en consultation de génétique pour syndrome polymalformatif. La mère ne rapporte pas de traumatismes ni de prises médicamenteuses durant la grossesse. Le nouveau-né présente une légère dysmorphie faciale, une hypoglossie, et une hypoplasie des doigts des quatre membres. Par ailleurs l'échographie cardiaque a révélé la présence d'une cardiopathie complexe dextrocardie, un ventricule unique de type droit, et un tronc artériel commun. Le caryotype a montré une formule normale à 46,XX. La patiente est décédée à 12 jours de vie des suites de sa cardiopathie complexe. L'ensemble de ces données cliniques nous a permis de poser le diagnostic de syndrome hypoglossie hypodactylie. La cardiopathie complexe décrite chez notre patiente, est une association inhabituelle qui n'a jamais rapportée à ce jour dans ce syndrome.

**Mots-clés :** hypoglossie, hypodactylie, cardiopathie.

**■P004. QUATRIÈME CAS DE SYNDROME DE CODAS (CEREBRAL-OCULAR-DENTAL-AURICULAR-SKELETAL), DESCRIPTION DE NOUVEAUX SIGNES CLINIQUES ET ANALYSE PHYSIOPATHOLOGIQUE**

S. Marlin (1), H. Ducou Le Pointe (2), M. Le Merrer (3), M. Portnoï (1), S. Chantot (1), A. Guiochon-Mantel (4), J. Siffroi (1), N. Garabedian (5), F. Denoyelle (5)

(1) *Service de Génétique, Hôpital Armand Trousseau, Paris, APHP, France*; (2) *Service de Radiologie, Hôpital Armand-Trousseau, Paris, APHP, France*; (3) *Service de Génétique, Hôpital Necker, Paris, APHP, France*; (4) *Service de Génétique moléculaire, de Pharmacogénétique et d'Hormonologie, Hôpital du Kremlin-Bicêtre, Paris, APHP, France*; (5) *Service d'ORL, Hôpital Armand-Trousseau, Paris, APHP, France*

Contact : [sandrine.marlin@trs.aphp.fr](mailto:sandrine.marlin@trs.aphp.fr)

Le syndrome CODAS (Cerebral-Ocular-Dental-Auricular-Skeletal) est une maladie très rare. Depuis sa première description en 1991, seuls 3 cas ont été rapportés. Il s'agit d'un phénotype associant un retard mental, des anomalies dentaires, des malformations des pavillons, des malformations squelettiques et une dysmorphie caractéristique. Nous rapportons un nouveau patient porteur d'un syndrome CODAS présentant des signes cliniques non décrits à ce jour et nous comparons son phénotype à ceux des cas publiés antérieurement afin de définir précisément cette entité rare. Des investigations biologiques et génétiques ont été menées dans le but d'identifier la physiopathologie de ce syndrome. Notre patient présente l'ensemble des signes cliniques définissant le syndrome CODAS associés à des malformations cardiaque, hépatique et laryngée non décrites à ce jour. Les investigations métaboliques et génétiques : caryotype, CGH array et recherche de mutation du gène JAG1 n'ont pas permis de retrouver d'anomalie. L'étude clinique de ce patient permet de mieux définir le phénotype du syndrome CODAS. L'absence d'anomalie chromosomique et la présence d'une consanguinité parentale font suspecter une transmission autosomique récessive.

**Mots-clés :** syndrome CODAS.

**■P005. SYNDROME SHORT : TRANSMISSION DOMINANTE AUTOSOMIQUE ET DIAGNOSTIC PRÉNATAL**

M. Mathieu-Dramard (1, 2), B. Devauchelle (3), B. Demeer (1, 2), P. Bitoun (4), S. Lanta-Delmas (2), A. De Sandre-Giovannoli (5), G. Viot (6), P. Naepels (2), J. Gondry (2), G. Morin (1, 2)

(1) *Génétique Clinique, CHU Nord, Amiens, France*; (2) *Centre de Diagnostic Prénatal, CHU, Amiens, France*; (3) *Service de Chirurgie Maxillo-Faciale, CHU Nord, Amiens, France*; (4) *Génétique Médicale, CHU, Hôpital J.-Verdier, Paris Nord Bondy, France*; (5) *Génétique Moléculaire, Hôpital d'enfants La Timone, Marseille, France*; (6) *Génétique Clinique, Hôpital Port-Royal, Paris, France*

Contact : [mathieu-dramard.michele@chu-amiens.fr](mailto:mathieu-dramard.michele@chu-amiens.fr)

Décrit pour la première fois par Gorlin en 1975, le syndrome SHORT correspond à l'acronyme S pour stature, H pour hyperextensible joints ± hernie, O pour ocular depression, R pour Rieger anomaly (hypoplasie irienne, embryotoxon postérieur et synéchies irido-cornéennes), T pour teething delay. Depuis, plus de 24 observations ont été rapportées chez des patients des deux sexes, avec de plus une lipodystrophie partielle du thorax et de la face, donnant à cette dernière un aspect progéroïde. Le retard mental n'est pas présent ou sinon léger. Les patients adultes sont à risque de diabète sucré avec résistance à l'insuline. La transmission en est dominante autosomique et l'étiopathogénie en demeure à ce jour inconnue. En 2001, nous rapportons l'observation d'une jeune femme de 27 ans, avec syndrome SHORT caractéristique. Les antécédents familiaux sont négatifs. Une première grossesse spontanée se complique d'un diabète sévère nécessitant une insulinothérapie à dose élevée. L'enfant, de sexe féminin, naît prématurément au terme de 29 semaines d'aménorrhée avec des mensurations en rapport avec le terme et sans dysmorphie. Actuellement âgée de 8 ans, elle est indemne de l'affection. Le bilan glycémique se normalise chez la patiente. À l'âge de 33 ans, la surveillance d'une nouvelle grossesse confirme la récurrence du diabète gestationnel et l'atteinte foetale avec microsomie cranio-faciale et dysmorphie faciale à l'échographie de 27 semaines d'aménorrhée. La transmission dominante autosomique avec risque de 50 % pour la descendance se confirme de nouveau. Malgré les éléments cliniques communs au syndrome de Rieger et aux syndromes progéroïdes, aucune mutation du gène PITX2 et des lamines A/C n'est identifiée. L'étude en CGH-array est négative.

**Mots-clés :** SHORT, lipodystrophie, anomalie de rieger.

**■P006. AMÉLOGENÈSE IMPARFAITE, RETARD MENTAL SÉVÈRE, ÉPILEPSIE (SYNDROME DE KOHLSCHUTTER-TONZ) : REMISE EN QUESTION DE L'HÉRÉDITÉ RÉCESSIVE AUTOSOMIQUE À PROPOS D'UNE NOUVELLE FAMILLE**

S. Odent (1), M. Blayau (2), L. Pasquier (1), S. Mercier (1), C. De La Rochebrochard (1), C. Dubourg (2), C. Henry (3), C. Allaire (4), D. Bonneau (5), M. Tardieu (6), J.L. Sixou (7)

(1) *Service de Génétique Clinique, CHU de Rennes, Hôpital Sud, Rennes, France*; (2) *Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHU de Rennes,*

Hôpital Pontchaillou, Rennes, France ; (3) Laboratoire de Cytogénétique, CHU de Rennes, Hôpital Pontchaillou, Rennes, France ; (4) Service de Pédiatrie, CHU de Rennes, Hôpital Sud, Rennes, France ; (5) Service de Génétique, CHU d'Angers, Angers, France ; (6) Service de neurologie pédiatrique, CHU Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre, France ; (7) Faculté d'Odontologie, CHU de Rennes, Rennes, France  
Contact : sylvie.odent@chu-rennes.fr

L'Amélogénèse imparfaite (« yellow teeth ») syndromique est une entité rare. Son association avec un retard psychomoteur sévère et évolutif, et une épilepsie a été décrite pour la première fois en 1974 sous le nom de syndrome de Kohlschütter-Tonz (OMIM 226750). Les 26 cas publiés issus de 9 familles différentes ont suggéré un mode de transmission récessif autosomique à cause d'un contexte de consanguinité et/ou de plusieurs cas de récurrence dans la même fratrie. Nous rapportons le cas d'une famille avec deux garçons puis une fille atteints issus de deux unions différentes de la mère. Les deux pères n'ont pas de lien de parenté connu et l'étude d'un panel de 9 microsatellites a pu confirmer que le premier garçon atteint et la fille avaient des pères différents. Les deux frères, issus de la première union, sont décédés respectivement à 15 ans de surinfection pulmonaire et 14 ans d'un état de mal convulsif. Ils présentaient en commun une encéphalopathie sévère et évolutive, une épilepsie, des anomalies dentaires avec oligodontie, dysplasie de l'émail, malpositions dentaires. Une microcéphalie est apparue dans l'évolution. Une atrophie cérébrale non spécifique est décrite à l'IRM. Le caryotype, l'analyse des télomères par FISH, et un bilan métabolique étaient normaux. Lors de la deuxième union, le conseil génétique est plutôt rassurant, avec l'hypothèse d'une maladie récessive autosomique, ou liée à l'X d'autant que le fœtus est de sexe féminin lors d'une nouvelle grossesse. Malheureusement, cette patiente présente également un retard du développement dès les premiers mois, une épilepsie à 6 mois, puis des anomalies dentaires similaires à celles de ses demi-frères. L'éruption des premières dents est très retardée, survenant à l'âge de 5 ans. La courbe de périmètre crânien s'infléchit vers 3 mois. À 8 ans, elle ne tient pas assise, n'a pas de langage, et présente une dysmorphie (visage rond, grande bouche, philtrum court). L'hypothèse d'une maladie mitochondriale est avancée mais les points redox, l'étude de l'activité de la chaîne respiratoire, et de l'ADN mitochondrial sont normaux sur les lymphocytes et les fibroblastes. L'étude en CGH array (puce Agilent 4x44K) est normale ainsi que chez le deuxième enfant dont l'ADN a été étudié a posteriori. Il n'y a pas de biais d'inactivation de l'X chez la mère. L'IRM ne montre que quelques hyper signaux de la substance blanche. Au total, l'étiologie du Syndrome de Kohlschütter-Tonz reste inconnue, et cette histoire familiale suggère la possibilité d'une transmission dominante autosomique avec une récurrence due à une mosaïque germinale maternelle.

**Mots-clés :** amélogénèse imparfaite, retard mental, épilepsie.

#### ■P007. 2 NOUVEAUX CAS DE SYNDROME DE FRYNS SANS HERNIE DIAPHRAGMATIQUE ET CONFIRMATION D'UNE ÉVOLUTION NEUROLOGIQUE TRÈS PÉJORATIVE

L. Pasquier (1), C. Quelin (1), A. Beuchée (1), S. Napuri (1), C. Mignot (2), J.M. Jouannic (3), A. Gelot (4), C. Metay (5), C. Dubourg (6), N. Joye (7), M.F. Portnoï (7), B. Bruneau (8), S. Odent (1), M. Gonzales (7), S. Marlin (7)

(1) Pôle de Pédiatrie et Génétique médicale, CHU Rennes, France ; (2) Service de Neuropédiatrie, CHU Trousseau, Paris, France ; (3) Maternité, CHU Trousseau, Paris, France ; (4) Laboratoire d'Anatomie Pathologique, CHU Trousseau, Paris, France ; (5) Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHU Henri-Mondor, Créteil, France ; (6) Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHU Rennes, France ; (7) Service de Génétique et d'Embryologie Médicales, CHU Trousseau, Paris, France ; (8) Pôle Imagerie, CHU Rennes, France  
Contact : laurent.pasquier@chu-rennes.fr

Le syndrome de Fryns [MIM 229850] est un syndrome polymalformatif rare associant classiquement une hernie diaphragmatique, une dysmorphie et une hypoplasie des phalanges terminales. Ces anomalies sont souvent diagnostiquées en période prénatale et l'évolution post-natale est peu décrite dans la littérature. Il se transmet selon un mode d'hérédité autosomique récessif sans étiologie moléculaire connue à ce jour. Nous rapportons 2 nouveaux cas de syndrome de Fryns sans hernie diaphragmatique dans 2 familles non consanguines dont l'évolution post-natale est très péjorative : (1) cas index de sexe féminin, macrosome, hospitalisée pour hypotonie axiale et gêne respiratoire oxygène-dépendante, présentant une dysmorphie avec une hypoplasie distale des doigts et absence d'ongle sur les 5èmes. L'évolution est défavorable sur le plan respiratoire et neurologique avec un décès à l'âge de 5 mois. Le diagnostic de syndrome de Fryns est évoqué à la grossesse suivante de ce couple sur un fœtus de 19SA présentant une avance staturo-pondérale, une fente palatine, une hypoplasie

distale des phalanges, une agénésie du corps calleux et une hernie diaphragmatique gauche. (2) cas index de sexe féminin, macrosome, hospitalisée pour détresse respiratoire sur hypertension artérielle pulmonaire primitive, présentant une dysmorphie, hypoplasie distale des doigts et une fente palatine. L'évolution neurologique à 2 mois est inquiétante avec hypotonie axiale majeure, absence de contact oculaire et EEG montrant un aspect de suppression-burst. Le diagnostic est étayé par la visualisation sur un scanner pulmonaire d'un petit bombement de la surrenale gauche dans la cavité thoracique réalisant une hernie a minima. Ces 2 cas superposables illustrent la difficulté diagnostique du syndrome de Fryns en l'absence d'un élément majeur du diagnostic. Pour étayer ce diagnostic, nous proposons la réalisation d'une imagerie diaphragmatique orientée et d'un EEG dont le pattern pourrait être évocateur. Nous confirmons le mauvais pronostic neurologique, le risque de décès précoce et la légitimité d'une demande d'interruption de grossesse pour un motif médical.

**Mots-clés :** syndrome de Fryns, hernie diaphragmatique, retard mental.

#### ■P008. SPASTICITÉ, RETARD MENTAL, SURDITÉ DE PERCEPTION, ET NÉPHROPATHIE PROGRESSIVE : CONFIRMATION DU SYNDROME DE FITZIMMONS

B. Demeer (1, 5), C. Espil-Taris (2), C. Rooryck-Thambo (1), F. Tison (3), C. Goizet (1), P. Godbert (4), B. Arveiler (1), B. Llanas (2), D. Lacombe (1)

(1) Service de Génétique médicale, CHU Bordeaux, Université de Bordeaux, France ; (2) Département de Pédiatrie, CHU Bordeaux, France ; (3) Département de Neurologie, CHU Bordeaux, France ; (4) Service de médecine interne-néphrologie-hémodialyse, CH Avignon, France ; (5) Unité de génétique médicale, CHU Nord, Amiens, France  
Contact : demeer.benedicte@chu-amiens.fr

Le cas index est suivi régulièrement depuis l'âge de 8 ans pour une néphropathie type Berger, avec protéinurie isolée. Il présente un retard global des acquisitions associé à un retard statural, une surdité de perception bilatérale, et une tétraparésie spastique. Il est le cadet d'une famille recomposée, comprenant du côté maternel 4 autres enfants de 2 fratries différentes, de pères non apparentés. Au sein de la fratrie de trois enfants, une des filles présente l'association d'une microcéphalie, d'un retard mental sévère, d'un syndrome tétraparétique, d'une petite taille, d'un syndrome dysmorphique, d'une néphropathie évolutive, diagnostiquée à l'âge de 15 ans, avec lésions de type hyalinose segmentaire et focale et insuffisance rénale précoce. Le fils présente une hypoacousie bilatérale, une néphropathie diagnostiquée vers l'âge de 11 ans, responsable après 16 ans d'évolution d'une insuffisance rénale terminale, un retard mental et une tétraparésie spastique. Enfin, le dernier demi-frère est porteur d'une néphropathie, d'un retard global des acquisitions, de troubles du comportement et d'un syndrome pyramidal prédominant aux membres inférieurs. La maman n'a jamais pu être vue en consultation de génétique. Les imageries cérébrales, réalisées chez 3 personnes atteintes, montrent une atrophie corticale. Le bilan étiologique, chez le cas index, comprenant un bilan métabolique, une étude de la chaîne respiratoire mitochondriale sur muscle, une recherche des mutations de l'ADN mitochondrial et une CGH-array (Agilent 105 K) ne retrouve pas d'anomalies. Le phénotype familial est à rapprocher de la famille décrite par Fitzimmons *et al.* en 1988, associant une spasticité familiale, une surdité de perception bilatérale, un retard mental et une néphropathie progressive, phénotype transmis par une mère à ses 3 enfants.

**Mots-clés :** spasticité, retard mental, néphropathie progressive.

#### ■P009. SYNDROME DE PAI

F. Ferrari (1), C. Baumann (2), C. Thauvin (3), A. Picard (5), G. Malka (5), P. Vabres (1)

(1) Dermatologie, Centre Hospitalier Universitaire, Dijon, France ; (2) Génétique, Hôpital R. Debré, Paris, France ; (3) Génétique, Centre Hospitalier Universitaire, Dijon, France ; (4) Chirurgie maxillo-faciale, Hôpital A. Trousseau, Paris, France ; (5) Chirurgie maxillo-faciale, Centre Hospitalier Universitaire, Dijon, France  
Contact : pierre.vabres@u-bourgogne.fr

Le syndrome de Pai associe une fente labiale supérieure médiane, des polypes cutanés de la face et de la muqueuse nasale, un hypertélorisme et des lipomes des structures encéphaliques médianes centrales. Seuls onze cas ont été rapportés depuis sa première description en 1987. Nous en rapportons deux nouveaux cas. Cas 1 : Une petite fille née à 37 semaines de parents non consanguins, présentait à la naissance une fente narinaire droite, une fente palatine et un lipome frontal. On ne retrouvait pas d'antécédents familiaux. La grossesse avait été marquée par un diabète gestationnel. L'IRM cérébrale montrait un lipome du corps calleux avec prolongement interhémisphérique antérieur ainsi qu'un polype intranarinaire



droit. Les autres examens morphologiques et le caryotype étaient normaux. Cas 2 : Une petite fille née à terme d'une grossesse sans complication, de parents non consanguins, présentait à la naissance un fibrochondrome nasario droit opéré à quelques mois de vie, un kyste dermoïde du septum nasal et une fente médiane labiale supérieure mineure, également opérée avec un excellent résultat. On ne retrouvait pas d'antécédents familiaux. L'IRM cérébrale a montré un lipome du corps calleux et une anomalie du troisième ventricule, asymptomatiques. À la suite d'une poussée inflammatoire, le kyste dermoïde nasal résiduel a motivé une chirurgie d'exérèse radicale. Le syndrome de Pai est rarissime. La coexistence d'anomalies cutanées faciales et cérébrales sur la ligne médiane suggère l'implication d'une anomalie embryonnaire commune survenant lors de la fermeture du neuropore antérieur ou plus tardivement lors de la fusion des bourgeons faciaux. Il n'existe pas d'autre manifestation de dysraphie associée. Les anomalies cutanées à type de « polypes faciaux » qui ont été rapportées correspondent à des fibrochondromes, des kystes dermoïdes et des lipomes. La localisation intranasario des fibrochondromes semble très évocatrice. Il pourrait s'agir d'une affection de transmission autosomique dominante mais la plupart des cas sont sporadiques, sans anomalie chromosomique mise en évidence. Malgré les anomalies de développement cérébral observées, aucun des cas rapportés ne présentait de retard psychomoteur ni de comitialité. Le pronostic est donc principalement lié au retentissement esthétique et fonctionnel de l'atteinte faciale qui motive une chirurgie réparatrice. Guion-Almeida *et al.* Pai syndrome : report of seven South American patients. *Am J Med Genet A* 2007 ; 143A : 3273-9. Vaccarella F *et al.* Phenotypic variability of Pai syndrome : report of two patients and review of the literature. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2008 ; 37 : 1059-64.

**Mots-clés :** ligne médiane, fibrochondromes, fente labiale.

**■P010. AGÉNÉSIE MACULAIRE CONGÉNITALE, AGÉNÉSIE DU CORPS CALLEUX ET HYPOPLASIE DE L'HIPPOCAMPE : UN NOUVEAU SYNDROME NEURO-OPHTALMOLOGIQUE AUTOSOMIQUE RÉCESSIF**

P. Bitoun (1A), E. Pipiras (1B), F. Rigaudière (2), B. Benzacken (1B), A. Delahaye (1B)

(1A) *Génétique Médicale, CHU Jean Verdier Paris XIII, Bondy, France ; (1B) Histo-Embryologie-Cytogénétique, CHU Jean-Verdier Paris XIII, Bondy, France ; (2) Electro-Physiologie Oculaire et Biophysique, Hôpital Lariboisière, Paris, France*

Contact : bitoun@gmail.com

Introduction : Plusieurs formes de dystrophies maculaires ont été décrites dont la maladie de Stargardt (ABCA4), le stargardt-like autosomique dominant (ELOVL4), la maladie de Best (VMD2), la dystrophie maculaire de Caroline, la maladie de Bietti, et la dystrophie maculaire liée à l'âge (ABCA4, CFH, C3 et ARMS2). Les auteurs présentent une nouvelle forme de dystrophie maculaire sévère congénitale se présentant avec un nystagmus congénital avec basse vision et agénésie du corps calleux de découverture anténatale chez une fillette issue de parents consanguins. Méthodes : La patiente a été explorée par angiographie rétinienne ; Tomographie à Cohérence Optique ; Electrorétinographie, Potentiels évoqués visuels ; Test 15 hue de Farnsworth-Munsell ; IRM cérébrale ; caryotype, analyse de biologie moléculaire des gènes ABCA4 et de Rétinopathies Pigmentaires autosomiques récessives. Les parents et la fratrie ont aussi été explorés. Résultats : Fillette de 5 ans issue de parents cousins germains présentant un nystagmus congénital horizontal fin, une vision de loin à 1/10ème et P4 de près. Au fond d'œil une zone d'atrophie maculaire totale bilatérale avec une rétine et papille normales. À l'angiographie une absence d'auto fluorescence avec atrophie maculaire bilatérale. ERG normal mais des PEV damiers absents et anomalies au 15 Hue désaturé évocateurs de dysfonction du faisceau maculaire. L'OCT confirme l'absence totale de macula avec interruption de la couche des photorécepteurs ; une atrophie rétinienne EDTRS à 102 Microns à Droite et 92 à gauche (Normale 160 à 180) et un volume maculaire à 4,65mm<sup>3</sup> à droite et 4,32 à gauche. L'IRM cérébrale confirme l'agénésie du corps calleux et une hypoplasie bilatérale des hippocampes ; et l'étude du tracking des fibres confirme l'absence de croisement de la ligne médiane par les faisceaux neuronaux. La biologie moléculaire des gènes ABCA4 et des 18 gènes de RPAR était négative. Les parents présentent une acuité visuelle, une angiographie, OCT et IRM normales. Le frère aîné de 10 ans présente une vision normale mais une discrète hypoplasie du corps calleux et la sœur cadette âgée de 2 ans une vision normale mais n'a pas eu d'IRM. Conclusion : Ce nouveau phénotype d'agénésie maculaire, du corps calleux et d'hypoplasie des hippocampes fait évoquer l'implication d'un gène putatif transmis en récessivité contrôlant le développement embryonnaire de la macula du corps calleux et des hippocampes.

**Mots-clés :** macula, corps calleux, neuro-ophtalmologie.

**■P011. ASSOCIATION D'UNE ATRÉSIE DES CHOANES ET D'ATRÉSIES INTESTINALES MULTIPLES : UN NOUVEAU SYNDROME ?**

A. Ferrarini (1), M.C. Osterheld (2), Y. Vial (3), P.A. De Viragh (4), J. Cotting (5), D. Martinet (1), J.S. Beckmann (1, 6), F. Fellmann (1)

(1) *Service de Génétique Médicale, CHUV, Lausanne, Suisse ; (2) Institut Universitaire de Pathologie, CHUV, Lausanne, Suisse ; (3) Département de Gynécologie-Obstétrique, CHUV, Lausanne, Suisse ; (4) Département de Dermatologie, CHUV, Lausanne, Suisse ; (5) Département de Pédiatrie, CHUV, Lausanne, Suisse ; (6) Département de Génétique Médicale, UNIL, Lausanne, Suisse*

Contact : florence.fellmann@chuv.ch

Nous rapportons le cas d'un enfant et d'un fœtus d'un couple non consanguin, présentant des atrésies intestinales multiples associées à une atrésie des choanes. La première grossesse a été marquée par l'observation d'un hydramnios et d'une dilatation intestinale à 29 SA. Le caryotype fœtal et la recherche des mutations les plus fréquentes du gène CFTR étaient normaux. À la naissance à 34 semaines, l'exploration chirurgicale mettait en évidence des atrésies intestinales multiples intéressant le côlon et l'intestin grêle. Une atrésie bilatérale des choanes était diagnostiquée en post-natal. Des interventions multiples au niveau intestinal ont été nécessaires en raison de la progression et de l'évolutivité du processus obstructif. Les données de l'évolution clinique montrent chez cette enfant une dysmorphie faciale, des anomalies des cheveux et une petite taille, évocateurs d'une dysplasie ectodermique. Au cours de la grossesse suivante, une dilatation des anses digestives a été observée à 27 SA. L'autopsie pratiquée au décours de l'interruption de grossesse confirmait l'existence d'une atrésie de longs segments de l'intestin grêle et du côlon. Une atrésie des choanes était également présente. Dans les deux cas, les données histologiques et la distribution des lésions intestinales sont compatibles avec les observations des formes familiales d'atrésies intestinales multiples (FMIA). Toutefois, une association avec une atrésie des choanes ou avec une dysplasie ectodermique n'a jamais été rapportée. Les analyses cytogénétiques comportant une analyse par puce à ADN à haute résolution (AgilentTM 244k) n'ont pas montré d'anomalie. Nous suggérons qu'il pourrait s'agir d'une nouvelle entité génétique, transmise selon un mode autosomique récessif.

**Mots-clés :** atrésie des choanes, atrésie intestinale, dysplasie ectodermique.

**■P012. L'HÉTÉROGÉNÉITÉ PHÉNOTYPIQUE DU SYNDROME DE ROBINOW : À PROPOS DE TROIS CAS**

Y. El Aribi (1), M. Trabelsi (1), L. El Euch (1), F. Maazoul (1), H. Jilani (1), R. Meddeb (1), I. Chelly (1), I. Ouertani (1), M. Chaabouni (1), A. Sammoud (2), L. Ben Jemaa (1), R. M'rad (1), H. Chaabouni (1)

(1) *Service des Maladies Congénitales et Hériditaires, Hôpital Charles-Nicolle, Tunis ; (2) Service de Pédiatrie C, Hôpital d'enfants, Tunis*

Contact : elaribiyasmina@yahoo.fr

Le syndrome de Robinow ou « fetal facies » est une maladie génétique rare et hétérogène qui se transmet selon un mode autosomique récessif ou dominant. Ces deux formes se distinguent par la sévérité de leur symptomatologie, et par conséquent, par leur pronostic qui est meilleur dans les formes dominantes. Son incidence est de 1/500 000 avec un sexe ratio 1:1. Par ailleurs, la prévalence est beaucoup plus faible dans les formes récessives car 5 % à 10 % des patients meurent en bas âge. Ce syndrome est défini par une petite taille, un raccourcissement méso-mélique avec brachydactylie, des anomalies vertébrales, une hypoplasie génitale et une dysmorphie faciale de type fetal facies. Des mutations du gène ROR2, localisé sur le bras long du chromosome 9, ont été impliquées dans le syndrome de Robinow autosomique récessif. L'objectif de notre étude est de décrire, à partir de trois observations, l'expressivité variable de ces critères expliquant l'hétérogénéité phénotypique de ce syndrome. Nos cas index sont une fille et deux garçons non apparentés et âgés respectivement de 16 mois, 14 ans et 20 ans. L'enquête génétique est négative dans les trois cas. Ils présentaient en commun une dysmorphie faciale caractéristique, une brachydactylie et un raccourcissement des avant-bras. Néanmoins, le retard de croissance staturale ainsi que l'hypoplasie génitale n'étaient observés que chez deux de nos patients dont un avait un déficit en IGF1 associé, déjà rapporté dans la littérature. Le développement psychomoteur était normal dans deux cas. Les deux garçons sont atteints de surdité profonde nécessitant un appareillage. Les explorations radiologiques ont montré des hémivertèbres dorsales D3-D4, D6->D10, un pincement discal L3-L4 voire bloc L3-L4 avec fusion intérieure, une fusion costale gauche 10°-11° cotes et pas de 12° cote et une atteinte méso-mélique prédomine aux membres supérieurs avec raccourcissement plus marqué de l'ulna que le radius dont l'extrémité est élargie. Une échographie abdominale faite chez la fille a objectivé une hépatomégalie homogène ainsi qu'une rate globuleuse.



L'échographie cardiaque, réalisée dans deux cas, est revenue normale. Une analyse par PCR et séquençage des exons codants du gène ROR2, réalisée chez la fille, n'a révélé aucune anomalie de séquence mais des analyses complémentaires sont en cours à la recherche de réarrangements géniques. Malgré l'absence de confirmation moléculaire, le diagnostic du syndrome de Robinow a été retenu chez ces trois patients en se basant sur la clinique (fetal face) et les anomalies squelettiques qui, malgré leur variabilité d'expression, restent des critères valides pour poser le diagnostic. Un conseil génétique et une proposition de diagnostic prénatal (à partir de la 19<sup>e</sup> SA moyennant une échographie fœtale avec mesure de la longueur des os longs et le rapport ulna/humérus) ont été présentés aux parents.

**Mots-clés :** dysmorphie faciale, anomalies osseuses, hétérogénéité phénotypique.

#### ■P013. SYNDROME DE FLOATING HARBOR : À PROPOS D'UN NOUVEAU CAS DE TRANSMISSION MÈRE-FILLE

S. Arpin (1), A. Afenjar (1), B. Dubern (2), S. Cabrol (3), D. Héron (1)  
(1) *Département de Génétique Et Cytogénétique, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France* ; (2) *Service de Gastro-Entérologie et Nutrition Pédiatriques, Hôpital d'Enfants Armand-Trousseau, Paris, France* ; (3) *Laboratoire d'Explorations Fonctionnelles Endocriniennes, Hôpital d'Enfants Armand Trousseau, Paris, France*  
Contact : [delphine.heron@psl.ap-hop-paris.fr](mailto:delphine.heron@psl.ap-hop-paris.fr)

Le syndrome de Floating-Harbor (FHS) est un syndrome rare, caractérisé par une petite taille avec retard de l'âge osseux, une dysmorphie caractéristique, et un retard de langage. Une trentaine de cas ont été rapportés dans la littérature à ce jour (filles et garçons), dont la majorité est sporadique. De rares cas familiaux ont été rapportés : 2 sœurs issues d'un couple non apparenté et 2 cas de transmission mère-fille. Aucun support génétique n'est connu à ce jour. Nous rapportons le cas d'une mère et de sa fille, présentant des caractéristiques communes ayant fait poser le diagnostic de FHS. Patients : Patient 1 : OP est la 1<sup>re</sup> enfant d'un couple non apparenté. La mère (patient 2) est deuxième geste et a interrompu une grossesse pour spina bifida. OP est née à 34 semaines d'aménorrhée avec un retard de croissance intra-utérin (poids et taille au troisième percentile) avec périmètre crânien conservé. D'emblée, elle présente une dysmorphie faciale ayant fait évoquer le diagnostic de syndrome de Rubinstein-Taybi. Le bilan malformatif (échographies rénale et cardiaque, radiographies osseuses) est normal. L'évolution a été marquée par un retard de croissance staturo-pondérale (-4 DS pour le poids et la taille) avec microcéphalie acquise (-3 DS) et un discret décalage des acquisitions. L'examen clinique à 5 ans met en évidence un retard de langage et des troubles de la concentration, pour lesquels elle bénéficie d'une prise en charge spécialisée. L'IRM cérébrale est normale. Patient 2 (mère de patient 1) : MM est née avec un poids entre le 10<sup>e</sup> et le 25<sup>e</sup> percentile, une taille à -2 DS et un périmètre crânien conservé. Elle a présenté un retard de langage et des difficultés scolaires importantes. Elle vit en couple. Elle présente une épilepsie (crises généralisées tonico-cloniques) apparue lors de sa première grossesse justifiant un traitement par Dépakine. L'examen clinique est normal en dehors d'une taille à -2,5 DS et de particularités morphologiques faciales. Le périmètre crânien est normal. Le bilan étiologique réalisé chez ces patientes (caryotype haute résolution, FISH 22q11, analyse des télomères, étude moléculaire du gène CREBBP) est normal. Le diagnostic de FHS est finalement posé chez les 2 patientes sur l'association d'un retard statural, d'une dysmorphie et d'un retard de langage. Discussion et conclusion : En l'absence de diagnostic moléculaire, le diagnostic de FHS est clinique. Il est évoqué devant un retard statural avec retard d'âge osseux et une dysmorphie caractéristique, associés à un retard de langage, mais les difficultés d'apprentissage sont fréquemment rapportées. Le périmètre crânien est habituellement conservé, mais 3 cas de microcéphalie ont été décrits. L'épilepsie n'a jamais été rapportée. Il s'agit de la troisième description de ce syndrome impliquant une mère et sa fille, permettant d'évoquer une possible transmission autosomique dominante de ce syndrome.

**Mots-clés :** syndrome de Floating Harbor, hérédité autosomique dominante.

#### ■P014. ÉTUDE CLINIQUE À PROPOS DE 2 CAS DU SYNDROME DE MOEBIUS

L. Euch (1), F. Maazoul (1), H. Bergaoui (1), R. Meddeb (1), H. Jilani (1), R. Sakka (1), M.A. Ksentini (1), L. Ben Jemaa (1), M. Fredj (2), A. Mrabet (2), H. Chaabouni (1)  
(1) *Service des Maladies congénitales et héréditaires, EPS Hôpital Charles Nicolle, Tunis, Tunisie* ; (2) *Service de neurologie, EPS Hôpital Charles Nicolle, Tunis, Tunisie*  
Contact : [leilauchi@hotmail.fr](mailto:leilauchi@hotmail.fr)

Le syndrome de Moebius ou diplégie congénitale faciale est une paralysie des muscles des yeux et de la face. 300 cas sont décrits dans la littérature, dont la plupart sont sporadiques, rarement à transmission autosomique dominante. C'est une anomalie du développement du septième nerf crânien « FACIAL » dans 100 % des cas, associée à celle du sixième nerf crânien dans 75 % des cas. Des anomalies orofaciales et des anomalies des extrémités sont rapportées. Nous rapportons dans ce travail deux observations cliniques du syndrome de Moebius. Première observation : nourrisson SD âgé de 1 an et 1 mois. En période néonatale, il existe la notion de difficulté à téter. Il présente actuellement un retard des acquisitions psychomotrices. L'examen clinique trouve un retard staturo-pondéral, une microphthalmie, un strabisme convergent bilatéral, un effacement des arcades supra orbitaires, une paralysie de la course labiale à gauche, une syndactylie du deuxième et troisième doigt gauche, une clinodactylie du troisième et cinquième doigt droit, des pieds bots bilatéraux et une hypotonie axiale. Deuxième observation : Enfant RA âgé actuellement de 11 ans. Il existe la notion de difficulté à téter avec des troubles de la déglutition pendant les premiers mois de vie. Il n'a pas encore acquis le sourire. Il trouve des difficultés à ouvrir la bouche. Il n'arrive pas à fermer les paupières. L'examen clinique trouve : une diplégie faciale bilatérale, un strabisme convergent, une ophthalmoplégie internucléaire, une paralysie des mouvements de latéralité des yeux, une paralysie de l'abduction, une sténose des canaux lacrymaux, un effacement des arcades supra orbitaires, une bouche entrouverte, une hypoplasie du deuxième, troisième, quatrième, cinquième doigt droit, des pieds bots bilatéraux opérés, une ectopie testiculaire opérée à droite. Le syndrome de Moebius est une maladie rare non progressive. La prise en charge est surtout symptomatique, d'où l'intérêt d'un diagnostic précoce pour une meilleure prise en charge.

#### ■P015. PTOSIS, MICROCÉPHALIE, SYNDACTYLIE DES ORTELS ET MICROPÉNIS : UN NOUVEAU SYNDROME ?

L. Rifai (1, 2), S. Chafai Elalaoui (1), A. Lamzouri (1), M. Tajir (1), A. Sefiani (1, 3)  
(1) *Département de Génétique Médicale, Institut National d'Hygiène, Rabat, Maroc* ; (2) *Laboratoire de Cytogénétique, Institut Pasteur du Maroc, Casablanca, Maroc* ; (3) *Centre de Génomique Humaine, Faculté de Médecine et Pharmacie, Université Mohamed V Souissi, Rabat, Maroc*  
Contact : [laila.rifai@pasteur.ma](mailto:laila.rifai@pasteur.ma)

Nous décrivons le phénotype d'un garçon de 8 ans, issu d'un mariage consanguin, qui présente une association malformative non encore décrite. Il présente une microcéphalie, un ptosis, une photophobie, un colobome irien, une microcornée, de grandes oreilles, une micrognathie, un petit menton, une fragilité dentaire avec de multiples caries, une scoliose, une clinodactylie bilatérale du 5<sup>e</sup> doigt avec une hypoplasie de la phalange intermédiaire, une syndactylie des 3<sup>e</sup> et 4<sup>e</sup> orteils, un micropénis. Le caryotype et l'analyse par CGH array se sont révélés normaux. Un frère et une sœur aînés présentent un tableau moins sévère, comprenant uniquement le ptosis, la photophobie, et la fragilité dentaire. Bien que certains signes soient communs avec d'autres syndromes connus, le phénotype complet présent chez ce garçon évoque un nouveau syndrome, de transmission autosomique récessive, ou bien autosomique dominante avec une expression variable.

**Mots-clés :** dysmorphie, consanguinité, nouveau syndrome.

#### ■P016. SYNDROME DE TAYBI-LINDER : DESCRIPTION PHÉNOTYPIQUE DE 8 NOUVEAUX CAS

P. Edery (1, 2), S. Nampoothiri (3), N. Brunetti-Pierri (4), E. Steichen (5), F. Djijoud (6), L. Guibaud (7), A. Labalme (1), J. Chastang (1), R. Touraine (8), F. Rousseau (9), D. Sanlaville (1, 2), F. Clerget-Darpoux (10), A.L. Leutenegger (10), P.S. Jouk (11)  
(1) *Service de Cytogénétique Constitutionnelle, CHU de Lyon, France* ; (2) *Université Lyon 1, Lyon, France* ; (3) *Amrita Institute of Medical Sciences, Cochin, India* ; (4) *Department of Molecular and Human Genetics, Houston, USA* ; (5) *Service de Génétique, CHU d'Innsbruck, Autriche* ; (6) *Service d'Anatomie Pathologique, CHU de Lyon, France* ; (7) *Département d'Imagerie Pédiatrique et Fœtale, CHU de Lyon, France* ; (8) *Service de Génétique, CHU de Saint-Étienne, France* ; (9) *IntegraGen SA, Evry, France* ; (10) *UMR-S 535, Université Paris-Sud, Villejuif, France* ; (11) *Service de Génétique, CHU de Grenoble, France*  
Contact : [patrick.edery@chu-lyon.fr](mailto:patrick.edery@chu-lyon.fr)

Le syndrome de Taybi-Linder, encore appelé nanisme primordial microcéphalique ostéodysplastique (MOPD) type I/III (OMIM 210710), est un syndrome polymalformatif rare caractérisé par un nanisme à début anténatal, une microcéphalie, des malformations cérébrales, des anomalies des phanères et un décès survenant de façon inexplicable, habituellement dans les 2 premières années de la vie, parfois dans un contexte infectieux.



Vingt-cinq cas du syndrome de Taybi-Linder ont été rapportés dans la littérature à ce jour. Notre équipe a localisé le gène responsable sur le chromosome 2q (Using genomic inbreeding coefficient estimates for homozygosity mapping of rare recessive traits : application to Taybi-Linder syndrome. Leutenegger AL, Labalme A, Genin E, Toutain A, Steichen E, Clerget-Darpoux F, Edery P. *Am J Hum Genet.* 2006 Jul ; 79(1) : 62-6) et nous tentons actuellement d'identifier le gène ou la séquence responsable de cette affection par une approche de séquençage haut débit. Nous présentons ici 8 patients atteints du syndrome de Taybi-Linder, non décrits à ce jour, appartenant à 5 familles indépendantes dont 3 présentent une consanguinité. Ces observations témoignent de l'homogénéité phénotypique de ce syndrome et permettent d'attirer l'attention sur une malformation non décrite à ce jour : la polydactylie. Nous espérons que la connaissance des mécanismes moléculaires responsables de cette affection permettra dans l'avenir de comprendre et de prévenir les causes de la survenue du décès prématuré chez ces enfants.

**Mots-clés :** Taybi-Linder, MOPDI/III, phénotype clinique.

#### ■P017. DÉLÉTION INTERSTITIELLE 7Q36.1 : ÉVALUATION CLINIQUE, CYTOGÉNÉTIQUE ET PAR CGH ARRAY D'UNE PATIENTE PRÉSENTANT UN RETARD MENTAL, UNE DYSMORPHIE ET UNE HYPERTRICHOSE

C. Metay (1), L. Lecerf (2), A. Briand (1), V. Delattre(1), V. Ortonne (1), L. Tosca (4), S. Brisset (4), G. Tachdjian (4), L. Van Maldergem (1, 3), M. Goossens (1)

(1) AP-HP, Plateforme de Génétique Constitutionnelle, GHU Henri Mondor-Albert Chenevier, Créteil, France ; (2) IMRB, Plateforme de Génétique Constitutionnelle, GHU Henri Mondor-Albert Chenevier, Créteil, France ; (3) AP-HP, UF Génétique Clinique, CHI, Créteil, France ; (4) AP-HP, Laboratoire de cytogénétique, Hôpital Antoine-Béclère, Clamart, France

Contact : corinne.metay@hmn.aphp.fr

Nous rapportons le cas d'une patiente de 8 ans dont la maman avait présenté une grossesse caractérisée par une élévation des marqueurs sériques. L'amniocentèse réalisée a permis de caractériser un caryotype foetal normal 46,XX. L'enfant, née à terme, a présenté un périmètre crânien de 31 cm (-2,2SD). Un retard du langage, un retard mental léger, et une hypotonie ont par la suite été observés. Un premier épisode de convulsions a été noté à l'âge de 3 ans puis, sont apparues des convulsions généralisées, des absences ainsi que des crises partielles. Elle a acquis la marche à l'âge de 22 mois. Le caractère normal du caryotype a de nouveau été confirmé à l'âge de 1 an. L'examen clinique à l'âge de 6 ans et demi a montré des paramètres de poids et de taille se situant dans les limites normales avec un périmètre crânien à la limite inférieure de la normale (-2SD). Cette enfant présente les particularités crânio-faciales suivantes : sourcils courts, broussailleux, en éventail, œdème des arcades sourcilières, nez court, narines antéversées. Une hypertrichose se situe au niveau des coudes. La face externe des genoux présente un éperon osseux. Le bilan étiologique réalisé alors s'avère négatif (expansion au locus de l'X fragile, MPLA télomérique, FISH en 22q11, IRM et radio de l'hémi-squelette). Avec accord des parents, une étude par CGH-array Agilent 105K a été menée. Les résultats obtenus montrent une perte de matériel génomique de 4,3Mb dérivé du chromosome 7 dans la région 7q36.1 (BACH N° 5695). La présence de cette délétion a été vérifiée par FISH à l'aide de la sonde BAC RP11-445N20 chez l'enfant ainsi que chez les parents, et s'avère être *de novo*. L'utilisation d'une sonde subtélomérique ciblant le télomère 7qter a montré par FISH sa présence, confirmant le caractère interstitiel de la délétion. Il est intéressant de noter que contrairement à la délétion que nous observons, la majorité des anomalies décrites jusqu'à présent dans cette région emportent la région terminale télomérique. Cette région comporte des gènes impliqués dans le développement comme SHH, EN2 et HTR5A et le phénotype des cas rapportés diffèrent de celui présenté (holoprosencéphalie, microcéphalie, anomalies dentaires). La délétion que nous rapportons n'emporte donc pas ces gènes, mais 54 autres gènes parmi lesquels 2 gènes codant pour des protéines décrites pour être impliquées dans l'autisme : CNTNAP2 codant pour une protéine neuronale de la famille des neurexines, ainsi que GALNT11 et GALNTL5 codant pour des enzymes de la glycosylation. Un phénotype présentant des particularités communes à notre patiente (hirsutisme, cheveux épais, retard mental) est décrit dans la base de données DECIPHER dont l'anomalie génotypique est également interstitielle en 7q36.1-36.2 et emporte CNTNAP2, GALNT11 et GALNTL5. Il sera discuté de la corrélation génotype-phénotype en comparant nos résultats avec les cas rapportés et en étudiant la fonction des gènes d'intérêt compris dans la délétion 7q36.1.

**Mots-clés :** délétion 7q36.1 interstitielle, CGH-array, retard mental.

M/S hors série n° 1, vol. 26, janvier 2010

#### ■P018. ANEUSOMIES SEGMENTAIRES ET SYNDROMES POLYMALFORMATIFS : ÉTUDE D'UNE COHORTE DE 50 FŒTUS PAR HYBRIDATION GÉNOMIQUE COMPARATIVE SUR MICRO RÉSEAU D'ADN (ARRAY-CGH)

M. Valduga (1), C. Philippe (1), P. Bach Segura (2), O. Thiebaugeorges (3), A. Miton (3), B. Foliguet (4), P. Jonveaux (1)

(1) Laboratoire de génétique médicale, Nancy Université, EA 4368, Centre Hospitalier Régional et Universitaire, Vandœuvre-lès-Nancy, France ; (2) Service de radiologie et échographie, Maternité régionale, Nancy, France ; (3) Unité Médecine Foetale/Diagnostic Anténatal, Maternité régionale, Nancy, France ; (4) Unité de placentologie et de Foetopathologie, Maternité régionale, Nancy, France

Contact : m.valduga@chu-nancy.fr

Une étude rétrospective de 50 fœtus porteurs d'un syndrome polymalformatif grave ayant conduit à une interruption médicale de grossesse a été réalisée par une technique d'hybridation génomique comparative sur micro-réseau d'ADN (aCGH). Les critères d'inclusion dans cette étude comportaient la mise en évidence en période prénatale d'un syndrome polymalformatif concernant au moins trois champs viscéraux ou une anomalie cérébrale complexe et une analyse cytogénétique conventionnelle normale. À l'aide d'un micro réseau d'oligonucléotides (Agilent 44K), 9 déséquilibres génomiques intéressant 6 fœtus (12 %) ont été diagnostiqués. Les variations du nombre de copies (CNV) identifiés étaient clairement responsables du phénotype foetal pour 5 fœtus : un déséquilibre subtélomérique d'une translocation parentale nouvellement identifiée, une tétrasomie 8p en mosaïque, une délétion interstitielle et une délétion terminale survenues *de novo*, une duplication d'un fragment du bras court d'un chromosome 11 d'origine maternelle responsable d'un syndrome de Silver Russel « plus ». Les diagnostics établis pour ces fœtus sont pour la plupart rares ou de découverte difficile en période prénatale. Un fœtus présentait un remaniement génomique télomérique hérité de sa mère à phénotype normal, non responsable du phénotype foetal mais révélant un polymorphisme non décrit à ce jour. Les résultats obtenus par aCGH ont tous été confirmés par PCR quantitative (qPCR) et/ou par FISH. Le caractère familial ou *de novo* a ainsi pu être déterminé et un conseil génétique établi. Cette étude a été soutenue et financée par l'Agence de Biomédecine sous l'acronyme FhyGas (Foetus hybridation Génomique aneusomies segmentaires).

**Mots-clés :** array CGH, syndrome polymalformatif, fœtus.

#### ■P019. DÉLÉTION 1P21.2-21.3 CHEZ UNE PATIENTE AVEC RETARD MENTAL, DYSMORPHIE ET MALFORMATIONS : REVUE DES BASES DE DONNÉES CYTOGÉNÉTIQUES, CARTOGRAPHIE GÉNÉTIQUE ET CORRÉLATION GÉNOTYPE-PHÉNOTYPE

L. Lecerf (2), C. Metay (1), A. Briand (1), V. Delattre(1), V. Ortonne (1), L. Tosca (4), S. Brisset (4), G. Tachdjian (4), L. Van Maldergem (1, 3), M. Goossens (1)

(1) AP-HP, Plateforme de Génétique Constitutionnelle, GHU Henri Mondor-Albert Chenevier, Créteil, France ; (2) IMRB, Plateforme de Génétique Constitutionnelle, GHU Henri Mondor-Albert Chenevier, Créteil, France ; (3) AP-HP, UF Génétique Clinique, CHI, Créteil, France ; (4) AP-HP, Laboratoire de cytogénétique, Hôpital Antoine-Béclère, Clamart, France

Contact : corinne.metay@hmn.aphp.fr

Nous rapportons le cas d'une jeune femme de 32 ans dont la maman n'avait présenté aucune particularité durant sa grossesse. L'acquisition de la station assise s'est faite à l'âge de 9 mois et la marche à 17 mois. Elle présente un retard de langage, des troubles de l'apprentissage et des stéréotypies gestuelles. Il existe une dysmorphie avec une enophtalmie, des yeux en amande et des fentes palpébrales en haut et en dehors. Ses membres supérieurs sont caractérisés par une acromicrie et une apraxie manuelle. Un premier bilan étiologique a abouti à des résultats normaux (caryotype 46, XX, électroencéphalogramme, examen ophtalmologique). On note qu'à l'âge de 32 ans son poids est de 77 Kg pour une taille de 156 cm. Une étude par CGH-array Agilent 105K a donc été menée. Les résultats obtenus montrent une perte de matériel de 3,6 Mb dérivé du chromosome 1 dans la région 1p21.2-p21.3 (BACH N° 5712). L'utilisation des sondes BAC RP11-413P11, RP11-272L13 et RP11-122C9 en FISH a confirmé la présence de la délétion chez notre patiente et a permis, en analysant par FISH ses parents, de définir son caractère *de novo*. Parmi les bases de données cytogénétiques BACH, DECIPHER et ECARUCA, seule cette dernière décrit un cas présentant au caryotype une anomalie de formule 46,XX,del(1)(p21p22.3)dn. Au niveau clinique, cette patiente présente outre la particularité commune avec notre patiente d'une petite taille, une microcéphalie, une fermeture tardive des fontanelles, des petites oreilles

en rotation postérieure, une fente palatine et des anomalies cardiaques. Parmi les 7 gènes situés dans la délétion 1p21.2-p21.3 détectée par CGH-array, il est intéressant de noter la présence du gène LPPR4 codant pour une protéine impliquée dans la croissance des axones et la régénération neuronale. Un autre gène DPYD codant pour une enzyme métabolisant les bases pyrimidiques a été associé à des phénotypes de type autiste ou des retards mentaux. Il sera discuté la notion de gènes contigus en regard de celle de gène unique en corrélation avec les phénotypes observés de notre cas décrit et de celui rapporté.

**Mots-clés :** délétion 1p21.2-21.3, CGH-array, retard mental.

**■P020. DÉLÉTIONS EN 8Q24.3 ; 3 NOUVEAUX GÈNES CANDIDATS ASSOCIÉS À UNE FORME DE COLOBOME SYNDROMIQUE**  
C. Guenot (1), A. Ferrarini (1), S. Kjaergaard (2), M. Kirchhoff (2), T. Kneuppel (3), M. Kibaek (3), F. Niel Butschli (1), B. Rapin (1), J.S. Beckmann (1), D. Martinet (1), S. Jacquemont (1)

(1) Service de Génétique Médicale, CHUV, Lausanne, Suisse ; (2) Department of clinical genetics, University Hospital Rigshospitalet, Copenhagen, Danemark ; (3) Department of pediatrics, Odense University Hospital, Odense, Danemark ; (4) Département de néphrologie pédiatrique, Hôpital Universitaire de Heidelberg, Heidelberg, Allemagne

Contact : cecile.guenot@chuv.ch

Nous rapportons l'observation de 2 enfants non apparentés présentant un colobome bilatéral et une microdélétion hétérozygote en 8q24.3 mise en évidence par puce à ADN. L'anamnèse familiale des 2 enfants, âgés de 10 et 2 ans, est sans particularité. Ils présentent un tableau clinique similaire : colobome chorio-rétinien bilatéral, retard de croissance, rétrognathisme, et dysmorphie faciale (long philtrum, petite bouche et lèvre supérieure fine). Cas n° 1 : cette fille, âgée de 10 ans, a un développement intellectuel normal. Elle a présenté des troubles de l'audition sur une fixation de la tête du marteau. Le bilan malformatif a également mis en évidence une agénésie rénale gauche, un orifice pré-auriculaire et un rétrognathisme. L'analyse cytogénétique a montré un caryotype féminin normal. L'analyse par puce à ADN (Agilent 244K) a permis de mettre en évidence une délétion d'environ 78 kb en 8q24.3 (bornes minimales : pb 144,940,658 à pb 145,005,899 build 36.3). L'association de l'anomalie rénale et de l'oreille moyenne nous faisant suspecter un syndrome brachio-oto-rénal, une analyse du gène EYA1 est réalisée, qui montre une variation au niveau de l'intron 15. Cas n° 2 : ce garçon, âgé de 2 ans, a présenté une hypotonie néonatale, un retard de développement moteur et de langage modéré, et des crises d'apnée dues à un reflux gastro-oesophagien sur hernie hiatale. L'analyse cytogénétique a montré un caryotype masculin normal. L'analyse par puce à ADN (Agilent 244K) a mis en évidence une délétion de 0,99 Mb en 8q24.3 (bornes minimales : pb 144,676,240 à pb 145,665,236 build 36.3). Il est décrit à ce jour un seul cas de délétion en 8q24, délimitée précisément par puce à ADN, et impliquant les régions délétées dans nos 2 cas. Cette délétion est de 15,1 Mb (q24.21 à q24.3) et le patient présente le même tableau clinique : colobome bilatéral, retard de croissance, rétrognathisme et dysmorphie faciale décrite précédemment. Nous rapportons ici 2 cas de délétion en 8q24.3 associés à un colobome chorio-rétinien bilatéral, qui permettent de confirmer l'association de ce locus avec une forme de colobome syndromique et de préciser la région d'intérêt à 78 kb. Cette région comprend 3 gènes : SCRIB, PUF60, NRBP2. Parmi ces gènes, NRBP2, « nuclear receptor binding protein 2 », est un candidat intéressant : il est exprimé dans le neuro-épithélium, la rétine en développement, l'hippocampe, et le cervelet. NRBP2 pourrait peut-être jouer un rôle dans le développement du colobome.

**Mots-clés :** colobome, délétion 8q24.3, puces à ADN haute résolution.

**■P021. TRISOMIE 6Q23-Q TERMINALE AVEC DIABÈTE NÉONATAL TRANSITOIRE**

M. Gerard-Blanluet (1), S. Osimani (1), E. Bismuth (2), N. Tubiana (2), C. Baumann (1), L. Perrin-Sabourin (1), C. Farnoux (3), S. Magnier (4), B. Benzacken (5), H. Cave (6), A. Verloes (1), A. Aboura (5)  
(1) Service de Génétique Médicale, Hôpital Robert-Debré, Paris, France ; (2) Service d'Endocrinologie pédiatrique, Hôpital Robert-Debré, Paris, France ; (3) Service de Néonatalogie, Hôpital Robert Debré, Paris, France ; (4) Service de Cardiologie Pédiatrique, Hôpital Robert-Debré, Paris, France ; (5) Service de Cytogénétique, Hôpital Robert-Debré, Paris, France ; (6) Service de Biologie Moléculaire, Hôpital Robert-Debré, Paris, France

Contact : marion.gerard@rdp.aphp.fr

Le diabète néonatal (DN) insulino-dépendant est une entité rare (incidence 1/400 000) qui se manifeste dès les premiers jours de la vie par une

hyperglycémie, un taux indécélable d'insuline et un retard de croissance intra-utérin. On distingue deux formes : une transitoire (Diabète Néonatal Transitoire, DNT) (60 % des cas) qui se résout de manière spontanée dans les premiers mois de vie, et une permanente (Diabète Néonatal Permanent, DNP). Des anomalies du chromosome 6, duplications paternelles, isodisomie paternelle et défauts de méthylation sont associées au DNT, suggérant l'implication de gène (ZAC/PLAGL1) soumis à empreinte parentale au locus candidat situé en 6q24 (Polak and Cavé, 2007). Le tableau clinique du diabète néonatal par duplication localisée à la bande 6q24 comprends un RCIU, et la présence fréquente d'une macroglossie et d'une hernie ombilicale, sans autre anomalie malformative associée. L'enfant est le troisième enfant de parents non consanguins originaires du Congo. La grossesse s'est déroulée sous traitement par Dépakine, Urbanyl et Zyprexa du fait d'une maladie bipolaire chez la maman. La nuque était normale. À 35 semaines ont été notés un excès de liquide amniotique, une protusion de la langue, un kyste intra-abdominal probablement surrénalien et une dilatation du bassin. L'enfant est née à 41 SA, hypotrope avec poids et taille < 3<sup>e</sup> percentile et microcéphale avec un PC au 5<sup>e</sup>. Une dysmorphie faciale sévère a été notée dès la naissance avec macroglossie, hypoplasie malaire, proptose, oreilles bas implantées. L'échographie rénale montre une dysplasie multikystique. À J9, une hyperglycémie à 9,9 mmol/L a été notée, avec accentuation progressive vers un diabète néonatal insulino-requérant. Le bilan génétique montre une duplication de la région 6q23-q25 d'origine paternelle, classiquement associée à la forme transitoire du diabète néonatal. Le caryotype montre une translocation déséquilibrée t(6,14) *de novo*, avec trisomie partielle large 6q23-qter, transloquée sur les bras courts du chromosome 14. La trisomie 6q23-qter est une anomalie chromosomique cytogénétiquement visible, rapportée avec une dysmorphie faciale marquée caractérisée par un cou court, une microcéphalie, un hypertélorisme avec ptosis et obliquité vers le bas des fentes palpébrales, comme notre patiente, un nez busqué, un micro-rétrognathisme, et des contractures articulaires. Le retard mental est constant (Turleau, 1981 ; Conrad *et al.* 1998 ; Goh *et al.*, 2000 ; Seel *et al.*, 2005). La survenue d'un diabète néonatal transitoire a déjà été rapporté dans certaines de ces trisomies 6q23-qter quand elles sont d'origine paternelle (Abramowicz *et al.*, 1994 ; Temple *et al.*, 1996 ; Arthur *et al.*, 1997 ; Temple and Shield, 2002) ainsi que des obésités morbides (Smith *et al.*, 1999). La survenue d'un tableau polymalformatif avec microcéphalie, dysmorphie faciale, retard psychomoteur, et malformations multiples, faisant évoquer une anomalie chromosomique, avec survenue secondaire d'un diabète néonatal transitoire doit faire évoquer en premier lieu un remaniement chromosomique de type duplication touchant le bras long du chromosome 6, comprenant la région 6q23-q24.

**Mots-clés :** diabète néonatal transitoire, duplication 6q23-q25, dysmorphie.

**■P022. DUPLICATION INTERSTITIELLE DUP(18)(P11.22P11.31) : NOUVEAU SYNDROME ŒIL/REIN/ORGANES GÉNITAUX/ EXTRÉMITÉS IDENTIFIÉ EN CGH-ARRAY**

F. Vialard (1, 3), V. Serazin (2, 3), E. Rouleau (4), L. Carton (1), D. Molina Gomes (1, 3), J. Selva (1, 3), P. de Mazancourt (2, 3), J. Roume (1)

(1) Laboratoire de Cytogénétique et Génétique médicale, CHI Poissy-Saint Germain, Poissy, France ; (2) Laboratoire de Biologie Moléculaire, CHI Poissy-Saint Germain, Poissy, France ; (3) EA 2493, UVSQ, France ; (4) Plateforme de CGH-array – Laboratoire d'Oncogénétique constitutionnelle et somatique, Centre René Huguenin, Saint Cloud, France

Contact : fvialard@hotmail.com

Nous rapportons l'identification d'une duplication du bras court d'un chromosome 18, dup(18)(p11.22p11.31) dans une famille d'origine caucasienne, chez qui la duplication ségrége avec des anomalies oculo-urogénétales associées à des anomalies des extrémités. À 22 SA, il a été mis en évidence une microphthalmie unilatérale chez le fœtus de Mme G. Celle-ci est confirmée par IRM comme étant isolée. Un caryotype prénatal est réalisé et montre un caryotype normal, 46,XY. L'accouchement est déclenché à 35SA en raison d'un retard de croissance intra-utérin d'apparition tardive. On note à la naissance, en plus de la microphthalmie, un colobome irien controlatéral associé à des malformations des extrémités. À 2 ans, une cryptorchidie est diagnostiquée. Il est décidé alors de renouveler le caryotype à la recherche d'une mosaïque. Une étude en CGH array, en raison du caryotype confirmé comme normal, a été réalisée et a permis la caractérisation d'une duplication sur le bras court d'un chromosome 18 p11.22p11.31 de 2.3Mb, confirmée par qPCR. L'étude familiale a montré (i) chez Mme G, une camptodactylie, une dysmorphie faciale et un utérus unicorne ; (ii) chez sa mère un utérus cordiforme (iii) chez une des ses sœurs une agénésie utérine et des malformations oculaires à type de



colobomes iriens ; (iv) chez un grand père une microphthalmie. Enfin, (v) un des oncles de Mme G est décédé en période néonatale et présentait une imperforation anale. En résumé, on retrouve en commun une anomalie de la chambre antérieure de l'œil et une dysgénésie caudale (atrésie anale, anomalie mullérienne, anomalie rénale, anomalie des extrémités) chez plusieurs membres de la famille. La recherche de la duplication, par qPCR, a été réalisée dans la famille et celle-ci est présente chez les individus atteints : Mme G, sa mère et sa sœur atteinte, et absente chez les individus sains : les deux sœurs indemnes de Mme G et son mari. L'analyse par CGH-array a montré ensuite que la taille de la duplication est stable entre les générations. Huit gènes sont présents dans la région : ARHGAP28, LAMA1, PTPRM, LRRC30, RAB12, KIAA0802, NDUFV2 et ANKRD12. Deux gènes semblent potentiellement intéressants, le gène LAMA1 qui code pour une protéine impliquée dans la structuration de la membrane basale et le gène PTPRM qui code pour un récepteur de protéine-tyrosine phosphatases associé à l'adhésion cellule-cellule. Enfin, on retrouve en 5' et 3' de cette région dupliquée, une homologie de séquence. Au total, l'anomalie identifiée dans cette famille coségrégée avec des malformations proches, dans un phénotype associant anomalie de la chambre antérieure de l'œil et dysgénésie caudale. Ce cas souligne l'apport en diagnostic de la CGHarray pour les syndromes polymalformatifs, qu'il soit associé ou non à un retard mental.

**Mots-clés :** dup(18)(p11.22p11.31), œil, organes génitaux.

#### ■P023. ÉTUDE EN CGH ARRAY DE 35 PATIENTS PRÉSENTANT UN BEEC

D. Sanlaville (1, 2), H. Reutter (3), M. Ludwig (4), A. Labalme (1), B. Monga (5), H. Guilbert (1), M. Rossi (1), P. Mouriquand (6), S. Boyadjev (7), P. Edery (1, 2)

(1) Service de Cytogénétique Constitutionnelle, CHU de Lyon, France ; (2) EA 4171, Université Claude-Bernard, Lyon 1, France ; (3) Institute of Human Genetics, Children's Hospital, University of Bonn, Bonn, Germany ; (4) Department of Clinical Chemistry and Pharmacology, University of Bonn, Sigmund-Freud-Str. 25, Bonn, Germany ; (5) IGBMC ; Strasbourg, France ; (6) Service de chirurgie urologique et vésicérale, CHU de Lyon France ; (7) Section of Genetics, Department of Pediatrics, University of California-Davis, Sacramento, California, USA

Contact : damien.sanlaville@chu-lyo.fr

Le complexe épispadias, extrophie vésicale (BEEC) : Bladder Exstrophy and Epispadias Complex correspond à l'une des malformations, parmi les plus graves, du tractus génito-urinaire. Un tiers des BEEC sont associés, à un rein pelvien ectopique, à une agénésie rénale, et/ou à une hydronéphrose. On observe également fréquemment un reflux vesico-urétéral, une obstruction de la jonction urétéro-pelvienne ou une cryptorchidie. Le résultat des études épidémiologiques pointe vers une étiologie multifactorielle des BEEC isolés (implication de facteurs génétiques et environnementaux). La plupart des cas de BEEC sont classés comme des défauts de fermeture de la paroi abdominale infra ombilicale non syndromique. Cependant, une recherche dans la base de données London Dysmorphology Data Base (LDDDB) permet de trouver 17 syndromes, soit avec une extrophie vésicale, soit avec une extrophie cloacale, par exemple le Syndrome de régression caudale ou, le spectre Omphalocèle, Extrophie vésicale et Imperforation anale (OEIS) pour lesquels les étiologies demeurent totalement inconnues. Des anomalies chromosomiques ont déjà été rapportées chez des patients présentant un BEEC suggérant la possibilité de mettre en évidence des déséquilibres chromosomiques chez d'autres patients. L'utilisation de la technique de CGH array a déjà montré son intérêt pour l'identification de gènes impliqués dans la genèse de syndromes malformatifs comme le syndrome CHARGE ou le syndrome de Pitt-Hopkins. Nous avons étudié 35 patients présentant un BEEC dans une forme isolée ou syndromique par CGH array avec une puce Agilent 244k offrant une résolution de 30 kb. Nous avons mis en évidence en moyenne 10 CNV par patient. Chez un seul patient a été mis en évidence un CNV pouvant être considéré comme pathogène. Il s'agit d'une délétion 15q13.3 de 1,8 Mb incluant le gène CHRNA7 chez une patiente présentant une extrophie vésicale isolée. L'étude familiale a montré que cette délétion est héritée de la mère. Cette étude n'a pas permis de localiser une région d'intérêt impliqué dans le complexe BEEC. Une seule anomalie a été trouvée qui a été rapportée chez des patients présentant des phénotypes différents (syndrome malformatifs, schizophrénie) et dont la relation avec le complexe BEEC est difficile à établir. Une approche de type « gènes candidats » pourrait être envisagée ainsi que la recherche de facteurs génétiques de susceptibilité à partir d'une plus grande cohorte.

**Mots-clés :** BEEC, délétion 15q13.3, CGH array.

M/S hors série n° 1, vol. 26, janvier 2010

#### ■P024. DE LA PERSÉVÉRANCE EN GÉNÉTIQUE POUR UN DIAGNOSTIC EN 12 ANS : MISE EN ÉVIDENCE D'UNE DÉLÉTION DE 15.8 MB EN 3Q24-Q25.33 PAR CGH ARRAY : À PROPOS D'UN CAS

F. Chevallier-Helas (1), V. Layet (1), N. Lemeur (2), P. Saugier-Veber (3), P. Chambon (4)

(1) Génétique Médicale, CHG Flaubert, Le Havre, France ; (2) Laboratoire de cytogénétique, EFS, Bois Guillaume, France ; (3) Génétique moléculaire, CHU Charles-Nicolle, Rouen, France ; (4) Laboratoire de cytogénétique, CHU Charles-Nicolle, Rouen, France

Contact : florence.chevallier@ch-havre.fr

Nous rapportons le cas d'un enfant âgé de 12 ans premier-né d'une famille de 4 enfants. Né à terme, sans anomalie décelée lors de la grossesse, il présente à la naissance un micropénis avec un hypospadias, une hernie inguino-scrotale associée à une dysmorphie faciale (sillons sous oculaires, ensellure nasale marquée, philtrum effacé) et à une petite CIA. Le caryotype standard effectué à la naissance ne met en évidence aucune anomalie et confirme le sexe masculin du nouveau-né. Cet enfant développe un retard psychomoteur majeur (marche instable 4 ans et demi, langage pauvre (3 mots à 5 ans)) avec comitativité et hyperkinésie. L'IRM cérébrale met en évidence une atrophie olivopontocérébelleuse. De nombreux bilans étiologiques, ont été mis en place au cours des premières années de vie sans aboutir à un seul diagnostic (caryotype en haute résolution, recherche en FISH d'anomalie cryptique subtélomérique, explorations métaboliques, recherche moléculaire du syndrome d'Angelman, du syndrome de Williams-Beuren et du syndrome de Joubert, étude du gène MECP2). Cette année, une analyse en CGH array a permis enfin d'identifier une grande délétion de 15.8 Mb en 3q24-3q25.33, qui a été confirmée par l'hybridation *in situ* avec une sonde spécifique du locus 3q24 et qui n'était pas visible sur les analyses chromosomiques réalisées en haute résolution. L'analyse par FISH des cellules parentales a confirmé le caractère *de novo* de cette délétion. L'anomalie retrouvée est extrêmement rare. Quelques cas avec délétion interstitielle d'un bras long de chromosome 3 ont été décrits, mais ne se situent pas sur ce locus. Chez tous les cas décrits, un retard mental est associé. Ce cas est intéressant à double titre : d'une part il est toujours intéressant d'essayer d'établir une corrélation génotype-phénotype, et d'autre part il illustre l'intérêt de réaliser une étude par CGH array dans les explorations étiologiques des retards mentaux inexpliqués à caryotype normal.

**Mots-clés :** 3q24-q25, CGH array, retard psychomoteur.

#### ■P025. DÉLÉTION INTERSTITIELLE 18Q21.2 EN FAIBLE MOSAÏQUE INCLUANT LE GÈNE TCF4 DÉTECTÉE PAR CGH ARRAY

R. Rossi (1), A. Labalme (1), G. Blanchard (2), A. Rafat (1), M. Till (1), C. Putin (1), L. Guibaud (3), V. Des Portes (2), P. Edery (1, 4), D. Sanlaville (1, 4)

(1) Service de Cytogénétique Constitutionnelle, CHU de Lyon, France ; (2) Service de Neuropédiatrie, CHU de Lyon, France ; (3) Département d'Imagerie Pédiatrique et Foetale, CHU de Lyon, France ; (4) EA 4171, Université Claude Bernard, Lyon 1, France  
Contact : damien.sanlaville@chu-lyo.fr

La CGH array est une technique très efficace pour détecter des anomalies chromosomiques interstitielles ou subtélomériques de très petite taille, indécélabiles avec les techniques standard. Nous rapportons ici le cas d'une patiente présentant un retard psychomoteur sévère, un nystagmus et un syndrome de la jonction pyélorétérale. À l'examen clinique à l'âge de 16 mois, il existait une microcéphalie (PC : -2DS) pour une taille à +1DS. On notait une dysmorphie faciale avec un grand front, des yeux enfoncés, un nystagmus, des oreilles relativement grandes, des narines antéversées et une grande bouche. On notait également un pli palmaire unique bilatéral, une syndactylie minime des orteils 2-3-4. Les PEV étaient pathologiques. Une IRM cérébrale montrait une hypoplasie cauleuse et une dysplasie du vermis. Le caryotype standard et un large bilan métabolique sont revenus normaux. Une analyse en CGH array a été réalisée (puces contenant 244 000 oligonucléotides, technologie d'Agilent®). Cet examen a mis en évidence une délétion interstitielle 18q21.2-q22.2 d'environ 18,8 Mb en très faible mosaïque, estimée sur les valeurs des log2 ratio à environ 5-10 %. Une étude FISH avec la sonde RP11-444P12 localisée en 18q21.2 a confirmé la présence de la délétion dans 42 cellules sur 1000 (4,2 %). Une FISH avec la même sonde, sur frottis sanguin a retrouvé 8 noyaux déléétés sur 200 (4 %). Le caryotype des parents est normal et aucune délétion 18q21 n'a été trouvée chez eux sur les 270 noyaux examinés. Cette observation montre que la CGH array est une technique capable de détecter des très faibles mosaïques, de surcroît interstitielles. La question de la causalité des faibles mosaïques reste ouverte. La délétion retrouvée inclut



le gène TCF4, dont l'haploinsuffisance est responsable du syndrome de Pitt-Hopkins. Ce syndrome est caractérisé par un retard mental et une dysmorphie évocatrice incluant des yeux enfoncés, un nez large, des hélix larges, une macrostomie avec des lèvres épaisses et des doigts en baguette de tambour. Des troubles de la respiration (épisodes d'hyperventilation paroxystique suivie d'apnée) peuvent être également présents. Chez la patiente, on peut reconnaître quelques éléments cliniques de ce syndrome (des yeux enfoncés, une grande bouche, un retard psychomoteur). Les différences phénotypiques pourraient être expliquées par la grande taille de la délétion retrouvée chez la patiente. À notre connaissance, nous rapportons la plus faible mosaïque interstitielle détectée en CGH array.

**Mots-clés :** CGH array, mosaïque, TCF4.

**■P026. CARACTÉRISATION DE DEUX NOUVEAUX CAS DE MICRODÉLÉTION INTERSTITIELLE 1Q43Q44 EN CGH-ARRAY : REVUE DE LA LITTÉRATURE ET CONFIRMATION DE LA RÉGION MINIMALE CRITIQUE LIÉE AUX ANOMALIES DU CORPS CALLEUX**

C. Rooryck-Thambo (1, 2), D. Cailley (2), M.A. Delrue (2), R. Saura (1), L. Taine (1), D. Lacombe (1, 2), B. Arveiler (1, 2)

(1) *Laboratoire de Génétique Humaine EA4137, Université Victor Segalen Bordeaux 2, Bordeaux, France ; (2) Service de Génétique Médicale, Hôpital Universitaire Pellegrin-Enfants, Bordeaux, France*  
Contact : carolinethambo@hotmail.com

Nous avons caractérisé deux nouveaux cas de délétion interstitielle en 1q43q44 sur puces pangénomiques à oligonucléotides (Agilent Technologies). La première patiente née à terme de parents sains non consanguins, présentait à la naissance un RCIU et une hypotonie. À 4 ans, il existe un retard staturo-pondéral persistant, une microcéphalie sévère apparue progressivement (-4 DS), une épilepsie résistante sous trithérapie, un retard psychomoteur sévère, des troubles du comportement de type autistiques, et une dysmorphie faciale caractéristique. L'IRM montre une hypoplasie du corps calleux, une atrophie cortico-sous corticale diffuse et une atrophie cérébelleuse. La délétion de la région 1q43q44 identifiée en caryotype BUDR, confirmée par FISH (sonde RP11-527D7 délétée), a été plus finement caractérisée par CGH-array (44K) : elle comprend 96 sondes, est interstitielle, *de novo*, d'une taille de 8.4 à 8.7 Mb. La deuxième patiente est née de parents non consanguins sans antécédents particuliers. À 30 mois, elle évolue avec un retard des acquisitions et présente une brachycéphalie, une dysmorphie faciale incluant des sourcils horizontaux, une petite enophtalmie, un synophris modéré, un prognathisme. Ses pieds sont plats avec un talon en piole, elle présente une clinodactylie des V. L'IRM cérébrale montre une hypoplasie du bec antérieur du corps calleux. La délétion identifiée seulement en CGH-array, est interstitielle, *de novo*, d'une taille de 2.16 à 2.21 Mb ; elle englobe la région minimale critique de 360 Kb décrite dans la littérature (van Bon BW *et al.*, J Med Genet 2008) avec notamment les quatre gènes candidats des anomalies du corps calleux (C1orf100, C1orf101, ADSS et PNAS-4) et n'inclut pas le gène AKT3. Ces deux nouveaux cas permettent de mieux documenter le syndrome microdélétionnel 1q44 et de cerner les gènes candidats potentiels pour les anomalies du corps calleux.

**Mots-clés :** del 1q44, CGH array, corps calleux.

**■P027. ANALYSE D'UNE COHORTE DE 86 PATIENTS OAVS (SPECTRE OCULO-AURICULO-VERTÉBRAL) EN CGH-ARRAY**

C. Rooryck-Thambo (1, 2), N. Souakri (1), D. Cailley (2), J. Bouron (2), S. Marlin (3), FECLAD (4), D. Lacombe (1, 2), B. Arveiler (1, 2)

(1) *Laboratoire de Génétique Humaine EA4137, Université Victor Segalen Bordeaux 2, Bordeaux, France ; (2) Service de Génétique Médicale, CHU de Bordeaux, Bordeaux, France ; (3) Service de Génétique Médicale, Hôpital Trousseau, APHP, Paris, France ; (4) FECLAD : Fédération des Centres Labellisés « Anomalies du Développement »*  
Contact : carolinethambo@hotmail.com

Le syndrome de Goldenhar fait partie du spectre OAV (dysplasie oculo-auriculo-vertébrale). Il est très hétérogène cliniquement et associe principalement une asymétrie faciale avec microsomie hémifaciale, des anomalies des oreilles, des yeux et des vertèbres. Diverses aneuploïdies et aneusomies segmentaires ont été identifiées chez des patients OAVS. Notre travail a consisté en la recherche de remaniements génomiques par CGH-array sur une cohorte de 86 patients OAVS. Nous avons identifié des anomalies déjà présentes au caryotype chez 2 patients (triple X, Y isodicertrique), ainsi que 12 autres anomalies de dosage génique chez 11 patients, dont la taille varie de quelques Kb à 2.3 Mb. Les validations de ces anomalies chez les patients, ainsi que l'analyse des parents, par QMF-PCR, ont montré que neuf anomalies étaient héritées. Deux duplications

présentes chez le même patient sont en attente d'exploration en l'absence du prélèvement des parents. Une duplication héritée, en 18p11.2p11.3, est présente chez un patient porteur d'une translocation équilibrée t(9 ; 18)(p23, q12) *de novo*. Une seule délétion *de novo* de 2.3 Mb en 12p13.33 a été identifiée chez une patiente avec un phénotype OAVS modéré ; elle emporte 18 gènes dont un excellent gène candidat : WNT5B. L'analyse de WNT5B chez 53 patients OAVS n'a pas permis de mettre en évidence de mutation ponctuelle ni de délétion.

**Mots-clés :** Goldenhar, OAVS, CGH array.

**■P028. CARACTÉRISATION D'UNE DÉLÉTION XP11.4 PAR CGH-ARRAY IDENTIFIÉE CHEZ UNE MÈRE ET SES FILLES RESPONSABLE D'UN PHÉNOTYPE OFCD**

N. Pasz (1, 2), J. Andrieux (3), A. Dieux-Coeslier (1), C. Morisot (4), E. Laumonier (5), S. Manouvrier-Hanu (1)

(1) *Service de Génétique Clinique Guy-Fontaine, Hôpital Jeanne-de-Flandre, CHRU de Lille, France ; (2) Association Française des Conseillers en Génétique, France ; (3) Plateforme Puces ADN, Centre de Biologie Pathologie, CHRU de Lille, France ; (4) Service de Réanimation et Médecine Néonatale, Hôpital Dr-Schaffner, CH de Lens, France ; (5) Service d'Ophthalmologie, Hôpital Roger-Salengro, CHRU de Lille, France*  
Contact : n-pasz@chru-lille.fr

Nous rapportons une observation familiale de cataracte congénitale bilatérale syndromique chez une mère et ses deux filles. La plus jeune d'entre elles présentait un tableau associant une dysmorphie faciale (synophris, racine du nez haute, petites oreilles, luette bifide, philtrum long, microstomie), des anomalies dentaires (retard d'éruption dentaire, oligodontie), une communication inter-auriculaire, une atteinte squelettique (ossification irrégulière des épiphyses des métacarpiens), et un retard psycho-moteur modéré. Le caryotype haute résolution était normal. La CGH-array a permis de d'identifier une délétion Xp11.4 de 2-2,2 Mb incluant cinq à six gènes, dont RPGR, OTC, TSPAN7 et BCOR. La délétion a retrouvée chez la mère et la sœur aînée. Ces deux dernières présentaient une cataracte congénitale avec des anomalies dentaires, mais des anomalies squelettiques associées (orteils en forme de marteau, syndactylie 2-3) n'étaient présentes que chez la sœur. Parmi les gènes délétés TSPAN7 est connu pour jouer un rôle dans le retard mental et BCOR (BCL6 co-repressor) est impliqué dans le syndrome Oculo-Facio-Cardio-Dentaire (OFCD syndrome). Des mutations frameshift, des délétions, des mutations non-sens et des délétions exoniques de BCOR sont responsables de ce syndrome transmis selon le mode dominant lié à l'X, probablement létal chez le fœtus masculin. L'OFCD est caractérisé par de multiples anomalies congénitales : une dysmorphie faciale, des malformations oculaires (cataractes congénitales, microphthalmie), une fente palatine, des anomalies dentaires (retard d'éruption dentaire, oligodontie, anomalie de forme, radiculomégalie) et des anomalies cardiaques (défaut du septum). Dans de rares cas un retard mental est associé. Même si plusieurs observations de délétions impliquant plusieurs exons du gène BCOR ont été décrites, il s'agit ici, à notre connaissance, de la première description d'un syndrome microdélétionnel impliquant ce gène. La variabilité d'expression intrafamiliale observée dans cette famille est a priori secondaire à la lyonisation.

**Mots-clés :** oculo-facio-cardio-dentaire syndrome, Del Xp11.4, CGH-array.

**■P029. RÉCIDIVE D'UNE DÉLÉTION DE NOVO 2Q22.1Q22.3 IDENTIFIÉE PAR CGH-ARRAY CHEZ 2 FŒTUS PRÉSENTANT UN SYNDROME POLYMALFORMATIF AVEC LYMPHŒDÈME PRÉCOCE**

A. Dieux-Coëslier (1), J. Andrieux (2), B. Delobel (3), L. Devisme (4), P. Deruelle (5), V. Houfflin-Debarge (5), S. Manouvrier-Hanu (1)

(1) *Service de Génétique Clinique Guy-Fontaine, Hôpital Jeanne-de-Flandre, CHRU, Lille, France ; (2) Plateforme Puces ADN, Centre de Biologie Pathologie, CHRU, Lille, France ; (3) Centre de Génétique Chromosomique, Hôpital St-Vincent, Lille, France ; (4) Service d'Anatomie Pathologique, Centre de Biologie Pathologie, CHRU, Lille, France ; (5) Service de Gynécologie-Obstétrique, CPDPN, Hôpital Jeanne-de-Flandre, CHRU, Lille, France*  
Contact : a-coeslier@chru-lille.fr/anne.dieux@chru-lille.fr

Le développement des techniques pangénomiques en haute résolution permet d'identifier, après interruption médicale de grossesse, des anomalies chromosomiques fines chez des fœtus présentant un syndrome polymalformatif inexpliqué. Nous rapportons l'observation de 2 fœtus, issus de 2 grossesses successives d'un couple non apparenté, sans antécédent particulier. Un lymphoedème majeur était mis en évidence à l'échographie du 1<sup>er</sup> trimestre, associé à d'autres aspects malformatifs. La 1<sup>re</sup> grossesse a



été interrompue à 13 SA devant l'importance du lymphoedème, de mauvais pronostic. Le caryotype sur prélèvement de villosités choriales était normal, 46,XY. L'examen foetopathologique révélait la présence d'un méésentère commun, d'un unique testicule ectopique en position péri-gastrique, et de kystes rénaux. La seconde grossesse était marquée par un diagnostic anténatal échographique de récurrence de lymphoedème généralisé, associé à une hydronéphrose bilatérale et une artère ombilicale unique. Elle était interrompue à 15 SA, mais il n'a pas pu être réalisé d'examen foetal postnatal. Les caryotypes des 2 fœtus et des parents étaient normaux. La CGH-array permettait d'identifier, chez les 2 fœtus, une délétion 2q22.1q22.3 de 6.7 Mb emportant 5 gènes : LRP1B, KYNU, ARHGAP15, GTDC1 et ZEB2. Ce dernier est impliqué dans le syndrome de Mowat-Wilson. Aucune anomalie en CGH n'était identifiée chez les 2 parents. De même, l'analyse par FISH confirmait le caractère *de novo* de cette délétion. La récurrence était attribuée à une probable mosaïque germinale. Lors de la troisième grossesse, un diagnostic prénatal était réalisé permettant de rassurer le couple, en confirmant que l'enfant à naître n'était pas porteur de la délétion. Les cas de récurrence d'anomalie chromosomique par mosaïque germinale sont rarement rapportés dans la littérature. Les mosaïques germinales sont bien documentées pour les pathologies géniques de transmission autosomique dominante et liées à l'X, mais semblent rares pour les anomalies chromosomiques. Cette observation montre l'intérêt de la technique de CGH-array pour identifier des anomalies chromosomiques fines chez les fœtus présentant un syndrome polymalformatif non étiqueté, afin de préciser le conseil génétique et de proposer un diagnostic prénatal adapté.

**Mots-clés :** CGH-array, délétion 2q, mosaïque germinale.

#### ■P030. ECTRODACTYLIE ET MONODACTYLIE SECONDAIRES À UNE DUPLICATION 10Q24 IDENTIFIÉE EN CGH-ARRAY : À PROPOS DE 7 CAS

M. Holder-Espinasse (1), J. Andrieux (2), M. Gérard-Blanluet (3), M. Mathieu-Dramard (4), V. Cormier-Daire (5), A. Verloes (3), A.S. Valat (6), A. Mezel (7), P. Bourgeot (8), S. Manouvrier-Hanu (1)

(1) Service de génétique clinique, hôpital Jeanne-de-Flandre, CHRU Lille, France ; (2) Plateforme de génomique, CHRU Lille, France ; (3) Service de Génétique, Hôpital Robert-Debré, Paris, France ; (4) Service de Génétique, CHU Amiens, France ; (5) Service de Génétique, Hôpital Necker-Enfants malades, Paris, France ; (6) Maternité, Hôpital de Lens, France ; (7) Service de chirurgie pédiatrique, Hôpital Jeanne-de-Flandre, CHRU Lille, France ; (8) Maternité, Hôpital Jeanne-de-Flandre, CHRU Lille, France

Contact : m-holder@chru-lille.fr

L'ectrodactylie ou syndrome des pieds et mains fendus est une entité clinique rare concernant environ 1 nouveau-né sur 8 500-25 000 et représentant environ 15 % des anomalies des membres. Cette affection est cliniquement hétérogène et peut être soit isolée, associée à d'autres malformations ou faisant partie d'entités syndromiques. Le mode de transmission classiquement décrit est autosomique dominant et plusieurs loci ont été identifiés. Parmi eux, SHFM3 a été localisé en 10q24 chez l'homme et correspond au modèle murin Dactylaplasia. Récemment, des duplications génomiques en tandem de 0.5 Mb en 10q24 impliquant au mois le gène DACTYLIN ont été identifiées chez des patients présentant une ectrodactylie isolée. Aucune mutation ponctuelle des gènes compris dans cette région dupliquée n'a été identifiée jusqu'à présent et le mécanisme liant ce réarrangement chromosomique au phénotype n'est pas encore clairement élucidé à ce jour. Cependant, il est très probable que des altérations complexes des mécanismes de la régulation de plusieurs gènes impliqués dans le développement des membres soient à l'origine de ces malformations. Nous rapportons un cas de diagnostic prénatal d'ectrodactylie des 4 membres, à 23 SA. Le caryotype foetal effectué sur liquide amniotique était normal 46XX. Un complément d'analyse effectué en CGH-array sur le liquide amniotique a permis de mettre en évidence une duplication 10q24.31q24.32 de 400 kb comprenant 5 gènes dont DACTYLIN. Nous avons également identifié d'autres duplications de cette région chromosomique, chez 4 patients présentant une monodactylie des 4 membres isolée, et 2 cas présentant une ectrodactylie des 4 membres isolée. À notre connaissance, il s'agit du premier cas de duplication 10q24 identifiée en anténatal et des 4 premiers cas de duplication 10q24 associée à une monodactylie, ce qui permet d'élargir le spectre malformatif lié à ce type de réarrangement chromosomique.

**Mots-clés :** ectrodactylie, monodactylie, duplication 10q24.

#### ■P031. PHÉNOTYPES CRANIO-FACIAL ET BUCCO-DENTAIRE ASSOCIÉS AU SYNDROME DE COCKAYNE

M. Rousseaux (1), M. Schmittbuhl (1, 2), R. Mathis (1, 2), E. Desforges (1), M. Koob (3), H. Dollfus (4), C. Dalloz (4), V. Laugel (4), A. Bloch-Zupan (1, 2, 5)

(1) Université de Strasbourg, Faculté de Chirurgie Dentaire, Strasbourg, France ; (2) Centre de référence des manifestations odontologiques des maladies rares, Centre Hospitalier Universitaire, Strasbourg, France ; (3) Département de Radiologie, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, France ; (4) Département de Génétique Médicale, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, France. Laboratoire de Génétique Médicale, EA 3949, Faculté de Médecine, Strasbourg, France ; (5) IGBMC Institut de Génétique et de Biologie Moléculaire et Cellulaire, Département de Biologie et de Développement cellulaire, Inserm, U964, CNRS, UMR7104, Illkirch, France

Contact : agnes.bloch-zupan@dentaire-ulp.u-strasbg.fr

Le syndrome de Cockayne (CS) est une maladie génétique rare de transmission autosomique récessive causée par un défaut d'une des voies de réparation de l'ADN : la réparation par excision de nucléotides. Son incidence en Europe occidentale a récemment été réévaluée à 2,7 par million. Les principales caractéristiques cliniques sont un nanisme cachectique, un retard mental associé à une leucodystrophie cérébrale, une microcéphalie, une rétinopathie pigmentaire progressive, une surdité neurosensorielle et une photosensibilité. Le CS est dû à des mutations au niveau des gènes ERCC8 (5q12) pour CSA et ERCC6 (10q11) pour CSB. La présence de caries dentaires est considérée comme un critère mineur de diagnostic par Nance et Berry, 1992. D'autres manifestations bucco-dentaires comme un retard d'éruption des dents temporaires, une malocclusion, des dents absentes ou hypoplasiques ont également été décrites dans la littérature. Le but de la présente étude fut d'examiner les manifestations bucco-dentaires au sein de la cohorte de 16 patients CS inclus dans le PHRC 2005 « Étude clinique et moléculaire du syndrome de Cockayne ». Les données phénotypiques ont été recueillies dans le registre D[4]/phenodent ([www.phenodent.org](http://www.phenodent.org)). Des anomalies de nombre (agénésies), forme, structure (hypoplasies de l'émail), éruption et position (engorgement) ont été trouvées. Étant donnée la présence d'anomalies de structure de l'émail à la fois en denture temporaire et en denture permanente, les patients atteints du CS sont des sujets à risque carieux élevé et doivent bénéficier d'une prise en charge précoce de leur santé bucco-dentaire permettant ainsi de prévenir (par la mise en place d'une hygiène bucco-dentaire efficace et l'utilisation appropriée de fluorures) et de traiter les pathologies bucco-dentaires. L'analyse des données céphalométriques a démontré un hypo-développement transversal ainsi qu'un profil caractérisé par une classe II squelettique, une croissance verticale avec rotation postérieure de la mandibule, une augmentation de l'étage inférieur de la face et un menton rétrusif. La question des possibles corrélations génotype/phénotype est toujours en suspens.

**Mots-clés :** syndrome de Cockayne, réparation de l'ADN, malformations dentaires.

#### ■P032. TRANSLOCATIONS VARIABLES EN MOSAÏQUE CONSTITUTIONNELLES : UNE NOUVELLE ENTITÉ ?

M. Willems (1), A. Delahaye-Duriez (2), O. Raoul (3), L. Rivard (4), N. Boddart (5), S. Kanafani (2), A. Maltret (6), F. Bajolle (6), S. Gobin (1), J.P. Bonnefont (1), A. Munnich (1), V. Cormier-Daire (1)

(1) Service de Génétique Médicale, Hôpital Necker-Enfants-Malades, Paris, France ; (2) Laboratoire de Cytogénétique, Hôpital Jean-Verdier, Bondy, France ; (3) Laboratoire de Cytogénétique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France ; (4) Service de Pédiatrie Générale, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France ; (5) Service de Radiologie Pédiatrique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France ; (6) Service de Cardiologie Pédiatrique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France  
Contact : marjolaine.willems@nck.aphp.fr

Nous rapportons le cas d'un nouveau-né de sexe masculin, présentant un retard de croissance associé à des malformations congénitales multiples, chez qui des translocations variables en mosaïque ont été identifiées sur amniocytes et confirmées sur lymphocytes. Il s'agit du deuxième enfant de parents cousins germains. L'échographie anténatale réalisée à 23 SA a révélé une cardiopathie complexe associée à un retard de croissance symétrique, et une artère ombilicale unique. Une amniocentèse pour caryotype foetal a été réalisée permettant d'objectiver la présence d'anomalies variables aléatoires sur 12 caryotypes, associant délétions et translocations. Les parents ont souhaité poursuivre la grossesse, et ont refusé un nouveau prélèvement. L'enfant est né par césarienne au terme de 40SA dans un contexte de souffrance foetale aiguë. Il présentait une hypotrophie harmonieuse (PN 2215g, TN 42 cm, PCN 29,5 cm), associée à une fente labiale

commissurale gauche, une fontanelle antérieure punctiforme, une hypoplasie des choanes, une hypoplasie des tragus, des plis palmo-plantaire anormaux, un métatarsus varus, un chevauchement des orteils, une antéposition anale. Des tâches café-au-lait sont apparues dans les premières semaines de vie. L'examen neurologique était anormal avec un mauvais contact oculaire, une hypotonie axiale associée à une hypertonie périphérique. L'IRM cérébrale réalisée à J25 a révélé un rhombencephalosynapsis. L'électro-encéphalogramme montrait un tracé mal organisé. L'échographie cardiaque a confirmé l'existence d'une cardiopathie complexe associant hypoplasie ventriculaire droite, hypoplasie tricuspide et large CIV, bicuspidie pulmonaire et veine cave supérieure gauche au sinus coronaire non communicante. L'échographie abdominale ne révélait qu'une hépatomégalie homogène en rapport avec l'insuffisance cardiaque. L'enfant est décédé à 2 mois de vie de défaillance cardiaque. Le caryotype post-natal a confirmé la présence de remaniements chromosomiques variés dans 7 mitoses sur les 10 examinées, associant translocations et délétions. Les parents ont refusé la réalisation d'autres prélèvements, et la réalisation d'un caryotype chez eux-mêmes. L'étude indirecte au a permis d'exclure une liaison locus WRN. L'existence de translocations variables en mosaïque a été rapportée dans les fibroblastes de patients présentant un syndrome de Werner (et exceptionnellement sur lymphocytes). Par analogie avec les anomalies observées dans le syndrome de Werner, nous suspectons l'existence d'une pathologie autosomique récessive impliquant une hélicase, responsable d'un défaut de réparation de l'ADN conduisant à l'apparition précoce d'anomalies chromosomiques variables.

**Mots-clés :** translocations variables en mosaïque, retard de croissance symétrique, syndrome polymalformatif.

#### ■P033. PHÉNOTYPE FŒTAL D'UNE TRISOMIE PARTIELLE 15Q ASSOCIÉE À UNE TRISOMIE PARTIELLE 9P, RÉSULTANT D'UNE SÉGRÉGATION MÉIOTIQUE 3:1 D'UNE TRANSLOCATION RÉCIPROQUE MATERNELLE

C. Leroy (1), E. Alanio (2, 3), M. Mozelle-Nivoix (1), B. Demeer (1), F. Carre-Pigeon (1), J.P. Bory (3), P. Gosset (4), D. Ferre (1), L. Lafon (1), N. Ta Phi Thanh (1), E. Landais (1), M. Doco-Fenzy (1, 5), D. Gaillard (1, 5)

(1) Service de génétique CHRU, Reims, France ; (2) Laboratoire Pol Bouin CHRU, Reims, France ; (3) Service de gynécologie obstétrique CHRU, Reims, France ; (4) Laboratoire de biologie de la reproduction CHU, Strasbourg, France ; (5) UFR médecine, IFR 53, Reims, France  
Contact : camillejeanne@wanadoo.fr

Les translocations réciproques sont retrouvées chez environ une personne sur 500 et peuvent être à l'origine de gamètes déséquilibrés. La ségrégation méiotique des chromosomes impliqués dans la translocation se fait le plus souvent selon un mode 2:2 et plus rarement selon un mode 3:1 (20 % des translocations maternelles). Les trisomies partielles 15q proximale et/ou 9p distale rapportées dans la littérature sont rares et souvent associées à d'autres remaniements chromosomiques. Elles concernent principalement des enfants ou des adultes avec retard mental. Nous rapportons le cas d'un fœtus de 22 SA porteur d'une trisomie partielle 15q proximale et d'une trisomie partielle 9p distale dérivant d'une ségrégation 3:1 d'une translocation réciproque équilibrée maternelle : 46,XX,t(9;15)(p23;q21.1) qui avait été découverte dans le cadre d'un bilan de fausses couches précoces. Une amniocentèse a été réalisée pour la grossesse suivante chez cette mère de 26 ans. Le caryotype fœtal a alors mis en évidence une transmission déséquilibrée de la translocation : 47,XY,+der(15)t(9;15)(p23;q21.1), confirmée par des techniques de FISH. En raison du mauvais pronostic développemental associé à ce type de remaniement chromosomique, une interruption médicale de grossesse a été demandée par le couple et effectuée à 22 SA. Le fœtus, de sexe masculin, présentait une hypotrophie harmonieuse, un œdème de la nuque et un cou court. La dysmorphie crânio-faciale était évidente avec une turricephalie, un excès de peau frontale, un profil plat, une aplasie des os propres du nez, des narines antéversées, un hypertélorisme et des fentes palpébrales d'obliquité mongoloïde. L'examen a également mis en évidence une fente palatine postérieure, une syndactylie membranaire bilatérale des 3<sup>es</sup> et 4<sup>es</sup> doigts, une brachymé-sophalangie bilatérale des 5<sup>es</sup> doigts, une petite verge coude, une artère ombilicale unique et une hypoplasie rénale bilatérale majeure. Le phénotype fœtal, et en particulier l'aspect de la face et du 5<sup>e</sup> doigt, aurait pu être compatible avec celui d'une trisomie 21. Malgré la difficulté d'établir une corrélation caryotype-phénotype lorsque plusieurs autosomes sont impliqués, nous avons comparé le phénotype fœtal aux différents cas rapportés de trisomie 15q proximale ou 9p distale. La dysmorphie associée aux trisomies partielles 15q proximales est variable. Elle est plus constante pour les trisomies 9p, mais toutes deux sont sans similitudes avec notre observation fœtale. Cependant, certaines malformations décrites pour les deux types de trisomie sont également retrouvées chez ce fœtus. En conclusion, cette étude a permis de mettre en évidence

un mécanisme de ségrégation 3:1 d'une translocation maternelle entraînant un phénotype fœtal sévère et mal connu. Elle a également contribué à la mise en place d'un diagnostic préimplantatoire pour la grossesse suivante.

**Mots-clés :** trisomie 15q, trisomie 9p, fœtus.

#### ■P034. GESTION D'UNE HYPODONTIE OU OLIGODONTIE EN CONSULTATION DE GÉNÉTIQUE

I. Bailleul-Forestier (1, 2), T. de Ravel (2), A. Verloes (3), J.P. Fryns (2) (1) Dentisterie Pédiatrique, Garancière Hôpital Hotel-Dieu, AP-HP, France ; (2) Centre de Génétique Humaine, Hôpitaux Universitaires, Leuven, Belgique ; (3) Unité de Génétique clinique, Génétique médicale, INSERM U676, Hôpital R. Debré, AP-HP, France  
Contact : isabelle.bailleul@univ-paris-diderot.fr

Le terme d'hypodontie se rapporte à l'absence congénitale d'une à six dents. L'oligodontie concerne l'absence de plus de six dents, exceptées les troisièmes molaires. L'hypodontie peut apparaître comme un signe clinique isolé ou associé à un syndrome. Le but de notre présentation est de proposer un protocole d'examen chez un sujet ayant une oligodontie, d'indiquer les gènes candidats pour permettre le diagnostic moléculaire et le conseil génétique. L'agénésie dentaire isolée est une malformation fréquemment observée d'origine génétique ou environnementale. Le type de dents absentes peut renseigner sur le gène candidat. Le facteur de transcription MSX1 est souvent associé aux agénésies des prémolaires et le gène PAX9 à celles des deuxième molaires. Les dysplasies ectodermiques constituent une cause fréquente d'oligodontie. Parfois, les anomalies de sudation et des phanères sont minimales voire absentes. Le mode de transmission, l'examen dentaire peuvent contribuer au diagnostic (EDA, EDAR, EDARAD, NEMO). Les agénésies présentes en denture temporaire et permanente, sont plus fréquentes à la mandibule. Les incisives ont souvent une petite taille, une forme conique ou anormale et le flux salivaire est parfois diminué. Sans signes cliniques évoquant les dysplasies ectodermiques, il faut rechercher une anomalie de la chambre antérieure de l'œil, de l'ombilic permettant de caractériser un syndrome de Rieger (PITX2, FOXC1). Par l'anamnèse, on recherche des antécédents familiaux de cancer colorectal (AXIN2). Enfin, un hypogonadisme et une anosmie peuvent être observés dans les cas de syndrome de Kallmann (FGFR1). Pour illustrer notre démarche, nous présenterons l'exemple de patients pour lesquels le diagnostic moléculaire a été obtenu après l'analyse du contexte clinique de l'oligodontie.

**Mots-clés :** oligodontie, dysplasie ectodermique, conseil génétique.

#### ■P035. CORRÉLATIONS GÉNOTYPE-PHÉNOTYPE DENTAIRE DANS LA DYSPLASIE ECTODERMIQUE HYPOHIDROTIQUE LIÉE À L'X ET AUTOSOMIQUE RÉCESSIVE : ÉTUDE RÉTROSPECTIVE PORTANT SUR 26 FAMILLES

F. Clauss (1, 2, 3), M. Schmittbuhl (2, 3), N. Chassaing (4), A. Smahi (5), MC. Vincent (4), P. Calvas (4), Y. Alembik (6), S. Hadj-Rabia (7, 8), C. Bodemer (7, 8), MC. Manière (1, 2)

(1) Service d'Odontologie Pédiatrique, Faculté de Chirurgie Dentaire, CHU, Strasbourg, France ; (2) Centre de Référence pour les Manifestations Odontologiques des Maladies Rares, CHU, Strasbourg, France ; (3) UMR INSERM 977 Biomatériaux et Ingénierie Tissulaire, Faculté de Chirurgie Dentaire, Université de Strasbourg, France ; (4) Service de Génétique Médicale, CHU Purpan, Toulouse, France ; (5) Laboratoire de Génétique, CHU Necker-Enfants Malades, AP-HP, Paris, France ; (6) Service de Génétique Médicale, CHU, Strasbourg, France ; (7) Centre de Référence pour les Génodermatoses, CHU Necker-Enfants Malades, AP-HP, Paris, France ; (8) Service de Dermatologie, CHU Necker-Enfants Malades, AP-HP, Paris, France  
Contact : francois.clauss@chru-strasbourg.fr

Introduction Les Dysplasies Ectodermiques Hypohidrotiques (DEH) forment un groupe de syndromes caractérisés par des anomalies du développement des structures ectodermiques. Le phénotype associe une hypotrichose, une dystrophie des glandes exocrines et une dysmorphie crânio-faciale. Le phénotype dentaire consiste en agénésies multiples, anomalies morphologiques et taurodontisme. À côté de la DEH liée à l'X, des formes autosomiques dominante et récessive sont décrites. Le gène EDA est muté dans la DEX, les gènes EDAR-EDARADD étant mutés dans les DEH autosomiques. Des corrélations génotype-phénotype n'ont pas été établies de par la variabilité allélique et phénotypique associée aux DEH. Objectifs expérimentaux L'objectif principal est l'identification du phénotype dentaire dans la DEX et la DEH autosomique récessive. De potentielles corrélations génotype-phénotype ont été également recherchées entre la sévérité du phénotype dentaire et (i) le gène muté (EDA-EDAR) (ii) le type de mutation EDA (tronquante ou non-tronquante) (iii) la



localisation de la mutation sur l'isoforme EDA-A1 (domaine TNF ou furine) Patients et méthodes Une cohorte de 30 patients porteurs de DEH, caractérisée sur le plan clinique et moléculaire, issus de 26 familles a été rétrospectivement incluse dans les centres de référence pour les manifestations dentaires des maladies rares et pour les génodermatoses. Le génotypage a consisté en séquençages des gènes EDA-EDAR et en analyses par micro-satellites. Le phénotypage dentaire, réalisé cliniquement et sur des orthopantomogrammes, a consisté en une évaluation des agénésies et des dysmorphies dentaires. Des analyses statistiques, menées avec le logiciel Statistica 7.0, ont corrélé le phénotype dentaire au gène muté-EDA-EDAR- au type de mutation et à la localisation de la mutation-domaines TNF ou furine-. Pour chaque groupe de mutations, le degré d'oligodontie, les comparaisons maxillo-mandibulaires et le type de dents affecté par les agénésies ont été analysés par des tests de Wilcoxon et Mann-Whitney. Résultats et discussion 27 mutations pathogéniques ont été détectées sur les gènes EDA-EDAR, 22 sur le gène EDA et 5 sur le gène EDAR impliqués dans la DEX et la DEH autosomique récessive. La majorité des mutations EDA sont des mutations faux-sens localisées sur les exons 2 et 6-8 codant pour les domaines fonctionnels de l'EDA-A1 (TNF et furine). Les mutations EDAR sont des mutations faux-sens et splice localisées sur le Ligand Binding Domain et le Death-Domain du Récepteur EDAR. Une oligodontie sévère est observée dans l'ensemble des groupes de mutations, sans différence dans le degré d'oligodontie. Le phénotype mandibulaire apparaît plus sévère et les patients EDAR sont caractérisés par une distribution topographique différente ( $p = 0,04$  et  $p = 0,02$ ) des agénésies en denture temporaire. Les manifestations dentaires semblent constituer un marqueur pertinent pour le conseil génétique et l'identification des patients EDAR.

**Mots-clés :** dysplasie ectodermique hypohidrotique, EDA-EDAR, oligodontie.

### ■P036. L'ÉRUPTION DENTAIRE CHEZ DES ENFANTS ATTEINTS DE PROGERIA DE HUTCHINSON-GILFORD

D. Favoli (1), S. Sigaudy (3), P. Bourgeois (3), A. De Sandre-Giovannoli (2), N. Levy (2), C. Tardieu (1)

(1) Centre de compétence pour le traitement des manifestations odontologiques des maladies rares, Service d'odontologie, Hôpital Timone, APHM, France ; (2) Département de Génétique Médicale, Hôpital d'Enfants de la Timone APHM et INSERM UMR\_S 910 Génétique Médicale et Génomique Fonctionnelle, Faculté de Médecine de Marseille, France ; (3) Département de Génétique Médicale, Hôpital d'Enfants de la Timone, APHM, France

Contact : corinne.tardieu@ap-hm.fr

La Progeria de Hutchinson-Gilford est une maladie génétique rarissime de l'enfant, mimant le vieillissement de façon prématurée et accélérée. Le diagnostic est généralement posé durant les 2 premières années de vie. À cet âge, l'enfant présente sur l'arcade la totalité de ces 20 dents temporaires. L'examen clinique et une radiographie panoramique permettent d'évaluer l'âge dentaire de l'enfant afin de le comparer à l'âge civil. L'observation d'une différence peut déterminer un retard d'éruption. Dans le cadre d'un essai thérapeutique, 10 enfants âgés de 4 à 11 ans ont été vus en consultation d'odontologie afin de vérifier leur bon état de santé bucco-dentaire pour leur inclusion dans le protocole, prévoyant l'administration d'acide zolédronique parmi les principes actifs. Une radiographie panoramique a été réalisée ainsi qu'un examen clinique. Les anomalies d'éruption dentaire ont été observées chez chaque enfant. Elles ont concerné aussi bien la denture temporaire que permanente : les dents ont présenté un délai d'éruption allongé générant un retard d'âge dentaire de 1 à 4 ans. Les dents temporaires sont persistantes ce qui perturbe la séquence d'éruption des dents permanentes successives. Cependant les molaires permanentes présentent aussi un retard d'éruption alors que leur rhyzagnèse se poursuit. Les autres signes ont été : une hypodontie des 2<sup>e</sup> prémolaires, des caries sur les dents temporaires, des récessions gingivales localisées. Aucun foyer d'ostéolyse n'a pu être observé sur les radiographies panoramiques. Cependant la superposition des germes et des dents chez ces enfants, a gêné la lecture des zones osseuses sur la radiographie. La Progeria de Hutchinson-Gilford semble perturber la résorption à la fois de l'os alvéolaire crestal des dents accessonnelles et la résorption des racines des dents temporaires pour l'éruption des dents successives.

**Mots-clés :** progeria, dentition, oral.

### ■P037. CARACTÉRISATION RADIOLOGIQUE DU TAURODONTISME : UN TRAIT PHÉNOTYPIQUE INTÉRESSANT POUR LES DIFFÉRENTES FORMES DE DYSPLASIE ECTODERMIQUE HYPOHIDROTIQUE

C.I. Gros (1, 2, 5, 6), F. Clauss (1, 3, 5, 6), M.C. Manière (1, 3, 5), M. Schmittbuhl (1, 4, 5, 6)

M/S hors série n° 1, vol. 26, janvier 2010

(1) Faculté de Chirurgie Dentaire, Université de Strasbourg, France ; (2) Département de Médecine Buccale et Chirurgie Buccale, Service de Soins Bucco-dentaires, CHU, Strasbourg, France ; (3) Département d'Odontologie Pédiatrique, Service de Soins Bucco-dentaires, CHU, Strasbourg, France ; (4) Département de Radiologie, Service de Soins Bucco-dentaires, CHU, Strasbourg, France ; (5) Centre National de Référence pour les Maladies Rares à Manifestations Odontologiques, CHU, Strasbourg, France ; (6) Équipe de recherche UMR INSERM 977, Faculté de Chirurgie Dentaire, Université de Strasbourg, France

Contact : catherine-isabelle.gros@chru-strasbourg.fr

La Dysplasie Ectodermique Hypohidrotique (DEH) appartient à un groupe hétérogène de syndromes polymalformatifs caractérisés par le développement anormal des structures dérivées de l'ectoderme (dents, ongles, cheveux, glandes exocrines). Ce syndrome résulte de la mutation de gènes impliqués dans la voie de signalisation de l'Ectodysplasine (EDA-NF-kappaB). Parmi les manifestations dentaires retrouvées, le taurodontisme est fréquemment associé aux différentes formes de DEH. À ce jour, aucune tentative de caractérisation précise de cette anomalie ne semble avoir été proposée dans le cadre de cette entité nosologique. L'objectif de ce travail a donc été de quantifier, sur le plan radiologique, cette anomalie à partir du calcul d'un indice de surface pulpaire, puis de déterminer l'occurrence de cette anomalie dans un groupe de patients atteints de DEH afin de tenter d'établir des corrélations phénotype-génotype. À partir d'une étude rétrospective, 16 patients (âgés de 7 à 51 ans) sur 68 atteints de DEH ont été sélectionnés et comparés à un groupe contrôle ( $n = 351$ ). L'indice de surface pulpaire des premières molaires mandibulaires permanentes a été calculé à partir de l'orthopantomogramme de chaque individu et des comparaisons statistiques ont été menées entre les patients DEH et le groupe contrôle. Quelque soit l'anomalie génétique, 81,25 % des patients DEH présentaient un élargissement pulpaire ( $> 0 =$  à 1 déviation standard, DS). Les déviations les plus importantes ( $> 5$  DS) étaient rencontrées chez les patients de sexe masculin présentant une large délétion du gène EDA ou une mutation faux-sens de ce même gène. Pour la forme autosomale récessive, un élargissement pulpaire relativement modéré a été observé (3,44 DS). Chez les patients NEMO, l'augmentation de la taille de la chambre pulpaire semblait moins marquée que dans le cadre des mutations du gène EDA. Cette étude a permis de fournir une estimation inédite et objective de l'élargissement de la chambre pulpaire dans les DEH. La plus grande sévérité du taurodontisme chez les patients atteints d'une mutation EDA comparée à celle retrouvée dans le groupe NEMO, ainsi que le relatif élargissement pulpaire associé à un phénotype dentaire modéré chez les patients EDAR constituent autant d'éléments susceptibles de fournir des marqueurs phénotypiques intéressants dans le cadre du diagnostic des différentes formes de dysplasie ectodermique hypohidrotique.

**Mots-clés :** taurodontisme, dysplasie ectodermique hypohidrotique.

### ■P038. INTÉRÊT DU SUIVI ODONTOLOGIQUE DANS LA RECHERCHE GÉNÉTIQUE

N. Fomou (1), C. Delfosse (1), J. Ferri (2), M.M. Rousset (1), J.C. Libersa (1)

(1) Service d'Odontologie, CHRU de Lille, France ; (2) Service de Stomatologie, CHRU de Lille, France

Contact : cdelfosse@univ-lille2.fr

Les affections dentaires ainsi que la typologie maxillo-faciale peuvent être de véritables indices cliniques à l'étiquetage d'un éventuel syndrome d'origine génétique. Aussi, le rôle de l'odontologiste dans le déterminisme des ces maladies n'est pas à négliger. C'est dans cette optique que 4 enfants (3 garçons et 1 fille) d'une même fratrie ont consulté le Centre de Soins Dentaires pour prise en charge buccodentaire. Il s'avère que 2 des garçons présentent une maladie neurologique avec troubles de croissance. L'examen clinique de l'un d'entre eux montre des anomalies de la denture définitive de type hypominéralisation amélaire et l'autre frère est en denture temporaire. Chez le 3<sup>e</sup> frère à priori non malade, on constate une persistance de la denture temporaire complète avec présence d'odontomes multiples et de dents surnuméraires. La sœur quant-à elle ne semble présenter aucune anomalie. Le diagnostic de maladie mitochondriale a d'abord été évoqué, mais celui n'a été confirmé ni par la biopsie de peau ni par la biopsie musculaire chez l'enfant présentant l'hypominéralisation amélaire. La communication des caractéristiques odontologiques à l'équipe génétique permettra peut-être d'étiqueter la pathologie. Ainsi, la recherche d'anomalie génétique est orientée par les anomalies cliniques diagnostiquées par différents praticiens spécialistes : pédiatre, neurologue, endocrinologue et également odontologiste dans notre cas.

**Mots-clés :** retard de croissance, hypominéralisation, hyperodontie.



### ■P039. EXPRESSION DES ISOFORMES DE LIMK2 (LIM KINASE PROTEIN 2) PENDANT LA NEUROGENÈSE

J. Tastet (1, 3), P. Vourc'h (1), F. Laumonier (1), C. Michelle (1), A. Duittoz (2), H. Benedetti (3), C.R. Andres (1)

(1) UMR INSERM U930, CNRS FRE 2448, Université François-Rabelais-de-Tours, 10, boulevard Tonnellé, Tours, France ; (2) Physiologie de la reproduction et des comportements, UMR INRA CNRS CNRS 6175, Nouzilly, France ; (3) Centre de Biophysique Moléculaire, CNRS UPR 4301, Orléans, France

Contact : andres@med.univ-tours.fr

Contexte : Les protéines LIMK1 et LIMK2 régulent la polymérisation de l'actine via l'ADF/cofiline et sont régulées par les GTPases Rho. Les souris LIMK-/- présentent des anomalies de la transmission et de la plasticité synaptique hippocampiques, des mécanismes souvent mis en cause dans la déficience mentale (Meng *et al.*, 2004). L'objectif de notre travail a été de caractériser les transcrits de LIMK2 et la régulation de leur expression pendant le développement et la maturation du cerveau. Méthodes : Nous avons tout d'abord réalisé une étude *in silico* sur LIMK2 afin de caractériser ses transcrits chez 38 espèces animales (bases de données Ensembl et NCBI). L'étude de l'expression des différents transcrits de LIMK2 a ensuite été effectuée par RT-PCR quantitative dans des cultures de cellules souches neurales (rat E14), des cultures de neurones d'hippocampe d'embryons (rat E17) et des cultures de cellules SH-SY5Y issues de neuroblastomes humains. L'expression des différents transcrits a également été analysée au sein de plusieurs régions du cerveau chez le rat. Résultats : Nous avons observé de grandes différences inter et intra-espèces entre les isoformes de LIMK2 chez 38 espèces animales (de l'épinoche à l'homme). Ainsi par exemple le domaine kinase de LIMK2 peut être complet (270 acides aminés), absent ou peut contenir une insertion de 6 acides aminés. Nous avons par ailleurs observé qu'une isoforme de LIMK2 existe uniquement chez les primates. Elle contient un domaine C-terminal inhibiteur de la phosphatase 1 (PPI). L'analyse de l'expression de cette isoforme particulière est en cours. Nous avons étudié chez le rat l'expression des ARN messagers des isoformes 1 (premier domaine LIM plus long), 4 (absence de domaine kinase) et 5 (insertion de 6 aa dans le domaine kinase). Ces isoformes sont exprimées différemment au cours de la différenciation neuronale. Si l'isoforme 5 est fortement exprimée pendant la phase de neurogenèse, l'isoforme 4 est quant à elle majoritairement exprimée 1 heure après stimulation des neurones par un analogue du glutamate, le NMDA. Dans le cerveau adulte, les isoformes sont également exprimées différemment. Le niveau de transcription de l'isoforme 1 est plus élevé dans l'hippocampe et le cortex frontal, celui de l'isoforme 4 dans l'hippocampe et le striatum et celui de l'isoforme 5 dans le cortex frontal. Conclusion : Nous avons montré que plusieurs des isoformes de LIMK2 s'expriment dans le cerveau chez le rat. Cette expression est toutefois très variable selon les isoformes, l'état de différenciation et d'activation des neurones, et les régions du cerveau. Afin de mieux comprendre le rôle de ces différentes isoformes de LIMK2, nous étudions actuellement l'effet d'une baisse de leur expression (siRNA spécifique d'isoformes choisies) sur la prolifération et la différenciation de lignées neuronales (PC12, SH-SY5Y).

Mots-clés : déficience mentale, neurones, différenciation.

### ■P040. LE RÔLE DE LA MÉTHYLATION DU PROMOTEUR DU GÈNE ROR2 DANS LA DIFFÉRENCIATION DES CELLULES SOUCHES MÉSENCHYMALES

M. Noruzinia (1, 2), G. Tarfiei (1)

(1) Department of Hematology, Faculty of Medicine, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran ; (2) Department of Medical Genetics, Faculty of Medicine, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

Contact : noruzinia@modares.ac.ir

Introduction : Ostéoblastes, des cellules formant des os, viennent des cellules souches mésenchymal multi potentielles (MSC) présentes dans le stroma de la moelle osseuse. Ces cellules se différencient en ostéocytes ou en cellules d'os. Plusieurs facteurs de transcription tels que Runx2 et Osterix sont impliqués dans la différenciation des ostéoblastes. De l'autre côté, les voies de signalisation comme celles de BMPs, de Notch et de Wnt signalisation affectent la différenciation des cellules souches en ostéoblastes. ROR2 est un récepteur orphelin tyrosine kinase qui agit en tant que Co-récepteur dans la voie Non-canonical de signalisation de Wnt. Il a été montré que l'expression de ROR2 augmente au cours de la différenciation des cellules souches aux cellules ostéoblaste et diminue après au cours de la différenciation en ostéocyte. Dans ce projet de recherche nous avons étudié le rôle de l'épigénétique dans la modification de l'expression de ce gène durant la différenciation. Matériels et Méthode Après l'isolation des cellules souches mésenchymales de la moelle osseuse et pour la

différenciation ostéoblastique, les hBMSCs ont été incubés pendant 21 jours le milieu BDM dans 6 flasks de culture. L'ADN des cellules en voie de différenciation en jours 4, 8, 12, 16 et 20 a été extrait. Le « painting » d'alizarine rouge et RT-PCR des gènes ALP et l'ostéocalcine confirment la différenciation ostéoblastique. La région 5'UTR du gène ROR2 a été étudiée par Méthylation Spécifique PCR. Results : MSP montre que l'extrémité 5' du gène ROR2 est hyper-méthylée dans les MSC. Cette méthylation est diminuée pendant la différenciation des cellules souches vers ostéoblastes. Cette région est hypo méthylée dans les ostéoblastes bien différenciés. Discussion : Dans cette étude, il a été montré que la méthylation du promoteur du gène ROR2 réduit pendant l'ostéoblastogenèse. Ainsi l'expression du récepteur ROR2 dans les cellules preostéoblastiques est augmentée. Notre résultat est en accord avec les études précédentes qui ont montré que l'expression ROR2 pendant l'ostéoblastogenèse est augmentée au fur et à mesure que la différenciation progresse. ROR2 étant un membre de la voie de signalisation non-cononical de Wnt règle l'ostéoblastogenèse par un phénomène épigénétique de son promoteur.

### ■P041. LE SYNDROME DE PSEUDO-OBSTRUCTION INTESTINALE CHRONIQUE (POIC) DE L'ENFANT N'EST PAS D'ORIGINE MITOCHONDRIALE

L. Galmiche, F. Jaubert, F. Sauvat, S. Sarnacki, O. Goulet, N. Brousse, D. Chrétien, A. Munnich, A. Rötig

Université Paris Descartes, INSERM U781, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France

Contact : louise.galmiche@inserm.fr

Le syndrome de pseudo-obstruction intestinale chronique (POIC) est dû à une altération du muscle lisse contractile et se caractérise par des épisodes répétés d'obstruction intestinale avec des évidences radiologiques de dilatation de l'intestin mais sans qu'aucun obstacle ne puisse être objectivé. La maladie se déclare avant un an dans 80 % des cas et 60 % des patients sont diagnostiqués durant la période prénatale ou néonatale. Le POIC peut être primaire ou secondaire à des maladies systémiques incluant une amyloïdose, un diabète, des affections métaboliques ou virales. Les formes primaires sont d'origine myopathique, neuropathique ou non classées. Un POIC est souvent observé dans le cadre d'une maladie mitochondriale et c'est le signe majeur du syndrome MNGIE (Mitochondrial Neuro-Gastro-Intestinal Encephalomyopathy). Des dysmotilités intestinales de degré variables dont des syndromes POIC ont été également rapportées dans le syndrome MELAS (Mitochondrial Encephalopathy-Lactic Acidosis-Stroke-like episodes). Ceci nous a conduits à poser l'hypothèse que le syndrome POIC pouvait être le signe d'appel d'une maladie mitochondriale. Nous avons étudié l'activité enzymatique des cinq complexes de la chaîne respiratoire sur des biopsies de colon et/ou d'intestin dans une série de huit patients avec une forme primaire de POIC. Les résultats ont montré que les activités enzymatiques de la chaîne respiratoire et de la citrate synthase, enzyme du cycle de Krebs, étaient plus élevées dans le muscle lisse intestinal que dans le colon suggérant une masse mitochondriale plus importante dans le muscle intestinal. D'autre part, les activités enzymatiques de la chaîne respiratoire dans les tissus de patients POIC étaient similaires à celles des tissus contrôlés. Ainsi, le syndrome POIC de l'enfant semble ne pas être d'origine mitochondriale contrairement à ce que l'on observe chez l'adulte.

Mots-clés : pseudo-obstruction intestinale chronique, mitochondrie.

### ■P042. QUAND PENSER À UNE FŒTOPATHIE PHÉNYLCÉTONURIQUE ? À PROPOS DE 3 CAS DE PHÉNYLCÉTONURIE MATERNELLE MÉCONNUE, SANS DÉFICIT INTELLECTUEL

M. du Vignaux Planchon (1), T. Billette de Villemeur (2), L. Bonnac Theron (3), B. Monier (4), O. Rigal (5), D. Heron (1)

(1) Département de Génétique et Cytogénétique, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France ; (2) Service de Neuropédiatrie, Hôpital Trousseau, Paris, France ; (3) Service de Protection Infantile, Papeete, Tahiti, France ; (4) Service de Pédiatrie, Hôpital Simone-Veil, Montmorency, France ; (5) Service de Biochimie-Hormonologie, Hôpital Robert-Debré, Paris, France ; Contact : delphine.heron@psl.aphp.fr

La phénylcétonurie (PCU) est une maladie métabolique par intoxication, liée à un déficit en phénylalanine hydroxylase, transmise sur le mode autosomique récessif. Son incidence est de 1/17000 naissances par an en France, où elle fait l'objet depuis 1978 d'un dépistage néonatal systématique. Le diagnostic précoce permet la mise en route d'un régime qui empêche l'intoxication. Sans régime, les enfants atteints développent une encéphalopathie progressive avec retard psychomoteur, troubles du comportement et épilepsie. Un régime strict est préconisé jusqu'à 10 ans, allégé à l'adolescence et souvent interrompu à l'âge adulte. La surveillance des adultes PCU est focalisée sur les femmes en âge de procréer avec



nécessité d'une contraception adaptée et reprise du régime avant la conception. En effet, l'hyperphénylalaninémie est tératogène et conduit à un tableau d'embryofoetopathie d'autant plus sévère que le taux de phénylalanine est élevé dans les premiers mois de la grossesse. Les anomalies comprennent un retard de croissance intra-utérin, une microcéphalie, une dysmorphie, un retard psychomoteur, un déficit intellectuel, des malformations (en particulier cardiaques). Le suivi d'un régime strict avec monitoring des taux de phénylalanine maternels permet la naissance d'enfants indemnes de toute anomalie. Aujourd'hui en France, des cas de phénylcétonurie maternelle méconnus subsistent malgré le dépistage. Nous rapportons les cas de 3 mères atteintes de PCU non diagnostiquées (car nées en France avant 1978) et indemnes de tout symptôme évocateur, notamment de déficit intellectuel. Les trois patientes ont donné naissance respectivement à 2, 3 et 6 enfants présentant tous un retard mental avec microcéphalie associé à des malformations, une dysmorphie ou des traits psychotiques. De plus, pour une d'entre elles sont survenues 3 fausses couches spontanées. L'absence de retard mental chez ces trois mères a conduit à un retard diagnostique et à la naissance d'autres enfants atteints de foetopathie phénylcétonurique. Aujourd'hui la possibilité d'une PCU maternelle doit rester d'actualité dans le cadre d'une consultation pour retard mental inexpliqué, particulièrement devant la récurrence chez tous les enfants et/ou la répétition de fausses couches spontanées. L'absence de déficit intellectuel chez la mère n'exclut pas ce diagnostic. Il est donc capital de savoir si la mère a pu échapper au dépistage, en posant les questions suivantes : Est-elle née avant 1978 ou dans un pays étranger, y a-t-il des antécédents de maladie métabolique dans la famille, de régime suivi dans l'enfance ? Si la mère n'a pas bénéficié d'un dépistage de PCU, le dosage de phénylalanine plasmatique maternel doit faire partie du bilan de retard mental inexpliqué avec ou sans microcéphalie, surtout si tous les enfants de la fratrie sont atteints ou s'il existe des fausses couches répétées.

**Mots-clés :** phénylcétonurie maternelle, retard mental, foetopathie phénylcétonurique.

#### ■P043. MALFORMATIONS DU TUBE NEURAL (SPINA BIFIDA ET ANENCÉPHALIE) PAR EMBRYOPATHIE AU VALPROATE (FVS) – ASPECTS CLINIQUES ET PATHOLOGIQUES

H. Journel (1, 2), P. Loget (1), A.S. Cabaret (1), P. Marcorelles (3), P. Parent (4), M. Joubert (5), D. Bonneau (6), S. Blesson (7), A. Toutain (7), M. Gonzales (8), L. Siproudhis (2), S. Odent (1)

(1) Centre Maladie Rare Anomalies du Développement, service de Génétique, CHU et Université de Rennes 1, France ; (2) Centre Maladie Rare Spina Bifida, CHU et Université de Rennes 1, France ; (3) Fœtopathologie, CHU et Université de Brest, France ; (4) Centre Maladie Rare Anomalies du Développement, service de Génétique, CHU et Université de Brest, France ; (5) Foetopathologie, CHU et Université d'Angers, France ; (6) Centre Maladie Rare Anomalies du Développement, service de Génétique, CHU et Université d'Angers, France ; (7) Centre Maladie Rare Anomalies du Développement, service de Génétique, CHU et Université de Tours, France ; (8) Foetopathologie, CHU Trousseau Paris, France  
Contact : hubert.journel@ch-bretagne-atlantique.fr

Nous avons collecté une cinquantaine de cas d'embryopathie au valproate ayant entraîné une malformation du tube neural (spina bifida et anencéphalie). Le type de MTN est quasi exclusivement le spina bifida (96 % des cas). L'anencéphalie est l'exception (3 cas dont un cranirachischisis). Nous n'avons pas rencontré d'autres formes (Encéphalocèle, Inencéphalies etc...). Les données cliniques donnent une légère féminisation du sex ratio attendu (54 % de sexe féminin/40 % de sexe masculin). Dans le spina bifida, la quasi totalité des formes est lombo-sacrée sauf 1 cas de SB dorsal. Les complications associées concernent de façon diverses les fentes (4 %), les mains (8 %), les reins (4 %), et la dysmorphie classique, plus ou moins prononcée est toujours associée. Nous avons 8 récurrences familiales. Dans 2 cas de grossesse gémellaire, les paires sont discordantes pour le SB mais l'autre jumeau a d'autres éléments du FVS. La survie des enfants nés vivants est sans différence notable avec les spina bifida non liés à la Dépakine. Chez 3 adultes, la dysmorphie reste non décelable, il n'y a pas de trouble du développement spécifique. Dans 45 % des cas cas, la prise d'acide folique n'a pas permis la prévention. Les éléments en faveur d'une action directement tératogène de ces FVS sont l'élévation spécifique du risque du SB, le risque de récurrence qui dépasse 15 %, et la « résistance » à la prévention par les folates. Les doses de Valproate varient de 0,5 à 2,5 gr par jour, mais le type d'épilepsie ne semble jouer aucun rôle. Dans 60 % des cas il s'agit de monothérapie. La part des traitements antiépileptiques dans la survenue des MTN a considérablement décliné depuis 2005, passant de 15 % des MTN à moins de 5 %. En conclusion : Le VPA agit probablement par effet tératogène direct, mais le ou les gènes dérégulés ne sont pas connus à ce jour.

**Mots-clés :** spina bifida, valproate.

M/S hors série n° 1, vol. 26, janvier 2010

#### ■P044. TROIS CAS DE DÉLÉTION EN 6QTER CIBLENT UN NOUVEAU GÈNE CANDIDAT POUR L'HOLOPROSENCEPHALIE

L. Rochar (1), V. Dupé (1), C. Bendavid (1), C. Dubourg (1, 2), S. Mercier (4, 1), I. Gicquel (1), S. Odent (4, 1), J. Mosser (3), T. Bohan (5), V. David (1, 2)

(1) UMR 6061 CNRS, Faculté de Médecine, Université de Rennes 1, France ; (2) Génétique Moléculaire, CHU, Rennes, France ; (3) Plateforme Transcriptome Biogenouest IBIISA, Rennes, France ; (4) Génétique Clinique, CHU, Rennes, France ; (5) Developmental Pediatrics & Child Neurology, Houston, USA

Contact : veronique.david@univ-rennes1.fr

L'holoprosencéphalie (HPE) résulte d'un défaut de clivage de la ligne médiane et représente la plus fréquente des anomalies du développement du cerveau antérieur. Elle est caractérisée par une expressivité phénotypique variable et son étiologie peut être à la fois environnementale et génétique. Elle est sporadique ou familiale avec une grande hétérogénéité d'expression au sein d'une même famille. Des mutations et des délétions des gènes majeurs, SHH, ZIC2, SIX3 et TGIF, n'ont été retrouvées que dans 30 % des cas d'origine génétique. Ces mutations provoquent des anomalies de spécification de la région rostroventrale de l'embryon qui mettent en jeu plusieurs voies moléculaires. La complexité de cette pathologie rend donc les approches de génétique classique insuffisantes pour l'identification de nouveaux gènes candidats. Afin d'améliorer notre compréhension de l'HPE, nous avons mis en place une analyse de patients par hybridation génomique comparative (aCGH) en utilisant la technique Agilent. L'étude de 111 échantillons HPE (64 fœtus et 47 enfants) nous a permis d'observer de nombreux réarrangements génomiques (17 % des cas), dont deux cas de délétions de 15 et 5,2 Mb, sur le locus HPE12 situé en 6q 25.3 – 6qter. Le premier patient présente une HPE semi-lobaire et le deuxième des signes mineurs d'HPE. Un cas supplémentaire d'HPE alobaire rapporté par un collègue américain nous a permis de restreindre à 2Mb la région d'intérêt. Une étude bioinformatique de hiérarchisation de gènes (Endeavour) nous a permis de cibler un gène candidat : Delta 1 (DLL1). DLL1 code pour un ligand de Notch qui est connu pour son rôle fondamental dans la médiation de nombreuses interactions cellulaires au cours du développement embryonnaire. DLL1 est donc un excellent gène candidat dont il est nécessaire de valider l'implication dans la pathologie par des tests fonctionnels. À cette fin, au laboratoire, nous testons le rôle de DLL1 au cours du développement du cerveau de l'embryon de poulet afin de valider l'implication de ce gène au cours de l'apparition d'HPE.

**Mots-clés :** holoprosencéphalie, gène candidat, CGH array.

#### ■P045. ACTUALITÉS SUR LES CORRÉLATIONS GÉNOTYPE-PHÉNOTYPE DANS L'HOLOPROSENCEPHALIE : À PROPOS D'UNE SÉRIE EUROPÉENNE DE 532 PROPOSANTS

S. Mercier (1, 2), C. Dubourg (2), M. Belleguic (1), L. Pasquier (1, 2), C. Bendavid (2), P. Loget (3), JP. Sinteff (4), S. Jaillard (2), L. Rochar (2), V. Dupe (2), V. David (2), S. Odent (1, 2)

(1) Service de Génétique Clinique, CHU Hôpital Sud, UMR 6061 CNRS, Université Rennes 1, Rennes, France ; (2) Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHU Hôpital Pontchaillou, Institut de Génétique et Développement, UMR 6061 CNRS, Université Rennes 1, Rennes, France ; (3) Service d'Anatomie Pathologique, CHU Hôpital Pontchaillou, Rennes, France ; (4) Laboratoire d'Informatique Médicale, CHU Hôpital Pontchaillou, Rennes, France. Contact : sandra.mercier@chu-rennes.fr

L'holoprosencéphalie (HPE) est une malformation cérébrale complexe résultant d'un défaut de clivage médian du prosencéphale. Sa prévalence est de l'ordre de 1/16 000 naissances vivantes et de 1/250 conceptions. Le spectre phénotypique de l'HPE comprend les formes classiques (alobaire, semilobaire et lobaire), la syntélocéphalie (ou Middle InterHemispheric Variant) et les microformes caractérisées par des anomalies mineures (incisive médiane unique, hypotelorisme...) en l'absence de malformation cérébrale typique de l'HPE. Notre série porte sur 532 proposants recensés depuis 1997 au CHU de Rennes grâce à une collaboration européenne et la constitution d'une base de données informatisée en ligne. Dans 23 % des cas, une mutation ou délétion a été identifiée dans l'un des 4 principaux gènes impliqués dans l'HPE, à savoir SHH, ZIC2, SIX3 et TGIF. De plus, une proportion importante d'anomalies microcytogénétiques a été mise en évidence : MLPA des télomères (4 % des cas) et CGH array pangénomique (25 % des cas). La CGH-array a permis de détecter 28 microremaniements cytogénétiques dont 19 survenus de novo dans une population de 111 proposants. Dans 6 cas, un microarrangement était associé à une mutation dans un autre gène confortant l'hypothèse d'une maladie oligogénique (« Multi-hit hypothesis »). Nous observons une grande variabilité intra- et interfamiliale pour les anomalies dans le gène SHH. La sévérité de

l'atteinte faciale est globalement bien corrélée à la sévérité de la malformation cérébrale. Il existe une proportion importante de fentes labiales et/ou palatines, de sténoses choanales et, parfois, l'association particulière à une agénésie sacrée. Pour le gène ZIC2, nous constatons une association relativement spécifique avec des anomalies de fermeture du tube neural et surtout la syntélocéphalie. Le phénotype facial est remarquablement discret voire normal même avec des formes d'HPE alobaire. Des anomalies dans le gène SIX3 sont généralement responsables de formes sévères, parfois d'atélencéphalie, fréquemment associées à des anomalies ophtalmologiques, parfois dans un contexte polymalformatif. Enfin, pour le gène TGIF, nous constatons une prédominance de microformes. Au total, au vu de cette grande série, le phénotype commence à orienter les études moléculaires. En pratique, le conseil génétique reste extrêmement délicat en raison de la grande variabilité phénotypique intrafamiliale. Le diagnostic prénatal ne repose pas uniquement sur l'identification de la mutation familiale chez le fœtus, mais en priorité sur les signes dépistés à l'échographie et/ou à l'IRM fœtale. Les perspectives de recherche au sein de notre équipe consistent à identifier des gènes candidats en développant des modèles animaux. Les études sur l'embryon de poulet visent à reproduire un phénotype HPE en combinant une inhibition de voies de signalisation impliquées dans l'HPE par des agents tératogènes et une inactivation de gènes cibles par ARN interférence.

**Mots-clés :** holoprosencéphalie, corrélations génotype-phénotype, SHH.

#### ■P046. DIAGNOSTIC PRÉNATAL D'UNE DÉLÉTION 6Q24-6QTER DE NOVO ASSOCIÉE À UNE HOLOPROSENCÉPHALIE

F. Coron (1), P. Callier (1), N. Laurent (2), S. Charra (3), C. Cassini (1), T. Rousseau (3), P. Sagot (3), F. Mugneret (1), L. Faivre (1), C. Thauvin-Robinet (1)

(1) Département de génétique, Hôpital d'Enfants, Dijon, France ; (2) Laboratoire d'anatomo-pathologie, CHU Le Bocage, Dijon, France ; (3) Centre pluridisciplinaire de Diagnostic Prénatal, Maternité, CHU Le Bocage, Dijon, France

Contact : fanny.coron@chu-dijon.fr

L'holoprosencéphalie (HPE) est une malformation cérébrale résultant d'un clivage incomplet du prosencéphale, fréquemment associée à des anomalies de la face. Sa prévalence est de 1/16 000 naissances vivantes et 1/250 produits d'avortement. En dehors des facteurs tératogènes, plusieurs anomalies chromosomiques ont été rapportées en association avec une HPE syndromique, en particulier la trisomie 13. Les premiers gènes d'HPE isolée ont été identifiés grâce à des anomalies chromosomiques récurrentes (SHH en 7q36 et ZIC2 en 13q32). À ce jour, 12 loci d'HPE isolée ont été rapportés et 7 gènes ont été identifiés, n'expliquant qu'un tiers des HPE non syndromiques à caryotype normal. Nous rapportons la première grossesse d'un couple non consanguin adressé au terme de 22 SA, suite à la découverte échographique d'un spina bifida chez un fœtus de sexe féminin. Une interruption médicale de grossesse pour motif fœtal a été réalisée à 24 SA. L'examen foetopathologique a mis en évidence une HPE alobaire associée à une dysmorphie faciale, une hypotrophie et un rachischisis lombaire. Le caryotype fœtal a montré la présence d'une délétion terminale du bras long du chromosome 6 (6q24-6qter) de novo. Trois observations d'HPE semi-lobaires ou avec des signes mineurs sont rapportées dans la littérature avec une délétion 6q terminale. Cette nouvelle observation confirme donc que la région 6q24-qter est un nouveau locus candidat pour cette malformation.

**Mots-clés :** holoprosencéphalie, délétion 6q, spina bifida.

#### ■P047. HERNIES DIAPHRAGMATIQUES CONGÉNITALES ET SYNDROME DE MARFAN : UNE ASSOCIATION NON FORTUITE ?

C. Baudoin (1), H. Dahlgaard-Hove (2), N. Pallares-Ruiz (1), A. Plancke (1), E. Sanchez (1), M. Claustres (1, 3, 4), P. Khau Van Kien (1)

(1) Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHU Montpellier, Montpellier, France ; (2) Department of Clinical Genetics, Rigshospitalet, Copenhagen, Danemark ; (3) INSERM U827, Montpellier, France ; (4) Université Montpellier I, Montpellier, France

Contact : p-khau\_van\_kien@chu-montpellier.fr

L'association hernie diaphragmatique congénitale (HDC) et syndrome de Marfan (SMF) est rarement rapportée chez l'Homme. La part respective du hasard ou d'un éventuel lien physiopathologique à l'origine de cette association est difficile à évaluer car la fréquence respective des HDC et du SMF est estimée à 1/4 000 et 1/5 000 naissances. Toutefois, la présence de hernies est un élément des critères diagnostiques de Gand. De plus, 50 % des souris modèles de la forme néonatale du SMF, homozygotes pour l'allèle mgDelta (délétion en phase des exons 19-24) présentent une HDC.

Nos connaissances de la physiopathologie du SMF ont évolué avec l'aspect central de la voie de signalisation TGF- $\beta$ , faisant ainsi basculer le concept d'une pathologie structurale, vers une pathologie du développement. Dans ce contexte, l'association HDC/SMF est d'autant plus séduisante que des anomalies associées et proches dans leur présentation (septation pulmonaire, anomalies cardio-vasculaires...) sont communément rencontrées dans les HDC et le SMF. Cependant l'étiologie des HDC est très complexe et hétérogène, mêlant de nombreux facteurs génétiques impliqués dans différentes voies (métabolisme de la vitamine A, la migration cellulaire, la différenciation mésodermique ou le remodelage de la matrice extracellulaire...). Nous présentons ici les données issues de l'étude d'une famille nucléaire avec 8 sujets atteints de SMF (critères de Gand réunis) répartie sur 3 générations. Dans une branche du pedigree, on note la coségrégation de SMF/HDC chez une mère et deux de ses trois enfants, le troisième enfant étant indemne des deux traits. Nous avons pu identifier la présence de la mutation c.4397delG dans le gène FBN1 chez tous les sujets atteints de SMF. L'analyse d'haplotype au locus FBN1, montre la présence en trans de la mutation de phases différentes chez les sujets atteints. Ces données suggèrent la possibilité d'une transmission digénique (voire oligogénique), compatible avec la variabilité phénotypique observée dans cette famille et les rares données de la littérature disponibles sur l'agrégation familiale des HDC. Nos données suggèrent comme chez la Souris mgDelta/mgDelta que la seule présence d'une mutation dans le gène FBN1 n'est pas suffisante pour déclencher la survenue d'HDC mais qu'il s'agit vraisemblablement d'un facteur de risque. Sous l'hypothèse d'une transmission di/oligogénique, l'identification du(des) co-facteur(s) d'HDC présent dans cette famille s'avère complexe compte tenu du nombre important de gènes candidats potentiels et d'une informativité limitant la puissance statistique d'une étude de liaison. Cependant, l'enrichissement des données familiales associé au recueil d'autres familles multiplex pourrait permettre l'étude et la caractérisation du rôle de la fibrilline de type 1, de co-facteurs génétiques et de voies de signalisation (notamment TGF- $\beta$ ) dans la survenue d'HDC, avec des perspectives intéressantes pour la compréhension de la physiopathologie.

**Mots-clés :** hernies diaphragmatiques congénitales, Marfan, di/oligogénisme.

#### ■P048. MISE EN ÉVIDENCE D'UN FACTEUR EXOGÈNE INTERVENANT SUR LA GÉNÉRATION PRÉCÉDENTE, IMPLIQUÉ DANS L'INCIDENCE ÉLEVÉE DES MOLES HYDATIFORMES EN AFRIQUE

P. Coullin (1), A.L. Diatta (2), H. Boufetta (3), J. Feingold (1), T. Hajri (4), J.J. Candelier (1), E. Leguern (5), N. Samouh (3), J.M. Afoutou (2), J.Y. Picard (1)

(1) INSERM U782, Endocrinologie et Génétique de la Reproduction et du Développement, Clamart, France ; (2) Hôpital Aristide Le Dantec, Dakar, Sénégal ; (3) Maternité Lalla Mériem, Casablanca, Maroc ; (4) Centre de référence des maladies trophoblastiques, Centre hospitalier Lyon sud, Pierre Bénite, France ; (5) UF de neurogénétique, Groupe Hospitalier de la Pitié Salpêtrière, Paris, France

Contact : philippe.coullin@u-psud.fr

Les moles hydatiformes complètes (CMH) sporadiques diploïdes caractérisées par l'absence d'embryon et la dégénérescence villose totale du placenta sont d'origine androgénique. Elles résultent de la fécondation d'un ovule dont le pronucleus maternel absent, immature ou par d'autres mécanismes tel par exemple qu'une asynchronie de division, se trouve in fine exclu du patrimoine génétique de l'œuf. L'incidence des CMH en Europe occidentale et Amérique de Nord est approximativement d'un cas pour 2 500 naissances. Il est très supérieur dans de nombreux « Pays du Sud » (1/400 par exemple au Sénégal, Maroc : 1/700) où l'évolution fréquente des CMH en moles invasives puis en choriocarcinomes, représente un réel problème de santé publique. L'excès des conceptions molaires des « Pays du Sud » peut être attribué a priori à des facteurs génétiques ou exogènes. Le Sénégal où il existe une variation cyclique importante du nombre des conceptions humaines en fonction des saisons et des périodes des travaux agraires, a constitué un premier modèle pour étudier une éventuelle incidence de ces derniers. La courbe annuelle des conceptions des grossesses molaires est parfaitement parallèle à celle des conceptions normales ce qui suggère qu'aucun facteur saisonnier n'interviendrait directement sur leur survenue. Par contre la courbe des conceptions des patientes (futurs « mères de môle ») est significativement décalée par rapport aux deux autres et montre qu'une majorité de ces femmes ont effectué leur vie embryonnaire et fœtale, pendant la période la plus défavorable pour leurs mères, car correspondant à la soudure alimentaire avant les récoltes. Au Maroc, on observe également une diminution sensible des conceptions



normales qui se situe d'avril à juin. Par contre, la quasi totalité des patientes de la cohorte étudiée ont été conçues à cette période et ont donc effectué leur vie embryonnaire au moment où leurs mères étaient soumises à la période la plus chaude et aride de l'année. Nos deux séries de patientes majoritairement d'origine rurale ont différencié leur ovaire et débuté leur gamétogenèse à la période de l'année ou leurs mères en gestation, étaient soumises à des carences en produits alimentaires frais, riches, entre autres, en vitamine A et B9, cette dernière étant impliquée dans la biosynthèse des acides nucléiques. On peut faire l'hypothèse que ces patientes auraient produit davantage d'ovocytes immatures, cause d'un risque accru de conceptions molaires durant leur vie génitale. Aucun effet saisonnier n'a été observé sur une cohorte témoin de patientes françaises nées en France. L'incidence « occidentale » correspondrait vraisemblablement au taux « basal » dû aux déficiences chroniques du système gamétogenèse-fécondation dans l'espèce humaine. Les môles, dans ces pays à haute incidence, représenteraient un nouvel exemple d'effet épigénétique délétère trans-générationnel.

**Mots-clés :** môles hydatiformes, épidémiologie, épigénétique.

#### ■P049. ÉTUDE IMMUNODÉVELOPPEMENTALE DE L'EXPRESSION DES ANTIGÈNES P16 ET E-CADHÉRINE AU COURS DE LA FORMATION DES MOLES HYDATIFORMES INVASIVES

J.J. Candelier (1), L. Frappart (2), T. Yadaden (3), A.L. Diatta (4), O. Faye (4), L. Aldaz-Carroll (5), J.Y. Picard (1), S. Prevot (3), P. Coullin (1)  
(1) INSERM U782 Endocrinologie et génétique de la reproduction et du développement, Clamart, France ; (2) Service central d'anatomie et de cytologie pathologiques, Hôpital E. Herriot, Lyon, France ; (3) Service d'anatomie et de cytologie pathologiques, Hôpital A.-Béclère, Clamart, France ; (4) Hôpital Aristide-Le-Dantec, av. Pasteur, Dakar, Sénégal ; (5) Laboratoire d'Immunologie, case 38 Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques Université Paris-Descartes, Paris, France  
Contact : jean-jacques.candelier@u-psud.fr

Les môles hydatiformes complètes (MHC) représentent une maladie trophoblastique caractérisée histologiquement par des villosités placentaires de type hydropique dont la vascularisation est absente ou rare et dont les cellules trophoblastiques sont à l'origine de la prolifération plus ou moins importante du placenta extravilleux. Ces MHC sont diploïdes mais dans la grande majorité des cas, tous les chromosomes sont d'origine paternelle (môle qualifiée d'androgénique). Ces MHC présentent un haut risque d'invasion du myomètre, puis de métastases en particulier pulmonaires (môles invasives ou MHI).

Nous avons entrepris dans cette étude de suivre au cours du développement placentaire normal (9 semaines à 39 semaines) et de type invasif (MHC versus MHI), l'expression de deux antigènes : P16 et E Cadherine. Ils témoignent respectivement de l'expression d'un gène suppresseur de tumeur et d'une molécule d'adhésion membranaire.

Les résultats pour les placentas normaux, montrent que P16 est présent dans les noyaux du cytotrophoblaste (CTB) de plus en plus rarement au cours du développement (9 semaines à 39 semaines) et que le marquage membranaire des cellules du CTB pour la E Cadherine diminue progressivement de 9 semaines à 39 semaines. Ces deux marquages sont par contre très présents dans le trophoblaste extravilleux qui correspond à une prolifération des cellules du CTB. Dans la paroi utérine on retrouve ces marquages plus faiblement exprimés au niveau des cellules du CTB qui colonisent les artères utérines et pour la E Cadherine s'y ajoute un marquage au niveau des glandes utérines. Dans le cas des MHC le marquage P16 est très exprimé au niveau des noyaux des proliférations du CTB tandis que le marquage E Cadherine n'est pas perturbé (membrane du CTB). Dans les MHI le marquage P16 dans les noyaux des cellules du CTB des villosités invasives en prolifération est très élevé, il atteint désormais le cytoplasme de ces cellules. Pour la E Cadherine le marquage est retrouvé très exprimé dans les cellules du CTB qui ont envahi la paroi utérine, les artères spiralées et dans les villosités qui ont envahi les tissus de la mère (identique aux villosités normales).

Ces résultats semblent contredire les travaux précédents de Xue et Coll (2004) où les auteurs rapportent que les promoteurs de p16 et E Cadherine seraient globalement hyperméthylés, et les gènes sous-exprimés, dans la majorité des cas de choriocarcinomes et des MHC prédestinées à une dérive néoplasique. Nos résultats histologiques obtenus pendant le développement de ces MHI suggèrent une complexité plus intime des phénomènes qui induisent les MHC à régresser ou à devenir invasives.

**Mots-clés :** môle hydatiforme, développement, p16, E-cadhérine.

#### ■P050. IDENTIFICATION D'UNE MUTATION DU GÈNE *NLRP7* ASSOCIÉE AUX MOLES HYDATIFORMES RÉCURRENTES FAMILIALES

H. Landolsi (1, 2), C. Rittore (3), M. Gribaa (2), M. Tahar Yacoubi (1), I. Touitou (3)

(1) Laboratoire d'anatomie et de cytologie pathologiques, CHU. Farhat Hached, Sousse, Tunisie ; (2) Laboratoire de cytogénétique, de génétique moléculaire et de biologie de la reproduction, CHU Farhat-Hached, Sousse, Tunisie ; (3) Unité médicale des maladies autoinflammatoires, Laboratoire de génétique, CHU Arnaud-de-Villeneuve-Montpellier, France

Contact : h\_landolsi@yahoo.fr

Les môles hydatiformes récurrentes familiales sont un état récessif rare qui survient généralement dans des familles consanguines. Cette forme est généralement biparentale et associée à des mutations du gène causatif *NLRP7* sur le locus 19q13.4. Une vingtaine de familles affectées a été décrite dans la littérature. Notre objectif était de rechercher la présence de mutation du gène *NLRP7* dans une famille tunisienne dont deux sœurs avaient des môles hydatiformes récurrentes. Méthodes : L'analyse moléculaire a été effectuée sur de l'ADN génomique extrait à partir du sang des deux patientes ainsi que leurs deux sœurs (n'ayant pas présenté de grossesses molaires) et les parents. L'amplification de tous les exons du gène *NLRP7* et le séquençage ont été réalisés pour les deux patientes. La méthode de criblage HRM (High Resolution Melting) a été de réalisée pour les deux patientes, leurs sœurs et les parents pour confirmer les résultats du séquençage. Résultats : le séquençage et les courbes de HRM ont montré une mutation homozygote au codon stop, p.E570X (c.1708G>T), une mutation sur l'exon 4 chez les deux patientes ainsi qu'une troisième fille qui avait un seul avortement non molaire. La quatrième sœur asymptomatique et les parents étaient hétérozygotes pour cette mutation. Conclusion : ces résultats confirment et prolongent les études précédentes sur les mutations du gène *NLRP7*, comme cause de môles hydatiformes récurrentes. La mutation p.E570X a été récemment rapportée pour la première fois chez une femme asiatique avec 3 môles hydatiformes complètes. Ici nous prouvons que cette mutation est impliquée aussi dans d'autres formes d'échec de la reproduction. D'ailleurs, c'est le premier cas de môle hydatiforme familiale rapporté en Tunisie et le deuxième cas d'origine Nord-Africaine.

**Mots-clés :** môle hydatiforme récurrente, *NLRP7*.

#### ■P051. L'AMYOPLASIE EST UNE ENTITÉ CLINIQUE IDENTIFIABLE AU SEIN DES ARTHROGRYPOSES MULTIPLES CONGÉNITALES

K. Dieterich (1, 2), M.C. Commare (1, 3), A. Descotes (1, 3), N. Monnier (1, 4), G. Lopez (1, 2), M. Mahot (1, 3), S. Moesen (1, 3), J. Lunardi (1, 4), P. Ederly (1, 5, 6), R. Touraine (1, 7), P.S. Jouk (1, 2)

(1) Centre de Référence anomalies du développement embryonnaire Rhône-Alpes, France ; (2) Service de Génétique Médicale, CHU de Grenoble, France ; (3) Service de Médecine Physique et Réadaptation pédiatrique, CHU de Grenoble, France ; (4) Service de Biochimie et Génétique Moléculaire, CHU de Grenoble, France ; (5) Service de Cytogénétique constitutionnelle, CHU de Lyon, France ; (6) Université Lyon-1, Lyon, France ; (7) Service de Génétique, CHU de Saint Etienne, France  
Contact : kdieterich@chu-grenoble.fr

INTRODUCTION : L'arthrogrypose multiple congénitale (AMC) est un ensemble très hétérogène d'anomalies du développement ayant toutes en commun la limitation de la mobilité d'au moins deux articulations distinctes fixées en position anormale. Il persiste actuellement des difficultés nosologiques, tenant en particulier à la diversité des équipes prenant en charge ces patients. PATIENTS : Depuis le début de son activité début 2008, date de labellisation du Centre de Référence des Anomalies du Développement Rhône-Alpes, 39 patients avec arthrogrypose ont été examinés au CHU de Grenoble, principalement au cours de consultations pluridisciplinaires de génétique et de médecine physique et réadaptation ou lors de consultations anténatales. RÉSULTATS : Parmi les 39 patients, onze (28 %), âgés de 6 mois à 43 ans, présentaient un phénotype similaire, avec des caractéristiques propres à chaque âge. L'atteinte articulaire avec réduction majeure des masses musculaires était non progressive, le développement psychomoteur normal. L'atteinte des quatre membres, symétrique, était prédominante (7/11, 64 %). Au niveau des membres supérieurs, les épaules étaient en rotation interne (10/11, 90 %), les coudes en extension (9/11, 82 %), les poignets en flexion avec des mains botes (10/11, 90 %). Au niveau des membres inférieurs, l'atteinte était plus variable avec les hanches en abduction ou en flexion (6/11, 55 %), les genoux en extension ou en flexion (8/11, 73 %), et des pieds-bots varus équin (8/11, 73 %). Sept sur onze (64 %) présentaient des fossettes en regard des articulations atteintes, et 6/11 (55 %) un hémangiome facial. Les ptérygia étaient peu fréquents (3/11, 27 %). L'IRM musculaire montrait une infiltration graisseuse des loges musculaires atteintes. Quand il était disponible, l'examen histologique du muscle atteint confirmait la diminution majeure des cellules musculaires et la fibro-adipose. DISCUSSION – CONCLUSIONS :



Le tableau clinique que nous avons observé chez nos onze patients est superposable à l'entité cliniquement définie par Hall *et al.* En 1983 : « Amyoplasia : a common sporadic condition with congenital contractures ». Il se distingue des 28 autres cas d'arthrogrypose observés. Parmi les 8 cas où des manifestations d'akinesie ou d'hypokinésie fœtale avaient été observées, cette hypothèse diagnostique n'avait jamais été envisagée. Au sein du groupe des AMC, l'amyoplasie se caractérise à la fois par la sévérité des manifestations initiales et la bonne adaptation fonctionnelle après prise en charge orthopédique et de réadaptation précoce. Les hypothèses physiopathogéniques doivent être réactualisées en 2010.

**Mots-clés :** arthrogrypose multiple congénitale, amyoplasie.

#### ■P052. TRANSLOCATION TÉLOMÉRIQUE DÉSÉQUILBRÉE AVEC MICROCÉPHALIE PROGRESSIVE, ATTEINTE DE LA SUBSTANCE BLANCHE ET DILATATION DES ESPACES DE VIRCHOW ROBIN

L. Perrin (1), A. Aboua (2), E. Pipiras (3), C. Baumann (1), C. Dupont (2), A.C. Tabet (2), M. Tardieu (4), A. Verloes (1), B. Benzacken (2), M. Gérard-Blanluet (1)

(1) *Service de Génétique Clinique, APHP, Hôpital Robert-Debré, Paris, France ; (2) Service de Cytogénétique, APHP, Hôpital Robert-Debré, Paris, France ; (3) Service de Cytogénétique, APHP, Hôpital Jean-Verdier, Bondy, France ; (4) Service de Neuropédiatrie, APHP, Hôpital du Kremlin-Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre, France*  
Contact : marion.gerard@rdb.aphp.fr

Nous rapportons le cas d'un enfant présentant initialement un tableau neurologique (microcéphalie d'aggravation progressive, retard psychomoteur, atteinte de la substance blanche et dilatations kystiques des espaces de Virchow Robin (VR)) chez qui nous avons secondairement mis en évidence une anomalie chromosomique déséquilibrée : délétion 9q3.4 et trisomie 4qter. Ce patient est de sexe masculin issu de parents non consanguins sans antécédent. La grossesse et la naissance se sont déroulées sans problème particulier. Les paramètres de naissance étaient normaux en dehors d'un PC au 3<sup>e</sup> percentile. Un retard psychomoteur fut noté dès les premiers examens cliniques. Il n'existait pas alors de dysmorphie évocatrice. L'IRM réalisée montra une atteinte de la substance blanche. Les premières explorations génétiques étaient normales (caryotype, X-fra, syndrome de Prader-Willi et bilan métabolique). L'évolution de ce patient s'est faite vers une aggravation de sa microcéphalie (-5SDS), une persistance du retard psychomoteur et la majoration d'une dysmorphie (hypoplasie malaire, synophris, narines antevernées, prognathisme). Une deuxième IRM montra des anomalies de la substance blanche bipariétales profondes étendues avec des espaces de VR très dilatés, kystiques. Une dilatation urétérale unilatérale et une cryptorchidie ont été mises en évidence. Les télomères étant alors réalisables à cette époque, la poursuite des examens génétiques a été décidée. Une anomalie chromosomique déséquilibrée *de novo* fut mise en évidence (délétion 9q3.4 et une trisomie 4qter). Le tableau clinique neurologique et l'imagerie cérébrale ont initialement égaré le diagnostic vers une atteinte ischémique pré ou perinatale même s'il n'existait pas de notion de souffrance connue. C'est la majoration de la dysmorphie et la présence de malformations mineures comme la dilatation urétérale et la cryptorchidie qui ont fait envisager la poursuite des examens génétiques. L'imagerie cérébrale dans les cas de délétion 9q3.4 est la plupart du temps normale, mais des cas d'anomalies de la substance blanche ont été décrites (Dawson et al 2002, Stewart et al 2007). La présence d'hypoplasie verminee et d'hypoplasie du corps calleux ont également été rapportées (Yatsenko et al 2005, Stewart et al. 2007). La présence d'anomalies de la substance blanche et des dilatations kystiques des espaces de VR, quand elles sont associées à des malformations mineures et une dysmorphie, doivent faire rechercher une anomalie chromosomique cryptique, en particulier une délétion 9q34 et une délétion 18q.

**Mots-clés :** 9q3.4, espaces de virchow Robin.

#### ■P053. ANALYSE CLINICO-PATHOLOGIQUE ET ÉTUDE GÉNÉTIQUE DU SYNDROME DE FOWLER SUR UNE SÉRIE DE 16 FŒTUS

B. Bessières-Grattagliano (1), B. Foliguet (2), L. Devisme (3), L. Lœuillet (4), P. Marcorelles (5), M. Bonnière (6), A. Laquerrière (7), C. Fallet-Bianco (8), J. Martinovic (6), S. Thomas (10, 11), S. Zrelli (10, 11), N. Leticee (9), V. Cayol (9), H. Etchevers (10, 11), G. Guapay (12), M. Vekemans (6, 10, 11), T. Attié-Bitach (6, 10, 11), F. Encha-Razavi (6, 10, 11)

(1) *Laboratoire d'Anatomo-Fœto-Pathologie, Institut de Puériculture et de Périnatalogie, Paris, France ; (2) Laboratoire de Placentologie et de Fœtopathologie, Maternité Régionale Universitaire, Nancy, France ; (3) Pôle de Pathologie, Centre de Biologie Pathologie, Lille, France ; (4)*

*Laboratoire d'Anatomie Pathologique CHI de Poissy St-Germain-en-Laye, France ; (5) Service d'anatomie pathologique, Pôle de biologie-pathologie, CHU Brest, France ; (6) Service Histologie-Embryologie-Cytogénétique, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris, France ; (7) Laboratoire d'Anatomie Pathologique, Hôpital de Rouen, Rouen, France ; (8) Laboratoire de Neuropathologie, Centre Hospitalier Sainte-Anne, Paris, France ; (9) Service de Gynécologie Obstétrique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France ; (10) INSERM U 781, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris, France ; (11) Université Paris Descartes, Paris, France ; (12) Genoscope, Évry, France*  
Contact : tania.attie@inserm.fr

Le syndrome de Fowler (SF, OMIM#225790) est une affection familiale et létale dès la période fœtale. Son diagnostic est neuropathologique basé sur l'identification d'une vasculopathie proliférative gloméruloïde (VPG), affectant exclusivement le système nerveux central. Depuis la description en 1972 de l'entité, seulement 14 observations de SF ont été rapportées. Nous avons identifié la VPG pathognomonique du SF chez 16 fœtus examinés après mort in utero ou interruption médicale de grossesse pour hydrocéphalie et/ou immobilité fœtale. La vasculopathie affectait la totalité du névraxe chez 14 fœtus et laissait la moelle épinière indemne chez 2 autres. Ces derniers ne présentaient pas de malposition des membres, alors que ceux avec une atteinte de la totalité du névraxe présentaient une « séquence létale de ptérygium multiple », reflet de l'atteinte de la moelle épinière. Le bilan immunohistochimique a montré une réduction de l'expression de SMA (marqueur des péricytes), situant a priori, le défaut de l'angiogenèse cérébrale au niveau du remodelage des vaisseaux, assuré par les péricytes. Sur le plan génétique, les récives (5 familles), la consanguinité (4 familles) et le sexe ratio (9 filles/7 garçons), en faveur d'une affection autosomique récessive, nous ont incité à entreprendre une étude de liaison par homozygotie par filiation. L'analyse par puces SNP Affymetrix 250K, nous a permis d'identifier un seul locus homozygote, réduit à 4,1 Mb par déséquilibre de liaison dans deux familles consanguines d'origine turque, originaire de 2 villages voisins. Après avoir exclu 13 gènes candidats par séquençage direct, nous avons entrepris, en collaboration avec le Génoscope, le séquençage de toute la région génomique chez 7 fœtus atteints non apparentés. L'identification du gène nous permettra d'aller plus loin dans la définition du spectre du SF, la compréhension de la vasculogenèse cérébrale normale et pathologique. De plus, il permettra de porter un conseil génétique adapté aux familles.

**Mots-clés :** hydranencéphalie, fowler, vasculopathie proliférative.

#### ■P054. 10 % DE REMANIEMENTS CHROMOSOMIQUES SONT IDENTIFIÉS PAR CGH-ARRAY DANS UNE SÉRIE DE 45 PATIENTS AVEC RHOMBENCÉPHALOSYNAPSIS

L. Pasquier (1, 2), C. Evain (2), C. Dubourg (2, 3), L. Rochard (2), I. Gicquel (2), C. Bendavid (2), P. Loget (4), P. Marcorelles (5), S. Jaillard (2, 6), C. Bonnet (7), M. Beri (7), C. Philippe (7), S. Mercier (1, 2), C. de La Rochebrochard (1), B. Leheup (8), C. Fallet-Bianco (9), C. Coubes (10), G. Labadie (11), A. Laquerrière (12), J. Mosser (13), S. Odent (1, 2) et V. David (2, 3)

(1) *Pôle de Pédiatrie et Génétique médicale, CHU Rennes, France ; (2) Équipe Génétique des Pathologies Liées au Développement, UMR 6061 CNRS, IFR140 GFAS, Université de Rennes 1, Faculté de Médecine, France ; (3) Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHU Rennes, France ; (4) Laboratoire d'Anatomie Pathologique, CHU Rennes, France ; (5) Laboratoire d'Anatomie Pathologique, CHU Brest, France ; (6) Laboratoire de Cytogénétique, CHU Rennes, France ; (7) Laboratoire de Génétique Médicale, CHU Nancy, France ; (8) Service de Génétique, CHU Nancy, France ; (9) Laboratoire d'Anatomie Pathologie, CHU Sainte-Anne, Paris, France ; (10) Service de Génétique, CHU Montpellier, France ; (11) Maternité, CH Belvédère, Rouen, France ; (12) Laboratoire d'Anatomie Pathologique, CHU Rouen, France ; (13) Plateforme Transcriptome Biogenouest<sup>®</sup> IBI SA, Rennes, France*  
Contact : laurent.pasquier@chu-rennes.fr

Le rhombencéphalosynapsis (RES) est une malformation rare du cerveau associant une agénésie verminee, une fusion dorsale des hémisphères cérébelleux et une apposition ou une fusion des noyaux dentelés. Grâce à une collaboration nationale, nous avons pu décrire l'ensemble du spectre phénotypique d'une série de 40 fœtus présentant un RES (Pasquier *et al.*, 2008, Acta Neuropathologica). À ce jour, les mécanismes embryologiques et génétiques ne sont pas identifiés. En l'absence de cas familiaux et de modèle animal connu, nous avons réalisé un criblage pangénomique par CGH-array (Agilent<sup>®</sup> 44K) pour 45 patients (38 fœtus et 7 enfants vivants) ayant un rhombencéphalosynapsis grâce à une étude collaborative (PHRC interrégional 2008) En utilisant le logiciel Nexus Copy Number, nous avons repéré 4 remaniements chromosomiques chez 4 patients différents :



3 fœtus avec une délétion, dont le caractère hérité ou *de novo* n'a pas encore pu être étudié, sur les loci chromosomiques 7q34, 16p11.2 et Xp22.3 respectivement ; 1 enfant avec une délétion interstitielle en 16p13.1p12.3 *de novo*. Ces résultats illustrent (a) la difficulté de réaliser ces examens de façon rétrospective car les prélèvements des parents sont très souvent indisponibles (b) la pertinence de l'approche par CGH-array pour nous orienter vers un gène candidat et (c) l'absence de récurrence d'une anomalie chromosomique associée à cette malformation rare qu'est le rhombencéphalosynapsis. L'étude neuropathologique nous avait permis de proposer l'hypothèse que le ou les gènes candidats seraient impliqués dans la régulation du développement du tubercule cérébelleux primordial à la jonction du mésencéphale et du 1<sup>er</sup> rhombomère. Actuellement, nous poursuivons la recherche d'un gène candidat dans ou à proximité de ces remaniements pouvant correspondre à ces critères.

**Mots-clés :** rhombencéphalosynapsis, hydrocéphalie, CGH-array.

#### ■P055. VALIDATION DES GÈNES CANDIDATS IMPLIQUÉS PAR ARRAY CGH DANS LE SYNDROME D'AICARDI

A.A. Khan (1), A.C. Bursztejn (1, 2), C. Philippe (1, 2), P. Jonveaux (1, 2), C. Nemos (1)

(1) Laboratoire de génétique humaine – EA4368 – Faculté de médecine de Nancy – Nancy Université, Vandœuvre-Les-Nancy, France ; (2) CHU Nancy-Brabois, Vandœuvre-Les-Nancy, France  
Contact : cnemos@uhp-nancy.fr

Le syndrome d'Aicardi est un désordre neuro-développemental rare et sporadique, caractérisé par une triade clinique de spasmes infantiles, une agénésie du corps calleux, et des lacunes chorioretiniennes. Ce syndrome a été rapporté quasi-exclusivement chez des filles. Une hypothèse est que le syndrome est provoqué par une mutation hétérozygote dans un gène sur le chromosome X pour les cas féminins, qui provoque la létalité chez les mâles hemizygotés. Aucun gène n'a pu être incriminé malgré différentes approches : homologies phénotypiques, exploration d'un point de cassure d'une translocation X-autosome, études anatomo-cliniques, ou par puces génomiques de l'X. Après recherche du gène candidat sur le chromosome X, notre équipe a adopté une approche pangénomique grâce au 244k array CGH avec la résolution 9kb (construction génomique humaine 36, Genebank), pour 27 patients atteints du syndrome d'Aicardi. Les résultats ont été filtrés en employant différentes bases de données (DGV, DECHIPHER, UCSC et Ensembl) et en employant une méthodologie permettant d'évaluer la pertinence de la candidature des variations (CNV) découvertes au cours de l'étude. Nous avons étudié 74 variations qui ont été validées par qPCR et/ou séquençage. Notre travail a permis de mettre en évidence et de valider 5 délétions *de novo* (régions), 4 amplifications *de novo* (régions) et des variations du nombre de copies (12 régions héritées). Nous avons séquencé six régions génomiques suspectées d'intervenir dans l'étiologie du SAi : une séquence intronique du gène SORCS1 localisé en 10q25.1, les gènes VCX3A localisé en Xp22.31, TNMD localisé en Xq22.1, SACM1L en 3p31.31, GLRA3 en 3p21.31 et IBRDC2 en 6p22.3 chez les patientes, leurs parents et 30 patients contrôles. Nous rapportons ici l'ensemble des résultats de ces séquençages en discutant la pertinence des CNV et SNP découverts par rapport au phénotype du syndrome d'Aicardi.

**Mots-clés :** syndrome d'Aicardi, array CGH, CNV.

#### ■P056. MUTATIONS FAUX-SENS ET TRANSMISSION PÈRE-FILLE DANS LES HÉTÉROTOPES NODULAIRES PÉRI-VENTRICULAIRES AVEC MUTATION DU GÈNE FLNA

S. Moutton (1), P. Fergelot (1), I. Coupry (2), G. Solé (2), C. Hubert (2), J. Deforges (1), S. Devès (1), M.P. Cordier (3), A. David (4), L. Guyant-Marechal (5), B. Pan Petesh (6), P. Renou (7), O. Boute (8), F. Caux (9), C. Laroche-Raynaud (10), A. Toutain (11), P. Gelisse (12), A. Biraben (13), N. Philip (14), L. Villard (15), D. Lacombe (1), B. Arveiler (1, 2), C. Goizet (1, 2)

(1) Service de génétique médicale, Hôpital Pellegrin, Bordeaux, France ; (2) Laboratoire de génétique humaine, université Bordeaux 2, Bordeaux, France ; (3) Unité de génétique clinique, Hôpital Femme Mère Enfant, Bron, France ; (4) Service de génétique médicale, Hôpital Mère et Enfant, Nantes, France ; (5) Unité de génétique clinique, Hôpital Charles-Nicolas, Rouen, France ; (6) Laboratoire d'hématologie, CHU Cavale Blanche, Brest, France ; (7) Département de neurologie, Hôpital Pellegrin, Bordeaux, France ; (8) Service de génétique clinique, Hôpital Jeanne-de-Flandre, Lille, France ; (9) Service de dermatologie, Hôpital Avicenne, Bobigny, France ; (10) Département de pédiatrie médicale, Hôpital de la mère et de l'enfant, Limoges, France ; (11) Service de génétique clinique, CHU de Tours, France ; (12) Service des explorations neurologiques et épileptologie, Hôpital Gui de Chauliac, Montpellier, France ; (13) Unité

Vincent-Von-Gogh, Hôpital Pontchaillou, Rennes, France ; (14) Service de génétique médicale, Hôpital de la Timone, Marseille, France ; (15) Inserm U910, Marseille, France.

Contact : sebastienmoutton@hotmail.fr

Les protéines de la famille des filamines interagissent avec l'actine, jouant ainsi un rôle dans la structure du cytosquelette et la mobilité cellulaire. FLNA, le gène codant pour la filamine A, est situé sur le chromosome X. Les mutations de ce gène peuvent être responsables d'anomalies de migration neuronale de type hétérotopies nodulaires péri-ventriculaires (HNPV). Cette pathologie obéit à une transmission dominante liée à l'X. L'objectif de cette étude est de rapporter de nouvelles mutations chez des patients atteints de filaminopathie A, et de les corréler au phénotype clinique. Cette étude porte sur 22 cas, tous de sexe féminin, présentant des HNPV uni ou bilatérales. La recherche de mutation s'effectue chez le cas index par méthode indirecte (dHPLC ou HRM) ou par séquençage direct selon les exons, en débutant par les points chauds de mutation. Sur les douze mutations identifiées, la moitié entraîne l'apparition d'un codon stop de façon prématurée entre l'exon 22 et l'exon 47. Deux cas sont transmis par la mère avec dans l'un d'eux un phénotype différent entre la mère et la fille. Deux cas sont apparus *de novo* et dans 2 cas l'analyse familiale n'a pu être réalisée. Un cas est une mutation exonique avec effet sur l'épissage de l'exon 4 transmis par la mère. Les 5 autres mutations sont de type faux-sens dont 2 transmises par le père, 2 apparues *de novo* et 1 non documentée. Elles sont réparties plutôt au niveau du domaine de liaison à l'actine mais une patiente avec atteinte vasculaire (occlusion d'artère de rétine) a une mutation dans l'exon 8 et une autre est située dans l'exon 48. Les phénotypes cliniques sont variables quel que soit le type de mutation, y compris pour une mutation identique. Il faut noter que dans notre série il a presque été retrouvé autant de mutations faux-sens que de mutations entraînant un codon stop. La transmission père-fille a été décrite à une reprise dans la littérature et les cas décrits ici montrent l'intérêt de l'étude du père, d'autant plus que dans un cas, l'acide aminé substitué a été mis en cause chez un autre cas sporadique atteint d'hétérotopie. Il faudrait rechercher l'existence d'une mosaïque somatique expliquant la survie de ces hommes atteints. L'étude de cette série montre donc l'importance de l'étude des 2 parents avant d'affirmer le caractère *de novo* mais aussi qu'il existe une variabilité d'expression clinique selon la région du gène mutée et pour une même mutation une variabilité clinique importante.

**Mots-clés :** hétérotopie nodulaire péri-ventriculaire, FLNA, transmission père-fille.

#### ■P057. OBSERVATION FAMILIALE DE SYNDROME DE NOONAN PAR MOSAÏCISME GONADIQUE

S. Chafai Elaloui (1), C. Liger (2), I. Ratbi (1, 3), H. Cavé (2), A. Sefiani (1, 3)

(1) Département de génétique médicale, Institut National d'Hygiène, Rabat, Maroc ; (2) Département de Génétique, Hôpital Robert Debré, Paris, France ; (3) Centre de génomique humaine, Faculté de médecine et de pharmacie de Rabat, Université Mohammed V Souissi, Rabat, Maroc  
Contact : sihamgen@yahoo.fr

Le syndrome de Noonan est une affection génétique rare, caractérisée par une cardiopathie congénitale, un retard statural et une dysmorphie faciale particulière. Ses principaux diagnostics différentiels sont le syndrome de Costello et le syndrome CFC (syndrome cardio-facio-cutané). Chez environ la moitié des patients, ce syndrome est dû à des mutations faux-sens du gène PTPN11, résultant en un gain de fonction de la phosphotyrosine phosphatase SHP-2. Par ailleurs, des mutations d'autres gènes de la voie RAS MAPK (gènes KRAS, SOS1, et RAF1) ont été rapportées. Ce syndrome est transmis selon le mode autosomique dominant et environ 70 % des cas sont dus à des néo-mutations. Nous rapportons dans ce travail l'observation d'une famille consanguine marocaine ayant deux enfants ayant un phénotype de syndrome de Noonan. Il s'agit d'une famille ayant un premier enfant indemne, un garçon de 5 ans et un nourrisson de sexe féminin âgée d'un an ayant tous les deux une cardiopathie congénitale à type de sténose pulmonaire valvulaire et une dysmorphie particulière de syndrome de Noonan. Par ailleurs, les parents sont indemnes et ne présentent cliniquement aucun signe du syndrome de Noonan. Les études moléculaires faites chez les deux enfants malades ont montré qu'ils présentent tous les deux la mutation c.922A>G (p.Asn308Asp) du gène PTPN11 à l'état hétérozygote. L'étude moléculaire des parents a montré qu'aucun des deux ne portent cette mutation dans les cellules hématopoïétiques. Bien qu'une récurrence familiale fortuite ne puisse être exclue, il pourrait s'agir ici du premier cas de mosaïcisme germlinal rapporté dans cette pathologie. À travers cette observation, nous insistons sur l'importance de l'étude moléculaire pour confirmer le diagnostic de syndrome de Noonan et pour le conseil génétique de la famille.

**Mots-clés :** syndrome de Noonan, PTPN11, mosaïcisme gonadique.

**■P058. SYNDROME DE NOONAN ET GÈNE SOS1 : À PROPOS DE LA MUTATION W432R DE L'EXON 10 DU GÈNE SOS1 DÉCOUVERTE CHEZ UN ENFANT TUNISIEN**

R. Louati (1), M. Zenker (2), I. Trabelsi (3), T. Rebai (1), N.B. Abdelmoula (1)

(1) Laboratoire d'Histologie, Faculté de Médecine de Sfax, Tunisie ; (2) Human genetisches Institut, Erlangen, Allemagne ; (3) Service de Cardiologie, EPS Hedi Chaker Sfax, Tunisie Contact : rimel.007@gmail.com

Le syndrome de Noonan (NS) est une affection de développement qui n'est finit pas de livrer ses secrets biochimiques. Vu l'hétérogénéité génétique de ce syndrome, plusieurs gènes, dont les anomalies apparaissent conjointement responsables de ce syndrome, ont été incriminés. Nous citons en particulier, les gènes de la voie RAS -MAP Kinase. Notre étude a porté sur dix patients tunisiens non porteurs de mutations dans les gènes PTPN11 et K-RAS. Nous avons identifié chez l'un des patients, une mutation hétérozygote faux sens par séquençage bidirectionnel des exons hot spot du gène SOS1 codant pour un facteur d'échange nucléotidique GDP/GTP sur la protéine RAS. Cette mutation a été identifiée dans l'exon 10 du gène SOS1 qui code pour le domaine PH (Pleckstrin homology) de la protéine SOS1. Il s'agit d'une substitution tryptophane par une arginine en position 432 (W432R). Ce changement entraîne une altération du maintien de la forme auto inhibé du gène SOS1 tout en déstabilisant le domaine DH (Dbl homology) de la protéine SOS1. En effet le phénotype associé à la mutation SOS1 est généralement inclus dans le spectre du syndrome de Noonan avec présence notamment de sténose pulmonaire et de retard de croissance. Cette mutation illustre un nouveau mécanisme qui se traduit par une hyper activation de la voie RAS engendrant un gain de fonction à l'échelle protéique permettant d'expliquer encore la pathogénie de syndrome de Noonan.

**Mots-clés :** noonan, SOS1, voie RAS -MAP Kinase.

**■P059. MUTATION DE L'EXON 1 DU GÈNE PTPN11 CHEZ UN GARÇON TUNISIEN : CORRÉLATION GÉNOTYPE-HÉNOTYPE**

R. Louati (1), M. Zenker (2), I. Trabelsi (3), T. Rebai (1), N. Bouayed Abdelmoula (1)

(1) Laboratoire d'Histologie, Faculté de Médecine de Sfax, Tunisie ; (2) Human genetisches Institut, Erlangen, Allemagne ; (3) Service de Cardiologie, EPS Hedi Chaker Sfax, Tunisie Contact : rimel.007@gmail.com

Au cours ces dernières années, le regroupement des données cliniques et les avancées de la génétique moléculaire ont permis d'analyser les gènes candidats impliqués dans la pathogénèse du syndrome de Noonan. Ce syndrome est génétiquement et cliniquement hétérogène. Sa transmission suit un mode autosomique dominant. Il se caractérise par une dysmorphie faciale distinctive associée à des cardiopathies congénitales dont la plus fréquente est la sténose pulmonaire. Notre étude a porté sur dix patients tunisiens porteurs d'une sténose pulmonaire avec une dysmorphie faciale évocatrice du syndrome de Noonan. Elle a consisté à un séquençage bidirectionnel de la totalité de la région codante (15 exons) et les régions introniques flanquantes du gène PTPN11 qui code pour une protéine phosphatase shp2. Nous avons ainsi identifié plusieurs mutations dont une mutation assez rare touchant l'exon 1. Il s'agit d'une mutation hétérozygote faux sens, située au niveau de l'exon 1 du gène PTPN11 codant le domaine N terminal (Nh2) et entraînant la substitution de Thréonine en Isoleucine à la position 5 (c. c. C5T) déstabilisant la protéine shp2. Nous rapportons le phénotype du garçon porteur de cette mutation assez rare et nous le comparons avec les données de la littérature.

**Mots-clés :** Noonan, PTPN11, sténose pulmonaire.

**■P060. ÉTUDE CLINIQUE ET GÉNÉTIQUE DU SYNDROME DE NOONAN AU SÉNÉGAL : À PROPOS DE DEUX OBSERVATIONS**

R. Ndiaye (1, 2), S. Ngom (2), I.B. Diop (3), A. Dieye (4), P.A. Diop (1), O. Faye (2), J.M. Afoutou (2)

(1) Laboratoire de Biochimie Pharmaceutique, Faculté de Médecine et Pharmacie, Université Cheikh Anta Diop, Dakar, Sénégal ; (2) Laboratoire de Cytologie, Cytogénétique et biologie de la reproduction, Hôpital Aristide-Le-Dantec, Dakar, Sénégal ; (3) Clinique de Cardiologie, Hôpital Aristide Le Dantec, Dakar, Sénégal ; (4) Service de la Coopération Internationale, Université Cheikh Anta Diop, Dakar, Sénégal Contact : dabafr@yahoo.fr

Le syndrome de Noonan est un syndrome dysmorphique rare, autosomique dominant, dont la prévalence est estimée entre 1/1 000 et 1/2 500 naissances vivantes. La maladie se caractérise par une petite taille, un retard pubertaire, des malformations cardiaques congénitales et plusieurs

anomalies mineures telles que l'hypertélorisme, des oreilles mal orientées, un cou palmé, une diathèse saignante, une cryptorchidie chez les garçons, un retard mental et des problèmes auditifs. Ce syndrome est connu pour avoir des similarités morphologiques avec le syndrome de Turner qui est associé à une aberration chromosomique 45,X tandis que dans le syndrome de Noonan, le caryotype est normal dans la majorité des cas. C'est la raison pour laquelle le caryotype constitue un élément déterminant dans le diagnostic différentiel entre ces deux syndromes. En 2001, Tartaglia et al rapportèrent que le syndrome est causé par des mutations non sens hétérozygotes du gène PTPN11 (Protein Tyrosine Phosphatase Nonreceptor type 11) localisé dans la région 12q24 du chromosome 12. Dans plus de 50 % des patients, ils identifièrent des mutations dans le gène PTPN11. Ce gène est largement exprimé dans divers tissus humains, spécialement dans le cœur, le cerveau et les muscles squelettiques. Nous avons réalisé une étude clinique et génétique chez deux patientes atteintes de syndrome de Noonan cliniquement diagnostiqué et actuellement suivi au Service de cardiologie de l'Hôpital Aristide Le Dantec. Concernant l'étude génétique, nous avons réalisé chez nos deux patientes le caryotype pour faire le diagnostic différentiel avec le syndrome de Turner. Ensuite nous avons recherché des mutations du gène PTPN11 en réalisant le séquençage des exons 3, 8, 11 et 13 retrouvés les plus fréquemment mutés dans la littérature. Les résultats de l'étude clinique ont mis en évidence chez nos deux patientes des signes dysmorphiques communs tels qu'un retard staturopondéral, un hypertélorisme, un cou palmé, des oreilles bas implantées, des déformations de la cage thoracique. Les anomalies cardiaques associées sont à type de cardiomégalie associée ou non à un rétrécissement mitral. Concernant l'étude génétique, les caryotypes réalisés chez nos deux patientes sont normaux (46, XX) ce qui exclut le syndrome de Turner. Le séquençage des exons cibles du gène PTPN11 pour la mise en évidence des mutations est en cours.

**Mots-clés :** syndrome de Noonan, clinique, génétique.

**■P061. ÉTUDE ÉPIDÉMIOLOGIQUE ET GÉNÉTIQUE DES MALFORMATIONS OCULAIRES : ANALYSE DE 140 CAS ENTRE 1995 ET 2004 À PARTIR DU REGISTRE DE MALFORMATIONS CONGÉNITALES D'ALSACE**

B. Doray (1, 2), C. Cordier (1), B. Dott (2), D. Badila-Timbolschi (2), M. Fradin (2), E. Le Boette (2), Y. Perdomo Trujillo (3), V. Pelletier (3), Y. Alembik (2), R. Favre (4), I. Nisand (5), C. Speeg-Schatz (6), D. Astruc (7), B. Gasser (8), V. Lindner (8), E. Flori (2), F. Girard-Lemaire (2), H. Dollfus (1, 2, 3)

(1) Laboratoire de Génétique Médicale, Équipe Avenir INSERM, Faculté de Médecine, Strasbourg, France ; (2) Fédération de Génétique, Strasbourg, France ; (3) Centre de référence des Affections Rares en Génétique Ophthalmique (CARGO), Strasbourg, France ; (4) Service de Gynécologie-Obstétrique, CMCO, Schiltigheim, France ; (5) Département de Gynécologie-Obstétrique, Hôpital de Hautepierre, Strasbourg, France ; (6) Service d'Ophthalmologie, Nouvel Hôpital Civil, Strasbourg, France ; (7) Service de Pédiatrie II, Hôpital de Hautepierre, Strasbourg, France ; (8) Service d'Anatomie Pathologique, Centre Hospitalier Général, Mulhouse, France

Contact : berenice.doray@neuf.fr

Objectifs : Analyser les données cliniques, génétiques et épidémiologiques des malformations oculaires, en particulier microphthalmie et cataracte, dans le département du Bas-Rhin (Alsace, France) et évaluer l'efficacité et l'impact du diagnostic prénatal. Méthodes : 140 dossiers de malformations oculaires sont collectés au sein du Registre de Malformations Congénitales au cours de la période 1995-2004. Résultats : La prévalence globale des anomalies oculaires est de 1,1 pour 1 000 naissances. Ces malformations se répartissent en 74 cas (53 %) de dysgénésies du segment antérieur, 41 cas (29 %) de malformations du spectre microphthalmie-Anophthalmie-Colobome, 12 cas (9 %) d'anomalies lacrymo-palpébrales, 8 cas (6 %) de malformations rétiniennes de type dysplasie rétinienne ou choriorétnite et 5 cas (3 %) d'albinisme oculo-cutané. Parmi ces 140 enfants, 104 (74 %) sont vivants à l'âge de 2 ans, 11 sont décédés dans la période post-natale (8 %) et 2 (2 %) sont morts-nés. Une interruption médicale de grossesse a été pratiquée dans 23 cas (16 %). Concernant le diagnostic prénatal, la malformation oculaire n'est diagnostiquée à l'échographie anténatale que chez 5 fœtus (2 cas d'anophthalmie, 2 cas de cyclopie et 1 cas de cataracte). Une analyse détaillée est réalisée pour les cataractes et les microphthalmies-anophthalmies. 53 cataractes (38 %) sont rapportés, ce qui correspond à une prévalence globale de 0,4 pour 1 000 naissances. La cataracte est unilatérale dans 47 % des cas. Elle est isolée dans 14 cas (26,5 %), associée à d'autres malformations oculaires dans 14 cas (26,5 %) et associées à des malformations extra-oculaires dans le cadre d'associations ou de



syndromes malformatifs dans 25 cas (47 %). Un syndrome chromosomique est identifié dans 28 % des cas : trisomie 21 (3 cas), trisomie 13 (2 cas), trisomie 18 (1 cas), microdélétion 22q11.2 (1 cas). Sont également diagnostiqués 1 syndrome de Walker-Warburg, 1 cas de dermatopathie restrictive, 2 cas de maladie de Steinert congénitaux, 1 cas de galactosémie et 1 cas de dysplasie septo-optique. 28 cas de microphthalmie-anophthalmie sont recensés (20 %), aboutissant à une prévalence globale de 0,2 pour 1 000 naissances. La microphthalmie est unilatérale dans 68 % des cas. Isolée dans 1 cas seulement (4 %), elle est associée à d'autres malformations oculaires dans 6 cas (21 %) et associées à d'autres malformations dans le cadre d'associations ou de syndromes malformatifs dans 21 cas (75 %). Un syndrome chromosomique est identifié dans 29 % des cas. Conclusion : Cette étude, dont les résultats sont comparés aux données de la littérature, révèle une prévalence globale élevée des anomalies oculaires de 1,1 pour 1000 naissances. Le diagnostic prénatal reste extrêmement difficile. La cataracte et la microphthalmie représentent les malformations les plus fréquentes chez le fœtus et le nourrisson. Volontiers syndromiques, leur découverte impose la réalisation d'un bilan malformatif et génétique complet.

**Mots-clés :** malformations oculaires, épidémiologie et génétique, registre.

**■P062. ANIRIDIE ATYPIQUE ET CATARACTE BILATÉRALE CHEZ UN PATIENT PORTEUR D'UNE INVERSION-DUPLICATION DE LA RÉGION 11P13, IMPLIQUÉE DANS LE SYNDROME WAGR**  
S. Whalen (1), B. Keren (1), D. Héron (1), P. Dureau (2), V. Bricou (1), B. Benyahia (1)

(1) Département de génétique, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France ;  
(2) Département d'ophtalmologie, Hôpital Rothschild, Paris, France  
Contact : sandrew2001@yahoo.com

Introduction : L'aniridie est caractérisée par une hypoplasie partielle ou totale de l'iris. Cette malformation est le plus souvent autosomique dominante avec pénétrance complète et expressivité variable, mais apparaît également de manière sporadique dans 30 % des cas. À ce jour, PAX6 est le gène majeur impliqué dans l'aniridie, associée ou non à d'autres anomalies oculaires. L'aniridie peut être isolée ou bien associée à d'autres signes oculaires ou extra-oculaires. Une des causes d'aniridie syndromique est le syndrome WAGR (Wilm's tumor, Aniridie, Genital abnormalities, mental Retardation), secondaire à une délétion en 11p13. Cette région comprend en particulier le gène PAX6, intervenant dans le développement oculaire, et le gène WT1, dont la délétion peut être responsable de l'apparition de tumeur de Wilms. Patient et méthodes : Nous présentons le cas d'un garçon de 4 mois, né à terme après une grossesse normale. Ses parents sont non apparentés. À quelques semaines de vie, une leucocorie est notée, faisant diagnostiquer une cataracte bilatérale associée à une aniridie atypique. À l'examen, l'enfant présente les anomalies oculaires décrites, des particularités morphologiques faciales discrètes et une hypotonie axiale modérée. Il a bénéficié d'un caryotype avec analyse en FISH de la région 11p13 (sondes ciblant PAX6 et WT1). Résultats : Le caryotype sanguin standard s'est avéré normal. L'analyse en FISH en 11p13 a retrouvé une inversion duplication de cette région. Une analyse en puce à ADN chez l'enfant et les caryotypes sanguins parentaux sont en cours. Les échographies rénale, cardiaque et trans-fontanelle sont normales. Conclusion : Nous rapportons le cas d'un enfant avec aniridie atypique et cataracte bilatérale, dysmorphie faciale discrète et hypotonie axiale, qui présente une inversion duplication de la région 11p13, dont la délétion est responsable du syndrome WAGR. Très peu de cas de duplication de cette région sont décrits à ce jour. Des études complémentaires sont en cours et permettront de déterminer peut être si les gènes PAX 6 et WT1 en particulier sont entièrement dupliqués ou s'ils sont interrompus par l'anomalie. Ceci permettra de préciser l'implication de PAX6 dans le phénotype oculaire présenté par notre patient. À l'heure actuelle, se pose surtout la question d'un éventuel risque tumoral, par rapport au gène WT1. L'analyse en puce pourra peut être nous éclairer sur ce plan également.

**Mots-clés :** inversion-duplication 11p13, aniridie atypique.

**■P063. 101 MUTATIONS DE PAX6**

A. Vigouroux (1, 2), S. Ibois (1), J. Beaudou (1), N. Chassaing (1, 2), P. Calvas (1, 2)

(1) Service de Génétique Médicale CHU de Toulouse, France ; (2) CPTP UMR563 INSERM, Université de Toulouse, France  
Contact : calvas.p@chu-toulouse.fr

Les mutations du gène PAX6 de transmission dominante autosomique, sont responsables d'anomalies panculaires dont l'aniridie. Nous rapportons 101 mutations du gène PAX6 dans le contexte d'une anomalie du développement oculaire isolée ou associée. L'analyse de l'intégralité de

l'ADNc du gène est réalisée selon le schéma suivant : 1. Recherche de mutations ponctuelles des régions codantes par évaluation du profil d'élu-tion en DHPLC des exons 4, 5i, 5ii, 9-12 et séquençage des exons 6-8 et 13 et des profils variants, 2. Recherche de réarrangements par QMPSP incluant le gène WT1 3. Séquençage des exons non codant 1-3 en l'absence de mutations des parties codantes 4. Séquençage de l'ADNc dans les mutations des sites d'épissage ou régulateurs d'épissage. Génotypes. On recense 7 mutations faux-sens ; 38 non-sens ; 7 insertions, 17 délétions et 4 insertion/délétions intragéniques ; 6 délétions totales du gène dont 4 incluant le gène WT1. 22 mutations d'épissage. Globalement plus des deux tiers des mutations conduisent à un codon STOP prématuré. On recense de plus des variants non répertoriés dont la pathogénicité est incertaine. Plus de 85 % des mutations sont privées. Le taux de néomutation est environ d'un tiers. Phénotypes. L'affection est évolutive et panoculaire. Sont associés à des degrés variables : anomalies des paupières, sclérocornée, aniridie, hypoplasie irienne, colobome irien atypique, anomalie de Peters, iridogonio-dysgénésie, dysgénésie complexe du segment antérieur, cataracte, hypoplasie fovéale, colobome du nerf optique, anomalie de Morning Glory, microphthalmie modérée. Une forme hétérozygote composite s'accompagne de deux cas d'holoprosencéphalie alobaire dans une fratrie. Dans les formes hétérozygotes la dysrégulation glycémique peut être présente (non évaluable) comme les anomalies des voies olfactives (1 cas). Les retards mentaux sont surreprésentés (6 cas hors syndrome WAGR). Le syndrome de gène contigu lié à la délétion de PAX6 et de WT1 provoque dans cette série de quatre cas un seul syndrome WAGR contre trois aniridies isolées. Corrélations Génotype/Phénotype. Dans les formes familiales, la pénétrance est complète mais l'expressivité variable. L'haploinsuffisance est le mécanisme responsable dans près de 70 % des cas. On peut discuter des mutations d'impact plus modéré en particulier parmi les rares mutations faux-sens ou plus sévère dans les mutations privant la protéine du domaine de transactivation sans diminution des capacités de fixation à l'ADN. Conclusion. Cette série décrit 57 mutations originales. Classiquement responsable des aniridies, elles sont associées à un spectre malformatif plus large au sein duquel on doit remarquer l'atteinte rétinienne (hypoplasie fovéale) vectrice d'une malvoyance précoce. L'analyse de l'ADNc est utile à la détermination de l'impact des variations des séquences d'épissage.

**Mots-clés :** gène, dysgénésie, œil.

**■P064. SYNDROME OCULO-ECTODERMAL : DESCRIPTION D'UN NOUVEAU PATIENT ET REVUE DE LA LITTÉRATURE**

M. Vincent (1), M. Bigorre (2), J. Puechberty (1), M. Tournaire (1), J.P. Costalat (3), M. Girard (1), P. Sarda (1), D. Geneviève (1)

(1) Service de Génétique Médicale, de Cytogénétique et Plateforme ADN, Centre de Référence des Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs Sud-Languedoc Roussillon, Hôpital Arnaud-de-Villeneuve, Université Montpellier 1, Faculté de Médecine de Montpellier-Nîmes, CHRU de Montpellier, France ; (2) Service de Chirurgie Plastique Infantile, Hôpital Lapeyronie, CHRU de Montpellier, France ; (3) Service d'Imagerie Médicale, Hôpital Gui-de-Chauliac, CHRU de Montpellier, France  
Contact : misstimai@hotmail.com

Le syndrome oculo-ectodermal (OED) a été décrit pour la première fois par Toriello *et al.* en 1993 et n'a été observé depuis chez 15 patients. Sa description initiale associe une aplasie congénitale de scalp et des dermoïdes épibulbaires. D'autres signes semblent aujourd'hui s'y rapporter, tels que des kystes arachnoïdiens ou un granulome géant-cellulaire de la mandibule. Nous rapportons l'observation d'une jeune fille de 19 ans, issue de parents non apparentés, qui présente depuis la naissance une aplasie cutanée unique du vertex de 8 × 7 cm associée à des malformations capillaires et à une déformation des structures osseuses en regard. Elle a également des dermoïdes épibulbaire et irien de l'œil gauche, une hyperlaxité articulaire, une taille à -1DS et un périmètre crânien à -2DS. Son développement psychomoteur est dans la norme en dehors d'une dyslexie. L'IRM cérébrale met en évidence à gauche un kyste arachnoïdien temporal, une hypertrophie du plexus choroïde et un angiome pial temporal. La biopsie du cuir chevelu montre une histologie normale avec des follicules pileux en phase anagène. Cette patiente est le 16<sup>e</sup> cas de syndrome OED décrit dans la littérature. Ses principaux diagnostics différentiels sont le syndrome de Delleman et la lipomatose encéphalocrânio-cutanée. Certains auteurs suggèrent une origine commune à ces trois entités. Nous proposons pour le syndrome OED un mode d'hérédité autosomique dominant par mutations *de novo* du fait de l'absence de mariage entre apparentés pour les cas décrits, de l'absence de récurrence dans une fratrie et du faible nombre de patients. Les bases moléculaires du syndrome OED ne sont pas connues à ce jour, une analyse par puces à ADN est actuellement en cours chez cette patiente afin de participer à leur identification.

**Mots-clés :** syndrome oculo-ectodermal, aplasie congénitale du scalp, dermoïde épibulbaire.



**■P065. ESTIMATION DU RISQUE DE MALFORMATIONS CONGÉNITALES MAJEURES OU MINEURES, DE RETARD MENTAL, DE SYNDROMES GÉNÉTIQUES DANS UNE COHORTE FRANÇAISE DE 15 162 ENFANTS CONÇUS PAR PRO-CRÉATION MÉDICALEMENT ASSISTÉE**

G. Viot

Unité de Génétique, Hôpital Cochin, Paris, France

Contact : geraldine.viot@cch.aphp.fr

Généralités : Trente trois centres de PMA, repartis sur toute la France, ont participé à cette étude appelée « Follow-up ». Des questionnaires médicaux ont été adressés aux parents à la naissance de leur enfant puis à l'âge de 4, 9, 12, 24, 36 et 48 mois. Ces questionnaires étaient remplis dans 1/3 des cas par le médecin traitant ou le pédiatre et dans les 2/3 restants par les parents. Résultats : 15 162 enfants ont été recrutés de 2002 à 2007. Le taux de perdus de vue était estimé à 5 %. Seuls 56 dossiers (0,2 %) étaient non exploitables. 501 enfants (3,30 %) présentaient une malformation majeure et une malformation mineure était retrouvée chez 1 145 enfants (12,55 %) pour une fréquence attendue inférieure à 9 % toutes malformations confondues. Cette augmentation s'explique partiellement par la fréquence accrue de malformations urogénitales (uropathies : 0,72 %, hypospadias : 0,37 %, cryptorchidie : 0,39 %), de cardiopathies (0,95 % versus 0,5 % dans la population générale) et de dysplasie de hanches (1 % versus 0,3 %). Concernant les malformations mineures retrouvées dans cette cohorte, les hémangiomes étaient rapportés chez 2,4 % des enfants (versus 0,5 %), touchant principalement les filles (sex ratio : 0,39). À notre connaissance, cette constatation n'a jamais été retrouvée chez les enfants nés par PMA. 110 enfants (0,72 %) présentaient une maladie génétique. Parmi eux, 6 souffraient d'un syndrome de Beckwith-Wiedemann (0,04 % versus 0,007 %), secondaire dans tous les cas à une anomalie de méthylation responsable d'une diminution d'expression de CDKN1C. 5 enfants présentaient un rétinoblastome (0,03 % versus 0,0066 %). Un retard psychomoteur était retrouvé chez 78 enfants (0,51 %) nés non prématurés et 27 enfants (0,51 %) nés avant 37 SA. Des complications liées à la prématurité ou d'origine obstétricale étaient identifiées chez 371 et 178 enfants respectivement. Conclusion : Dans cette très grande cohorte d'enfants nés après PMA, 99,8 % des dossiers étaient exploitables. Nous avons observé un excès de malformations urogénitales, de cardiopathies, de dysplasie de hanches. Les syndromes influencés par des facteurs épigénétiques apparaissent plus fréquents. De façon inattendue, le taux d'hémangiomes est significativement plus élevé dans cette cohorte, touchant principalement les enfants de sexe féminin. Cette étude est poursuivie avec l'envoi de nouveaux questionnaires à l'âge de 5 ans.

**Mots-clés :** malformations urogénitales, facteurs épigénétiques, angiomes.

**■P066. INTRACYTOPLASMIC SPERM INJECTION: WHAT ARE THE RISKS? A RETROSPECTIVE TUNISIAN STUDY**

A. Amouri (1), W. Ayed (1), N. Ounaies (1), N. Bouayed Abdelmoula (1), S. Hafsia (2), H. Elloumi (2), O. Kilani (2), A. Chaker (2), F. Zhioua (2), A. Zhioua (2)

(1) *Cytogenetic Laboratory and Research Unit EMGOOD (Etude des Maladies Orphelines d'Origine Génétique), Pasteur Institute of Tunis, Tunisia* ; (2) *Department of Obstetric and Gynaecology, Infertility and IVF Center, Aziza Othaman Hospital, Tunis, Tunisia*

Contact : amouri.ahlem@pasteur.rns.tn

Over a million children have been born from assisted reproductive technology (ART) worldwide. Children conceived through ART comprise as many as 1% to 2% of total births in some countries. Newer techniques being introduced appear less "natural", such as intracytoplasmic sperm injection (ICSI), but there is little information on these children beyond the neonatal period in Tunisian population. We aimed to perform a detailed assessment of children born from ICSI. One of the primary objectives of the study was to assess whether ICSI is associated with significant health problems. Here we report findings surrounding growth, morbidity, physical defects and karyotype in the 72 ICSI conceived children. The children conceived by ICSI examined had experienced an excess of malformations in the (boys') urogenital system. In addition, all karyotypes were normal except for one autosomal abnormality. A detailed physical examination revealed no further substantial differences between the groups. The results of this study on outcome of ICSI pregnancies are in line with earlier reports, except that no sex chromosome abnormalities were found. Assessment of singleton ICSI children was generally reassuring, however, we found that ICSI children presented with more congenital malformations and were more likely to need health care resources than naturally conceived children.

**Mots-clés :** karyotype, ICSI, chromosome abnormalities.

**■P067. ANALYSE DES SÉQUENCES CODANTES ET NON CODANTES DE RET ET DE GDNF CHEZ DES FETUS AVEC AGÉNÉSIE RÉNALE OU HYPODYSPLASIE RÉNALE SÉVÈRE**

C. Jeanpierre (1), G. Macé (1), M. Parisot (1), A. Pawtowsky (2), V. Morinière (2, 3), J. Martinovic (1, 4), M. Gonzales (5), J. Amiel (2, 6), C. Antignac (1, 2), R. Salomon (1, 3) et la Société Française de Foetopathologie (1) *Inserm U574, Université Paris-Descartes, Hôpital Necker, Paris, France* ; (2) *AP-HP, Département de Génétique, Hôpital Necker, Paris, France* ; (3) *AP-HP, Centre de Référence des Maladies Rénales Héritaires de l'Enfant et de l'Adulte (MARHEA), Hôpital Necker, Paris, France* ; (4) *AP-HP, Service d'Histologie-Embryologie-Cytogénétique, Hôpital Necker, Paris, France* ; (5) *AP-HP, Service de Génétique et Embryologie médicales, Hôpital Armand-Trousseau, Paris, France* ; (6) *Inserm U781, Université Paris-Descartes, Hôpital Necker, Paris, France*  
Contact : cecile.jeanpierre@inserm.fr

La voie de signalisation RET/GDNF joue un rôle crucial lors du développement du rein et du système nerveux entérique. Chez l'homme, des mutations activatrices de RET sont impliquées dans les néoplasies endocriniennes multiples, alors que des mutations inactivatrices sont responsables de la maladie de Hirschsprung. De plus, les souris invalidées pour RET ou GDNF présentent une agénésie ou une hypodysplasie rénale. Récemment, une équipe a rapporté une fréquence élevée de mutations de RET dans une petite cohorte de fœtus atteints d'agénésie rénale bilatérale ou unilatérale (9/29). Dans le but de mieux caractériser l'implication de RET et de son ligand GDNF dans les hypodysplasies rénales, nous avons étudié une cohorte de 96 fœtus atteints d'agénésie rénale bilatérale (60 cas), unilatérale (27 cas) ou d'hypodysplasie sévère (9 cas), responsable d'anamnios ou d'oligohydramnios sévère et ayant motivé l'interruption médicale de grossesse. L'étude a été approuvée par le conseil d'éthique et le consentement des parents a été obtenu. L'ADN a été extrait de tissus congelés (foie, poumon ou rate). Les séquences codantes et 3'UTR de RET et de GDNF, des séquences conservées au cours de l'évolution situées en 5' des deux gènes, ainsi qu'une séquence régulatrice située dans l'intron 1 de RET ont été séquencées. Dans la séquence codante de RET, nous avons identifié 6 variants non décrits : un variant non-sens, 3 variants faux-sens dont 2 touchant des acides aminés conservés (Polyphen) et 2 variants synonymes qui pourraient modifier l'épissage (Alamut, ESE finder). Chacun de ces variant était présent à l'état hétérozygote chez un patient. Nous avons montré que la mutation non-sens était transmise par le père qui ne présente pas d'anomalie rénale, suggérant qu'elle n'est pas suffisante pour expliquer l'agénésie rénale chez le fœtus. Le séquençage de GDNF, ainsi que de régions hautement conservées situées dans l'intron 1 et jusqu'à -100 kb en aval de RET n'a permis d'identifier aucun nouveau variant, mais plusieurs SNP dont les fréquences alléliques sont en cours d'étude. Enfin, des analyses de prédiction de fixation de micro-ARN sur les 3'UTR de RET et de GDNF (Segallab, RegRNA) ont permis d'identifier 3 SNP présents chez les patients et qui pourraient modifier la régulation par les micro-ARN. Cette étude montre que les mutations de RET et de GDNF sont peu fréquentes chez les fœtus avec agénésie rénale ou hypodysplasie sévère. Des délétions intragéniques doivent néanmoins être recherchées. De plus, des expériences doivent être réalisées pour tester l'effet des variants identifiés sur l'expression génique.

**Mots-clés :** développement rénal, RET/GDNF, séquences conservées.

**■P068. ANALYSE CYTOGÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE D'UNE DÉLÉTION INTERSTITIELLE DU BRAS COURT D'UN CHROMOSOME 12 : DEL(12)(P11P12) SURVENUE DE NOVO CHEZ UN GARÇON PRÉSENTANT UN RETARD MENTAL, DES TROUBLES DU COMPORTEMENT ET DES MALFORMATIONS CONGÉNITALES**

S. Zanasaoira (1, 3), H. Dollfus (2), M. Wagner (1), E. Ginglinger (1), E. Jeandidier (1)

(1) *Service de Génétique Centre Hospitalier de Mulhouse, France* ; (2) *Service de Génétique CHRU Strasbourg, France* ; (3) *Service de Pédiatrie Centre Hospitalier de Majunga, Madagascar*  
Contact : jeandidiere@ch-mulhouse.fr

Nous rapportons le cas d'un enfant de sexe masculin, issu de parents non consanguins, 4<sup>e</sup> d'une fratrie de 5, présentant à 2 semaines de vie des convulsions, un ictère discret associés à une hypotonie modérée de la tête ayant motivé la réalisation d'un caryotype. Celui-ci retrouve après marquage en bandes RHG une monosomie partielle 12p11p12 par délétion interstitielle. L'étude cytogénétique en haute résolution par incorporation de BrdU, associée à l'utilisation de sondes spécifiques et de puces ADN ont permis de préciser les limites et la taille de la délétion, qui est de 9,7 Mb. L'évolution phénotypique, grâce à la qualité de la prise en charge parentale du handicap est particulièrement bien documentée puisqu'un



suivi sur dix-huit ans a pu être réalisé. À 14 ans, les principaux éléments comprennent une microcéphalie (notion de fermeture précoce des fontanelles) ; un retard staturo-pondéral ; une dysmorphie faciale modérée, une anomalie de l'appareil auditif et un fond d'œil évocateur d'atrophie optique bilatérale. Très stimulé par son entourage, ce petit patient est scolarisé en classe de 4<sup>e</sup> à 14 ans et demi. Néanmoins, il présente un retard mental modéré, un retard de langage, des troubles du comportement avec des traits autistiques. Les données cytogénétiques moléculaires et phénotypiques sont comparées à celles de la littérature. Les modalités de la gestion du handicap par les parents, les difficultés rencontrées sont évoquées.

**Mots-clés** : délétion partielle 12p, retard mental, malformation congénitale.

#### ■P069. APPORT DE LA MLPA DANS LE DIAGNOSTIC MOLÉCULAIRE DES DÉSORDRES DU DÉVELOPPEMENT SEXUEL (DSD) ET DU SYNDROME CAMPOMÉLIQUE

D. Mallet (1), L. Michel-Calemard (1), V. Castera (2), J. Martinovic (3), C. Le Caignec (4), D. Gaillard (5), N. Magontier (6), A. Labalme (7), D. Sanlaville (7), Y. Morel (1)

(1) *Endocrinologie Moléculaire et Maladies Rares, Centre de Biologie et de Pathologie Est, Bron, France* ; (2) *Centre de Procréation Médicalement Assistée, Hôpital de la Conception, Marseille, France* ; (3) *Service d'Histo-Embryologie et de Cytogénétique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France* ; (4) *Service de Génétique Médicale, CHU de Nantes, Nantes, France* ; (5) *Service de Génétique et Biologie de la Reproduction, CHU de Reims, Reims, France* ; (6) *Service de Pédiatrie A, CHRU de Tours Hôpital Clocheville, Tours, France* ; (7) *Service de Cytogénétique Constitutionnelle, Centre de Biologie et de Pathologie Est, Bron, France*

Contact : delphine.mallet@chu-lyon.fr

Devant un 46, XY DSD, l'approche diagnostique repose sur le phénotype (organes génitaux externes complètement féminins à peu hypomasculinisés) et sur la fonction testiculaire (AMH, testostérone et précurseurs). Deux groupes sont distingués : les patients avec fonction testiculaire normale chez qui le gène AR est étudié et les patients avec fonction testiculaire anormale (dysgénésie gonadique à dysgénésie testiculaire). Chez ces derniers, la première démarche est le séquençage de SRY quand le phénotype est féminin complet, et de SF1 dans les autres cas. Chez les patients présentant un syndrome campomélique, le gène SOX9 est séquençé. Les duplications de DAX1 ou WNT4 peuvent également être à l'origine de 46, XY DSD. Ces anomalies de dose ne peuvent pas être mises en évidence par les techniques classiques de PCR et séquençage. Par ailleurs, lors du séquençage des gènes candidats, en l'absence de polymorphisme à l'état hétérozygote dans les régions étudiées, l'hypothèse d'une délétion du gène entier ou d'exons isolés ne peut pas être écartée. Avant le développement de la MLPA, la mise en évidence de ces remaniements reposait sur le Southern-blot et la PCR quantitative, techniques lourdes, nécessitant une mise au point longue. Le kit MLPA P185 intersex contient des sondes permettant de tester tous les exons des gènes DAX1, SOX9, SRY et WNT4. Depuis avril 2008 ont été ajoutées des sondes correspondant à la région 5'régulatrice du gène SOX9 et aux exons 1 et 3 à 6 du gène SF1 (kit P185-B1). Ce kit permet donc de rechercher en une seule fois les délétions ou duplications du gène entier, de certains exons isolés ou, dans le cas de SOX9, de la région régulatrice. Nous avons utilisé ce kit, après séquençage des gènes candidats, pour étudier 132 patients : 75 avec un 46, XY DSD sans mutation de SRY et SF1 et 47 avec un syndrome campomélique sans mutation de SOX9 (34 patients 46, XY et 23 patientes 46, XX). Pour 79 patients, l'étude a été réalisée au moins deux fois, notamment pour les patients avec une anomalie moléculaire identifiée. Pour 3 patients 46, XY avec un phénotype féminin complet, les anomalies concernent DAX1 : 2 sont porteurs d'une duplication du gène et 1 porteur d'une triplication. Ces résultats ont été confirmés par CGH-array. Des anomalies de SOX9 ont été identifiées chez 6 patients : 1 est porteur d'une délétion affectant les parties 5'UTR et promotrice du gène, 2 sont porteurs de délétions englobant le gène et une partie des régions régulatrices, et 3 ont des délétions concernant uniquement les régions 5'régulatrices. Enfin, des délétions d'exons de SF1 ont été identifiées chez 3 patients 46, XY avec un phénotype féminin complet. Grâce à la MLPA, l'anomalie moléculaire a été identifiée chez 12 patients avec un DSD ou un syndrome campomélique sur les 132 étudiés. La MLPA apparaît donc comme un outil majeur dans le screening de ces patients, même si l'interprétation est parfois délicate.

#### ■P070. DIAGNOSTIC POSTNATAL D'UNE REVERSION SEXUELLE LIÉE À UNE DÉLÉTION SUB-MICROSCOPIQUE DU BRAS COURT D'UN CHROMOSOME 9

M.C. Manca-Pellissier (1), C. Missirian (2), C. Popovici (2), A. Moncla (2)

M/S hors série n° 1, vol. 26, janvier 2010

(1) *Centre de diagnostic prénatal, Hôpital des Enfants de la Timone, Marseille, France* ; (2) *Laboratoire de cytogénétique, Hôpital des Enfants de la Timone, Marseille, France*

Contact : mcpellissier@ap-hm.fr

La patiente nous est adressée au terme de 13 SA en raison d'une mesure de clarté nucale à 12 SA supérieure à 3 mm. Nous pratiquons une placento-centèse pour caryotype fœtal. Le premier caryotype réalisé après technique directe ne montre pas d'aneuploïdie mais une inversion péricentrique du chromosome Y. Le caryotype réalisé chez le père montre le même remaniement : le couple est rassuré mais le deuxième caryotype réalisé après culture du placenta révèle, dans 40 % des cellules, outre l'inversion du chromosome Y, un autre remaniement, apparemment équilibré, interprété comme une inversion péricentrique d'un chromosome 9 (46, Xinv(Y)(p11.2;q11.2) inv(9)(p22.1;q34.3). Nous proposons un contrôle du caryotype fœtal par amniocentèse. La ponction de liquide amniotique a lieu à 19 SA et l'échographie morphologique est strictement normale. Le 3<sup>e</sup> caryotype fœtal retrouve l'inversion du chromosome Y dans toutes les cellules mais l'inversion du chromosome 9 dans moins de 10 % des cellules. Nous proposons au couple de poursuivre la surveillance échographique au centre de diagnostic prénatal de la Timone mais il refuse pour des raisons d'éloignement géographique. L'échographie réalisée par leur gynécologue à 22 SA est, a priori, normale ainsi que l'échographie cardiaque demandée en fonction du signe d'appel initial. L'enfant naît à 39 SA sans aucun problème particulier si ce n'est le sexe : il s'agit d'un phénotype féminin sans aucune ambiguïté. Le caryotype est contrôlé sur lymphocytes : on retrouve bien le chromosome Y inversé dans toutes les cellules. Mais en raison de la réversion sexuelle et de l'inversion du 9 trouvée sur le placenta une HIS est réalisée qui retrouve une délétion sub-microscopique du bras court d'un chromosome 9 dans 100 % des cellules. On retrouve dans 4 % des cellules un remaniement complexe dérivé du chromosome 9 à type de délétion 9pter et duplication 9qter. L'enfant est vue en consultation dans le service à l'âge de 3 mois : elle a un développement psychomoteur strictement normal et n'a aucune dysmorphie particulière. Des investigations complémentaires en technique de CGH microarrays sont en cours pour caractériser ce remaniement du chromosome 9.

**Mots-clés** : réversion sexuelle, délétion, diagnostic prénatal.

#### ■P071. SYNDROME D'APERT : PREMIER CAS D'UNE DÉLÉTION INTRONIQUE C.940-676\_940-5DEL DANS LE GÈNE FGFR2

S. Julia (1), J. Aziza (2), S. Kesler (3), C. Assouline (3), M. Lenne (4), V. Brebret (4), F. Di Rocco (5), D. Renier (5), J.L. Laplanche (4), C. Collet (4)

(1) *Service de Génétique Médicale, Hôpital Purpan, Toulouse, France* ; (2) *Service d'Anatomie Pathologique, Hôpital Purpan, Toulouse, France* ; (3) *Fédération de Gynécologie-Obstétrique, Hôpital Paule de Viguier, Toulouse, France* ; (4) *Service de Biochimie et de Biologie Moléculaire, Hôpital Lariboisière, Paris, France* ; (5) *Service de Neurochirurgie pédiatrique, Hôpital Necker, Paris, France*  
Contact : corinne.collet@lrh.aphp.fr

Le syndrome d'Apert ou acrocéphalosyndactylie est une malformation majeure de transmission autosomique dominante, associant une cranioostéose (fermeture prématurée des sutures coronales), des anomalies faciales (hypoplasie malaire, face large, hypertélorisme, exorbitisme et nez en bec) et une syndactylie osseuse et membranaire symétrique des pieds et des mains (aspect en moufle des extrémités). La prévalence est estimée à 1 pour 65 000 naissances. La plupart des cas sont sporadiques avec mise en évidence d'un effet de l'âge paternel. Plus de 98 % des cas des syndromes d'Apert sont dues à des mutations spécifiques dans le gène FGFR2 (récepteur du facteur de croissance fibroblastique de type 2 : chr10q26) impliquant des aminoacides adjacents (ie, Ser252Trp, Ser252Phe, Pro253Arg). Les autres anomalies possibles sont, soit dues à une insertion d'élément ALU dans ou près de l'exon 10 du gène FGFR2 (3 cas décrits), soit due à une large délétion hétérozygote de 1.93-kb (1 cas décrit), responsable d'une perte de l'exon 10 et d'une partie des régions introniques flanquantes. Les exons 8 à 10 codent pour le troisième domaine variable immunoglobuline-like de FGFR2. L'affinité du récepteur pour les différents FGFs est modulée selon les tissus par des épissages alternatifs qui affectent la séquence de cette région. Nous rapportons le cas d'un syndrome d'Apert, évoqué à la 23<sup>e</sup> semaine d'aménorrhée, sur signes échographiques révélant une cranioostéose associée à des syndactylies osseuses et membranaires des quatre extrémités. Après extraction de l'ADN fœtal post-IMG, les premiers résultats ont conclu à l'absence des mutations p.Ser252Trp et p.Pro253Arg. L'analyse de la séquence située en amont de l'exon 10, a permis de mettre en évidence une délétion hétérozygote intronique d'environ 700 pb dont la position exacte a été précisée, NM\_000141.4 c.940-676\_940-5del. Il s'agit de la première délétion intronique associée

à un syndrome d'Apert. Il est probable qu'elle ait la même conséquence que la délétion connue de 1,93 Kb touchant l'exon 10 et ses régions flanquantes ou de l'insertion ALU décrite dans le même exon. Ces trois anomalies moléculaires pourraient agir selon un mécanisme gain-de-fonction provoqué par l'expression dans le mésenchyme d'un transcrypt alternatif illégitime de FGFR2 contenant l'exon 9 codant le domaine IgIIIb.

**Mots-clés :** Apert, craniosténose, FGFR2.

**■P072. UNE MUTATION RARE DU GÈNE ACVRI CHEZ UN PATIENT MAROCAIN ATTEINT DE LA FIBRODYSPLASIE OSSIFIANTE PROGRESSIVE**

I. Ratbi (1, 2), R. Boccardi (3), A. Regragui (1), R. Ravazzolo (3, 4), A. Sefiani (1, 2)

(1) Département de Génétique Médicale, Institut National d'Hygiène, Rabat, Maroc ; (2) Centre de Génomique Humaine, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Université Mohamed V Souissi, Rabat, Maroc ; (3) Laboratoire de Génétique Moléculaire, Institut G.-Gaslini, Genova, Italie ; (4) Département de Pédiatrie et CEBR, Université de Genova, Italie  
Contact : ilhamratbi@yahoo.fr

La fibrodysplasie ossifiante progressive (FOP, MIM 135100), ou myosite ossifiante est une maladie génétique très rare du tissu conjonctif. Son incidence est estimée à près de 1 sur 2 millions d'individus. Elle est caractérisée par une malformation congénitale des gros orteils et une ostéogenèse hétérotopique invalidante progressant selon un mode anatomique précis. Son mode de transmission est autosomique dominant avec une pénétrance complète mais une expression variable. Toutefois, La majorité des cas sont sporadiques. Le gène impliqué dans la FOP est l'activin receptor type IA (ACVR1), cloné en 2006 en 2q23-24. Il code pour un récepteur des protéines osseuses impliqué dans la régulation du développement et du remodelage osseux. La majorité des cas familiaux et sporadiques de FOP classique rapportés sont hétérozygotes pour la même mutation (c.617G>A ; p.Arg206His). D'autres mutations hétérozygotes plus rares ont été identifiées chez un patient japonais (c.1067G>A ; p.Gly356Ser) et deux patients italiens (c.774G>C ; p.Arg258Ser). Nous rapportons l'observation d'un patient marocain âgé de 12 ans, atteint d'une forme sévère de FOP, chez lequel la mutation récurrente du gène ACVR1 n'a pas été retrouvée. L'analyse moléculaire des autres exons nous a permis d'identifier chez lui une autre mutation hétérozygote rare (c.774G>T ; p.Arg258Ser).

**Mots-clés :** FOP, ossification hétérotopique, ACVR1.

**■P073. MALFORMATIONS CONGÉNITALES ASSOCIÉES AUX ANOMALIES DE RÉDUCTION DES MEMBRES**

C. Stoll, M.P. Roth, Y. Alembik, B. Dott  
Laboratoire de Génétique Médicale Faculté de Médecine, Strasbourg, France  
Contact : claude.stoll@medecine.u-strasbg.fr

Objectifs : Les enfants nés avec des anomalies de réduction des membres (ARM) ont souvent d'autres malformations congénitales associées à leurs ARM. Il a été rapporté une grande variation de la fréquence et du type de ces anomalies associées. Le but de cette étude est de déterminer la prévalence ainsi que la fréquence et le type des malformations associées aux ARM. Matériel et méthodes : Le matériel pour cette étude provient de notre registre de malformations congénitales. 347 810 naissances consécutives ont été enregistrées durant la période d'étude, 1979 à 2004, incluant les nés vivants, les mort-nés et les interruptions de grossesse après diagnostic prénatal de malformations congénitales. Résultats : 271 enfants ou fœtus ayant des ARM ont été enregistrés, soit une prévalence de 7,8 pour 10 000 ; 58 % d'entre eux ont des malformations associées. Parmi ces dernières les plus fréquentes sont les cardiopathies congénitales et les anomalies génitales suivies des malformations du système nerveux central, des malformations rénales et digestives. 17 (6,3 %) des patients sont porteurs d'une anomalie chromosomique dont la moitié sont des trisomies 18 ; 62 (23 %) des patients ont des entités connues, non chromosomiques dont les plus fréquentes sont l'association VA(C)TER(L), le syndrome de Poland et les bandes amniotiques ; 78 (29 %) des patients sont des polymalformés sans syndrome reconnu. Le diagnostic prénatal a été fait chez 48 % des fœtus porteurs de malformations associées et dans 25 % des ARM isolées. Discussion : La fréquence des ARM associées à d'autres malformations congénitales est plus élevée dans notre étude que dans les autres séries rapportées, aussi bien globalement que dans les diverses catégories d'ARM associées. Les causes en sont multiples. Conclusion : La prévalence élevée des malformations associées aux ARM (58 %) démontre la nécessité de rechercher soigneusement d'autres malformations, surtout cardiaques, urogénitales, du système nerveux central et digestives chez tout enfant ayant des ARM, en particulier en période prénatale. Les

malformations associées aux ARM peuvent souvent, une fois sur deux, être reconnues comme une entité connue.

**Mots-clés :** anomalies de réduction des membres, malformations congénitales, anomalies congénitales.

**■P074. NEW DOMINANT OSTEOCHONDRODYSPLASIA WITH BRACHYDACTYLY AND SHORT HUMERUS**

D. Lacombe (1), M.A. Delrue (1), B. Arweiler (1), S. Mundlos (3), A. Tournain (4), J.F. Chateil (2)

(1) Dept. Genetics, CHU Bordeaux, Université de Bordeaux, France ; (2) Dept. Radiology, CHU Bordeaux, Université de Bordeaux, France ; (3) Dept. Genetics, Charité Hospital, Berlin, Germany ; (4) Dept. Genetics, CHU Tours, France

Contact : didier.lacombe@chu-bordeaux.fr

We report a three-generation family affected with a chondrodysplasia transmitted as an autosomal dominant trait. The phenotype mainly associates short humerus, incurvation of radius and brachydactyly and is not already reported to the best of our knowledge. Enzo was born at 39 WG by cesarean section, after a pregnancy marked by ultrasound identification of shortness of humeri (< 3<sup>o</sup> centile). At birth, weight was 3,000 g, height was 50 cm, and OFC was 35.5 cm. Examination showed short arms, a radial deviation of hands, and brachydactyly. At age 7 months, height was 68 cm and weight 8.6 kg. Mental development were normal. X-rays noted short humerus, incurvation of radius with hypoplasia of the proximal part of the ulna, short metacarpals except abnormally shaped second one (probable fusion between 1st and 2nd metacarpals), short 2nd, 4th, and 5th middle phalanges, and short metatarsals. Audiogram was normal. This was the first child of a 31-year mother. Her height was 154 cm, weight was 51 kg, and OFC 56 cm. She had short arms, a radial angulation of forearms, brachydactyly of hands and feet with short second phalanges of hands. X-rays showed short and broad humerus, incurvation of radius with relative hypoplasia of the lateral condyle, short metacarpals, short 2nd, 4th, and 5th second phalanges, and short 1st, 4th and 5th metatarsals. Vertebrae were normal. She had a normal hearing. She had two brothers, one affected and one non-affected. Height of the affected brother was 180 cm. He had the same skeletal phenotype including triphalangeal thumbs and associated a mixed deafness. The great-mother also had the same osseous dysplasia with brachydactyly and short second phalanges. Her height was 155 cm and she had a limitation of pronosupination. She had a deafness since age 15 years. She also had a brother affected with the same chondrodysplasia and a height of 160 cm. This combination of skeletal features does not fit into any identified phenotype. The brachydactyly is closed to the A1 type (Farabee) of brachydactyly due to IHH gene mutations. A mutation was excluded by sequencing of the entire coding regions in the IHH gene encoding the Indian Hedgehog protein and in the GDF5 gene in Enzo and in his mother. It seems to be a new chondrodysplasia phenotype or part of the A1 brachydactyly spectrum.

**Mots-clés :** osteochondrodysplasia, short humerus, autosomal dominant.

**■P075. LA MALADIE DES SYNOSTOSES MULTIPLES : À PROPOS D'UN CAS**

Y. Doubaj (1), S. Chafai Elalaoui (1), I. Ratbi (1, 2), A. Sefiani (1, 2)  
(1) Département de génétique médicale, Institut National d'Hygiène, Rabat, Maroc ; (2) Centre de Génomique Humaine, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Université Mohamed V Souissi, Rabat, Maroc  
Contact : sihamgen@yahoo.fr

La maladie des synostoses multiples est une maladie rare décrite chez environ une vingtaine de familles dans le monde. Elle est caractérisée par une ankylose précoce intéressant en premier les articulations interphalangiennes, avec une évolution radio-cubitale et proximo-distale. La surdité peut survenir à un âge précoce par atteinte des osselets de l'oreille. Les enfants atteints présentent une discrète dysmorphie faciale avec une raideur en regard des articulations atteintes. Le retentissement fonctionnel est plus ou moins important selon le niveau et le degré de l'atteinte. Le diagnostic est posé radiologiquement en montrant un rétrécissement de l'interligne entre les phalanges voire une symphalangie, un défaut de modelage des métacarpiens, une fusion des os du carpe et des os du tarse, associée ou non à une atteinte du coude. Sur le plan génétique, cette maladie se transmet selon le mode autosomique dominant avec une expression variable. Des mutations des gènes FGF9, SYM1 et GDF5 ont été rapportées, chez les patients ayant cette maladie. Nous présentons dans ce travail l'observation d'une patiente âgée de 2 ans et demi, non consanguine, deuxième d'une fratrie de deux, adressée en consultation de génétique pour anomalies des membres. À l'examen, on note l'absence des espaces interphalangiens proximaux au niveau des mains, des pieds bots et un chevauchement des



3<sup>e</sup> et 4<sup>e</sup> orteils. Le bilan radiologique nous a permis de poser le diagnostic de maladie des synostoses multiples en montrant une brachymétopie des premiers métacarpiens, une synostose du gros os et de l'os crochu, une synostose des phalanges proximales des 2<sup>e</sup>, 3<sup>e</sup>, 4<sup>e</sup> et 5<sup>e</sup> métacarpiens, associées à une synostose astragalo-calcanéenne. Les parents de la patiente sont cliniquement indemnes. La prise en charge de cette maladie est multidisciplinaire en particulier orthopédique, neurologique et auditive.

**Mots-clés** : syndrome facioaudiosymphalangisme, synostoses multiples, autosomique dominant.

#### ■P076. HYPERTENSION INTRACRÂNIENNE : UNE COMPLICATION RARE DE LA PLYCNOHYDROSTOSE

S. Osimani (1, 2), I. Husson (3), S. Passemard (1, 4), M. Elmaleh (5), L. Perrin (1), C. Quelin (1), I. Marey (1), O. Delalande (6), A. Verloes (1, 4)

(1) *Department of Genetics, AP-HP Robert DEBRÉ University Hospital, Paris, France* ; (2) *Dipartimento di Biologia Generale e Genetica Medica, Università di Pavia, Pavia, Italy* ; (3) *Department of Pediatric Neurology, AP-HP Robert Debré University Hospital, Paris, France* ; (4) *INSERM U676, France* ; (5) *Department of Pediatric Radiology, AP-HP Robert-Debré University Hospital, Paris, France* ; (6) *Neurosurgery Department, Adolphe de Rothschild Foundation, Paris, France*  
Contact : [alain.verloes@rdb.aphp.fr](mailto:alain.verloes@rdb.aphp.fr)

Les signes peu pénétrants d'une affection génétique rare sont souvent mal connus, car la probabilité qu'ils soient publiés est faible lorsque l'affection est suffisamment rapportée dans la littérature. Nous rapportons un garçon de 7 ans chez qui le diagnostic de pycnodysostose a été posé cliniquement, et confirmé par l'identification d'une mutation c.436G>C (p.G146R) dans CSTK. Ce patient a développé une hypertension intracrânienne (HTIC) sévère, dont le traitement a nécessité une décompression chirurgicale. Cette HTIC a été mise en relation avec une craniosynostose coronale et métopique observée alors que les fontanelles restaient largement perméables et que les autres sutures étaient bien ouvertes. La coexistence d'une HTIC et d'une craniosynostose n'a été précédemment rapportée que chez un seul enfant atteint de pycnodysostose. Les manifestations tardives s'expliquent peut-être par un effet protecteur de la fontanelle persistante sur le développement de l'HTIC. Notre observation confirme le risque de complications neurochirurgicales tardives dans la pycnodysostose. Un fond d'œil devrait être proposé régulièrement dans le suivi des enfants souffrant de cette affection.

**Mots-clés** : pycnodysostose, hypertension intracrânienne.

#### ■P077. LE SYNDROME DE SECKEL : UN NOUVEAU CAS FAMILIAL TUNISIEN

M. Trabelsi (1), Y. El Aribi (1), R. Meddeb (1), H. Jilani (1), F. Maazoul (1), L. El Euch (1), I. Chelly (1), I. Ouertani (1), M. Chaabouni (1), F. Houas (2), L. Ben Jemaa (1), R. M'rad (1), H. Chaabouni (1)  
(1) *Service des Maladies Congénitales et Héritaires, Hôpital Charles Nicolle, Tunis* ; (2) *Service de Pédiatrie PUC, Hôpital d'enfants, Tunis*  
Contact : [mediha\\_tr@yahoo.fr](mailto:mediha_tr@yahoo.fr)

Le syndrome de Seckel est le plus fréquent des nanismes ostéodysplasiques avec microcéphalie. Il est caractérisé par un nanisme harmonieux à début anténatal, une microcéphalie et une dysmorphie faciale dite en tête d'oiseau, associés ou non à des anomalies hématologiques et chromosomiques. Le diagnostic différentiel se pose essentiellement avec le nanisme ostéodysplasique avec microcéphalie de type II (MOPD II). Le syndrome de Seckel est transmis sur un mode autosomique récessif et est hétérogène sur le plan génétique. En effet, jusqu'à présent trois loci sont impliqués : le SCKL1, localisé en 3q22.1-q24 et correspondant au gène ATR, le SCKL2, identifié en 18p11.31-q11.2 et le SCKL3, localisé en 14q23. Ce syndrome est très rare et à ce jour, moins de 25 familles ont été publiées comportant deux enfants atteints ou plus. Nous décrivons dans ce travail le cas d'un frère et d'une sœur, âgés respectivement de 3 ans et de 1 mois, qui présentent un syndrome de Seckel. Ils sont issus d'un mariage consanguin du premier degré sans descendance saine. L'interrogatoire retrouve chez le garçon la notion de fermeture prématurée de la fontanelle antérieure (FA) et chez les deux patients un RCIU avec un poids de naissance à 1 650 g. L'examen clinique chez le garçon et la fille retrouve le retard de croissance harmonieux (T à -5.3 et -4DS, respectivement), la microcéphalie (PC à -9 et -6DS, respectivement) avec FA fermée, et la dysmorphie faciale avec un front fuyant, une dépression bitemporale, une saillie de la suture métopique, des yeux globuleux, un nez en bec, et un philtrum effacé. L'examen clinique a également révélé des anomalies squelettiques mineures à type de brachydactylie, clinodactylie du 5<sup>e</sup> doigt, genu valgum, thorax en bouclier, et hyperlordose lombaire, chez le garçon, et à type de

clinodactylie du 5<sup>e</sup> doigt, et des doigts en flexion avec chevauchement, chez la fille. Le retard mental observé chez le garçon est de type sévère. La sévérité et la récurrence de ce syndrome dans cette famille nécessitent un conseil génétique et une proposition d'un Diagnostic Prénatal. Ce dernier ne pourra se faire actuellement que par un suivi échographique de la grossesse. L'étude moléculaire du gène ATR et du gène PCNT doit être envisagée.

**Mots-clés** : seckel, hétérogénéité génétique, conseil génétique.

#### ■P078. DES MUTATIONS DE DYNC2H1 SONT RESPONSABLES DU SYNDROME DE CÔTES COURTES-POLYDACTYLIE DE TYPE III ET DE LA DYSTROPHIE THORACIQUE DE JEUNE

N. Dagonneau (1), M. Goulet (1), D. Geneviève (1), Y. Sznajder (2), J. Martinovic (1), S. Smithson (3), C. Huber (1), G. Baujat (1), E. Flori (4), L. Tecco (5), A.L. Delezoide (6), V. Serre (1), M. Le Merrer (1), A. Munich (1), V. Cormier-Daire (1)

(1) *Département de Génétique, Unité INSERM U781, Université Paris-Descartes, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris (AP-HP), Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France* ; (2) *Unité de Génétique Clinique, Hôpital Universitaire des Enfants Reine Fabiola, Bruxelles, Belgique* ; (3) *Département de Génétique Clinique, Hôpital St-Michael, Bristol BS2 8EG, UK* ; (4) *Service de Cytogénétique, Hôpital de Haute-pierre, Strasbourg, France* ; (5) *Service de Gynécologie Obstétrique, CHU Brugmann, Bruxelles, Belgique* ; (6) *Service de Biologie du Développement, Université Paris-Diderot, AP-HP, Hôpital Robert Debré, Paris, France*  
Contact : [nathalie.dagonneau@inserm.fr](mailto:nathalie.dagonneau@inserm.fr)

Le groupe des chondrodysplasies avec côtes courtes et polydactylie comporte 6 entités distinctes, transmises sur un mode autosomique récessif comprenant 4 formes létales en anténatal (types I à IV), la dystrophie thoracique de Jeune (DTJ) et le syndrome d'Ellis van Creveld (EVC). Elles sont toutes caractérisées par une étroitesse thoracique, un aspect en trident du bassin et des malformations viscérales diverses sont observées dans les types I à IV. Des atteintes rénales, hépatiques et rétinienne sont également décrites chez les patients DTJ. À ce jour, des mutations dans EVC et EVC2 ont été identifiées dans 70 % des EVC et plus récemment, des mutations dans IFT80 (IntraFlagellar Transport 80) ont été mises en évidence dans 3/39 familles DTJ, confirmant ainsi que la DTJ appartient au groupe des ciliopathies. Nous avons inclus dans ce travail 14 familles (dont 6 consanguines) diagnostiquées DTJ ou côte-courte polydactylie de type III et comprenant 26 fœtus et enfants atteints. Nous avons exclu l'implication d'IFT80 par étude indirecte au locus ou par séquençage direct. L'étude d'une famille DTJ consanguine marocaine nous a permis d'identifier une région d'intérêt en 11q14-q23 comprenant 85 gènes, dont DYNC2H1, référencé dans les banques du cil. DYNC2H1 est une grosse sous-unité du complexe dyneïne cytoplasmique, directement impliqué dans le transport intraflagellaire rétrograde, la croissance et le maintien du cil. Le gène est composé de 90 exons codants et code pour une protéine de 4 314 acides aminés. Par séquençage direct, nous avons identifié deux mutations faux sens homozygotes (p.Met1991Leu ; p.Met3762Val) chez les deux enfants atteints, non retrouvées chez 200 chromosomes contrôles. DYNC2H1 a été exclu dans les 5 autres familles consanguines et dans 4/8 familles non consanguines. Dans les 4 autres familles, nous avons identifié 10 mutations distinctes : trois non sens et sept faux sens, dont 6 touchent des acides aminés conservés. Parmi ces cinq familles avec mutations dans DYNC2H1, le diagnostic porté était soit une DTJ (3), soit un syndrome de côtes courtes-polydactylie de type III (2). En conclusion, la mise en évidence de mutations dans DYNC2H1 dans la DTJ et dans le syndrome de côtes courtes-polydactylie de type III suggère que ces 2 entités font partie d'un même spectre phénotypique appartenant au groupe des ciliopathies. L'absence de mutations dans IFT80 et dans DYNC2H1 dans 9 familles confirme l'hétérogénéité génétique de ce spectre.

**Mots-clés** : côtes courtes-polydactylie, dystrophie thoracique asphyxiant de Jeune, DYNC2H1.

#### ■P079. BARAITSER SYNDROME: ABOUT A TUNISIAN CASE

F. Maazoul, M. Chaabouni, M.A. Ksantini, L. Euch, M. Trabelsi, L. Ben Jemaa, R. M'rad, H. Chaabouni  
*Service des maladies congénitales et héréditaires, Hôpital Charles-Nicolas, Tunis, Tunisie*  
Contact : [f.maazoul@yahoo.fr](mailto:f.maazoul@yahoo.fr)

The Baraitser syndrome or syndrome of brachyphalangy, polydactyly and absent tibiae (OMIM : 609945) was first described in 1997. It is a very rare syndrome, to date 6 cases have been reported (5 males and 1 female). The syndrome is characterized by facial dysmorphism, limb anomalies with brachydactyly, preaxial polydactyly of feet, tibial aplasia and



hypogonitisme. We report a new case; a Tunisian female, aged nine months at first consultation. She was born from young, consanguineous and healthy parents. She's the only child of the couple. She had intrauterine growth retardation, congenital microcephaly, facial dysmorphism, short neck, limb anomalies and hypoplasia of external genitalia. The patient presented flat face, flat occiput, and temporal depression. She had hypertelorism, ptosis of left eyelid, blepharophimosis, inner epicanthal fold, microtia with dysplastic and low set ears, flat nasal bridge with broad nose, long philtrum, microstomia and microretrognathism. Limb anomalies were characterized by limited joints extension, broad fingers and toes, nail dysplasia, preaxial polydactyly of feet, brachyphalangy, right fibula agenesis, tibial hypoplasia, and club foot varius. She also presented horse kidney, sacral dimple. The heart and the brain are normal. The caryotype is 46,XX. Family history revealed no similar cases. This syndrome is probably due to a genic mutation. There are two probable candidate genes ALX3 and ALX4. New documented observations will be very useful to clarify clinical and genetic characteristics of this syndrome.

**Mots-clés :** anomalie de développement, dysplasie osseuse, gène.

**■P080. ANALYSE PAR CGH-ARRAY D'UNE SERIE DE 114 PATIENTS INDEX PORTEURS D'ANOMALIES DES MEMBRES ISOLÉES OU SYNDROMIQUES : PLUS DE 16,5 % D'ANOMALIES. PROPOSITION D'UNE STRATÉGIE DE PRESCRIPTION**

S. Manouvrier-Hanu (1, 2), M. Holder-Espinasse (1, 2), A. Mezel (3), F. Escande-Narducci (4), P. Saugier-Verber (5), S. Odent (6), S. Julia (7), A. Toutain (8), J. Martinovic (9), V. Malan (9), S. Lyonnet (9), A. Verloes (10), V. Drouin (5), B. Leheup (11), C. Francannet (12), L. Ollivier-Faivre (13), M. Mathieu (14), M. Gerard (7), A. Goldenberg (5), C. Vincent-Delorme (1), A. Dieux-Coeslier (1), O. Boute-Benejean (1), B. Herbaux (3, 2), J. Andrieux (15, 2) et tous les membres de la FéCLAD

(1) *Génétique clinique, CHRU Lille, France*; (2) *Université Lille 2, France*; (3) *Orthopédie de l'enfant, CHRU Lille, France*; (4) *Génétique Moléculaire, CHRU Lille, France*; (5) *Département de Génétique, CHU Rouen, France*; (6) *Génétique clinique, CHU Rennes, France*; (7) *Département de Génétique, CHU Toulouse, France*; (8) *Département de Génétique, CHU Tours, France*; (9) *Département de Génétique, CHU Necker Paris, France*; (10) *Département de Génétique, CHU Robert Debré Paris, France*; (11) *Département de Génétique, CHU Nancy, France*; (12) *Génétique clinique, CHU Clermont-Ferrand, France*; (13) *Département de Génétique, CHU Dijon, France*; (14) *Génétique clinique, CHU Amiens, France*; (15) *Plateforme de génomique, CHRU Lille, France*  
Contact : sylvie.manouvrier

Les malformations congénitales des membres (MCM) atteignent environ un nouveau-né sur 500. Elles peuvent être isolées ou intégrées dans un syndrome polymalformatif. Leurs causes sont les disruptions intra-utérines et les anomalies génétiques. Le second groupe est très hétérogène composé d'anomalies chromosomiques et géniques. Malgré les progrès des connaissances sur les gènes intervenant dans le développement des membres, beaucoup de MCM restent inexplicables. Or, d'un diagnostic précis dépend le conseil génétique. Patients : 114 patients (dont 15 fœtus) atteints de MCM non expliquées ont été recrutés sur les critères suivants (1) MCM isolées (29 soit 25 %) ou associées dans un syndrome connu (44 soit 39 %) ou au sein d'une association malformative inconnue (41 soit 36 %) (2) avec (18 soit 16 %) ou sans antécédents familiaux (3) caryotype normal (4) analyse génique normale lorsqu'elle était accessible. Nous avons notamment analysé les patients adressés pour suspicion de syndrome de Holt-Oram (gènes TBX5 et SALL4 normaux), et pieds et mains fendus (SHFM) ou syndromes apparentés (gène P63 normal). Au total 71 (62 %) patients avaient bénéficié d'analyses géniques normales. Méthode : CGH-array (Agilent 244K ou 44K). En cas de mise en évidence d'un déséquilibre génomique, confirmation par QMPSF ou Q-PCR et analyse des parents par QMPSF ou Q-PCR afin de préciser le caractère *de novo* ou non du déséquilibre identifié. La majorité des CGH ont été réalisés sur la plateforme de génomique du CHU de Lille. Les QMPSF et QPCR ont été effectuées aux CHUs de Lille et Rouen. Résultats : 66 (64,1 %) analyses normales (pas de déséquilibre génomique ou CNVs connus) ; 22 (19,3 %) CNVs inconnus dont 13 (12,6 %) retrouvés chez un parent indemne ou ne ségrégant pas avec la pathologie, les 9 autres sont en cours d'exploration familiale ; 17 (16,5 %) déséquilibres délétères ; Les 6 derniers cas (5,8 %) nécessitent des explorations complémentaires. Pour trois d'entre eux le déséquilibre observé est retrouvé chez un parent, mais comporte un ou plusieurs gènes d'intérêt pouvant faire évoquer une affection récessive. Pour 3 autres non apparentés mais adressés pour anomalies radiales syndromiques un même déséquilibre a été mis en évidence, et retrouvé dans 2 cas chez un parent indemne. Néanmoins ce déséquilibre est inconnu des bases de données et non observé chez plus de 2 000 patients étudiés à Lille. Parmi les anomalies

identifiées la duplication 10q24.32 a été observée 7 fois chez des patients adressés pour SHFM. Les autres observations seront détaillées. Discussion : De 16,5 à 20 % d'anomalies ont été identifiées par CGH-array dans cette série de 114 patients porteurs de MCM. Parmi les 17 anomalies délétères 11 (65 %), sont observées en cas de MCM syndromique (dont un cas fœtal). Mais seulement 2/10 présentaient un retard mental. Dans 6 cas (35 %) les MCM avaient un caractère familial. Les MCM qu'elles soient isolées ou intégrées dans un syndrome polymalformatif avec ou sans retard mental semblent donc être une bonne indication de CGH-array, à condition d'une sélection clinique rigoureuse. Toutes les anomalies délétères identifiées étaient ou auraient été visibles au niveau de résolution de 44K, qui semble donc suffisante. Enfin, en cas de SHFM sans mutation P63, la recherche de délétion 7q21 et de duplication 10q24 semble justifiée avant réalisation de la CGH-Array.

**Mots-clés :** malformation congénitale des membres, CGH-array.

**■P081. LE SYNDROME D'APERT : À PROPOS D'UN CAS**

F. Abdelhedi (1), N. Belguith (1), Z. Boudaouara (2), H. Kamoun (1)  
(1) *Service de Génétique médicale, EPS Hédi Chaker, Sfax, Tunisie*; (2) *Service de Neurochirurgie, EPS Habib Bourguiba, Sfax, Tunisie*  
Contact : abdelhedi\_f@yahoo.fr

Le syndrome d'Apert est une acrocéphalosyndactylie qui fait partie du groupe des craniofaciosténoses. Son incidence est estimée entre 1/45 000 et 1/100 000 naissances. Il est transmis selon un mode autosomique dominant et est dû à des mutations du gène FGFR2. Le tableau clinique associe une faciocraniosténose avec fermeture des sutures coronale et lambdoïde, un exorbitisme, un retrait du tiers moyen de la face et une syndactylie des mains et des pieds bilatérale et le plus souvent symétrique. Nous rapportons le cas d'un nourrisson âgé de 1 an 8 mois adressé pour un syndrome polymalformatif. L'examen clinique objective une brachycéphalie, une dysmorphie faciale avec un faciès aplati, un retrait de l'étage moyen, un hypertélorisme et des yeux globuleux ; une syndactylie complète des mains et des pieds avec un aspect élargi du premier rayon ; des taches café au lait au niveau de la cuisse ; et une cryptorchidie bilatérale. L'examen ORL trouve une hypoacousie. Le scanner cérébral met en évidence une craniosténose avec une brachycéphalie. Les radiographies des mains et des pieds confirment la syndactylie. L'échographie cardiaque est normale. Devant ce tableau clinique le syndrome d'Apert est évoqué. L'enfant est alors hospitalisé au service de Neurochirurgie pour prise en charge de sa craniosténose et une libération de la suture coronale est programmée. Une recherche de mutations du gène FGFR2 est envisagée. Le syndrome d'Apert est un syndrome polymalformatif très rare. Son origine génétique est actuellement certaine et sa confirmation moléculaire est possible. Deux types de mutations ont été décrits : la S252w et la P253r avec des corrélations génotype-phénotype. Il s'agit essentiellement de néo mutations, donc le risque de récurrence est quasiment nul et le conseil génétique est rassurant. Les risques évolutifs de cette pathologie sont l'hypertension intracrânienne, les troubles neuropsychiques et visuels. Le traitement de la craniosténose et de la syndactylie est essentiellement chirurgical, et la prise en charge et multidisciplinaire.

**Mots-clés :** acrocéphalosyndactylie, FGFR2, syndactylie des mains et des pieds.

**■P082. CARDIOPATHIES CONGÉNITALES DANS LE SYNDROME CHARGE : ÉTUDE D'UNE COHORTE DE 75 PATIENTS AYANT UNE MUTATION DU GÈNE CHD7**

P. Parisot (1), F. Bajolle (1), S. Thomas (2), G. Goudefroye (2), V. Abadie (4), S. Lyonnet (2, 3), T. Attié-Bitach (2, 3), D. Bonnet (1)  
(1) *Centre national de référence Malformations cardiaques Congénitales Complexes - M3C, Hôpital Necker-Enfants Malades, AP-HP, Paris, France*; (2) *Service de Génétique, Hôpital Necker-Enfants Malades, AP-HP, Paris, France*; (3) *INSERM U781, Université Paris Descartes, Paris, France*  
(4) *Service de Pédiatrie générale, Hôpital Necker-Enfants Malades, AP-HP, Paris, France*  
Contact : tania.attie@inserm.fr

Le syndrome CHARGE (MIM 214800) regroupe un ensemble de malformations congénitales comprenant un colobome, une cardiopathie, une atrésie des choanes, un retard de croissance et de développement, des anomalies génitales et des anomalies des oreilles. D'autres éléments ont été décrits et font, aujourd'hui, partie des critères diagnostiques comme l'agénésie des canaux semi-circulaires ou l'atteinte des paires crâniennes. Une mutation du gène CHD7 est retrouvée chez 60 % des patients. Nous avons décrit le spectre phénotypique des cardiopathies congénitales d'une cohorte de 75 patients ayant un syndrome CHARGE et une mutation de CHD7.

Nous retrouvons une cardiopathie congénitale chez 86 % des patients. Les plus fréquentes sont les cardiopathies conotruncales, les canaux atrioventriculaires et les anomalies des arcs aortiques. Nous décrivons deux cas de transposition des gros vaisseaux associée à un canal atrioventriculaire. Il existe une corrélation entre le génotype et le phénotype cardiaque. Les mutations faux-sens et d'épissage sont moins souvent associées à une malformation cardiaque. L'hypothèse étiologique d'une neurocristopathie ne rend pas compte de toutes les atteintes cardiaques. Le second champ cardiaque pourrait être impliqué dans les mécanismes embryologiques des cardiopathies du syndrome CHARGE.

**Mots-clés :** syndrome CHARGE, CHD7, cardiopathies congénitales.

#### ■P083. VING-CINQ NOUVELLES MUTATIONS RESPONSABLES DU SYNDROME DE TREACHER COLLINS-FRANCESCHETTI

C. Collet (1), S. Marlin (2), F. Denoyelle (3), M. Lenne (1), S. Eyl (1), J.M. Launay (1), A. Verloes (4) J.L. Laplanche (1)

(1) Service de Biochimie et de Biologie Moléculaire, Hôpital Lariboisière, Paris, France ; (2) Service de Génétique Médicale, Hôpital Armand Trousseau, Paris, France ; (3) Service ORL pédiatrique et chirurgie cervicofaciale, France ; (4) Département de Génétique, UF de Génétique Médicale, Hôpital Robert-Debré, Paris, France  
Contact : corinne.collet@lrb.aphp.fr

Le syndrome de Treacher Collins-Franceschetti (TCF) ou dystose mandibulo-faciale se caractérise par des malformations faciales symétriques et bilatérales tels que hypoplasie malaire, micrognathie, hypoplasie des pavillons de l'oreille, atresie des conduits auditifs externes, surdité, colobome de la paupière inférieure et parfois fente palatine. La fréquence de ce syndrome est de 1/50 000 naissances. La plupart des enfants atteints du syndrome de TCF ont un développement et une intelligence normale. Cette affection héréditaire, de transmission autosomique dominante, présente une pénétrance proche de 90 % et une expressivité très variable. Les anomalies moléculaires détectées dans le gène TCOF1 (5q32-q33.1, 42 Kb, 27 exons), qui code pour la protéine Treacle, sont à l'origine de cette affection en induisant une haploinsuffisance. Dans le cadre de notre activité de diagnostic moléculaire, nous avons réalisé l'analyse de 57 patients atteints d'un syndrome de TCF et identifié une anomalie moléculaire chez 34 d'entre eux (60 %) dont 25 mutations nouvelles. Les cas étaient majoritairement sporadiques, le pourcentage de forme familiale avérée n'était que de 9 %. La plupart des anomalies moléculaires se définissent pas des délétions (53 %) ou des mutations non sens (23,5 %), voire des duplications (8,8 %). Les mutations faux-sens (6 %) ou celles affectant les régions d'épissage (6 %) sont plus rares et une seule délétion-insertion a été observée. Les 27 exons codants peuvent être concernés par des anomalies moléculaires, néanmoins, les exons centraux (10-14) et distaux (22-24) regroupent 65 % des mutations. Un cas de mosaïcisme somatique a été observé au cours de cette étude. Il met en exergue l'importance de réaliser une analyse moléculaire chez les parents d'un enfant atteint. En outre, des variants introniques non classés (n = 3) posent actuellement des problèmes d'interprétation. En conclusion, un certain nombre de patients chez lesquels aucune mutation n'a pu être encore identifiée et non polymorphes à ce locus (6 %) font l'objet d'une recherche de grande délétion.

**Mots-clés :** TCOF1, Treacher Collins-Franceschetti, Treacle.

#### ■P084. CONFIRMATION D'UNE NOUVELLE DYSPLASIE FRONTO-NASO-ECTODERMIQUE ASSOCIÉE À ALX4

A. errarini (1), M. Gaillard (1), G.P. Ramelli (2), C. Verley Keddachem (1), F. Guerry (1), I. Wieland (3), J.S. Beckmann (1), S. Jacquemont (1), D. Martinet (1)

(1) Service de Génétique Médicale, CHUV, Lausanne, Suisse ; (2) Service de Pédiatrie, Hôpital San Giovanni, Bellinzona, Suisse ; (3) Institut für Humangenetik, Otto-von-Guericke-Universität, Magdeburg, Allemagne  
Contact : Alessandra.Ferrarini@chuv.ch

Nous présentons le cas d'une patiente de 22 ans avec une dysplasie frontonasale (FNM) sévère associée à des zones d'alopécie, une fente labio-palatine gauche, des anomalies cérébrales (hydrocéphalie communicante, agénésie du corps calleux, hypoplasie vermienne et kyste du septum pellucidum), une sténose aortique, une cardiopathie hypertrophique et un retard mental sévère. L'array CGH (244K) a montré la présence d'une délétion sur le chromosome 11 [del(11)(p11.12p12)] d'environ 8,45 Mb (délétion minimale chr 11 : pb 42'791'771 à pb 51'244'499, build 36.3). Cette délétion est classiquement responsable du syndrome de Potocki-Shaffer (PSS) (OMIM 601224), qui associe exostoses multiples (délétion du gène EXT2), foramen pariétaux (délétion du gène ALX4), signes dysmorphiques, retard du développement. Notre patiente ne présentait ni foramen pariétaux ni exostoses multiples dont la pénétrance est estimée à 90 % dans le syndrome PSS. D'ailleurs La FNM n'a jamais été décrite

dans le PSS. Étant donné cette grande discordance entre le phénotype de notre patiente et son génotype nous avons séquencé le gène EFNB1(Xq12) responsable de syndrome craniofrontonasal (CFNS) (OMIM 304110, qui s'est relevé normal. Récemment, Kayserili *et al.* ont démontré que des mutations homozygotes de ALX4 associent une dysplasie frontonasale sévère, des troubles de l'ossification du crâne, une alopécie totale, une anomalie du corps calleux, un retard mental et un hypogonadisme. Notre patiente présentant un tableau similaire et une délétion hétérozygote d'ALX4, nous avons recherché une mutation (exons et régions flanquantes) sur l'autre allèle ainsi que sur les paralogues ALX1 et ALX3 afin d'exclure une hétérozygotie composite. Le séquençage n'a relevé aucune mutation pathogène. En conclusion, nous confirmons un nouveau syndrome fronto-naso-ectodermique chez une patiente présentant une délétion hémizygotique d'ALX4. Nous suspectons un lien entre la perte de fonction d'ALX4 et ce syndrome sans pouvoir toutefois le confirmer. D'autres analyses (mutations des régions régulatrices des gènes ALX et analyse du transcript) sont requises afin de tester la fonctionnalité du second allèle d'ALX4.

**Mots-clés :** dysplasie frontonasale, dysplasie craniofrontonasale, syndrome de Potocki-Shaffer.

#### ■P085. LE SYNDROME H : UNE GÉNODERMATOSE SCLÉRODERMIFORME AUTOSOMIQUE RÉCESSIVE ; DEUX NOUVEAUX PATIENTS AVEC MUTATIONS IDENTIFIÉES DANS SLC29A3 DONT UNE NON DÉCRITE ET DISCUSSION DES SYNDROMES FRONTIÈRES

F. Giuliano (1), A. Zlotogorski (2), C. Chiaverini (3), S. Busa (4), C. Perrin (5), V. Molho-Pessach (2), B. Chabrol (6), J.P. Lacour (3), N. Philip (4)

(1) Service de Génétique Médicale et Centre de Référence Anomalies du développement et Syndromes malformatifs, CHU Nice, France ; (2) Département de Dermatologie et Centre des Maladies Génétiques de la peau et des cheveux, CHU Hadassah-Hebrew, Israel ; (3) Service de Dermatologie et Centre de Référence des Maladies Cutanées d'origine génétique, CHU Nice, France ; (4) Département de Génétique Médicale et Centre de Référence Anomalies du développement et Syndromes malformatifs, AP-HM, Marseille, France ; (5) Service d'Anatomie Pathologique, CHU Nice, France ; (6) Service de Neurologie Pédiatrique, AP-HM Marseille, France  
Contact : giuliano.f@chu-nice.fr

Le syndrome H est une pathologie autosomique récessive, récemment individualisée. Cette entité doit son nom à l'association des signes caractéristiques que sont : – une Hyperpigmentation cutanée, – une Hypertrichose, – une Hépatosplénomégalie, – des anomalies cardiaques (Heart anomalies), – une surdité (Hearing loss), – une petite taille (low Height), – une Hyperglycémie/diabète et – un Hypogonadisme. Le gène, localisé en 10q21.3-q22.1 a été identifié. Il s'agit de SLC29A3 qui code pour une transporteur de nucléoside hENT3. Seulement 3 mutations différentes, toutes situées dans l'exon 6, ont été identifiées dans les 11 familles initialement décrites. Nous rapportons 2 nouveaux cas. Pour l'un d'eux, il s'agit d'une nouvelle mutation située également dans l'exon 6. Nous discutons de pathologies présentant des lésions cutanées similaires au syndrome H. Tout d'abord le syndrome PHID, récemment individualisé. Il s'agit d'une pathologie associant un diabète insulino-dépendant et des lésions d'hyperpigmentation cutanée. Il est intéressant de noter que le gène impliqué est également SLC26A3 et nous discutons de la relation entre les syndromes PHID et H. Un chevauchement des signes dermatologiques existe aussi avec le syndrome POEMS qui est défini par l'association d'une neuropathie périphérique (P), une organomélie (O), une ou plusieurs endocrinopathies (E), une gammaglobulinémie monoclonale (M) et des modifications cutanées (Skin) avec notamment une hyperpigmentation et une hypertrichose. La cause de ce syndrome est inconnue. Mais il est intéressant de signaler que tous les patients atteints ont au moins une lésion osseuse sclérosante ou une maladie de Castleman coexistante. Or l'un de nos patients, présente, outre les signes caractéristiques du H syndrome, une anomalie de la minéralisation osseuse type ostéopétrose-like.

**Mots-clés :** syndrome H, SLC29A3, génodermatose.

#### ■P086. LE SYNDROME PETERS-PLUS : CLINIQUE ET GÉNÉTIQUE AUTOUR D'UN CAS

C. Marsal (1), V. Pelletier (2), B. Doray (3), C. Speeg-Schatz (1), M.M. Weiss (4), M.J. Tops (4), S. Lesnik Oberstein (4), H. Dollfus (2)

(1) Service d'Ophthalmologie – NHC, Strasbourg, France ; (2) CARGO – Clinique Ophtalmologique, Hôpital Civil, Strasbourg, France ; (3) Centre de référence pour les anomalies du développement, Hôpital de Haute-pierre, Strasbourg, France ; (4) Center for Human and Clinical Genetics, Department of Clinical Genetics, K5-R, Leiden University Medical Center, Leiden, The Netherlands

Contact : caroline.marsal@chru-strasbourg.fr

Le syndrome Peters-Plus est une affection congénitale rare autosomique récessive qui associe des anomalies du segment antérieur de l'œil ou « anomalie de Peters », à un retard du développement staturo-pondéral et psychomoteur, un syndrome malformatif et un syndrome dysmorphique. On dénombre une cinquantaine de cas mondiaux. Des mutations tronquantes ont été mises en évidence dans le gène B3GALTL, localisé en 13q12.3 [Lesnik Oberstein *et al.*, 2006]. Nous présentons le cas d'un enfant de 20 mois avec un tableau clinique évocateur d'un syndrome Peters-Plus. Son atteinte associe une duplication rénale gauche et urétérocele, une cryptorchidie unilatérale gauche, des malformations cérébrales (dilatation ventriculaire et corps calleux grêle), une anomalie de Peters oculaire bilatérale (opacité cornéenne centrale bilatérale, amincissement stromal et synéchies irido-cornéennes et irido-cristalliniennes avec séclusion papillaire), une hypotrophie harmonieuse, un retard des acquisitions et un syndrome dysmorphique évocateur. Le diagnostic de syndrome Peters-Plus est confirmé par l'identification d'une mutation non-sens dans l'exon 13 du gène B3GALTL, à l'état homozygote : c.1098T>A/p.Tyr366X [Lesnik Oberstein *et al.*, 2006]. Cette altération entraîne l'apparition précoce d'un codon stop dans la séquence génomique et la synthèse d'une protéine tronquée. La découverte du gène impliqué dans cette affection permet désormais d'accéder à un diagnostic moléculaire et d'établir un diagnostic parfois difficile du fait de sa forte hétérogénéité clinique. Lesnik Oberstein L. S.A.J, Kriek M., White S.J., Kalf M.E., Szuhai K., den Dunnen J.T., Breuning M.H., Hennekam R.C.M. Peters plus syndrome is caused by mutations in B3GALTL, a putative glycosyltransferase. *Am. J. Hum. Genet.* 79 : 562-566,2006.

**Mots-clés :** Peters-Plus, B3GALTL, monogénisme.

#### ■P087. SYNDROME DE RAINE : À PROPOS D'UNE OBSERVATION FAMILIALE NON LÉTALE DE DYSPLASIE OSTÉOSCLÉROTIQUE

M. Fradin (1), C. Stoetzel (2), J. Muller (3, 4), M. Koob (5), D. Christmann (5), C. Debry (6), M. Koehler (7), M. Isnard (8), D. Astruc (9), P. Desprez (9), C. Zorres (9), E. Flori (10), H. Dollfus (1, 2), B. Doray (1)

(1) Service de Génétique Médicale, Hôpital de Haute-pierre, Strasbourg, France ; (2) Laboratoire de Génétique Médicale, EA3949, Faculté de Médecine, Strasbourg, France ; (3) Laboratoire de Diagnostic Génétique, Nouvel Hôpital Civil, Strasbourg, France ; (4) Institut de Génétique et de Biologie Moléculaire et Cellulaire, CNRS/INSERM/Université de Strasbourg, Illkirch, France ; (5) Service de Radiologie 2, Hôpital de Haute-pierre, Strasbourg, France ; (6) Service d'Oto-Rhino-Laryngologie, Hôpital de Haute-pierre, Strasbourg, France ; (7) Service de Gynécologie Obstétrique, CMCO, Schiltigheim, France ; (8) Service de Gynécologie Obstétrique, Hôpital de Belfort-Montbéliard, Belfort, France ; (9) Service de Réanimation Pédiatrique Spécialisée-Surveillance Continue-Pédiatrie 2, Hôpital de Haute-pierre, Strasbourg, France ; (10) Laboratoire de Cytogénétique, Hôpital de Haute-pierre, Strasbourg, France

Contact : melanie.fradin@chru-strasbourg.fr

Le syndrome de Raine a été décrit pour la première fois en 1989 par Raine *et al.* chez un nouveau-né présentant une microcéphalie, un nez hypoplasique, une exophtalmie, une fente palatine et une ostéosclérose. Une vingtaine d'observations similaires a depuis été rapportée, permettant de préciser le phénotype à type de dysplasie ostéosclérotique létale, associant malformations cranio-faciales caractéristiques, calcifications cérébrales et ostéosclérose. L'évolution est classiquement sévère avec un décès précoce en période néonatale par insuffisance respiratoire, à l'exception de deux enfants ayant survécu mais dont l'évolution est marquée par un retard psychomoteur sévère. Le syndrome de Raine est transmis sur le mode autosomique récessif. Le gène, FAM20C, a été identifié en 2007 et code une protéine exprimée dans les tissus en voie de minéralisation et impliquée dans le métabolisme calcique. Nous rapportons les observations de deux sœurs, issues d'une union consanguine. Après la découverte de calcifications cérébrales en période anténatale, le diagnostic a été suspecté après la naissance de la cadette en raison de la morphologie cranio-faciale et d'une ostéosclérose. L'identification d'une mutation homozygote dans le gène FAM20C a été déterminante afin d'établir avec certitude le diagnostic de syndrome de Raine chez ces deux enfants dont le phénotype est très modéré et l'évolution actuelle, aux âges de 1 et 4 ans, favorable. Ce travail offre l'opportunité, d'élargir la description phénotypique du syndrome de Raine aux formes modérées de l'enfant et d'en discuter les modalités de prise en charge en pré et postnatal.

**Mots-clés :** syndrome de Raine, FAM20C, pronostic.

#### ■P088. SYNDROME DE GOLTZ (HYPOPLASIE DERMIQUE EN AIRES) : CONTRIBUTION À L'ÉTUDE GÉNÉTIQUE D'UNE FAMILLE AVEC TRANSMISSION PÈRE-FILLE

D.P. Germain (1, 2, 3), N. Miri (3), C. Boucly (3), S. Clements (4), J.A. McGrath (4), M.F. Portnoi (5)

(1) Centre de référence de la maladie de Fabry et des maladies héréditaires du tissu conjonctif, CHU Raymond-Poincaré, Garches, France ; (2) Service de Génétique Médicale, CHU Raymond-Poincaré, Garches, France ; (3) Laboratoire de biochimie et génétique médicale, CHU Raymond-Poincaré, Garches, France ; (4) Genetic Skin Disease Group, St John's Institute of Dermatology, Guy's Hospital, London, Royaume-Uni ; (5) Service de Génétique et Embryologie médicale, Hôpital Trousseau, Paris, France

Contact : dominique.germain@rpc.aphp.fr

L'hypoplasie dermique en aires (HDA), également connue sous le nom de syndrome de Goltz (OMIM 305600) est une maladie génétique rare caractérisée par une atteinte cutanée polymorphe et des anomalies variées pouvant affecter le squelette, les yeux, les dents, le système nerveux central et les appareils urinaire, gastro-intestinal et cardiovasculaire. Très récemment, des mutations du gène PORCN ont été identifiées comme responsables de l'HDA. Le gène PORCN humain code pour une protéine homologue de la famille des porcupines de *Drosophila melanogaster* ; une O-acyltransférase impliquée dans la sécrétion par le réticulum endoplasmique des protéines Wnt. La voie de signalisation Wnt est un régulateur fondamental du développement embryonnaire. Nous rapportons le cas d'une jeune femme âgée de 23 ans atteinte d'une hypoplasie dermique en aires, transmise par son père dont l'atteinte clinique modérée fut établie par un examen dysmorphologique. Le séquençage (ADN génomique) du gène PORCN chez cette patiente, a permis de mettre en évidence une mutation non-sens dans l'exon 3, qui ne fut pas retrouvée chez 25 sujets témoins. La mutation retrouvée consiste en une substitution d'un nucléotide C par un nucléotide T en position c.283 de l'ADN complémentaire, générant un codon stop en position 95 de la séquence protéique (p.Arg95Stop). Le séquençage du gène PORCN n'a pas permis de mettre en évidence la mutation identifiée chez sa fille nous faisant avancer l'hypothèse d'une mosaïque sur la base de l'examen dysmorphologique. L'analyse des fragments d'amplification de l'exon 3 après digestion par une enzyme de restriction (Taq I) confirma la mutation chez la fille et démontra l'existence de 2 allèles chez son père : un allèle muté de plus haut poids moléculaire et de plus faible intensité que l'allèle sauvage, confirmant l'existence d'une mosaïque somatique chez cet homme. Ce travail confirme que les patients atteints d'hypoplasie dermique en aires, affection de transmission dominante liée à l'X sont, pour les hommes, porteurs de mosaïques somatiques tandis que les femmes atteintes ont une inactivation non-aléatoire de leurs chromosomes X.

**Mots-clés :** syndrome de GOLTZ, hypoplasie dermique en aires, PORCN.

#### ■P089. MALFORMATION OCULAIRE, DYSTONIE, RETARD PSYCHOMOTEUR ASSOCIÉS À UNE DÉLÉTION DU GÈNE PAX6

S. Julia (1), S. Lebon (2), Y. Chaix (2), P. Calvas (1)

(1) Service de Génétique Médicale, Hôpital Purpan, CHU Toulouse, France ; (2) Service de Neurologie Pédiatrique, Hôpital des Enfants, CHU Toulouse, France

Contact : julia.s@chu-toulouse.fr

Nous rapportons le cas d'un jeune garçon décédé des suites d'un tableau neurologique complexe associant retard mental sévère, encéphalopathie dystonique et malformation oculaire. Il s'agit du premier enfant d'un couple non consanguin, sans antécédent, né au terme d'une grossesse et d'un accouchement sans particularité avec des mensurations normales. L'examen oculaire retrouvait une malformation unilatérale droite associant une micro cornée, une aniridie partielle, un colobome du nerf optique. L'évolution a été marquée par l'apparition de mouvements dystoniques majeurs responsable d'épisodes de myolyses. L'ensemble du bilan étiologique est resté non contributif (IRM, EEG, EMG, biopsie musculaire, bilan métabolique exhaustif, caryotype, séquençage du gène ARX...). Les anomalies oculaires évocatrices ont entraîné l'analyse du gène PAX6. Le séquençage n'a pas permis d'identifier de mutation ponctuelle, par contre le dosage génique comparatif a retrouvé la présence d'une délétion hétérozygote du gène PAX6 sans délétion associée du gène WT1. PAX6 est un organisateur précoce du développement oculaire, ses mutations entraînent, chez l'homme, des malformations oculaires congénitales en particulier l'aniridie. La délétion du locus PAX6 est responsable du phénotype oculaire du syndrome de gène contiguë WARG (tumeur de Wilms, aniridie, anomalies génito-urinaires, retard mental), cependant son implication dans le tableau neurologique des patients reste incertaine. Lors de l'embryogenèse PAX6 intervient également dans le développement cérébral. Ce qui est confirmé par l'observation de rares cas de fœtus présentant des anomalies cérébrales associées à des mutations hétérozygotes composées de PAX6. Les mutations hétérozygotes peuvent s'accompagner d'hypoplasie de la commissure blanche antérieure visible à l'IRM. On peut



ainsi supposer que les cas de retards mentaux recensés chez les patients atteints d'aniridie, soient une conséquence directe de l'implication de PAX6 dans le développement du système nerveux. Récemment SOX2 et OTX2, partenaires majeurs de PAX6, ont été impliqués dans des tableaux micro/anophtalmies syndromiques, incluant des anomalies cérébrales, soulignant l'importance des interactions entre ces acteurs du développement oculaire et cérébral. Cette observation questionne sur la responsabilité de PAX6 dans le phénotype neurologique de ce patient.

**Mots-clés :** malformation oculaire, dystonie, PAX6.

#### ■P090. SYNDROME PETERS PLUS : LE TABLEAU CLINIQUE D'UNE NOUVELLE MUTATION DU GÈNE *B3GALT1*

K. Aliferis (1), C. Marsal (1), V. Pelletier (1), B. Doray (2), C. Speeg-Schatz (3), M.M. Weiss (4), C.M.J. Tops (4), S.A. Lesnik Oberstein (4), H. Dollfus (1, 2)

(1) Centre de Référence pour les Affections Rares en Génétique Ophtalmologique, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France ; (2) Service de Génétique Médicale, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France ; (3) Service d'Ophtalmologie, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France ; (4) Center for Human and Clinical Genetics, Leiden University Medical Center, Leiden, Netherlands  
Contact : konstantinos.aliferis@chu-strasbourg.fr

Introduction : Le syndrome de Peters plus est une affection congénitale rare qui associe une anomalie de Peters à un nanisme rhizomélisque, un retard du développement, un faciès dysmorphique et une fente labio-palatine. Des malformations cardiaques, génito-urinaires ou du système nerveux central peuvent compléter le tableau clinique. L'anomalie de Peters est caractérisée par une opacification cornéenne centrale due à des adhérences irido-cornéennes et par un déficit endothélio-descemetique associé à un glaucome congénital et dans certains cas à une cataracte. Moins de 70 cas ont été rapportés à ce jour. L'hérédité autosomique récessive a été élucidée par l'identification du gène *B3GALT1*, responsable de la production de la bêta3-galactosyltransférase-like glycosyltransférase. Matériel et Méthode : Nous présentons le tableau clinique d'un garçon de 20 mois d'origine vietnamienne dont les parents sont originaires du même petit village du nord du Vietnam sans lien de parenté avéré. L'enfant présentait un syndrome polymalformatif associant un retard staturo-pondérale, une duplication rénale gauche, une cryptorchidie, une clinodactylie des 2<sup>e</sup> et 5<sup>e</sup> doigts, des malformations cérébrales et une anomalie de Peters bilatérale avec une opacité cornéenne centrale et des synéchies irido-cornéennes et irido-cristalliniennes. Les analyses génétiques moléculaires effectuées ont montré une mutation non-sens dans l'exon 13 du gène *B3GALT1* à l'état homozygote : c1098Tr, les mutations décrites sont une mutation fréquente (75 % des cas) c660+1G>A, un cas de délétion et des mutations plus rares : c459+1G>A, c230insT, c347+5G>A. C'est la première fois qu'une mutation c1098T>A/pTyr366X est rapportée entraînant l'apparition précoce d'un codon stop et la synthèse d'une protéine tronquée. Conclusion : Le présent rapport confirme l'hétérogénéité clinique du syndrome Peters et l'implication majeure du gène *B3GALT1*.

**Mots-clés :** Peters plus, *B3GALT1*.

#### ■P091. SYNDROME DE FRASER : PERSPECTIVES DE DIAGNOSTIC MOLÉCULAIRE

C. Nachury (1), B. Troude (2), A.M. Beaufrère (3), P. Dechelotte (3), C. Francannet (2), I. Creveaux (1, 4)

(1) Laboratoire de Biochimie et Biologie Moléculaire, Faculté de Médecine, CHU Clermont-Ferrand, Clermont-Ferrand, France ; (2) Service de Génétique Médicale, Hôtel-Dieu, CHU Clermont-Ferrand, France ; (3) Service d'Anatomie Pathologique, Hôtel-Dieu, CHU Clermont-Ferrand, Clermont-Ferrand, France ; (4) CNRS, UMR 6247 ; Clermont Université ; INSERM, U931, Faculté de Médecine, GReD, Clermont-Ferrand, France  
Contact : icreveaux@chu-clermontferrand.fr

Le syndrome de Fraser est une maladie rare, à transmission récessive autosomique. C'est un syndrome polymalformatif, dont les signes cardinaux sont la cryptophtalmie et la syndactylie. Ils sont associés à d'autres anomalies crânio-faciales ainsi qu'à des malformations génitales, urinaires et/ou pulmonaires. L'expression est variable en fonction des familles, néanmoins la plupart des patients n'ont pas de déficience intellectuelle, mais sont polyhandicapés. Des critères cliniques de diagnostic ont été définis par Van Haelst *et al.* en 2007. Vingt-cinq pour cent des enfants sont mort-nés et vingt pour cent décèdent avant 1 an, du fait des anomalies rénales ou laryngées. Actuellement, le diagnostic anténatal est échographique au cours du 2<sup>e</sup> trimestre et reste difficile à affirmer en l'absence d'antécédents familiaux. Des modèles animaux existent, en particulier les mutants murins « bleb » qui ont aidé à décrire la physiopathologie de la

maladie et à déterminer les gènes impliqués dans le phénotype. Chez l'homme, deux gènes, *FRAS1* en 4q21 et *FREM2* en 13q13, ont été identifiés comme responsables du syndrome de Fraser. Ces gènes appartiennent à une même famille et codent des protéines de la matrice extracellulaire localisées dans la membrane basale de nombreux épithéliums embryonnaires à des stades précoces du développement, où elles sont impliquées dans l'adhésion entre l'épithélium et le mésenchyme sous-jacent. À ce jour, seules 2 mutations différentes ont été décrites dans *FREM2* et 19 dans *FRAS1*. Dans le cadre de ce travail, notre objectif initial a été d'identifier, par PCR-Séquençage, des mutations pouvant être à l'origine du syndrome de Fraser chez 6 patients diagnostiqués sur des critères cliniques. Nous avons analysé en priorité les exons 26 à 75 dans *FRAS1*, qui correspondent aux domaines protéiques dans lesquels se situent la totalité des mutations *FRAS1* décrites à ce jour (10/19 dans les domaines NG2-like codés par les exons 27 à 53). Au sein de ces régions, 2 mutations ont été mises en évidence et considérées comme responsables de la maladie chez 3 des 6 patients analysés. Ces mutations sont retrouvées à l'état homozygote chez les patients. Il s'agit d'une part d'une mutation non sens dans l'exon 63 (c.9627G>A ; p.Tyr3209X) décrite dans la littérature, et d'autre part d'une nouvelle mutation faux-sens au niveau de l'exon 43 (c.6010G>A ; p.Gly2004Ser). La mutation p.Gly2004Ser est présente à l'état homozygote chez 2 patients issus de la même fratrie et est prédite comme potentiellement délétère. Elle affecte en effet un acide aminé très conservé chez les vertébrés ainsi qu'entre les différentes protéines de la famille *FRAS/FREM*. L'analyse du gène *FRAS1* permet ainsi d'apporter au clinicien une confirmation moléculaire du diagnostic de syndrome de Fraser dans environ 40 % des cas et d'avoir la possibilité de proposer un diagnostic moléculaire anténatal précoce lors d'une future grossesse.

**Mots-clés :** syndrome de Fraser, *FRAS1*, malformations.

#### ■P092. ÉTUDE DU GÈNE *FLNA* CHEZ DES PATIENTS ATTEINTS D'UN SYNDROME DU SPECTRE OPD

S. Moutton (1), P. Fergelot (1), I. Coupry (2), G. Solé (2), C. Hubert (2), J. Deforges (1), S. Devès (1), A. Verloes (3), C. Baumann (3), G. Viot (4), B. Bessièrès (5), A. David (6), M. Le Merrer (7), S. Odent (8), C. Francannet (9), J.L. Alessandri (10), N. Chassaing (11), S. Julia (11), E.L. Stattin (12), J. Vigneron (13), A. Mégarbané (14), D. Héron (15), P. Sarda (16), P. Blanchet (16), C. Abadie (16), N. Philip (17), H. Journel (18), D. Lacombe (1), B. Arveiler (1, 2), C. Goizet (1, 2)

(1) Service de génétique médicale, Hôpital Pellegrin, Bordeaux, France ; (2) Laboratoire de génétique humaine, université Bordeaux 2, Bordeaux, France ; (3) Service de génétique médicale, Hôpital Robert-Debré, Paris, France ; (4) Service de génétique médicale, Hôpital Saint-Vincent-de-Paul, Paris, France ; (5) Laboratoire d'anatomopathologie et de foetopathologie, Institut de puériculture et de périnatalogie, Paris, France ; (6) Service de génétique médicale, Hôpital Mère et Enfant, Nantes, France ; (7) Département de génétique, Hôpital Necker, Paris, France ; (8) Service de génétique médicale, CHU Rennes, Rennes, France ; (9) Service de génétique médicale, Hôtel Dieu, Clermont-Ferrand, France ; (10) Service de réanimation néonatale et infantile, CHR La Réunion, Saint-Denis, France ; (11) Service de génétique médicale, Hôpital Purpan, Toulouse, France ; (12) Département of clinical genetics, Norrlands Universitetssjukhus, Suède ; (13) Service de médecine néonatale, Maternité régionale de Nancy, Nancy, France ; (14) Unité de génétique médicale, université Saint-Joseph, Beyrouth, Liban ; (15) Service de génétique médicale, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France ; (16) Service de génétique médicale, Hôpital Arnaud-de-Villeneuve, Montpellier, France ; (17) Service de génétique médicale, Hôpital de la Timone, Marseille, France ; (18) Unité de génétique médicale, Centre hospitalier Bretagne Atlantique, Vannes, France.  
Contact : sebastienmoutton@hotmail.fr

Les syndromes du spectre oto-palato-digital (OPD) regroupent les syndromes OPD de type 1 et 2, le syndrome de Melnick-Needles (SMN) et la dysplasie fronto-métaphysaire (DFM). Le gène *FLNA*, situé en Xq28, est incriminé dans ces présentations cliniques. Il comprend 48 exons et code pour la filamine A qui interagit en particulier avec l'actine. Nous rapportons ici de nouvelles mutations du gène *FLNA* chez des patients suspects de filaminopathie A en tentant de les corrélés au phénotype. L'étude porte sur 39 patients issus de 23 familles : 14 familles présentent un syndrome OPD (7 de type 1 et 7 de type 2), 6 un SMN et 3 une DFM. La recherche de mutation s'effectue chez le cas index par méthode indirecte (dHPLC ou HRM) ou par séquençage direct selon les exons, en débutant par les points chauds de mutation. Cinq cas de SMN sur 6 présentent une mutation faux-sens dans l'exon 22, dont une non décrite. Trois cas de syndrome OPD 1 sur 7 sont porteurs de mutation, dont une non décrite et 3 cas de syndrome OPD 2 sur 7 sont mutés dont deux mutations non décrites. Aucune mutation n'a pu être identifiée chez les 12 autres



familles, en particulier celles atteintes de DFM. Toutes les mutations associées à un SMN sont localisées dans l'exon 22 corroborant les données de la littérature. La présentation clinique est similaire aux patients avec SMN chez la patiente porteuse d'une nouvelle mutation. Une nouvelle mutation a été identifiée au niveau du domaine répété Ig-like n°6, habituellement non concerné dans le syndrome OPD de type 1. Les 2 mutations déjà décrites chez les patients atteints de syndrome OPD 1 et 2 correspondent à des présentations cliniques similaires. Les cas non mutés soulèvent l'hypothèse d'une hétérogénéité génétique notamment pour la DFM. Cette étude a permis de confirmer la nature des mutations responsables de ce spectre clinique. Elle montre aussi la nécessité de comprendre les mécanismes physiopathologiques aboutissant à telle ou telle forme clinique par la connaissance des conséquences des mutations sur la structure de la protéine et les modifications de ses interactions.

**Mots-clés** : oto-palato-digital, FLNA, Melnick-Needles.

### ■P093. SYNDROME HGPPS ET MUTATION DU GÈNE *ROBO 3*. À PROPOS DE 2 NOUVELLES FAMILLES

A. Afejar (1, 2, 3, 4), F. Rivier (5), S. Joriot (6), S. Defoort-Dhellemme (7), B. Echenne (5), N. Leboucq (8), C. Garel (9), L. Burglen (2, 10)

(1) Service de Neuropédiatrie, AP-HP, Hôpital Trousseau, Paris, France ; (2) Service de Génétique Médicale, AP-HP, Hôpital Trousseau, Paris, France ; (3) Service de Génétique Médicale, AP-HP, Paris, France ; (4) Centre de référence pathologies du développement et syndrome malformatif, AP-HP, Hôpital Trousseau et Hôpital, Pitié-Salpêtrière, Paris, France ; (5) Service de Neuropédiatrie, Hôpital Gui-de-Chauliac, CHU de Montpellier, France ; (6) Service de Neuropédiatrie, Hôpital Roger-Salengro, CHRU de Lille, France ; (7) Service de Neuro-Ophthalmologie, Hôpital Roger-Salengro, CHRU de Lille, France ; (8) Service de Neuro-radiologie, Hôpital Gui de Chauliac, CHU de Montpellier ; (9) Service de Radiologie, AP-HP, Hôpital Trousseau, Paris, France ; (10) Centre de référence des malformations et maladies congénitales du cervelet, AP-HP, Hôpital Trousseau, Paris, France  
Contact : alexandra.afejar@trs.aphp.fr

Le syndrome HGPPS (Horizontal gaze palsy with progressive scoliosis) décrit pour la première fois en 1974 est une pathologie rare autosomique récessive. Cliniquement les patients présentent dès la naissance une absence de mouvements conjugués horizontaux des yeux (absence de poursuite lisse et des saccades) associée pour certains à un nystagmus pendulaire alors que le mouvement vertical est possible, l'examen du fond d'œil et l'acuité visuelle normaux. Le second signe majeur du syndrome HGPPS est l'apparition dans l'enfance d'une scoliose progressive non malformative sévère avec inefficacité des corssets et recours nécessaire à la chirurgie. Un retard moteur est rapporté chez certains patients. L'IRM cérébrale montre des images caractéristiques au niveau du tronc cérébral avec aplatissement antérieur bulboprotubérantiel. À la face dorsale du pont une fente est responsable d'un aspect élargi du 4<sup>e</sup> ventricule. Une image caractéristique en « papillon » sur les coupes axiales du bulbe est liée à la présence sur la face ventrale médiane d'une fente profonde s'étendant à la jonction bulbomédullaire. Le gène *ROBO3* situé en 11q23 identifié en 2004 est responsable de ce syndrome. Ce gène de 28 exons appartient à la famille des roundabout, famille de récepteurs membranaires intervenant dans la guidance axonale. Il code pour une protéine membranaire intervenant, au cours de la vie embryonnaire, dans la décussation de certains axones au niveau du bulbe en bloquant la réponse axonale aux molécules répulsives Split. Les mutations de *ROBO3* seraient responsables d'anomalies de décussation des faisceaux corticospinaux et lemniscal dorsal expliquant les modifications morphologiques du tronc cérébral observées chez les patients. Nous rapportons 5 patients appartenant à 2 fratries. Tous présentent les signes majeurs du syndrome HGPPS, paralysie des mouvements horizontaux +/- nystagmus, scoliose et anomalies caractéristiques à l'IRM. Ces patients présentent en outre un retard de développement moteur avec hypotonie et un syndrome cérébelleux statique et cinétique modéré rarement décrit chez les patients de la littérature. Nous avons identifié chez les patients de la première famille une mutation non sens héritée de la mère et une mutation faux sens héritée du père. La deuxième famille est en cours d'étude. La présence chez un patient d'une anomalie de l'horizontalité associée à une scoliose mais également à une ataxie et à un aspect caractéristique du tronc cérébral en imagerie doit faire suspecter un syndrome HGPPS et conduire à l'étude du gène *ROBO3*.

**Mots-clés** : syndrome HGPPS, gène *ROBO3*, malformation du tronc cérébral.

### ■P094. DIAGNOSTIC DE SYNDROME DE RUBINSTEIN TAYBI CHEZ UN FŒTUS MORT *IN UTERO* À 18 SA, DANS LE CADRE D'UNE AIDE MÉDICALE À LA PROCRÉATION

S. Whalen (1), P. Fergelot (2), D. Héron (1), M.F. Portnoï (3), N. Joye (3), L. Taine (2), S. Jaudy (4), M. Dommergues (4), D. Lacombe (2), J.P. Sifroi (3), B. Arveiler (2), M. Gonzales (3)

(1) Département de Génétique, Hôpital de la Pitié-Salpêtrière, Paris, France ; (2) Service de Génétique Médicale, CHU de Bordeaux, Hôpital Pellegrin, Bordeaux, France ; (3) Service de Génétique et d'Embryologie Médicales, Hôpital A.-Trousseau, Paris, France ; (4) Service de Gynécologie Obstétrique, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France  
Contact : sandrew2001@yahoo.com

Introduction : Le syndrome de Rubinstein Taybi est une maladie rare autosomique dominante, le plus souvent sporadique. Les patients présentent une dysmorphie faciale caractéristique, un retard mental, un retard de croissance postnatal avec microcéphalie et des anomalies caractéristiques des extrémités (pouces et premiers orteils larges). Il existe une hétérogénéité génétique dans ce syndrome et deux gènes responsables sont décrits à ce jour. Le gène majeur est *CREBBP*, situé en 16p13.3. Il existe des délétions de la région incluant ce gène, mais également des anomalies intragéniques. Un grand nombre de mutations sont décrites à l'heure actuelle : mutations faux sens, non-sens, mutations d'épissage ou réarrangements intragéniques. Des anomalies du gène *EP300* ont également été décrites chez un plus petit nombre de patients. Il ne semble pas y avoir de corrélation génotype-phénotype claire à ce jour, pour ces deux gènes. Nous présentons un diagnostic de syndrome de Rubinstein Taybi chez un fœtus mort in utero à 18 SA. Patient et méthodes : Le couple non apparenté, originaire d'Algérie, présente une infertilité secondaire à un syndrome des ovaires polykystiques chez la mère. La grossesse a été obtenue par aide médicale à la procréation avec implantation d'embryons congelés issus d'une précédente fécondation *in vitro* du couple. La première échographie à 12 SA était normale hormis un décollement ovulaire minime. Les marqueurs sériques maternels étaient à 1/771. Une échographie à 18 SA a mis en évidence une mort fœtale in utero (MFIU). L'examen foetopathologique a retrouvé un fœtus masculin présentant des mains courtes et trapues avec des pouces larges en coup de vent radial, une hypoplasie rénale et une avance de maturation osseuse. Devant l'aspect de pouces larges, une étude du gène *CREBBP* a été effectuée. Résultats : Deux anomalies *de novo* du gène *CREBBP*, non décrites à ce jour, ont été identifiées chez ce fœtus : un variant dans l'exon 25 (c.4274del, p.Asn1425ThrfsX34) et une duplication comprenant les derniers exons et la région 3' flanquante. Le caryotype sur culture de chorion était de type masculin, normal. Discussion et Conclusion : Nous présentons un cas de syndrome de Rubinstein Taybi chez un fœtus mort in utero à 18 SA, ayant comme unique élément évocateur des pouces larges. Deux variants du gène *CREBBP*, non décrits à ce jour, ont été identifiés. Le premier variant est une mutation nonsens et a été considérée comme causale. La signification de la deuxième mutation reste peu claire à ce jour. Des études complémentaires sont en cours. Cette observation souligne l'intérêt de l'examen foetopathologique avec conservation de matériel fœtal dans les MFIU, même précoces. La relation avec l'aide médicale à la procréation peut être discutée, en particulier devant l'apparition de deux variants *de novo* dans le même gène. Mais il n'y a pas de données claires publiées à ce jour pour mettre en cause sa responsabilité.

**Mots-clés** : syndrome de Rubinstein Taybi, mort fœtale *in utero*, aide médicale à la procréation.

### ■P095. FOETAL PRESENTATION OF FIVE RUBINSTEIN-TAYBI SYNDROME CASES WITH *CREBBP* ALTERATIONS

P. Fergelot (1), S. Whalen (2), G. Lancelot (1), T. Attié-Bitach (3), S. Blesson (4), S. Charfi (5), B. Demeer (6), B. Doray (7), C. Fallet-Bianco (8), R. Favre (9), M. Gonzales (10), N. Joyé (10), J. Martinovic (3), A. Philippe (4), M.F. Portnoï (10), F. Razavi (3), L. Taine (1), B. Arveiler (1), D. Lacombe (1)

(1) Service de Génétique Médicale, Groupe Hospitalier Pellegrin, CHU de Bordeaux, Bordeaux, France ; (2) Département de génétique, cytogénétique et embryologie, Groupe hospitalier Pitié-Salpêtrière, APHP, Paris, France ; (3) Unité de foetopathologie, département de génétique, hôpital Necker-Enfants Malades, APHP, Paris, France ; (4) Service de Génétique, hôpital Bretonneau, CHU de Tours, Tours, France ; (5) Service d'Anatomie Pathologique, hôpital Nord, CHU Amiens Picardie, Amiens, France ; (6) Service de Génétique Clinique, hôpital Nord, CHU Amiens Picardie, Amiens, France ; (7) Fédération de Génétique, Hôpitaux Universitaires, Strasbourg, France ; (8) Laboratoire de neuropathologie, Centre Hospitalier Saint-Anne, Paris, France ; (9) Service de Gynécologie-Obstétrique, CMCO-SIHCUS, Schiltigheim, France ; (10) Unité de Pathologie Foetale et Placentaire, Service de Génétique et d'Embryologie Médicales, hôpital Trousseau, APHP, Paris, France  
Contact : patricia.fergelot@chu-bordeaux.fr

Rubinstein-Taybi syndrome (RSTS) ; OMIM 180849) is an autosomal dominant developmental disorder that occurs in 1 out of 125,000 births. The hallmarks of typical RSTS are characteristic facial dysmorphism, broad thumbs and halluces associated with mental retardation. RSTS



is caused by mutations in the closely related CREBBP (60-65 %) and EP300 genes (about 3 %). About 10 % of CREBBP alterations are large or whole gene deletions often extending into flanking regions. CREBBP and EP300 are global transcriptional coactivators interacting with over 312 proteins. Humans and mice that are haploinsufficient for CREBBP have developmental defects and mice that are homozygous for CREBBP and EP300 null alleles or doubly heterozygous, die during embryogenesis. RSTS is often diagnosed at birth or during early childhood. Up to now no genetic study of foetal RSTS has been published. We report on the FISH and molecular analyses of CREBBP gene in 5 cases of well-documented foetal RSTS. Two cases were examined after in utero death at 18 and 35 gestation weeks (GW) and 3 cases after ultrasound abnormalities and termination of pregnancy at 26, 33+4 and 35 GW. Hydramnios and in utero growth retardation were the most frequent sonographic features. Interestingly a large gallbladder was detected in 2 cases and an unusual severe prenatal microcephaly was seen in one case. Termination of pregnancy was decided because of this severe microcephaly and in 2 cases for growth retardation with either vermis hypoplasia or dysmorphism. Fetal autopsy showed that all fetuses had large thumbs and 4 had facial dysmorphism. FISH at 13p13.3 showed a whole gene deletion in one case. Molecular analysis was performed using QMF-PCR, PCR-HRM and sequencing in the 4 remaining cases. We found an amino acid deletion in exon 30, 2 splicing variants located around exon 22, and one frameshift mutation leading to a premature stop codon in exon 25. In the latter case whose clinical data are presented in details (abstract Whalen *et al.*), we identified a duplication of at least 50 kilobases extending into the 3' flanking region of the CREBBP gene. The relevance of this second genetic event is discussed. Parent's DNA was available for the 4 mutated cases and sequencing data were in favour of *de novo* variants, thus strongly arguing for their pathogenicity. In conclusion, CREBBP alterations in foetal RSTS are similar to those found in typical RSTS diagnosed in childhood. In the 3 mutated cases harbouring a single *de novo* variation, EP300 is currently under investigation. This report will contribute to a better knowledge of particular features in foetal RSTS and will improve this clinical diagnosis in antenatal cases. It shows the interest of genotyping, allowing reassuring genetic counselling.

**Mots-clés :** CREBBP, dysmorphism, Rubinstein-Taybi.

#### ■P096. INTÉRÊT DE L'ANALYSE DU GÈNE EP300 POUR LE DIAGNOSTIC MOLÉCULAIRE DU SYNDROME DE RUBINSTEIN-TAYBI : À PROPOS DE 8 NOUVELLES MUTATIONS

P. Fergelot (1), C. Rooryck-Thambo (1, 2), I. Coupry (2), J. Deforges (1), I. Burgelin (2), M. Marche (2), M.A. Delrue (1), L. Taine (1), D. Lacombe (1, 2), B. Arveiler (1, 2)

(1) *Service de génétique médicale, Groupe Hospitalier Pellegrin, CHU de Bordeaux, Bordeaux, France ;* (2) *Laboratoire de Génétique Humaine (EA4137), Université Victor-Segalen Bordeaux 2, Bordeaux, France*  
 Contact : patricia.fergelot@chu-bordeaux.fr

Le syndrome de Rubinstein-Taybi (RSTS ; OMIM 180849) est une anomalie du développement, autosomique dominante, qui survient dans 1 sur 125 000 naissances. Les principales caractéristiques du syndrome du RSTS sont une dysmorphie touchant la face et les extrémités et un retard mental s'accompagnant d'anomalies oculaires, de malformations cardio-vasculaires, osseuses, génito-urinaires et d'une susceptibilité à certains cancers. Le gène CREBBP situé en 16p13.3 a été le premier impliqué dans ce syndrome ; dans environ 10 % des cas une délétion est retrouvée et dans 50 % des cas il s'agit de mutation ponctuelle. Toutes apparaissent *de novo* à l'exception de très rares cas de mosaïcisme chez l'un des parents. Plus récemment un second gène, EP300, a été retrouvé muté dans un faible pourcentage de cas (environ 3 %), apparemment associé à un phénotype moins sévère. Ces deux gènes sont impliqués dans le remodelage de la chromatine et, en tant que co-activateurs transcriptionnels, interagissent avec plus de 300 facteurs protéiques. Le diagnostic moléculaire du RSTS est basé sur l'analyse du gène CREBBP, à l'aide des techniques de FISH, de dosage génique et de séquençage. Nous rapportons ici le résultat de l'étude du gène EP300 entreprise pour les cas ne montrant pas d'anomalie de CREBBP, quelle que soit la sévérité du phénotype. Une cohorte de 150 patients atteints de RSTS, dont les dossiers ont été revus par les cliniciens du centre de référence pour les anomalies génétiques du développement de Bordeaux (DL, MAD) a été étudiée. Pour chacun des 2 gènes l'analyse moléculaire a comporté une recherche de délétion et l'analyse des 31 exons par DHPLC ou HRM et séquençage. Chaque fois que cela était possible, l'anomalie identifiée a été recherchée chez les parents. Une anomalie de CREBBP a été retrouvée chez 109 patients (72,7 %), dont 20 délétions (13,3 %) portaient une délétion et 80 (53,3 %) un variant identifié comme pathogène. Parmi les 41 patients restants, 8 (5,3 %)

présentaient un variant *de novo* du gène EP300. Quatre variants étaient localisés dans le domaine de co-activation transcriptionnelle. Le phénotype associé était celui d'un RSTS typique. Pour les 4 autres variants, le phénotype associé était moins sévère, proche de celui associé à certains variants faux-sens de CREBBP. Il n'y avait pas de corrélation entre le type de mutation et la sévérité du phénotype. Aucune délétion n'a été retrouvée. Notre étude confirme l'implication de gène EP300 dans le syndrome de Rubinstein-Taybi, avec une fréquence un peu supérieure à celle décrite dans la littérature. Les mutations sont associées à un phénotype plus ou moins sévère. L'analyse de ce gène peut donc être utile au diagnostic de syndrome de Rubinstein-Taybi en l'absence d'anomalie de CREBBP. La place de la CGH-array est à préciser dans les 22 % de cas pour lesquels l'analyse des 2 gènes reste négative.

**Mots-clés :** EP300, Rubinstein-Taybi, diagnostic moléculaire.

#### ■P097. EXPRESSION DE MARQUEURS DE PLURIPOTENCE DANS DES CELLULES DE TÉRATOMES SACRO-COCYGIENS

A. Arnaud (1), C. Babarit (1), L. Galmiche (1, 2), A. Munnich (1, 3, 5), S. Lyonnet (1, 3, 5), H. Etchevers (1), S. Sarnacki (5, 6), M. Veckemans (1, 4, 5), C. Cretolle (6)

(1) *INSERM, U781, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France ;* (2) *Service d'Anatomie et Cytologie Pathologiques, Assistance Publique – Hôpitaux de Paris, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France ;* (3) *Service de Génétique Médicale, Assistance Publique – Hôpitaux de Paris, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France ;* (4) *Service d'Histologie-Embryologie-Cytogénétique, Assistance Publique – Hôpitaux de Paris, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France ;* (5) *Université Paris-Descartes, Paris, France ;* (6) *Clinique Chirurgicale Infantile, Assistance Publique – Hôpitaux de Paris, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France*

Contact : alexisarnaud@hotmail.fr

Le tératome sacro-coccygien (TSC) est la tumeur néonatale la plus fréquente. Il représente la première localisation à cet âge des tumeurs germinales extra-gonadiques. Il peut compromettre le pronostic vital périnatal et à distance avec un risque de récurrence de 10 % après exérèse, sous forme de tératome bénin ou de tumeur germinale maligne. Il est à la frontière entre malformation et tumeur ; les principales hypothèses embryologiques font état d'une anomalie à un stade précoce du développement caudal, impliquant des cellules pluripotentes, entre la 3ème et la 6ème semaine de développement, soit lors de la neurulation secondaire, soit lors de la migration des cellules germinales du sac vitellin vers les crêtes génitales. Nous avons testé l'hypothèse selon laquelle il persisterait au sein des TSC des cellules exprimant les marqueurs de pluripotence SOX2, NANOG et OCT4. En effet, la co-expression de ces facteurs de transcription caractérise les cellules souches embryonnaires pluripotentes. Nous avons donc étudié la présence de cellules exprimant ces gènes chez l'embryon sain et sur des échantillons de TSC diagnostiqués en période périnatale ou après l'âge de 6 mois, ces derniers présentant un risque de malignité plus élevé. Nous avons ainsi mis en évidence une co-expression de SOX2, NANOG et OCT4 au sein du blastème de la queue embryonnaire ainsi que dans la partie distale du tube neural d'embryons humains normaux tout au long du deuxième mois de développement. Ceci suggère la présence à l'état normal de cellules à potentiel pluripotent dans le pôle caudal. Au sein des TSC, il existe des tissus qui semblent co-exprimer SOX2, NANOG et OCT4, mais aucune différence entre TSC de diagnostic périnatal et TSC diagnostiqué après 6 mois n'a pu être mise en évidence. Nous avons en outre étudié des cellules tumorales cultivées à partir de TSC néonatal et tardif. Contrairement aux cellules de TSC tardif, les cellules de TSC néonatal se sont agrégées pour former des structures tridimensionnelles sphériques, évoquant des corps embryoides caractéristiques de la culture de cellules souches embryonnaires. De plus, l'étude du profil d'expression de SOX2, NANOG et OCT4 par RT-PCR a mis en évidence la présence de leur transcript dans les cultures de cellules de TSC néonatal mais pas dans celles de TSC tardif, alors que ces gènes sont exprimés par les deux types de tumeur avant leur mise en culture. Il existe donc au sein des TSC un contingent de cellules exprimant des marqueurs de pluripotence, qui pourraient être à l'origine de la tumeur, voire de sa récurrence et/ou de sa dégénérescence. De plus, la mise en évidence de cellules exprimant ces mêmes marqueurs dans les régions sacro-coccygiennes d'embryons et de fœtus sains corrobore l'hypothèse d'une levée d'inhibition lors de la neurulation secondaire. Ces résultats préliminaires nécessitent d'être étayés par la réalisation du même protocole sur un plus grand nombre d'échantillons tumoraux.

**Mots-clés :** tératome sacro-coccygien, pluripotence, SOX2, NANOG et OCT4.

## Cytogénétique constitutionnelle et maladies génomiques

### ■P098. MARQUEUR CHROMOSOMIQUE SURNUMÉRAIRE À PROPOS D'UN CAS

B. Ait Abdalkader (1), B. Imessaoudene (2), K. Saadi (3), A. Chikouche (4), S. Romana (4), M. Vekemans (4), L. Griene (4), A. Berhoune (2), Y. Oukaci (1)

(1) Laboratoire de biochimie unie de cytogénétique, CPMC, Alger ; (2) Laboratoire de biochimie, unité de biologie moléculaire, CHU Mustapha, Alger ; (3) Service de Neurologie, Hôpital Benaknoun, Alger ; (4) Laboratoire d'hormonologie, CPMC, Alger ; (5) Laboratoire de cytogénétique, Hôpital Necker, Paris

Contact : belagene@hotmail.com

Les marqueurs chromosomiques surnuméraires (MCS) constituent un groupe hétérogène d'anomalies chromosomiques de structure variables pouvant être associées ou non à des anomalies du phénotype. L'identification d'un MCS permet d'établir une corrélation phénotype génotype nécessaire pour le conseil génétique, afin de déterminer l'origine et la composition d'un MCS, il existe différents outils moléculaires (MFISH, SKY, la CGH et la CGH array). À partir de ces nombreuses techniques en fonction de la taille, de l'aspect du MCS dépisté par les techniques de cytogénétiques conventionnelles, des données cliniques, il est possible de proposer différentes stratégies moléculaire. Nous avons mis en évidence un MCS sur caryotype standard (Bandes R et Bandes G) chez un enfant âgé de 14 mois qui présente sur le plan phénotypique les caractéristiques suivantes : microcéphalie, visage rond, fentes palpébrales mongoloïdes, narines antéversées, cou court, saillies de l'anthélix, petite bouche, doigts longs et pli palmaire. Les examens moléculaires sont en cours.

**Mots-clés :** MCS, cytogénétique, FISH.

### ■P099. EXPLORATION PAR HYBRIDATION GÉNOMIQUE COMPARATIVE D'UN ENFANT ATTEINT DE TRISOMIE PARTIELLE 9P ET 22Q SANS RETENTISSEMENT PHÉNOTYPIQUE MAJEUR

I. Ben Abdallah (1), H. Hannachi (1), A. Labalme (2), S. Mehri (1), D. Sanlaville (2), A. Saad (1, 3), H. Elghezal (1, 3)

(1) Service de Cytogénétique et de Biologie de la Reproduction. Hôpital Universitaire Farhat Hached, Sousse, Tunisie ; (2) Service de Cytogénétique Constitutionnelle, Centre de Biologie et de Pathologie Est, Hospices civils de Lyon, France ; (3) Unité de Service Commun de Recherche en Génétique, Faculté de Médecine de Sousse, Tunisie

Contact : hatem.elghezal@rms.tn

Nous rapportons le cas d'un garçon âgé de 8 ans, issu de parents bien portants et non consanguins. Il est le quatrième d'une fratrie de 4, née au terme d'une grossesse normale. L'enfant est adressé en consultation de cytogénétique pour dysmorphie faciale sans retard mental. L'examen trouve un enfant qui présente un faciès grossier avec un gros nez et un décollement des oreilles. Il présente aussi une Brachymésophalangie et une Clinodactylie du 5ème doigt. Il est scolarisé avec de bons résultats scolaires. L'enfant présente par ailleurs des infections urinaires répétées. Le caryotype standard révèle la présence d'un chromosome marqueur surnuméraire évoquant le bras court d'un chromosome 9. L'exploration cytogénétique des parents par caryotype et peinture chromosomique montre la présence d'une translocation réciproque équilibrée t(9;22)(p13;q11). L'exploration de cet enfant par hybridation génomique comparative sur puce à ADN (Agilent technology) montre une trisomie partielle 9p13.3-9p24.3 de 33,9 Mb (entre les oligonucléotides A\_14\_P135177 et A\_14\_P117242 (en position 601628 et 34510996)) et une trisomie partielle 22q11.1 de 2,67 Mb (entre les oligonucléotides A\_14\_P125707 et A\_14\_P126398 (en position 15443579 et 18116682)). L'absence du retard mental serait expliquée par l'absence de gènes impliqués dans le développement cérébrale dans les régions dupliquées. Cependant, sur les 2,67 Mb dupliqués du chromosome 22, nous notons la présence du gène IL17RA codant pour l'interleukine 17 A. Il s'agit d'une cytokine inflammatoire sécrétée par les lymphocytes T, cette protéine est impliquée dans les pathologies inflammatoires et les maladies auto-immunes. Ce qui peut expliquer les infections urinaires récidivantes chez le patient. Cette observation met en évidence d'une part l'intérêt de la CGH-array dans l'exploration des marqueurs chromosomiques, d'autre part la possibilité d'établir une relation génotype phénotype pour pouvoir donner un conseil génétique dans ces cas.

**Mots-clés :** CGH, trisomie 9p, trisomie 22q.

### ■P100. CARACTÉRISATION MOLÉCULAIRE DE DEUX OBSERVATIONS D'INV DUP DEL DU CHROMOSOME 1 CHEZ DES ENFANTS PRÉSENTANT UN RETARD DE DÉVELOPPEMENT ET UNE DYSMORPHIE FACIALE

C. Violle (1), E. Landais (1), N. Bednarek (2), A. Akhavi (2), O. Noizet (2), M.L. Poli-Merol (3), N. Gruson (1), S. Clomes (1), N. Michel (1), A. Riot(1), D. Gaillard (1), M. Doco-Fenzy (1, 4)

(1) Service de Génétique CHRU Reims, Reims, France ; (2) Service de Pédiatrie, CHRU Reims, Reims, France ; (3) Service de Chirurgie pédiatrique, CHRU Reims, Reims, France ; (4) Service de Génétique CHRU Reims, UFR médecine, EA 3801, Reims, France

Contact : celine.violle@free.fr

Plus de 50 observations de remaniements à type d'inversion duplication délétion (inv dup del) ont déjà été décrites sur la partie terminale de nombreux chromosomes, faisant intervenir des mécanismes de recombinaison homologue non-allélique (inv dup del 8p) ou de recombinaison non-homologue comme les inv dup del non récurrents du chromosome 1. Ces dernières ont déjà été décrites : 2 observations de délétions 1p36 associées à une duplication inversée cryptique et 2 cas de délétions 1q44 associées à une duplication inversée (1q42q44 et 1q34q43). Nous rapportons deux observations d'inv dup del sur le chromosome 1 : l'une concernant le bras p (cas n°1) et l'autre le bras q (cas n°2). Ces remaniements ont été étudiés par les techniques de cytogénétique conventionnelle, de FISH et de CGH-array. Cas n°1 : enfant de 1 mois présentant un retard de croissance, une dysmorphie faciale, une fontanelle large avec retard de fermeture, une petite communication inter-ventriculaire, une hyperlaxité et une épilepsie avec retard des acquisitions. À l'imagerie cérébrale, des kystes sous-épendymaires et une image en hypersignal T1 de la substance blanche postérieure gauche, en faveur d'une souffrance cérébrale chronique, étaient observés. Le remaniement complexe : 46,XX, inv dup del(1)(p36.21->p36.22 :p36.22->qter) comprend une délétion de 9,47 ± 0,41 Mb (clones RP11-465B22 à RP3-510D11) et une amplification de 3,79 ± 1,46 Mb (clones RP4-575L21 à RP4-636F13). Cas n°2 : enfant présentant un retard de croissance intra-utérin et post-natal, un retard des acquisitions, une dysmorphie faciale et des anomalies des extrémités avec duplication du pouce droit, index gauche constitué d'une seule phalange et syndactylie partielle des orteils avec fusion des premières phalanges. Le remaniement, 46,XX,inv dup del(1)(pter->q44 :q44->q42.13-), comprend une délétion de la région terminale (délétion du seul clone sub-télomérique CTB-160H23) et s'associe à une duplication en miroir de la région 1q42.13q44 mesurant 24,19 ± 0,77 Mb (clones RP11-100E13 à RP11-438H8). Nous rapportons ici 2 remaniements rarement rapportés dans la littérature. Le patient n°1 présente un phénotype semblable à celui observé dans les délétions 1p36 pures. Le phénotype du patient n°2 est proche de celui rapporté dans les observations de duplications 1q42qter et 1q41qter pures et dans celle d'inv dup del(1)(1q42q44), notamment les anomalies des extrémités.

**Mots-clés :** inv dup del, chromosome 1, retard mental.

### ■P101. SYNDROME CHARGE ASSOCIÉ À UNE NOUVELLE ANOMALIE CHROMOSOMIQUE : MONOSOMIE 10P11.2PTER ASSOCIÉE À UNE DUPLICATION 10Q22.1QTER

A. Guichet, E. Colin, M. Barth, O. Ingster, D. Bonneau  
Service de Génétique, CHU d'Angers, France

Contact : agguichet@chu-angers.fr

Le syndrome CHARGE est une association malformative comprenant : un Colobome, des Malformations cardiaques, une Atrésie des choanes, un Retard de croissance et de développement, des Anomalies génitales et des Oreilles dysplasiques. ce syndrome est, dans la majorité des cas, de survenue sporadique et dans 2/3 des cas du à une mutation du gène CHD7 codant pour une protéine appartenant à la famille des ADN hélicases à chromodomaine. Des anomalies chromosomiques ont été décrites chez des patients associant des malformations du spectre CHARGE comme le colobome, l'atrésie des choanes et les malformations cardiaques. Ces anomalies chromosomiques concernent la délétion 8q12 où se situe le gène CHD7, la délétion 22q11.2, la duplication 14q22q24.3, la délétion 4q31 et la délétion 3p12p21.2. Nous rapportons ici l'observation d'un nouveau né à terme qui présente un retard de croissance sévère, une hypotonie axiale sévère, une microphtalmie bilatérale, une atrésie des choanes, des pouces adductus, des oreilles dysplasiques, une veine cave supérieure gauche et à l'IRM une arhinencéphalie et des canaux semi-circulaires hypoplasiques. L'hypothèse d'un syndrome CHARGE est évoqué et l'étude du gène CHD7 demandé. Cependant, le caryotype de cet enfant montre la présence d'un der(10) lié à la malségrégation d'une inversion péricentrique maternelle responsable d'une monosomie 10p11.2pter associée à une duplication 10q22.1qter. Nous faisons la revue de la littérature des anomalies



chromosomiques découvertes devant un tableau malformatif évoquant un Syndrome CHARGE et nous soulignons que la délétion 10pter (qui peut associer une arhinencéphalie, une microphthalmie, un palais ogival, des oreilles dysplasiques et des anomalies cardiaques) et la duplication 10qter, confirment l'intérêt de la réalisation d'un caryotype et/ou d'une étude par CGH array en cas de négativité de la recherche de mutation dans le gène CHD7.

**Mots-clés :** charge, 10p.

#### ■P102. DÉSÉQUILIBRE CRYPTIQUE EMPORTANT LE GÈNE CUGBP2 AU NIVEAU DU POINT DE CASSURE D'UNE TRANSLOCATION FAMILIALE T(7;10) APPAREMMENT ÉQUILIBRÉE

E. Landais (1, 2), P. Grue-Fortin (1), C. Leroy (1), D. Elchardus (3), M. Beri (4), C. Bonnet (4), P. Jonveaux (4), S. Clomes (1), N. Gruson (1), N. Michel (1), A. Riot (1), D. Gaillard (1, 5), M. Doco-Fenzy (1, 6)  
(1) Service de Génétique, HMB, CHRU, Reims, France ; (2) UFR Médecine, Reims, France ; (3) PMI, Reims, France ; (4) Service de Génétique, CHRU, Nancy, France ; (5) INSERM 903, Reims, France ; (6) EA3801, Reims, France

Contact : elandais@chu-reims.fr

Il est aujourd'hui admis que 40 % des translocations apparemment équilibrées chez des patients présentant un phénotype anormal peuvent être associées à des délétions cryptiques au niveau des points de cassure ou à des remaniements chromosomiques complexes à distance. Nous rapportons l'étude d'une translocation familiale t(7;10)(q21.11;p14) mise en évidence par le caryotype et explorée par CGH-array et PCR en temps réel. Différents membres de la famille présentaient un retard des acquisitions avec des troubles du comportement et une microcéphalie. Ce phénotype coségrège avec la translocation. Une dysmorphie faciale a également été observée dans la branche de la famille vue en consultation de génétique comprenant un visage ovale, une petite bouche aux lèvres fines, un philtrum long et effacé et des pommettes saillantes. L'analyse en CGH-array avec une puce de type oligonucléotides Agilent 105k a montré, chez un des sujets présentant cette translocation, la présence d'une délétion de 58 kpb en 10p14 soit au niveau du point de cassure estimé par le caryotype en 850 bandes. Cette délétion confirmée par Q-PCR chez cet enfant, est retrouvée uniquement chez tous les membres de la famille porteurs de la translocation. Elle emporte la partie 5' du gène CUGBP2 (CUG triplet repeat, RNA Binding Protein 2), localisé dans la région DGCR2 (DiGeorge Critic Region 2) en 10p14. L'isoforme 3 de la protéine (NAPOR-3) codée par ce gène est fortement exprimée dans le cerveau au cours du développement embryonnaire et à l'âge adulte. Elle jouerait un rôle dans la régulation du nombre d'ARNs par fixation au niveau de répétitions CUG présentes dans les régions régulatrices de différents ARNm. Cette étude confirme l'intérêt de réaliser une recherche d'un déséquilibre au niveau des points de cassure en présence d'une translocation apparemment équilibrée associée à un phénotype anormal.

**Mots-clés :** translocation, CGH-array, CUGBP2.

#### ■P103. CARACTÉRISATION DE 2 DÉLÉTIONS 10Q TERMINALES D'ENVIRON 8MB PAR PUCE SNP

A. Houtteman (1), S. Chantot-Bastarud (2), B. Keren (1, 3), W. Carpentier (4), M.F. Portnoi (2), C. Depienne (1, 3), P. Mabboux (2), B. Benyahia (1), F. Soubrier (1, 4), J.P. Siffroi (2), A. Brice (1, 3), D. Héron (1), L. Burglen (2)  
(1) Département de Génétique et Cytogénétique, CGMC, GH Pitié-Salpêtrière, AP-HP, France ; (2) Service de Génétique et Embryologie Médicales, Hôpital Armand Trousseau, APHP, France ; (3) CRICM, Inserm UMR S975, upmc, GH Pitié-Salpêtrière, France ; (4) Plateforme P3S, Inserm, upmc, GH Pitié-Salpêtrière, France

Contact : anaise94@hotmail.fr

La délétion 10qter est un remaniement chromosomique relativement fréquent parmi les anomalies subtélomériques sans point de cassure récurrent. L'existence d'un syndrome reconnaissable a été proposé, associant retard mental, dysmorphie faciale spécifique, retard de croissance, microcéphalie, malformations cardiaques et urogénitales. Toutefois il existe une forte hétérogénéité phénotypique. Nous rapportons ici 2 patientes de 25 et 17 ans présentant une délétion 10qter pure *de novo* de taille comparable, initialement identifiée au caryotype en haute résolution pour la première d'entre elle, caractérisées précisément par puce SNP (Illumina®). Leur tableau clinique présente des similarités : développement marqué par un retard moteur modéré sans retard de langage, des difficultés scolaires et une anxiété très importante. Elles ont présenté des épisodes de malaises et de pertes de connaissance non typés dans l'adolescence. Leur dysmorphie est discrète caractérisée par un visage allongé. Il existe par ailleurs quelques différences entre les 2 tableaux : retard de croissance, anomalies des extrémités avec brachymétabarpie et brachymétabarpie et strabisme chez la 1<sup>re</sup> patiente ; scoliose et antécédents de luxation congénitale de hanche et

de reflux vésico urétral chez la 2<sup>e</sup>. Ces 2 patientes ont une délétion terminale de 7,553 et 7,943 Mb respectivement. Parmi les cas de délétions terminales 10q rapportés dans la littérature, il existe une patiente porteuse d'une anomalie similaire, de taille 7,254 Mb. Elle présente également une discrète dysmorphie avec visage allongé et un retard mental modéré. Elle a un retard de croissance et un strabisme, comme notre 1<sup>re</sup> patiente, un canal artériel, des reins hyperéchogènes et souffre de troubles autistiques. La délétion de la patiente 2 excède celles des 2 autres patientes (patiente 1 et patiente de la littérature décrite ci-dessus) d'une région de 400 kb. Cette région comporte 7 gènes dont 5 sont exprimés de façon relativement forte dans l'os. Ces gènes pourraient être responsables de certaines des discordances phénotypiques comme le retard de croissance ou les anomalies osseuses. Ces discordances pourraient aussi refléter la variabilité phénotypique décrite dans la majorité des syndromes microdélétionnels.

**Mots-clés :** délétion 10q, puces SNP.

#### ■P104. ÉTUDE CLINIQUE ET CYTOGÉNÉTIQUE DU SYNDROME DE PALLISTER KILLIAN OU TÉTRASOMIE 12P : À PROPOS DE 3 OBSERVATIONS

R. Meddeb (1), M. Chaabouni (1), F. Maazoul (1), F. Abdelhedi (1), M.A. Ksentini (1), L. Euch (1), Z. Marrakchi (2), H. Chaabouni (1)  
(1) Service des maladies congénitales et héréditaires, EPS Charles Nicolle, Tunis, Tunisie ; (2) Service de néonatalogie, EPS Charles-Nicolle, Tunis, Tunisie

Contact : meddeb\_rym@yahoo.fr

Le syndrome de Pallister Killian (SPK) ou tétrasomie 12p est la plus fréquente des tétrasomies autosomales. Il est dû à un mosaïcisme tissulaire d'un chromosome marqueur surnuméraire (SMC), interprété comme un iso-chromosome des bras courts du chromosome 12. Ce syndrome associe une dysmorphie faciale caractéristique, des anomalies de la pigmentation cutanée, des malformations viscérales, un retard psychomoteur sévère et une épilepsie rebelle aux traitements. Le but de notre travail est de présenter 3 observations de patients chez lesquels le diagnostic du SPK est retenu après une étude cytogénétique sur trois tissus différents : fibroblastes, amniocytes et cellules de l'épithélium buccal. Pour les 2 premières observations le diagnostic de SPK est évoqué en post natal devant un retard psychomoteur profond, une épilepsie, un aspect tigre de la peau et une dysmorphie faciale associant un faciès allongé, un front proéminent, un hypertélorisme et une grande bouche. Ce diagnostic est confirmé par une hybridation *in situ* fluorescente (FISH) réalisée avec une sonde centromérique du chromosome 12 sur fibroblaste une fois et sur cellules l'épithélium buccal une deuxième fois. La 3<sup>e</sup> observation concerne un diagnostic prénatal pratiqué à 31SA devant la découverte échographique d'un hydramnios associé à une hernie diaphragmatique. Le caryotype sur amniocytes montre la présence d'un SMC. Devant ces données échographiques et cytogénétiques, le diagnostic d'une tétrasomie 12p est évoqué. Il est confirmé par une FISH. Le SPK est souvent sous diagnostiqué puisque le SMC est généralement non retrouvé au niveau des lymphocytes. Sa mise en évidence nécessite le recours à la cytogénétique moléculaire réalisée sur cellules de l'épithélium buccal, fibroblastes, amniocytes ou sur villosités chorales. Le SPK est de pronostic généralement défavorable. Les cas rapportés sont sporadiques. Le conseil génétique est par conséquent rassurant.

#### ■P105. MICRODÉLÉTION 14Q12 EN MOSAÏQUE. À PROPOS D'UN NOUVEAU CAS

A. Destree, S. Vidrequin, C. Verellen-Dumoulin, B. Bernard Grisart  
Centre de Génétique Humaine, Institut de Pathologie et de Génétique, Charleroi (Gosselies), Belgique  
Contact : anne.destree@ipg.be

Les délétions interstitielles des bras longs du chromosome 14 sont rares. À notre connaissance, seuls 3 cas de délétion 14q12 cryptique identifiée par CGH sur micropuce ont été rapportés dans la littérature à ce jour. Ces patients présentent un phénotype similaire avec retard mental, microcéphalie post-natale et dysmorphie faciale. La caractérisation de cette microdélétion a permis l'identification du gène FOXP1 comme 3<sup>e</sup> gène responsable d'un phénotype « Rett-like ». Nous rapportons ici le cas d'une fillette issue de parents consanguins, présentant à la naissance une dysmaturité, une microcéphalie, une dysmorphie faciale et une communication inter-ventriculaire. L'évolution s'est faite vers un retard psychomoteur sévère avec absence de langage à l'âge de 3 ans et des difficultés alimentaires amenant à une gastrostomie. L'imagerie cérébrale a révélé une hypoplasie du corps calleux. Le caryotype standard réalisé au départ des lymphocytes périphériques s'est avéré normal. Une analyse par CGH array a mis en évidence une délétion de 412 Kb en 14q12. Une confirmation par FISH a permis de détecter la présence de cette délétion dans 55 % des lymphocytes périphériques sanguins. La présence de ce remaniement à l'état de



mosaïque est en faveur de sa survenue *de novo*, ce qui a été confirmé par l'analyse FISH réalisée chez les parents. Seul le gène PRKD1 (proteine kinase D1) est délété chez notre patiente. Ce gène encode pour une sérine-thréonine kinase qui intervient dans la transduction cellulaire. La recherche d'autres patients dans la base de données DECIPHER a permis d'identifier 4 autres patients dont 2 présentent une délétion n'impliquant que le gène PRKD1 comme chez notre patiente. Tous présentent un retard de développement psychomoteur et une microcéphalie, symptômes attribués à la délétion du gène FOXG1 sur base de l'analyse des 3 premiers patients publiés. Or ce gène n'est pas délété chez 2 des patients décrits dans DECIPHER ni chez notre patiente. Ces observations remettent en question que des mutations ou délétion de FOXG1 soient à elles seules responsables de la symptomatologie liée à la délétion 14q12. Par ailleurs, notre patiente présente un tableau clinique plus sévère avec notamment une cardiopathie non rapportée antérieurement. À ce stade, il n'est pas possible d'affirmer que le phénotype présenté est uniquement lié à la délétion 14q12 en mosaïque identifiée et ce d'autant plus qu'un contexte de consanguinité parentale est connu. Ceci souligne la difficulté d'intégrer les données moléculaires et cliniques avec les données de la littérature afin d'aboutir à un diagnostic clair et non ambigu.

**Mots-clés :** microdélétion 14q12, FOXG1, PRKD1.

#### ■P106. DÉLÉTION 14Q22.1Q23.1 PURE ET DE NOVO CHEZ UNE PATIENTE PRÉSENTANT UNE ANOPHTALMIE BILATÉRALE AVEC UNE HYPOPLASIE DE LA TIGE PITUITAIRE

S. Brisset (1, 2, 3), K. Milcent (4), L. Tosca (1, 2, 5), N. Guérin (1), L. Lecerc (6, 7), C. Metay (6, 7), M. Goossens (6, 7), P. Labruno (2, 4, 8), G. Tachdjian (1, 2, 5)

(1) *Histologie, Embryologie et Cytogénétique, Hôpital Antoine-Béclère, AP-HP, Clamart, France*; (2) *Université Paris Sud, Le Kremlin-Bicêtre, France*; (3) *INSERM U782, Clamart, France*; (4) *Pédiatrie, Hôpital Antoine-Béclère, AP-HP, Clamart, France*; (5) *INSERM U935, Villejuif, France*; (6) *Université Paris Val de Marne, Créteil, France*; (7) *Plateforme de Génomique IMRB 955, Hôpital Henri Mondor, Créteil, France*; (8) *INSERM U948, Nantes, France*

Contact : [sophie.brisset@abc.aphp.fr](mailto:sophie.brisset@abc.aphp.fr)

Les associations malformatives déjà rapportées comprenant une anophtalmie associée à une malformation hypothalamo-hypophysaire sont le plus souvent sporadiques. Nous rapportons le cas d'une petite fille de 6 mois adressée pour une anophtalmie bilatérale associée à une hypoplasie de la tige pituitaire et présentant une délétion intercalaire 14q22.1q23.1 explorée par CGH-array. La grossesse a été marquée par des marqueurs biologiques du deuxième trimestre anormaux associés à la découverte échographique d'une polydactylie unilatérale. Le caryotype fœtal sur amniocytes cultivés a été interprété comme a priori normal 46,XX. L'enfant est née au terme de 38 SA avec un poids de 3110g (50e percentile), un PC de 35,5 cm (75e percentile), et une taille de 51 cm (75e percentile). À la naissance sont constatés une hypotonie, une anophtalmie bilatérale, un microrétrognathisme, un palais ogival et une polydactylie post-axiale droite. L'IRM cérébrale a confirmé l'anophtalmie bilatérale (absence des nerfs optiques et des chiasmas optiques) et a mis en évidence une absence de l'antéhypophyse, une posthypophyse en position ectopique et une hypoplasie de la tige pituitaire. L'échographie cardiaque a retrouvé une CIV. Le caryotype refait en postnatal a laissé suspecter une anomalie sur le bras long d'un chromosome 14. L'utilisation de l'hybridation génomique comparative sur puce (CGH array de type Agilent 105k) a révélé une délétion 14q22.1q23 de 8.77 Mb. Cette délétion a été vérifiée par FISH avec des sondes BACs. Une sonde subtélomérique 14qter a par ailleurs confirmé qu'il s'agissait d'une délétion intercalaire. Cette anomalie est survenue *de novo*. Parmi les 47 gènes présents dans la région délétée, le gène BMP4 joue un rôle clé dans le développement embryonnaire de l'œil, du cerveau et des doigts (Bakrania *et al.*, 2008). Le gène OTX2 code pour un facteur de transcription impliqué dans le développement du cerveau antérieur, de l'œil et dans des anomalies de l'axe hypothalamo-hypophysaire (Tajima *et al.*, 2009). Enfin, SIX6 est un gène impliqué dans l'hypopituitarisme et possède aussi un rôle dans le développement de l'œil. Il s'agit ici du cinquième cas rapporté de délétion 14q22q23 associé à une anophtalmie et une anomalie pituitaire et du premier cas de délétion pure caractérisé par CGH array.

**Mots-clés :** anophtalmie bilatérale, délétion 14q, CGH array.

#### ■P107. ÉPILEPSIE, RETARD MENTAL ET MICRODÉLÉTION INTERSTITIELLE 15Q13.3 : ASSOCIATION FRÉQUENTE OU ANECDOTIQUE ?

A. Buffet (1), V. Gaston (1), G. Diene (2), M. Tauber (2), P. Calvas (1), E. Bieth (1)

(1) *Service de génétique, Hôpital Purpan, Toulouse, France*; (2) *Hôpital des enfants, Toulouse, France*

Contact : [alexbuffet13@yahoo.fr](mailto:alexbuffet13@yahoo.fr)

Des études récentes suggèrent que les microdélétions de la région 15q13.3 incluant le gène CHRNA7 seraient à l'origine d'environ 1 % des épilepsies, isolées ou associées à un retard mental et de 0,3 % des syndromes autistiques [1, 2]. Nous avons développé une méthode de PCR semi-quantitative (QMPSF) ciblée sur le gène CHRNA7 pour évaluer la fréquence de ces microdélétions dans deux groupes distincts de patients : - 45 enfants présentant soit une encéphalopathie épileptique (n = 42) soit un syndrome autistique associé à une épilepsie (n = 3) - 9 patients suivis pour un syndrome de Prader-Willi et présentant une épilepsie (n = 2) ou des convulsions fébriles (n = 7). Si aucune délétion du gène CHRNA7 n'a été détectée dans le premier groupe, en revanche, une large délétion de la région 15q11q13 incluant la région critique du Prader-Willi et le gène CHRNA7 a été identifiée chez une jeune patiente ayant un syndrome de Prader-Willi et une épilepsie. Cette patiente présentait une translocation entre le chromosome 15q et le chromosome 10q. Cette observation soulève la question encore non résolue du rôle joué par le gène CHRNA7 dans la survenue de certaines épilepsies. En conclusion, nos résultats suggèrent que la microdélétion interstitielle 15q13.3 ne serait pas une cause fréquente d'encéphalopathie épileptique mais qu'elle devrait être recherchée chez tous les patients présentant l'association d'un syndrome de Prader-Willi et d'une épilepsie.

#### Références

1. Helbig I. *Nature Genetic* 2009; 41 (2) : 160-2.
2. Sharp AJ. *Nature Genetic* 2008; 40 (3) : 322-8.

**Mots-clés :** deletion 15q13.3, epilepsie.

#### ■P108. NOUVEAUX SYNDROMES MICRODÉLÉTIONNELS : PROBLÈMES POSÉS EN DIAGNOSTIC ET CONSEIL GÉNÉTIQUE PAR LES PATIENTS PORTEURS DE DÉLÉTIONS 1Q21.1 ET 15Q13.3

C. Mach (1), B. Keren (1, 2), A. Jacquette (1), C. Depienne (1, 2), P. Leite (1), E. Fonteneau (1), B. Benyahia (1), W. Carpentier (3), F. Soubrier (1, 3), A. Brice (1, 2), D. Héron (1)

(1) *Département de Génétique et Cytogénétique, CGMC, GH Pitié-Salpêtrière, AP-HP, France*; (2) *CRICM, Inserm UMR S975, upmc, GH Pitié-Salpêtrière, France*; (3) *Plateforme Post-génomique de la Pitié-Salpêtrière, Inserm, upmc, GH Pitié-Salpêtrière, France*

Contact : [mashicocohk@hotmail.com](mailto:mashicocohk@hotmail.com)

Récemment de grandes séries de patients atteints de retard mental ont bénéficié d'une étude en puces ADN ce qui a permis de caractériser de nouvelles délétions récurrentes, en particulier les délétions 1q21.1 et 15q13.3, dont le caractère pathogène est parfois difficile à affirmer avec certitude. Afin de l'illustrer, nous présentons 2 histoires familiales de retard mental associées, l'une à une délétion 1q21.1, l'autre à une délétion 15q13.3. Le patient 1 a un tableau très sévère d'encéphalopathie convulsivante, retard staturo-pondéral, microcéphalie, dysmorphie, ptosis, micropénis et cryptorchidie bilatérale. L'analyse sur puces SNP a retrouvé la délétion récurrente 1q21.1 emportant la région minimale décrite. Cette délétion a été retrouvée chez sa mère, qui présente seulement une cataracte précoce et une petite taille. Elle n'est pas présente chez son frère sain, de taille normale. La délétion 1q21.1 a été initialement décrite chez des patients atteints de retard mental isolé ou parfois associé à une microcéphalie, un autisme et des malformations variées. Elle a été ensuite décrite indépendamment dans des séries de patients atteints d'autisme, de schizophrénie et de tétralogie de Fallot, sans retard mental. Le patient 2 fait partie d'une fratrie de 7 frères, parmi lesquels 5 sont atteints de retard mental non syndromique, sans épilepsie. L'analyse sur puces SNP a retrouvé la délétion récurrente 15q13.3 chez ce patient. Mais l'étude familiale n'a retrouvé cette anomalie chez aucun de ses frères atteints et non atteints. La délétion 15q13.3 a été initialement décrite comme un syndrome associé retard mental et épilepsie. Elle a toutefois également été retrouvée chez des parents sains, des patients atteints de retard mental isolé, d'épilepsie isolée et de schizophrénie. Ces 2 observations illustrent les difficultés à interpréter ces anomalies cytogénétiques observées. En effet si dans la famille du patient 1, il semble exister une grande variabilité phénotypique entre le fils sévèrement atteint et la mère, le caractère causal de l'anomalie peut être envisagé. En effet, la grande variabilité d'expression est déjà décrite dans d'autres syndromes microdélétionnels, et rend toujours le conseil génétique délicat. En revanche, dans la famille du patient 2, la présence de la délétion chez un seul des frères atteints de retard mental serait plutôt en faveur de son caractère non causal. Ces nouvelles anomalies cytogénétiques sont donc à l'origine de difficultés dans l'information des



familles. Et en cas de demande de diagnostic prénatal, il paraît impossible de prévoir le phénotype futur de l'enfant.

**Mots-clés :** délétion 1q21.1, délétion 15q13.3, puce SNP.

#### ■P109. CORRÉLATIONS GÉNOTYPE-PHÉNOTYPE CHEZ 5 PATIENTS PRÉSENTANT UNE DÉLÉTION 15Q24 IDENTIFIÉE EN CGH-ARRAY

J. Andrieux (1), C. Dubourg (2), M. Rio (3), T. Attié-Bitach (3), E. Delaby (1), M. Mathieu (4), H. Journal (5), A. Busnel (6), H. Copin (7), E. Blondeel (7), M. Doco-Fenzy (8), E. Landais (8), B. Delobel (9), S. Jaillard (10), L. Pasquier (11), S. Odent (11), S. Manouvrier-Hanu (12), M. Holder-Espinasse (12)

(1) Laboratoire de Génétique Médicale, Hôpital Jeanne-de-Flandre, CHRU, Lille, France ; (2) Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHU, Rennes, France ; (3) Département de Génétique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France ; (4) Service de Pédiatrie-Génétique, Hôpital Nord, CHU, Amiens, France ; (5) Génétique Médicale, Hôpital Chubert, CHBA, Vannes, France ; (6) Service de réanimation néonatale, CH St Brieuc, France ; (7) Laboratoire de Cytogénétique, Hôpital Nord, CHU, Amiens, France ; (8) Service de Génétique, Hôpital Maison-Blanche, CHU, Reims, France ; (9) Centre de Génétique Chromosomique, Université Catholique, GHICL, Lille, France ; (10) Laboratoire de Cytogénétique, CHU, Rennes, France ; (11) Service de Génétique Clinique, CHU, Rennes, France ; (12) Service de Génétique Clinique, Hôpital Jeanne-de-Flandre, CHRU, Lille, France

Contact : j-andrieux@chru-lille.fr

La microdélétion 15q24 est un syndrome émergent récemment décrit grâce à l'utilisation croissante de la CGH-array [Sharp *et al.*, 2007]. Les signes cliniques associent un retard psychomoteur léger à modéré, une dysmorphie faciale (front haut, sourcils épais, fentes palpébrales obliques en bas et en dehors, philtrum long), des anomalies des mains (pouces implantés de façon proximale) et des anomalies génitales chez les garçons (micro-pénis, hypospade). Nous rapportons ici quatre cas *de novo* présentant une délétion entre 2,5 et 6,1 Mb impliquant la région 15q23q24.2 pour l'un et 15q24.1q24.2 pour les 3 autres. Nous rapportons également un 5ème patient présentant une délétion 15q24.2 de 420 kb dont le caractère hérité ou *de novo* n'a pas encore pu être étudié. Les corrélations génotype-phénotype s'appuyant sur les bornes moléculaires de ces délétions permettent d'évoquer plusieurs hypothèses. Les anomalies ophtalmologiques et ano-rectales ne sont observées que chez le patient 1, ce qui nous permet de les relier aux gènes situés en 15q23. Dans la mesure où aucune anomalie génitale n'est retrouvée chez le patient 3 présentant la plus petite délétion 15q24.1, nous pouvons aussi définir une région de 500 kb liée à ces anomalies.

**Mots-clés :** CGH-array, 15q24, génotype-phénotype.

#### ■P110. TRANSMISSION D'UNE INVERSION PÉRICENTRIQUE DU 16 AVEC FORMATION DE 2 RECOMBINANTS

N. Gruchy (1), L. Geslain (2), J. Andrieux (3), G. Plessis (2)  
(1) Laboratoire de Cytogénétique prénatale, CHU de Caen, France ; (2) Laboratoire de Cytogénétique postnatale, CHU de Caen, France ; (3) Laboratoire de Génétique médicale, CHRU de Lille, France  
Contact : gruchy-n@chu-caen.fr

Nous rapportons l'étude d'une famille dont les 2 enfants sont atteints de retard mental associé à une dysmorphie faciale. Le cas index est un garçon venu en consultation de génétique pour retard psychomoteur. Cet enfant, né à terme (poids : 2 700 g et PC : 34 cm) après une grossesse sans particularité, présente une dysmorphie faciale : microcéphalie, dolichocéphalie, étroitesse bifrontale, épicanthus, blépharophimosis avec ptosis et trigonocéphalie. Sa racine du nez est large avec des narines antéversées. Il présente une microrétrognathie et un cou court, ainsi qu'une fente palatine postérieure. Il a été opéré d'une hernie étranglée et d'une ectopie testiculaire bilatérale. Son retard psychomoteur est sévère. La marche est acquise à l'âge de 3,5 ans, le langage est toujours inexistant à l'âge de 14 ans. La propreté diurne est acquise. Un caryotype sanguin initial est rendu sans anomalie détectée. Il est revu plus tard en consultation, un retard staturopondéral est constitué. Un syndrome de Smith Lemli Opitz est évoqué, mais l'analyse de la chaîne du cholestérol ne montre pas d'excès de stérols anormaux. De même, un syndrome ATR-X est suspecté, mais l'analyse de l'électrophorèse de l'hémoglobine ne met pas en évidence d'hémoglobine H. L'analyse du caryotype haute résolution est rendue normale ainsi que l'étude tous télomères et des loci 22q11.2 et 22qter. L'ADN du patient est analysé par CGH array (puce oligonucléotidique Agilent 44K). Une duplication 16p13.3 de 3,5 Mb est mise en évidence. Parmi les gènes impliqués dans cette duplication, on retrouve TSC2 (tuberous sclerosis 2),

PKD1 (polycystic kidney) et CREBBP (Rubinstein Taybi). Cette duplication n'est pas présente chez les parents, elle est survenue *de novo*. Elle est vérifiée par FISH avec des sondes BACs. La sœur du cas index présente un retard staturopondéral (environ -2DS) et un retard psychomoteur moins sévère. Sa dysmorphie faciale comprend un blépharophimosis, un hypertélorisme, un nez retroussé et une fente vélaire. L'étude de son ADN en CGH ne retrouve pas de duplication mais 2 zones de délétion du chromosome 16 de part et d'autre du fragment dupliqué chez son frère, soit une délétion 16p13.3 de 1,3 Mb et une délétion 16p13.3p13.2 de 3,9 Mb. Son retard mental est probablement dû à l'haploinsuffisance de SOX8 en 16p13.3. Les caryotypes parentaux ont été effectués, le caryotype maternel est 46,XX et l'étude chromosomique paternelle par l'intermédiaire de sondes FISH élaborées à partir de BACs du 16p met en évidence une large inversion péracentrique du chromosome 16. La recombinaison de l'inversion paternelle a entraîné la formation des 2 différents dérivés mis en évidence chez son fils et sa fille. La complémentarité des techniques a permis d'obtenir un diagnostic précis, d'expliquer la dysmorphie différente des 2 enfants et de proposer un conseil génétique fiable aux parents et à la fratrie en décelant par FISH les porteurs de cette inversion.

**Mots-clés :** inversion péracentrique, chromosome 16, recombinaison.

#### ■P111. DISOMIE UNIPARENTALE DU CHROMOSOME 16 DANS UN CAS DE DÉFICIT EN ADÉNINE PHOSPHORIBOSYL-TRANSFÉRASE

G. Guest (1), I. Ceballos-Picot (2, 3, 4), V. Morinière (6), N. Morichon (7), C. Antignac (3, 6, 8), L. Heidet (1, 5)  
(1) APHP, Service de Néphrologie Pédiatrique, Hôpital Necker, Paris, France ; (2) APHP, Service de Biochimie métabolique, Hôpital Necker, Paris, France ; (3) Université Paris Descartes, Paris, France ; (4) Centre de référence des maladies héréditaires du métabolisme, France ; (5) APHP, Centre de référence des maladies rénales héréditaires de l'enfant et de l'adulte (MARHEA), France ; (6) APHP, Département de Génétique, Hôpital Necker, Paris, France ; (7) APHP, service d'histo-embryo-cytogénétique, Hôpital Necker, Paris, France ; (8) Inserm U574, Hôpital Necker, Paris, France  
Contact : laurence.heidet@nck.aphp.fr

Le déficit en adénine phosphoribosyltransférase (APRT) est une maladie rare, autosomique récessive. Cette enzyme est impliquée dans la voie de récupération des bases puriques et catalyse la formation d'adénosine monophosphate (AMP) à partir de l'adénine et de 5-phosphoribosyl-1-pyrophosphate (PP-ribose-P). Le déficit en APRT entraîne une oxydation de l'adénine en 2,8-dihydroxyadénine 2,8-DHA, un composé très insoluble qui cristallise dans les urines entraînant la formation de lithiases et d'une néphropathie tubulointerstitielle. Le gène en cause est le gène APRT situé sur le chromosome 16 (16q24). Nous rapportons l'observation d'une disomie uniparentale d'origine maternelle du chromosome 16 (mat UPD16) chez une petite fille présentant un déficit complet en APRT révélé à l'âge de 22 mois par une lithiase de 2,8-DHA (calcul de 14 mm dans le bassin droit), traitée efficacement par allopurinol après lithotritie. Le diagnostic a été confirmé par une activité enzymatique APRT érythrocytaire indétectable et la mise en évidence d'une mutation, IVS4+2insT, à l'état homozygote. La mère de cette fillette est hétérozygote pour la mutation IVS4+2insT et son activité enzymatique est intermédiaire. De façon étonnante, son père n'est pas porteur de la mutation, et son activité enzymatique est normale. L'étude des transcrits lymphocytaires a confirmé que l'ARN de la patiente ne comporte pas l'exon 4 du gène, sa mère a deux types de transcrits, son père n'exprime que le transcrit normal. L'étude de différents marqueurs microsatellites a exclu une fausse paternité. L'étude des marqueurs microsatellites couvrant le chromosome 16 a démontré l'absence de contribution paternelle pour tous les marqueurs du chromosome 16. Seule une contribution maternelle a été identifiée. Cette patiente ne présentait, en plus des manifestations lithiasiques, qu'un retard de croissance intra-utérin modéré et une petite communication interventriculaire. L'absence, chez cette enfant, de manifestations cliniques sévères rapportées dans d'autres cas d'UPD16 d'origine maternelle suggère qu'il n'existe pas de gènes soumis à empreinte maternelle sur le chromosome 16 conduisant à un phénotype sévère, et que les anomalies observées chez les autres patients sont liées à une trisomie 16 en mosaïque et/ou à des pathologies récessives non identifiées associées à la disomie.

**Mots-clés :** mat UPD16, déficit en APRT, lithiases.

#### ■P112. MICRODUPLICATION 17P13.3 PAR TRANSLOCATION DÉSÉQUILIBRÉE T(X;17) : ANALYSE CYTOGÉNÉTIQUE ET MOLÉCULAIRE

C. Hyon (1), S. Marlin (2), S. Chantot-Bastarud (1), P. Mabboux (1), M.P. Beaujard (1), E. Al Ageeli (1), J.P. Siffroi (1), M.F. Portnoi (1)

(1) Service de Génétique et Embryologie médicales, Hôpital Armand-Trousseau, Paris, France ; (2) Unité Fonctionnelle de Génétique clinique et moléculaire, Service de Génétique et Embryologie médicales, Hôpital Armand-Trousseau, Paris, France

Contact : marie-france.portnoi@trs.aphp.fr

Les microduplications chromosomiques, réciproques de microdélétions génomiques spécifiques, sont de plus en plus rapportées dans la littérature. Elles conduisent à la description de phénotypes caractéristiques de nouveaux syndromes chromosomiques. Une des régions impliquées est située en 17p13.3, dont les délétions connues sont responsables du syndrome de Miller-Dieker, avec une région critique bien délimitée (MDSR), contenant les gènes majeurs PAFAH1B1 et YWHAE. Récemment, plusieurs études en CGH-array ont identifié une dizaine de cas de duplications submicroscopiques 17p13.3, incluant la MDSR, permettant ainsi de définir un nouveau syndrome de duplication 17p13.3. Nous rapportons ici une nouvelle observation de microduplication 17p13.3, découverte chez une fille de 13 ans, opérée d'une fente labio-palatine bilatérale. À l'examen, elle a un retard modéré des acquisitions, une dysmorphie faciale et des difficultés scolaires. Une délétion terminale du bras long d'un chromosome X (Xq26), apparemment isolée, est initialement détectée au caryotype standard. Le caryotype maternel est normal. Celui du père n'a pu être réalisé. Pour éliminer une éventuelle translocation déséquilibrée associée à la del(Xq), pouvant expliquer le phénotype de l'enfant, une étude en FISH des régions subtélomériques est effectuée. Le résultat montre la présence d'une microduplication 17pter, par translocation déséquilibrée t(X;17). L'analyse en FISH du locus Miller-Dieker (sonde LIS1) montre que cette région est également présente dans la duplication. Le caryotype complet est donc : 46,X,del(X)(q26).ish der(X)t(X;17)(q26;p13.3)(qter-, pter+, LIS1+). La taille précise des déséquilibres est analysée par une étude complémentaire en CGH array : la délétion Xq est d'environ 21 Mb, avec un point de cassure en Xq26.2, la duplication 17p13.3 d'environ 4.2 Mb, incluant les gènes PAFAH1B1 et YWHAE de la MDSR. Le phénotype de l'enfant, probablement atténué par une inactivation possible, partielle, du segment 17p13.3 transloqué sur le der(X), est vraisemblablement lié à la surexpression des gènes majeurs de la MDSR, et non à la délétion Xq. Le tableau clinique de l'enfant, ainsi que les caractéristiques du remaniement, sont comparés à ceux des quelques patients porteurs de duplication submicroscopique 17p13.3, décrits dans la littérature. Ils contribuent ainsi à la caractérisation de ce nouveau syndrome de microduplication génomique.

**Mots-clés :** Microduplication, Miller-Dieker région, chromosome 17

#### ■P113. TRISOMIE 17P13.3 DE NOVO – DYSMORPHIE ET RETARD IMPORTANT DES ACQUISITIONS PSYCHOMOTRICES

S. Kanafani (1), M. Mathieu (1, 2), F. Raqbi (3), A. Receveur (1), C. Quibel (1), E. Blondeel (1), G. Morin (2), B. Demeer (2), A. Hazard (2), S. Bouquillon (3), J. Andrieux (3), H. Copin (1)

(1) Cytogénétique, CHU d'Amiens, Université de Picardie Jules-Verne, Amiens, France ; (2) Génétique Clinique, Hôpital Nord, CHU d'Amiens, France ; (3) Pédiatrie et néonatalogie, CH Laennec, Creil, France ; (4) Laboratoire de Génétique Médicale, Hôpital Jeanne-de-Flandre, CHRU de Lille, France

Contact : kanafani.samia@chu-amiens.fr

Observation : Le cas index est le deuxième enfant d'une fratrie de 2, de parents cousins (consanguinité 1/32), le père ayant déjà 4 enfants sans problème d'une première union. Lors de la grossesse, une dilatation ventriculaire cérébrale est notée, sans notion de caryotype prénatal réalisé. À l'âge de 9 mois, l'examen trouve un retard du développement psychomoteur avec absence de tenue assise, une importante hypotonie axiale et une petite hypertonie périphérique. L'IRM met alors en évidence une dilatation modérée des ventricules latéraux et du 3<sup>e</sup> ventricule avec un corps calleux discrètement atrophique dans sa partie caudale. Un bilan ophtalmologique prescrit pour strabisme montre une paralysie du IV bilatérale ; une cryptorchidie bilatérale est confortée par l'échographie ; un EEG et un bilan métabolique sont normaux. Vers l'âge de 3 ans la cryptorchidie est opérée, et vers l'âge de 4 ans, l'enfant suivi au CAMPS a un retard important des acquisitions psychomotrices et une myopie sévère. Il ne prononce que quelques mots et bave de façon notable. Le PC est dans les normes, avec yeux en amandes, petit nez et columelle courte, lèvres supérieures en chapeau de gendarme avec philtrum épais, oreilles décollées et larges hélix, « finger pads » et cinquièmes orteils hypoplasiques. Cytogénétique : Le caryotype réalisé à l'âge de 1 an, à 400 bandes par lot haploïde en marqueurs RHG et GTG, n'avait décelé aucune anomalie. À l'âge de quatre ans, une puce CGH révèle une duplication 17p13.3 de 2.3 Mb, à 80 kb du gène LIS1, ainsi qu'une délétion 20p11.21 de 2 Mb. La technique FISH

avec des sondes commerciales sub-télomériques (Vysis, Abbott Molecular) vérifie la présence d'un 3<sup>e</sup> signal 17pter sur le bras court d'un chromosome de groupe D, qui s'avère être un chromosome 14 par une 2<sup>e</sup> hybridation. Cette duplication 17p13.3 est après exploration parentale de novo. La Q-PCR retrouve la délétion 20p11.21 chez la mère, sans particularité phénotypique, correspondant donc à un polymorphisme, déjà répertoriée dans la base de données des variations polymorphiques (<http://projects.tcag.ca/variation/>). Le caryotype s'écrit : 46,XY[16].arr cgh17pterp13.3(chr17:1-2,361,409)(hg18-build36)x3dn (LIS1x2),20p11.21(chr20:23,369,007-25,235,554)(hg18-build36)x1mat ish (17pterx3,17qterx2)[15],der(14)(17pter+,14qter+)[15],dn nuc ish(17pterx3,17qterx2)[50],(17pterx3,14qterx2)[50]dn Discussion : – Cliniquement, la trisomie 17p13.3 serait responsable à elle seule des anomalies pour notre patient ; nous comparons notre observation aux données de la littérature qui ne sont pas nombreuses pour la trisomie partielle 17p. Une action indirecte qui dérégulerait le gène LIS1 ne semble pas interférer. – Du point de vue cytogénétique, les techniques moléculaires (FISH télomériques et/ou CGH-arrays) révèlent ~ 5 à 7 % de déséquilibres cryptiques subtélomériques pour les dysmorphies avec retard, à caryotype conventionnel sans anomalie.

**Mots-clés :** trisomie 17p13.3, FISH subtélomérique, CGH-array.

#### ■P114. CARACTÉRISATION EN CGH-ARRAY D'UN REMANIEMENT COMPLEXE 17P CHEZ UN PATIENT PRÉSENTANT DES HÉTÉROTOPIES NODULAIRES PÉRI-VENTRICULAIRES

C. Soleyran (1), S. Chantot-Bastaraud (1), M.F. Portnoi (1), B. Keren (2), C. Hyon (1), P. Mabboux (1), M.P. Beaujard (1), J.P. Siffroi (1), F. Renaldo (3), I. Kemlin (3), A. Afenjar (3, 4)

(1) Assistance Publique Hôpitaux de Paris, Service de Génétique et Embryologie Médicales-Hôpital Armand-Trousseau, Paris, France ; (2) Assistance Publique Hôpitaux de Paris, Département de Génétique-Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France ; (3) Assistance Publique Hôpitaux de Paris, Service de Neuropédiatrie, Hôpital Armand-Trousseau, Paris, France ; (4) Centre de référence syndrome malformatif et anomalies du développement embryonnaire

Contact : sandra.chantot-bastaraud@trs.aphp.fr

Les réarrangements génomiques de la région 17p13.3 sont connus pour être associés à des anomalies du développement et/ou du fonctionnement cérébral. En fonction de la taille des délétions distales incluant le gène PAFAH1B1 (LIS 1), le phénotype varie de la lissencéphalie isolée au syndrome de Miller-Dieker. Des rares délétions de plus petites tailles n'emportant pas PAFAH1B1 mais le gène YWHAE ont récemment été décrites chez des patients avec anomalies de la migration neuronale. De même, peu de cas de duplication de la région incluant le gène PAFAH1B1 ont été rapportés. Ces duplications s'accompagnent d'un retard de croissance, d'un retard mental de degré variable et d'anomalies mineures du développement cérébral. Ces études récentes utilisant des techniques de CGH-array en haute résolution n'ont pas mis en évidence de points de cassure récurrents à l'origine de ces déséquilibres génomiques. Nous rapportons ici un patient présentant l'association d'un retard de développement global, d'une épilepsie, d'une dysmorphie faciale et d'une malformation cérébrale mise en évidence à l'IRM à type d'hétérotopies nodulaires sous-épendymaires des cornes ventriculaires occipitales. La CGH-array oligonucléotidique (Agilent, 180K) a permis d'identifier un remaniement complexe associant délétion et duplication de l'extrémité du bras court du chromosome 17 confirmé en FISH. La délétion terminale d'environ 1.8 Mb inclut le gène YWHAE, tandis que la duplication sous-jacente d'environ 2 Mb inclut le gène PAFAH1B1. Les hétérotopies nodulaires péri-ventriculaires sont des malformations cérébrales d'étiologies diverses et associées à une variabilité phénotypique importante. La plupart des patients atteints présentent une épilepsie et un retard mental de degrés variable voire une absence de symptôme. À ce jour, des mutations causales de 2 gènes, FLNA en Xq28 et ARFGF2 en 20q13 ont été rapportées à l'origine de ce type de malformation cérébrale. Plusieurs réarrangements chromosomiques impliquant les régions 1p36, 5p15, 7q11 et 5q14.3-q15 ont également été associés à des hétérotopies péri-ventriculaires sans que des gènes soient identifiés. Plus récemment, la description d'un patient présentant des hétérotopies péri-ventriculaires et une hypoplasie du corps calleux associés à une délétion interstitielle de 400 kb de la région 17p13.3 impliquant le gène YWHAE a suggéré que l'haplo insuffisance de ce gène pouvait également être responsable de ce phénotype. Notre observation vient conforter cette hypothèse.

**Mots-clés :** remaniement complexe 17 p, CGH-array, hétérotopies nodulaires péri-ventriculaires.



### ■P115. MICRODÉLÉTIONS 17P13.3 ÉPARGNANT PAFAH1B1 MAIS EMPORTANT YWHAЕ : À PROPOS DE 2 CAS ET REVUE DE LA LITTÉRATURE

C. Vincent-Delorme (1), J. Andrieux (2), D. Sanlaville (3, 4), A. Labalme (3), S. Bouquillon (2), S. Manouvrier-Hanu (1), P. Edery (3, 4)

(1) *Service de Génétique Clinique, Hôpital Jeanne-de-Flandre, CHRU de Lille, France* ; (2) *Laboratoire de Génétique Médicale, Hôpital Jeanne-de-Flandre, CHRU de Lille, France* ; (3) *Service de Cytogénétique Constitutionnelle, CHU de Lyon, France* ; (4) *Université Lyon 1, Lyon, France*  
Contact : j-andrieux@chru-lille.fr

Les délétions 17p13.3 sont associées à des anomalies de la migration neuronale. Les mutations ponctuelles ou les délétions de PAFAH1B1 sont responsables de lissencéphalie. Les délétions 17p13.3 plus larges emportant PAFAH1B1, YWHAЕ et toute la région sous-télomérique sont à l'origine du syndrome de Miller-Dieker (lissencéphalie souvent plus sévère et dysmorphie faciale). Depuis peu quelques cas de délétions 17p13.3 télomériques ou intercalaires ont montré que la délétion de YWHAЕ était accompagnée d'un retard de croissance prénatal, d'un retard mental modéré et ont permis de préciser la dysmorphie faciale [Sreenath Nagamani *et al.*, 2009, Mignon-Ravix *et al.*, 2009] qui comporte un front bombant, des fentes palpébrales obliques en bas et en dehors, une racine du nez large, des oreilles bas implantées, un rétrognathisme. Dans la région sous-télomérique, les gènes candidats pour le retard de croissance anténatal sont RPA1, MNT et CRK. Ces délétions sont également associées à des malformations cérébrales variées (hypoplasie du corps calleux, malformation d'Arnold-Chiari, anomalies du cortex frontal, hétérotopies périventriculaires). Nous rapportons deux observations de patients avec délétion 17p13.3 (respectant LIS1) emportant plusieurs gènes dont YWHAЕ : Le premier est une petite fille de deux ans adressée pour dilatation des cornes frontales de ventricules latéraux, kystes sous-épendymaires, leucopathie aspécifique, pied bot unilatéral, macrocéphalie relative avec hypotrophie anténatale, hyperlaxité, particularités faciales associant des bosses frontales saillantes et une enophtalmie, ainsi qu'un retard psychomoteur modéré. La CGH-array a montré une délétion 17p intercalaire de 1,4 Mb (chr17:849,065-2, 269,423) emportant 31 gènes. Le second cas est une jeune fille de 26 ans qui présente un retard cognitif syndromique, associé à un retard de croissance staturale anté et postnatal traité par hormone de croissance entre l'âge de 12 et 15 ans, des particularités morphologiques (petite taille, lèvre bifide, agénésies dentaires, dysmorphie faciale), une cardiopathie comprenant un canal artériel persistant et une HTAP. La CGH-array a montré une délétion 17pter de moins de 2 Mb emportant 31 gènes et dont le point de cassure se situe dans SMC6. Ces deux délétions sont de survenue *de novo*. Elles semblent confirmer l'existence d'un phénotype clinique, toutefois peu spécifique et contribuent à suspecter l'implication directe d'un ou plusieurs gènes contenus dans l'intervalle, notamment YWHAЕ, dont l'haploinsuffisance pour l'orthologue murin est responsable d'anomalies de la migration neuronale. Une dérégulation de LIS1 ne peut toutefois être écartée.

**Mots-clés** : CGH-array, YWHAЕ, délétion 17p13.3.

### ■P116. MICRODÉLÉTIONS 17P13.3 N'EMPORTANT PAS LE GÈNE PAFAH1B1 (OU LIS1) : CORRÉLATIONS « GÉNOMOTYPE »/PHÉNOTYPE CHEZ 2 PATIENTS ET RÔLE D'AUTRES GÈNES MAJEURS DE LA RÉGION À L'ORIGINE D'UN PHÉNOTYPE DIFFÉRENT DU SYNDROME DE MILLER-DIEKER

A. Delahaye (1, 2, 3), M. Schiff (2, 4), S. Passemard (2, 5), L. Perrin (5), M. Elmaleh (2, 6), A. Aboura (2, 5), J. Elion (3, 5), E. Pipiras (1, 2, 3), B. Benzacken (1, 2, 5), P. Gressens (2, 4), A. Verloes (2, 5), S. Drunat (5)  
(1) *Laboratoire d'Histologie-Embryologie-Cytogénétique-BDR-CECOS, Hôpital Jean-Verdier, AP-HP, Université Paris-XIII, Bondy, France* ; (2) *UMR 676 Inserm- Universités Paris-VII et Paris-XIII, France* ; (3) *UMR 763 Inserm, Université Paris-VII, France* ; (4) *Département de Neurologie pédiatrique, Hôpital Robert-Debré, AP-HP, Université Paris-VII, Paris, France* ; (5) *Département de Génétique, Hôpital Robert-Debré, AP-HP, Université Paris-VII, Paris, France* ; (6) *Imagerie Médicale, Hôpital Robert-Debré, AP-HP, Université Paris-VII, Paris, France*  
Contact : andree.delahaye@jvr.aphp.fr

Introduction : Le syndrome de la délétion 17p13.3 ou syndrome de Miller Dieker (OMIM 247200) est caractérisé par une microcéphalie et un amincissement du cortex avec 4 couches au lieu de 6. Parmi les gènes inclus dans la région minimale critique, l'atteinte du gène PAFAH1B1 (ou LIS1) est considérée responsable de la lissencéphalie et celle du gène YWHAЕ est supposée être à l'origine de la dysmorphie. Objectif : Nous rapportons la caractérisation moléculaire et clinique de deux patients non apparentés porteurs de délétions 17p13.3 emportant le gène YWHAЕ mais pas le gène PAFAH1B1. Méthodes : Pour chaque patient la description clinique comprend l'histoire clinique, les examens physique, neurologique et

ophtalmologique ainsi que l'imagerie cérébrale. Une analyse en CGH array avec des puces à oligonucléotides Agilent® a permis de caractériser chacune des délétions. Résultats : La patiente 1, âgée de 6 ans, présente une macrocéphalie acquise, un retard psychomoteur modéré, une dysmorphie faciale et des anomalies à l'IRM cérébrale avec une dilatation triventriculaire, un élargissement des espaces sous-arachnoïdiens, une leucodystrophie, des kystes de la substance blanche et une malformation de Chiari type 1. L'étude en CGH array a mis en évidence une délétion terminale 17p13.3 de 2,1 Mb *de novo*, confirmée en FISH. Le patient 2, âgé de 4 ans, présente un colobome choroïdarien et du cristallin avec une microcornée de l'œil droit, un retard de croissance pré et post-natal à -2 DS avec un périmètre crânien conservé, un léger retard de langage, une dysmorphie faciale et un élargissement des espaces de Virchow Robin à l'IRM cérébrale. L'étude en CGH array a mis en évidence une délétion interstitielle en 17p13.3 de 0,5 Mb de la position 1104999 à la position 1605442 (build 35), confirmée par PCRq ciblant le gène YWHAЕ. Discussion et conclusion : Une revue de la littérature avec comparaison de ces deux patients permet d'affiner la délimitation des régions minimales critiques du syndrome des délétions 17p13.3 et de confirmer l'implication de gènes majeurs autres que PAFAH1B1 (LIS1) dans cette région.

**Mots-clés** : CGH array, délétion 17p13.3, retard mental.

### ■P117. ÉTUDE DE LA MICRODÉLÉTION DU GÈNE TCF2 PAR FISH

S. Bourthoumieu (1), V. Guignonis (2), C. Bellanné-Chantelot (3), P. Brosset (2), F. Esclaire (1), C. Laroche (2), F. Terro (1), C. Yardin (1)  
(1) *Service d'histologie, cytologie et cytogénétique, Hôpital de la mère et de l'enfant, Limoges, France* ; (2) *Service de pédiatrie, Hôpital de la mère et de l'enfant, Limoges, France* ; (3) *Centre de Génétique Moléculaire et Chromosomique, GH Pitié-Salpêtrière, Paris, France*  
Contact : sylvie.bourthoumieu@unilim.fr

L'hépatocyte nuclear factor-1 beta (HNF1b), codé par le gène TCF2, joue un rôle important dans le développement du foie, du rein, de l'intestin et des îlots pancréatiques. Des études ont montré que les mutations du gène TCF2 sont essentiellement impliquées dans le diabète MODY de type 5 associé à des manifestations rénales chez les adultes alors qu'elles sont responsables d'anomalies purement rénales chez les enfants. Le phénotype rénal pédiatrique lié aux anomalies de TCF2 comprend généralement une atteinte bilatérale, la présence de kystes parenchymateux, une hyperéchoogénicité rénale bilatérale, une hypoplasie ou agénésie rénale. Des mutations du gène TCF2 ont également été décrites dans d'autres anomalies extra-rénales comme les anomalies du tractus génital. Le spectre phénotypique des anomalies de TCF2 semble évolutif et reste à compléter. Des études ont montré que ces anomalies peuvent être associées soit à des mutations ponctuelles, soit à de larges délétions de gène TCF2 (délétion de 1,5 Mb) qui sont mises en évidence en génétique moléculaire par QMPSF® (Quantitative Multiplex PCR of Short Fluorescent Fragments). Notre travail a porté sur la recherche de ces larges délétions en cytogénétique moléculaire par FISH (Fluorescence *in situ* Hybridisation). Deux clones RP11-115K3 et RP11-697E22 (BAC-PAC chori), situés sur le gène TCF2 en 17q12 et validés par QMPSF®, ont permis de préparer les sondes permettant d'étudier les microdélétions de cette région. Les résultats de l'analyse par FISH de patients délétés en QMPSF®, ont confirmé l'anomalie et ont permis d'observer les délétions chromosomiques de TCF2 sur cellules métaphasiques et interphasiques. Ces résultats valident la possibilité de rechercher en première intention par FISH sur cellules interphasiques des délétions de la région de TCF2. Cette analyse s'effectue à partir d'un prélèvement de cellules jugales, facile à pratiquer et nous affranchissant du prélèvement veineux parfois délicat à réaliser. Par ailleurs, la FISH sur cellules interphasiques réalisées avant culture cellulaire est rapide donnant des résultats en 24 heures. Cette approche peut également être envisagée en anténatal sur cellules interphasiques amniotiques chez des fœtus présentant des anomalies échographiques rénales même si les implications d'un tel diagnostic anténatal restent encore à préciser. Toutefois, si les résultats sont normaux et le tableau clinique évocateur, des délétions de plus petite taille ou des mutations ponctuelles doivent être recherchées par biologie moléculaire.

**Mots-clés** : TCF2, FISH, délétion.

### ■P118. PLACE DE L'ANALYSE PUCE À ADN DANS LA CARACTÉRISATION D'UNE DÉLÉTION INTERSTITIELLE SUR LE BRAS LONG D'UN DES CHROMOSOMES 18 OBSERVÉE PAR CYTOGÉNÉTIQUE CONVENTIONNELLE : CORRÉLATION GÉNOTYPE-PHÉNOTYPE

F. Niel Buttschi, A. Ferrarini, S. Jacquemont, A.C. Magnin, J.S. Beckmann, D. Martinet



Nous rapportons le cas d'un jeune homme âgé de 17 ans présentant des troubles du développement avec d'importantes difficultés de langage, une épilepsie, une hypotonie, une hernie inguinale associée à une cryptorchidie, une scoliose et des pieds plats valgus, des otites à répétition pendant l'enfance et un strabisme avec astigmatisme. L'analyse du caryotype en bandes G avec une résolution de 550 bandes montre la présence d'une délétion interstitielle sur le bras long d'un des chromosomes 18, entre les bandes 18q12.2 et 18q21.1. Une analyse complémentaire par puce à ADN (Agilent® 244K), réalisée afin de préciser les points de cassure, la taille de la délétion et les gènes impliqués, révèle la présence d'une délétion de localisation plus proximale, notamment entre les bandes 18q11.2 et 18q12.2 d'environ 12,8 Mb (chr18 : 18'717'133 pb à 31'526'196 pb, build 36.3). Il est également noté une délétion d'environ 344 kbps en 5q31.1 comprenant six gènes OMIM. La région délétée sur le bras long du chromosome 18 contient une cinquantaine de gènes parmi lesquels les gènes DSC2, DSG1, DSG2 et DTNA impliqués dans des pathologies cardiaques de transmission autosomique dominante à pénétrance variable. Sont également répertoriés quatre gènes impliqués dans des maladies à mode de transmission autosomique récessif (NPC1, LAMA3, DSG4 et TTR). Sur la base des connaissances actuelles, il est difficile de conclure sur l'effet délétère de l'hémizygotie des autres gènes. Certains semblent néanmoins intéressants de part leur expression au niveau du cerveau (AQP4, CDH2, NOLA4) ou leur appartenance à des superfamilles de gènes (facteurs de transcription, cadhérines, interférons). La délétion del(18)(q11.2q12.2) représente vraisemblablement le diagnostic étiologique du trouble de développement chez le jeune homme. La revue de la littérature montre quelques rares patients souffrant de difficultés de langage et porteurs de délétion de taille comprise entre 5 Mb à 20 Mb des bandes 18q11.2 à 18q21.1. La signification pathologique de la deuxième délétion en 5q31.1 dans la clinique du patient reste indéterminée, l'analyse du caryotype moléculaire des deux parents n'ayant pas été réalisée. En conclusion, cette observation montre l'intérêt des puces à ADN dans l'investigation de l'étiologie et dans la mise en place d'un suivi clinique et ce, même si l'anomalie était initialement observée au caryotype standard.

**Mots-clés :** troubles du langage, chromosome 18q, puce à ADN.

#### ■P119. CORRÉLATION GÉNOTYPE/PHÉNOTYPE DANS LE SYNDROME DE DÉLÉTION TERMINALE DU BRAS LONG DU CHROMOSOME 18

C. Sain-Oulhen (1), N. Leboulanger (4), F. Denoyelle (3, 4), M.F. Portnoï (5), E.N. Garabédian (3, 4), D. Héron (6), S. Marlin (2, 3)

(1) Service ORL, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France ; (2) Service de génétique médicale, Hôpital Armand-Trousseau, Paris, France ; (3) Centre de référence des surdités génétiques, Hôpital Armand-Trousseau, Paris, France ; (4) Service d'ORL pédiatrique, Hôpital Armand-Trousseau, Paris, France ; (5) Laboratoire de cytogénétique, Hôpital Armand-Trousseau, Paris, France ; (6) Service de génétique médicale, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France  
Contact : charlotte.sain-oulhen@psl.aphp.fr

Introduction : Le syndrome de délétion terminale du bras long du chromosome 18 touche une naissance sur 40 000. Sa présentation clinique associe généralement une petite taille, des retards de myélinisation, des sténoses des conduits auditifs externes, des déformations des pieds, une dysmorphie faciale comprenant hypoplasie de l'étage moyen de la face, un hypertélorisme, des oreilles bas implantées et une bouche en « carpe ». Matériel et méthode : Notre étude rétrospective a analysé le phénotype de 17 patients dont le diagnostic avait été confirmé par un caryotype haute résolution et dans certains cas par une technique de FISH avec sonde télomérique. La localisation précise du point de cassure a été possible pour 16 patients. Une corrélation génotype/phénotype en rapport avec la localisation du point de cassure a été recherchée. Résultats : Dans 11 cas ce point de cassure était localisé en 18q22. Parmi eux, 10 patients présentaient une sténose bilatérale des conduits auditifs externes. Un retard mental modéré apparaissait pour 6 des onze patients ayant un point de cassure situé en dans la région q21-q22.1, alors qu'il a été considéré comme léger pour les 5 patients présentant un point de cassure plus distal. Parmi eux, 4 patients présentaient un retard de myélinisation objectivé à l'IRM. La dysmorphie, les anomalies des extrémités, les troubles digestifs ainsi que les atteintes génitales semblent se répartir uniformément pour tous les patients, quelque soit leur point de cassure. Discussion : Notre étude confirme la suspicion d'une région critique pour la sténose des conduits en 18q22 mais ne permet d'exclure comme précédemment décrit, les régions 18q22.1 et 18q22.2. La localisation du point de cassure semble avoir un rôle prédictif dans

l'importance du retard mental et des retards de myélinisation présentés par ces patients. Conclusion : La localisation du point de cassure au cours du diagnostic cytogénétique de la délétion semble donc autoriser certaines prévisions quant à l'évolution de ces patients. Sa détermination pourrait donc permettre une meilleure prise en charge.

**Mots-clés :** délétion18q, sténose conduits auditifs externes, phénotype.

#### ■P120. À PROPOS D'UNE AMPLIFICATION 19P13.3 HÉRITÉE

S. Vonwill (1), I. Mortemousque (1), O. Pichon (2), E. Jagut (1), S. Blesson (1), C. Le Caignec (2), M. Raynaud (1, 3)

(1) CHRU de Tours, Service de Génétique, Tours, France ; (2) CHU de Nantes, Unité de Génétique Moléculaire, Nantes, France ; (3) INSERM U930, Tours, France

Contact : s.vonwill@chu-tours.fr

Nous rapportons le cas d'un jeune garçon âgé de 2 ans et présentant un retard staturo-pondéral sévère, une hypotonie et des particularités faciales. Hormis une voix nasonnée et des phanères particuliers chez la mère, aucun élément remarquable n'a été noté chez les parents. Un caryotype standard du patient et une étude des télomères par MLPA (Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification) n'ont pas révélé d'anomalie. Une analyse en CGH-array (Agilent 44k, résolution moyenne de 180 Kb) a été réalisée et a mis en évidence une amplification interstitielle d'environ 945 Kb en 19p13.3. Nous avons confirmé l'anomalie par l'étude moléculaire (PCR quantitative) du gène PIP5K1C inclus dans la région 19p13.3. Cette technique nous a permis de préciser qu'il s'agit en fait d'une triplication. Nous avons constaté que cette même région est présente à l'état dupliqué chez la mère, alors qu'aucune anomalie n'est retrouvée chez le père, indiquant que l'amplification détectée chez l'enfant est d'origine maternelle. En parallèle, nous avons réalisé une analyse par hybridation *in situ* en fluorescence (FISH) avec 2 sondes spécifiques de la région 19p13.3 (BACs RP11-1051P16 et CTD-2134i14). Les résultats obtenus chez l'enfant et ses parents nous permettent d'aboutir aux mêmes conclusions. Par ailleurs, cette étude a permis d'exclure l'existence d'un remaniement chromosomique équilibré impliquant la région 19p13.3 chez les parents. Les triplications intrachromosomiques sont rares, et surviennent généralement *de novo* ; aucune n'a été décrite en 19p13.3. À notre connaissance, au moins 2 cas de triplication interstitielle, secondaire à une duplication parentale, ont été rapportés (Yobb *et al.*, 2005 ; Lopez-Exposito *et al.*, 2008). Nous discuterons les mécanismes susceptibles d'être à l'origine de ce remaniement et l'implication éventuelle de celui-ci dans la pathologie de l'enfant.

**Mots-clés :** CGH-array, triplication 19p, remaniement chromosomique.

#### ■P121. UNE DÉLÉTION DE 1,6 MB DÉTECTÉE PAR CGH-ARRAY ET ENGLOBANT LE GÈNE CACNA1A EST À L'ORIGINE D'UNE ENCÉPHALOPATHIE ÉPILEPTIQUE FIXÉE AVEC MACROCÉPHALIE, DYSPLASIE DU TISSU CONJONCTIF ET REFLUX VÉSICO-URÉTÉRAL SÉVÈRE

G. Morin (1), M. Mathieu (1), R. Gouron (2), B. Demeer (1), J. Andrieux (3), J. Ricard (2), A. Receveur (4), S. Kanafani (4), H. Copin (4)

(1) Unité de Génétique Clinique, CHU d'Amiens, France ; (2) Chirurgie Pédiatrique, CHU d'Amiens, France ; (3) Laboratoire de Génétique Médicale, Hôpital Jeanne-de-Flandre, Lille, France ; (4) Laboratoire de Cytogénétique, Amiens, France  
Contact : morin.gilles@chu-amiens.fr

Les microdélétions de la région 19p13 sont exceptionnelles. Nous rapportons l'observation d'une enfant d'origine franco-zairoise, née après une grossesse marquée par un hydramnios puis un oligoamnios, chez laquelle une microdélétion *de novo* 19p13.13p13.12 a été mise en évidence par CGH-array après 11 ans d'errance diagnostique. À la naissance à 41 SA ses mensurations étaient de 2930g pour le poids, 54cm pour la taille et 35 cm pour le PC. Dès la naissance il était noté une hypotonie axiale, un habitus marfanonoïde, une peau redondante et des éléments morphologiques inhabituels. À un mois de vie elle bénéficiait d'une intervention de Nissen pour un reflux gastro-oesophagien sévère responsable de malaise répétés. L'évolution sera marquée par un retard psychomoteur sévère mais non évolutif, rendant encore aujourd'hui le langage et la marche impossible. Une épilepsie est apparue, de même que des infections urinaires à répétition révélatrices d'un reflux vésico-urétéral bilatéral sévère qui sera opéré. Une macrocéphalie et des éléments dysmorphiques seront notés incluant un front large et bombé avec des bosses frontales marquées, des fentes palpébrales obliques en bas et en dehors, un strabisme divergent de l'œil droit, une arachnodactylie des doigts et des orteils. Le bilan, jusqu'à la CGH-array ne montrera pas d'anomalie particulière (caryotype, recherche de Prader-Willi en biologie moléculaire, EMG, EEG, IRM encéphalique, bilan métabolique...) Une scoliose sévère s'installera progressivement



nécessitant une prise en charge chirurgicale à l'âge de 11 ans. Nous discutons l'implication des la perte d'expression des gènes de la région dans le phénotype, et particulièrement de CAC NA1, canal calcique probablement impliqué dans l'épilepsie.

**Mots-clés :** CGH-array, délétion 19p13, retard mental.

**■P122. DÉLÉTION AVEC DUPLICATION INVERSÉE INTERSTITIELLE 1P : PREMIÈRE DESCRIPTION ET MÉCANISME**

A. Coussement, J. Milosevic, F. Baverel, D. Le Tessier, G. Quenum, A. Ménard, J.M. Dupont

*Université Paris-Descartes, AP-HP, Laboratoire de Cytogénétique, Groupe Hospitalier Cochin – Saint Vincent de Paul, Paris, France*  
 Contact : aurelie.coussement@svp.aphp.fr

Les duplications inversées avec délétions terminales (inv dup del) sont des remaniements chromosomiques complexes et rares. Ils sont décrits pour un nombre croissant d'extrémités chromosomiques grâce à l'évolution des techniques de cytogénétique moléculaire. Nous rapportons ici le premier cas d'une inv dup del interstitielle du chromosome 1p chez une jeune femme de 23 ans présentant un retard mental, une dysmorphie faciale et une épilepsie. Le caryotype standard montre un caryotype féminin normal. L'analyse par CGH-array utilisant des puces BACs montre un remaniement complexe associant une duplication et une délétion du bras court du chromosome 1. Pour permettre une meilleure caractérisation de cette anomalie, nous avons utilisé une puce oligonucléotidique haute résolution qui retrouve une duplication de 5 Mb suivie d'une délétion de 3,2 Mb, toutes deux confirmées en hybridation *in situ* avec des BACs spécifiques. Une HIS en double couleur a par ailleurs permis de démontrer le caractère inversé de la duplication, achevant de caractériser l'anomalie comme une duplication inversée avec délétion interstitielle. Deux principaux mécanismes de survenue ont été proposés pour ces anomalies complexes : – la recombinaison homologue non allélique (NAHR), principalement dans le cas de l'inv dup del (8p), caractérisée par la présence d'une séquence en copie unique entre la délétion et la duplication, et par l'existence soit de LCR en orientation inverse soit d'une microinversion paracentrique chez l'un des deux parents. – la réparation d'une cassure télomérique par un échange en U, caractérisée par l'absence de séquence en copie unique. Aucun de ces deux mécanismes ne permet d'expliquer la survenue d'une inv dup del interstitielle chez notre patiente, ce qui nous conduit à proposer une troisième possibilité, par défaut de réplication de type FoSTeS (Fork Stalling and Template Switching).

**Mots-clés :** inv dup del, interstitielle, Fostes.

**■P123. EXPRESSION PHÉNOTYPIQUE VARIABLE DES DÉLÉTIONS ET DUPLICATIONS 1Q21.1 : À PROPOS DE 13 CAS**

S. Bouquillon (1), B. Duban-Bedu (2), B. Delobel (2), G. Plessis (3), O. Boute-Bénéjean (4), M. Holder-Espinasse (4), A. Dieux-Coeslier (4), M. Mathieu (5), M. Andrzejewski-Vermelle (6), D. Neut (7), J.M. Cuisset (7), L. Vallée (7), S. Sukno (8), J. Andrieux (1)

*(1) Laboratoire de Génétique Médicale, Hôpital Jeanne-de-Flandre, CHRU de Lille, France ; (2) Service de Génétique Chromosomique, Hôpital Saint-Vincent-de-Paul, GHICL, Lille, France ; (3) Département génétique et reproduction, Génétique post-natale, CHU Hôpital Clémenceau, Caen, France ; (4) Service de Génétique Clinique, Hôpital Jeanne-de-Flandre, CHRU de Lille, France ; (5) Service de Génétique Clinique, CHU d'Amiens, France ; (6) Service de pédiatrie, Centre Hospitalier de Dunkerque, France ; (7) Service de Neuropédiatrie, Hôpital Roger-Salengro, CHRU, France ; (8) Service de Neuropédiatrie, Hôpital Saint-Vincent-de-Paul, GHICL, Lille, France*  
 Contact : sonia@syslo.fr

L'exploration pangénomique en haute résolution (CGH-array), dans le bilan étiologique des troubles du développement, a permis d'identifier de nouveaux désordres génomiques récurrents. Leurs conséquences, moins spécifiques que celles des syndromes microdélétionnels antérieurement décrits, restent, pour la plupart, encore à préciser. Parmi ceux-ci, les micro-remaniements de la région 1q21.1 ( $\approx 1,4$  Mb), adjacente à celle impliquée dans le syndrome TAR, ont initialement été décrits comme polymorphiques (Database of Genomic Variants). Ces anomalies ont ensuite été associées à divers phénotypes : autisme, schizophrénie, retard intellectuel, cardiopathie isolée... En 2008, les anomalies 1q21.1 ont été analysées dans 2 grandes cohortes de patients (> 20 000 au total) avec retard mental, isolé ou syndromique, ou malformations isolées (Mefford *et al.*, Brunetti *et al.*). Ces études ont permis de préciser l'imputabilité des délétion/duplication 1q21.1 dans les troubles du développement. En effet, en combinant les 2 cohortes, ces anomalies sont retrouvées dans 0,36 % des cas contre 0,02 % dans une population contrôle. Les phénotypes associés sont peu

spécifiques, néanmoins, certaines particularités ont été identifiées : en cas de délétion, un retard modéré (76,2 %) et une microcéphalie (66,7 %) ; en cas de duplication, une macrocéphalie (50 %), un retard mental modéré (62,5 %) et/ou des traits autistiques (50 %) et une dysmorphie faciale (62,5 %). Dans plus de 50 % des cas l'anomalie est héritée, le parent porteur ayant un phénotype variable parfois normal. L'ensemble de ces données indique une grande variabilité phénotypique et une pénétrance incomplète. À partir d'une cohorte de 2 000 patients présentant un retard mental isolé ou syndromique étudiée en CGH-array 44, 8 délétions et 4 duplications 1q21.1 ont été identifiées ainsi qu'une duplication « classique » associée à une délétion partielle de la région du TAR. Nos patients porteurs de la délétion ont un phénotype assez comparable aux données de la littérature : microcéphalie vraie ou relative (62,5 %), retard léger à modéré (75 %) mais sévère dans deux cas. L'anomalie est survenue *de novo* pour un patient, héritée du père asymptomatique pour trois (non déterminé pour les quatre autres). Parmi les quatre patients porteurs de la duplication, trois présentent une macrocéphalie et un retard modéré (75 %), un patient un retard sévère et deux des traits autistiques. Deux duplications ont été retrouvées chez des mères asymptomatiques. Le patient porteur de l'anomalie complexe survenue *de novo* (délétion/duplication contigües) a quant à lui un périmètre crânien normal, des traits autistiques avec retard sévère des acquisitions. La diversité phénotypique, la pénétrance incomplète et le manque de spécificité des conséquences des désordres génomiques de la région 1q21.1 rendent le conseil génétique difficile : pronostic, pertinence d'une enquête familiale, légitimité d'un diagnostic prénatal...

**Mots-clés :** délétion 1q21.1, duplication 1q21.1, expressivité variable.

**■P124. MACROCÉPHALIE SYNDROMIQUE : UNE NOUVELLE ENTITÉ CLINIQUE LIÉE À UNE AMPLIFICATION DU GÈNE HYDIN**

C. Arnould (1), B. Echenne (2), S. Bravo (1), J.B. Gaillard (1), D. Reboul (1), F. Rivier (2), J. Chiesa (1)

*(1) Laboratoire de Cytogénétique, CHU Caremeau, Nîmes, France ; (2) Service de Neuropédiatrie, Hôpital Gui-de-Chauliac, Montpellier, France*  
 Contact : cecile.arnould@chu-nimes.fr

Deux publications parues en 2008 font état d'une nouvelle entité qui associe des troubles du comportement et/ou autistiques, une discrète dysmorphie et une macrocéphalie à une microduplication en 1q21.1. Nous décrivons ici le cas de Steven, 15 ans, hospitalisé en neurogénétique pédiatrique pour troubles autistiques associés à un phénotype comportemental stéréotypé avec automutilations, une dysmorphie avec hypertélorisme et une macrocéphalie. Le bilan génétique initial de cet enfant est sans anomalie (caryotype, X fragile,...). Une recherche pangénomique par BAC-array (ArrayGenomic 21K<sup>®</sup>) révèle une amplification des régions 1q21.1 et 16q22.2, ce fait étant lié à une insertion du gène paralogue HYDIN (présent en 16q22.2) en 1q21.1 au cours de la phylogénie chromosomique de l'Homo Sapiens. L'hybridation *in situ* en fluorescence confirme cette double localisation. Le gène paralogue HYDIN exclusivement exprimé dans le cerveau est impliqué dans des formes de macrocéphalie liées à une hérédité autosomique récessive. Nous validons par PCR quantitative la duplication de HYDIN et des gènes GJA5 et PRKAB2 qui jouxtent le gène paralogue. L'étude étendue aux parents montre que cette microduplication est survenue *de novo*, la mère présente un profil normal, par contre on retrouve une duplication de PRKAB2 uniquement chez le père, ce qui nous laisse suggérer une origine paternelle à l'amplification décrite. La région chromosomique 1q21.1 comporte une organisation complexe de LCR et de CNV. Les microdélétions 1q21.1 associées à des microcéphalies ont été plus souvent décrites et sont par conséquent mieux connues. Les cas de microduplications impliquant cette région avec amplification du gène HYDIN sont beaucoup plus rares. Ils semblent réaliser une réelle entité chromosomique qu'il faudra prendre en compte devant toute macrocéphalie syndromique.

**Mots-clés :** BAC-array, macrocéphalie, gène HYDIN.

**■P125. MICRODÉLÉTION ET MICRODUPLICATION 20P12.3 ÉPARGNANT BMP2 AVEC TROUBLES DU RYTHME CARDIAQUE ASSOCIÉS : PROBABLE DÉRÉGULATION POSITIONNELLE**

J. Andrieux (1), J.M. Cuisset (2), S. Bouquillon (1), L. Vallée (2), G. Plessis (3)

*(1) Laboratoire de Génétique Médicale, Hôpital Jeanne-de-Flandre, CHRU de Lille, France ; (2) Service de Neuropédiatrie, Hôpital Salengro, CHRU de Lille, France ; (3) Service de Génétique, CHU Clémenceau, Caen, France*

Contact : j-andrieux@chru-lille.fr

Les microdélétions 20p12.3 détectées en CGH-array chez des patients avec retard des acquisitions psychomotrices ont récemment montré que l'haploinsuffisance de BMP2 était associée au syndrome de Wolff-Parkinson-White (WPW) [Lalani *et al.*, 2008]. Ce syndrome qui touche environ 3 à 4 naissances pour 1 000, est lié à une anomalie congénitale de la conduction électrique à l'intérieur du cœur, liée à la présence d'une voie auriculo-ventriculaire accessoire anormale (faisceau de Kent). Le risque est la survenue de tachyarythmie rapide et mal tolérée pouvant dégénérer en fibrillation ventriculaire. Nous rapportons deux observations de patients avec microremaniement 20p12.3 détecté par CGH-array : Le premier est un garçon de 15 ans qui est le premier enfant d'un couple non apparenté, et présentant tout comme sa mère une petite taille associée à une surdité. Il présente en outre un retard des acquisitions modéré (en 3<sup>e</sup> SEGPA) avec dysmorphie faciale qui consiste en un front bombé, des fentes palpébrales obliques en bas et en dehors, un hypertélorisme, un nez petit avec une pointe projetée en avant et des narines antevernées, une ensellure nasale prononcée, un philtrum court et profond et un menton triangulaire. La CGH-array retrouve une délétion 20p12.3 *de novo* de 1,5 Mb (chr20:6,922,518-8,458,038) emportant 3 gènes et dont le point de cassure proximal est à moins de 200 kb de BMP2. L'ECG réalisé suite à ce diagnostic a montré un syndrome de WPW isolé asymptomatique. Le second cas est également un garçon de 15 ans adressé pour déficience corticale modérée justifiant un suivi institutionnel associée à une dysmorphie faciale. L'IRM cérébrale réalisée à la recherche d'anomalies des noyaux gris centraux a mis en évidence des hétérotopies nodulaires frontales. La CGH-array retrouve une duplication 20p12.3 de 1,4 Mb (chr20:7,051,757-8,458,038) concernant 3 gènes et située à un peu plus de 200 kb de BMP2. Cette délétion a été retrouvée héritée de la mère de notre patient qui présente un phénotype a priori normal mais qui est suivie pour troubles du rythme ventriculaires nécessitant un traitement par Flécaïne. La duplication ayant été initialement considérée comme un polymorphisme, l'exploration cardiologique du patient n'a pas encore été réalisée à ce jour. Ces deux cas confirment l'implication de BMP2 dans la survenue de troubles du rythme ventriculaires et semblent montrer que lors de la détection d'anomalies génomiques déséquilibrées en CGH-array il faut non seulement analyser les gènes dans la région impliquée mais également de part et d'autre, ce qui a déjà fait évoluer la stratégie d'analyse des résultats de CGH-array.

**Mots-clés :** CGH-array, BMP2, Wolff-Parkinson-White.

**■P126. ASPECTS ÉPIDÉMIOLOGIQUES, CLINIQUES ET CYTOGÉNÉTIQUES DU SYNDROME DE DOWN DANS LE SERVICE DE PÉDIATRIE ET GÉNÉTIQUE MÉDICALE DU CENTRE NATIONAL HOSPITALIER ET UNIVERSITAIRE DE COTONOU AU BÉNIN**

M.J. Alao, G.G. Sagbo, A. Lalèyè, B. Ayivi  
Faculté des Sciences de la Santé de Cotonou, Bénin  
Contact : amomj@yahoo.fr

À Cotonou (BÉNIN), le diagnostic de syndrome de Down est posé chez l'enfant à l'âge moyen de 12 mois ; l'âge maternel moyen est de 36 ans au moment de l'accouchement. Les principales particularités physiques craniocervicales, des extrémités et des organes génitaux externes retrouvées sont : le nez épaté (100 %), les fentes obliques en haut et dehors (100 %), les oreilles dysplasiques (100 %), la bouche ouverte en permanence (100 %), le cou court et large (95 %), la brachydactylie (95 %), la langue protractée (85 %) et le pli palmaire transverse unique (85 %). Le bilan malformatif cardiaque et rénal a permis d'identifier cinq cas de communications interventriculaires, un cas de canal atrioventriculaire et un cas de tétralogie de Fallot chez les 20 enfants dont le dossier médical était à jour. La forme cytogénétique était représentée par la trisomie 21 libre avec la formule 47, XX, +21 ou 47, XY, +21 (90 %) et la trisomie 21 par isochromosome 21 (46, XX, der(21):21(q10):q10, +21). Tous les enfants atteints ont été enrôlés dans un programme de suivi à long terme. Le taux de létalité était de 5 %.

**Mots-clés :** Syndrome de Down, trisomie 21, retard mental.

**■P127. UNE TRISOMIE 21 PAS COMME LES AUTRES : TRISOMIE 21 EN MOSAÏQUE AVEC ANNEAU DU CHROMOSOME 21**

G. Egea (1), A. Labalme (1), I. Morin (1), A. Rafat (1), C. Schluth-Bolard (1), X. Cottin (2), A. Derrier (3), P. Edery (1, 4), M. Till (1), D. Sanlaville (1, 4)  
(1) Service de Cytogénétique constitutionnelle, GHE, CHU de Lyon, France ; (2) Service de Néonatalogie, GHE, CHU de Lyon, France ; (3) Service de Gynécologie Obstétrique, CHLS, CHU de Lyon, France ; (4) EA 4171, Université Claude-Bernard Lyon 1, France  
Contact : gregoryegea@gmail.com

La trisomie 21 est l'anomalie chromosomique la plus fréquente. Elle a été découverte en 1959 par l'équipe du Pr Lejeune chez des enfants présentant un syndrome de Down. Le phénotype, bien que complexe est bien décrit et connu. Le plus souvent, le caryotype met en évidence une trisomie 21 libre et homogène. Nous rapportons ici le cas d'un nouveau né présentant une forme rare de trisomie 21. Il s'agit de la première enfant d'un couple non apparenté. La mère a un asthme sévère corticodépendant traité par des cures de méthotrexate et qui a nécessité une oxygénothérapie durant la grossesse. La patiente est née à 38 semaines d'aménorrhée avec un poids de 2 640 g (-1 DS), une taille de 46,5 cm (-1,5 DS) et un périmètre crânien à 32,5 (-2DS) cm. Du fait d'une hypotonie axiale et d'une dysmorphie faciale, un caryotype sur sang veineux périphérique a été réalisé. Il a mis en évidence une trisomie 21 en mosaïque avec présence d'un chromosome 21 en anneau dans environ 25 % des cellules, résultat confirmé en FISH (trisomie 21 avec délétion 21qter sur un des chromosomes 21) : mos 47,XX,+r(21)[13]/46,XX[39]. ish r(21)(wcp21+,D21S1575-). Le caryotype des parents a retrouvé le chromosome 21 en anneau de façon homogène chez la mère : 46,XX,r(21). L'étude en CGH array réalisée chez la mère avec une puce Agilent 180 K a identifié une délétion 21qter terminale de 293 kb allant de la position génomique 46,621,694 à 46,914,745 (hg 18) : arr 21q22.3(46,621,694-46,914,745)x1. Cette région contient 5 gènes, aucun d'entre eux n'étant connu pour être impliqué dans l'asthme. En revanche le gène S100B, localisé dans la région délétée, a été proposé comme participant aux perturbations neurologiques présentes chez les enfants trisomiques 21. En résumé, l'enfant présente une trisomie 21 pratiquement complète en mosaïque. Elle a été évaluée cliniquement à l'âge de 1 mois, 2 mois, 4 mois et 6 mois. L'examen morphologique met en évidence un cou large, une discrète hypoplasie des os propres du nez, une dysplasie de l'hélix, une petite bouche avec une langue légèrement protruse, une clinodactylie du 5<sup>e</sup> doigt de la main gauche et des plis un peu profonds. Un léger livedo a été noté les premiers mois de vie. Aucune tache de Brushfield, ni aucun pli palmaire transverse unique n'ont été retrouvés. La croissance est régulière aux alentours de +1 DS sur les courbes de croissance spécifiques aux enfants trisomiques 21. Au niveau neurologique, le tonus est bon, la tenue de tête a été acquise à l'âge de 2 mois et la tenue assise en tripied à l'âge de 6 mois. Les réflexes archaïques ont disparu avant 4 mois et le sourire réponse a été noté par la mère à l'âge de 3 mois. Au niveau malformatif, seul un foramen ovale avec communication interauriculaire modérée, sans retentissement fonctionnel, a été mis en évidence lors de l'échographie cardiaque. Nous présentons ici une revue des trisomies 21 en mosaïque et détaillons les critères considérés comme de bon pronostic.

**Mots-clés :** trisomie 21, anneau, mosaïque.

**■P128. DÉLÉTION 21Q22.1Q22.2 DE NOVO INCLUANT RUNX1 ET MIMANT UNE INFECTION CONGÉNITALE**

L. Faivre (1), P. Callier (2), C. Thauvin-Robinet (1), I. Desguettes (3), A. Masurel-Paullet (1), N. Mejean (4), S. Falcon-Eicher (5), S. Bidot (6), F. Huet (1), M. Beri-Dexheimer (7), P. Jonveaux (7), F. Mugneret (2)  
(1) Centre de Génétique et Centre de Référence « Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs », Hôpital d'Enfants, CHU Dijon, France ; (2) Cytogénétique, PTB, CHU Le Bocage, Dijon, France ; (3) Neurologie Pédiatrique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France ; (4) Radiologie Pédiatrique, Hôpital d'Enfants, Dijon, France ; (5) Cardiologie Pédiatrique, Hôpital d'Enfants, Dijon, France ; (6) Ophtalmologie, CHU Dijon, France ; (7) Génétique moléculaire et cytogénétique, Nancy, France  
Contact : laurence.favre@chu-dijon.fr

Les patients porteurs de monosomie 21 partielle peuvent présenter des phénotypes variés comprenant un retard de croissance pré et postnatal, un retard de développement sévère, une hypotonie, une dysmorphie faciale et des malformations cardiaques. Les patients avec des délétions comprenant le gène RUNX1 localisé en 21q22.12 peuvent aussi présenter une thrombopénie et une prédisposition aux leucémies aiguës myéloïdes. À ce jour, des études de cytogénétique moléculaire ont été réalisées chez 4 patients seulement, présentant une thrombopénie syndromique. Nous rapportons ici l'observation d'un garçon de 7 ans présentant à la naissance un retard de croissance, une thrombopénie, une communication interauriculaire, une cardiomyopathie hypertrophique, une dysmorphie faciale et un contact de mauvaise qualité. Il n'y a pas eu de pathologie infectieuse ou immunitaire pendant la grossesse, avec un bilan orienté négatif. Le myélogramme, les études cytogénétiques et métaboliques ce sont révélées négatives. Une dysgénésie de la partie centrale du corps calleux a été mise en évidence, en faveur d'une cause clastique. À l'âge de 4 mois, la cardiomyopathie a spontanément régressé, la thrombopénie s'est améliorée, mais il nécessitait toujours une alimentation par gavage nasogastrique. À l'âge d'un an, le



contact était toujours insuffisant et la tenue assise non acquise. Une hypermétropie, un astigmatisme, une microcornée, une goniodysgénésie de l'œil gauche avec synéchies iridocapsulaires ont été mises en évidence. À l'âge de 2 ans, une dysplasie de l'émail dentaire a été notée. Il a marché à l'âge de 6 ans, mais n'a pas de langage. Une épilepsie a été diagnostiquée. Un traitement par hormone de croissance a été débuté mais secondairement arrêté devant un résultat insuffisant. L'association de synéchies oculaires, de dysgénésie centrale du corps calleux, de dysplasie de l'émail dentaire, de cardiomyopathie transitoire et de thrombopénie fluctuante avait fait porter l'hypothèse d'une infection congénitale pour expliquer ce phénotype, malgré l'absence de mise en évidence d'un facteur infectieux. Néanmoins, une analyse en CGH-array 105K a été réalisée et a révélé une délétion *de novo* de 2.8 Mb sur le chromosome 21q22.1-q22.2 comprenant le gène RUNX1. Ce résultat explique l'existence d'une thrombopénie, d'une dysmorphie faciale, d'un retard de croissance et d'un retard psychomoteur, mais les manifestations ophtalmologiques et les données d'imagerie peuvent être considérées comme des nouvelles manifestations de ce nouveau syndrome microdélétionnel. La recherche d'une microdélétion 21q22 doit faire partie du bilan d'une thrombopénie syndromique avec retard mental.

**Mots-clés :** CGH-array, RUNX1, thrombopénie.

#### ■P129.

#### L'ASSOCIATION THROMBOCYTOPÉNIE – RETARD MENTAL ET MICRODÉLÉTION 21Q22.12 : UN NOUVEAU SYNDROME MICRODÉLÉTIONNEL

C. Popovici (1), M. Mathieu-Dramard (2), J. Andrieux (3), G. Morin (2), F. Mari (4), C. Missirian (1), A. Moncla (1), N. Pilip (1)  
(1) *Département de Génétique Médicale, Hôpital d'Enfants de la Timone, Assistance Publique – Hôpitaux de Marseille, Marseille, France* ; (2) *Service Génétique Clinique, CHU Amiens, Amiens, France* ; (3) *Service de Génétique Médicale, Hôpital Jeanne-de-Flandre, Lille, France* ; (4) *Medical Genetics, University of Siena, Siena, Italy*  
Contact : [cornel.popovici@ap-hm.fr](mailto:cornel.popovici@ap-hm.fr)

La thrombocytopénie familiale (OMIM 601399) est une maladie très rare due à des mutations dans le gène RUNX1 localisé en 21q22.12. Les manifestations hématologiques sont discrètes mais l'évolution vers un syndrome myélodysplasique avec transformation aigue est possible dans plus d'un tiers des cas. Des délétions de la région génomique contenant le gène RUNX1 ont été décrites chez des patients présentant une thrombocytopénie syndromique. Nous rapportons quatre nouveaux patients présentant une thrombocytopénie modérée associée à une dysmorphie faciale parfois discrète et à un retard mental de gravité variable. Le premier patient, un homme de 24 ans, présente un tableau clinique associant à la thrombocytopénie modérée une dysmorphie faciale, une agénésie du corps calleux et un retard mental sévère avec absence de langage. L'analyse moléculaire a mis en évidence une délétion de 3 Mb de la région 21q22.11-q22.12. Une deuxième patiente, âgée de 17 ans, présente une thrombocytopénie, une dysmorphie faciale, une microcéphalie, des troubles du sommeil, un retard des acquisitions et un retard mental avec absence du langage. La délétion 21q22.11-q22.12, de 4,4 Mb, couvre la délétion identifiée chez le premier patient. Le troisième patient, une fille de 8 ans, présente une thrombocytopénie, une dysmorphie, une microcéphalie, un retard des acquisitions, des troubles d'alimentation et une épilepsie. La délétion 21q22.11-q22.13 de 4,3 Mb couvre partiellement les régions délétées chez les deux autres patients. Le quatrième patient, un garçon de 1 an, présente une thrombocytopénie modérée et une discrète dysmorphie. La caractérisation moléculaire de la délétion est en cours. Des délétions de taille variable couvrant la région 21q22.12 ont été identifiées par array-CGH chez ces patients. Ces délétions contiennent le locus RUNX1 et expliquent la thrombocytopénie dont les manifestations cliniques variables, et le risque d'évolution vers un syndrome myélodysplasique et/ou léucémie aigue myélodblastique que présentent ces patients. Le retard mental, ainsi que la diversité des malformations associées sont liés à la taille de la délétion et à son contenu génique. Parmi les gènes localisés dans la région minimale critique pour le retard mental plusieurs sont exprimés dans le cerveau et constituent des gènes candidats. Les points de cassure des délétions sont spécifiques à chaque patient suggérant qu'un mécanisme différent de la recombinaison homologue non-allélique est à l'origine de leur apparition. L'association thrombocytopénie – syndrome malformatif – retard mental est évocatrice d'un syndrome chromosomique par délétion de la région génomique contenant le locus RUNX1. Toutefois, sachant que le syndrome malformatif et le retard mental peuvent être discrets, la recherche d'une microdélétion 21q22.12 pourrait être réalisée pour toute thrombocytopénie centrale sans cause apparente (carencielle, toxique, infectieuse ou infiltration médullaire).

**Mots-clés :** CGH microarray, microdélétion 21q22.12, RUNX1.

M/S hors série n° 1, vol. 26, janvier 2010

#### ■P130. DUPLICATIONS 22Q11 DISTALES ATYPIQUES : ILLUSTRATIONS PAR QUELQUES CAS IDENTIFIÉS PAR HYBRIDATION GÉNOMIQUE COMPARATIVE SUR MICROPUCE (CGH)

B. Grisart, I. Maystadt, A. Destrée, C. Verellen-Dumoulin  
*Centre de Génétique Humaine, Institut de Pathologie et de Génétique, 25 Avenue Georges Lemaitre, 6041 Charleroi (Gosselies), Belgique*  
Contact : [bernard.grisart@ipg.be](mailto:bernard.grisart@ipg.be)

L'architecture de la région 22q11 se caractérise par huit blocs de séquences répétées (A-H ou 2, 3a, 3b et 4-8). Ceux-ci sont à l'origine de réarrangements chromosomiques récurrents dont le plus fréquent est la délétion 22q11 responsable du syndrome Velo-Cardio-Facial (VCF) et du syndrome de DiGeorge (DGS), résultat d'une recombinaison homologue non-allélique entre les blocs A et D. D'autres types de recombinaisons (entre d'autres paires de séquences répétées) peuvent survenir et générer d'autres types de délétions ou duplications. Ces réarrangements 22q11 atypiques n'ont été rapportés que très récemment. Peu de duplications ont été décrites, probablement parce que leur expressivité phénotypique est très variable, allant de patients asymptomatiques à des patients présentant un tableau clinique plus ou moins sévère. Nous rapportons 4 duplications atypiques. Duplication entre les blocs F et H, identifiée chez un patient asymptomatique dans le cadre d'un bilan préconceptionnel vu un antécédent de malformations fœtales : un fœtus avec agénésie vertébrale (porteur de la duplication) et un autre avec hypoplasie du cœur gauche (non testé). Le père est porteur d'une délétion entre les blocs D et E et d'une duplication entre les blocs F et H. Duplication entre les blocs E et H, identifiée dans le cadre du suivi d'un réarrangement chromosomique identifié chez un enfant présentant un tableau d'anomalies congénitales multiples et retard de développement par CGH sur micropuce (délétion de 5,288 Mb en 7p14.3-p14.1). Le père de la patiente est porteur de cette délétion et également d'une duplication 22q11 entre les blocs E et H. Malgré ces deux réarrangements, il semble ne pas présenter de symptomatologie particulière. Duplication entre les blocs D et F, chez un patient âgé de 7 ans présentant un retard psychomoteur surtout dans la sphère du langage (difficultés de prononciation), ainsi que des troubles de l'apprentissage et du comportement. Aucun problème cardiaque ou rénal ni aucune dysmorphie franche n'a été observé. Une étude familiale est en cours actuellement. Duplication partielle entre les blocs F et G, observée chez une fillette présentant un retard psychomoteur avec retard de langage, CIA, épilepsie et dysmorphie faciale. Les analyses familiales montrent que cette duplication ségrège depuis au moins 2 générations. Ces données sont trop limitées pour tirer une conclusion définitive concernant le caractère pathogène de ces duplications 22q11 atypiques. Ceci rend le conseil génétique délicat étant donné que ces réarrangements pourraient se révéler être des polymorphismes ou des réarrangements pathogènes faisant preuve d'une expressivité variable. D'un point de vue moléculaire, ces données montrent qu'à coté des réarrangements 22q11 classiques de 3 Mb (entre les blocs A et D) et ceux de 1,5 Mb (entre les blocs A et B-), les autres blocs répétées plus distaux sont également susceptibles de générer des réarrangements chromosomiques.

**Mots-clés :** duplication 22q11, CGH, MCA/MR.

#### ■P131. MICRODUPPLICATION 22Q13 IMPLIQUANT LE GÈNE SHANK 3 PAR TRANSLLOCATION T(22;22)(PTER;QTER)

E. Al Ageeli (1), C. Hyon (1), F. Renaldo (2), S. Chantot-Bastaraud (1), A. Afejar (2), M.P. Beaujard (1), P. Mabboux (1), T. Billete de Villemeur (2), J.P. Siffroi (1), M.F. Portnoi (1)  
(1) *Service de Génétique et Embryologie médicales, Hôpital Armand-Trousseau, Paris, France* ; (2) *Service de Neuropédiatrie, Hôpital Armand-Trousseau, Paris, France*  
Contact : [marie-france.portnoi@trs.aphp.fr](mailto:marie-france.portnoi@trs.aphp.fr)

Le chromosome 22 est impliqué dans de nombreux syndromes chromosomiques, dont celui bien caractérisé de la délétion 22q13, qui entraîne une haploinsuffisance du gène SHANK3, situé en 22q13.3, responsable des signes majeurs du syndrome. À l'opposé, très peu de patients porteurs d'une duplication cryptique de la région 22q terminale ont été décrits. Dans la littérature, des études subtélomériques en FISH, ou en CGH-array, ont rapporté seulement cinq cas de microduplications 22q13 pures, tous résultant d'une translocation déséquilibrée impliquant la région 22qter et le bras court d'un petit chromosome acrocentrique. Trois fois ces translocations déséquilibrées sont particulières, survenant entre le bras court et le bras long d'un chromosome 22. Nous rapportons ici une nouvelle observation de microduplication 22q13 de ce type, par translocation t(22;22)(pter;qter), *de novo*, qui vient confirmer le caractère récurrent de cette anomalie. Le diagnostic a été fait par une étude en FISH des régions subtélomériques, chez une fillette de 8 ans adressée pour retard global et une épilepsie peu



sévère. Le tableau clinique de l'enfant associe un retard modéré des acquisitions, des difficultés scolaires, une discrète dysmorphie faciale, des troubles du comportement à type d'agitation et de polyphagie, avec surpoids (+ 4DS), une avance de l'âge osseux, ainsi que des anomalies EEG modérées. Le caryotype standard est normal et ne montre pas de variation inhabituelle des bras courts des chromosomes acrocentriques, y compris des deux chromosomes 22. La microduplication 22q13 est confirmée avec la sonde du locus SHANK3 (N85A3), qui montre un signal d'hybridation supplémentaire sur le bras court du dérivé 22. Comme dans le syndrome de délétion 22q13, le gène SHANK3 est également impliqué dans la duplication. Sa surexpression explique vraisemblablement le phénotype des patients. Une étude complémentaire en CGH-array, en cours, nous permettra de préciser la taille exacte du microremaniement. Notre observation contribue à mieux définir le nouveau syndrome de duplication 22q13, qui représente l'anomalie réciproque de la microdélétion 22q13. Cette pathologie chromosomique est sans doute sous-diagnostiquée, en raison du phénotype habituellement modéré des rares patients identifiés.

**Mots-clés :** chromosome 22, microduplication, gène SHANK3.

#### ■P132. APPORT DE LA CGH ARRAY SUR SANG VEINEUX DANS LE DIAGNOSTIC DE LA TÉTRASOMIE 12P (SYNDROME DE PALLISTER-KILLIAN) CHEZ UN ENFANT DE 15 MOIS

D. Martin-Coignard (1), O. Pichon (2), C. Le Caignec (2)

(1) UF 3162 Génétique, pôle de biopathologie, CH Le Mans, France ; (2) Service de Génétique médicale, CHU Nantes, Nantes, France

Contact : dmartin@ch-lemans.fr

Introduction. Le syndrome de Pallister-Killian (PKS) est un syndrome dysmorphique et malformatif avec retard mental sévère caractérisé par une mosaïque chromosomique limitée en cytogénétique classique aux cultures fibroblastiques avec un petit chromosome métacentrique surnuméraire i(12)(p10). Son incidence annuelle est de 1/25 000. L'étiopathogénie de la tétrasomie 12p est un événement prézygotique avec non disjonction durant la méiose maternelle. Cas clinique. Nous rapportons le cas d'un premier enfant d'un couple non apparenté sans antécédent, mère 35 ans, père 33 ans, enfant macrosome : P.N. 4 kg 200, T.N. 53 cm, P.C. 36 cm malgré une grossesse marquée par une toxémie gravidique. Le petit garçon hypotonique est dysmorphique avec hypertélorisme, fentes palpébrales étroites, ptosis de l'œil gauche, implantation des cheveux avec golfes temporaux très dégarnis, lobes d'oreilles épais. Il est porteur d'une fente palatine postérieure, d'une petite hernie ombilicale et d'une CIA. La croissance est à +1,5 D.S. pour toutes les mensurations tandis que le retard psychomoteur est manifeste (sourire réponse à 4 mois et station assise à 14 mois) et la dysmorphie devient caractéristique avec en particulier une implantation de cheveux à « l'iroquois ». Le caryotype lymphocytaire est normal : 46,XY sur 100 cellules. Une biopsie cutanée est proposée et difficilement acceptée par les parents ce qui nous conduit demander une CGH array dans le cadre du bilan d'un retard mental profond avec dysmorphie. Le caryotype sur fibroblastes est finalement réalisé 47,XY,+i(12)(p10)[97]/46,XY[3] et confirme la mosaïque avec iso(12p) surnuméraire majoritaire ; la CGH-array met en évidence une amplification d'environ 34,23 Mb en 12p13.3-p11.11 correspondant au bras court du chromosome 12 et pouvant être interprétée comme une tétrasomie 12p, évocateur d'un syndrome de Pallister-Killian. Conclusion. Le diagnostic clinique de PKS nécessite une confirmation qui, jusqu'à aujourd'hui, était apportée par un examen cytogénétique sur fibroblastes. En effet, le caryotype classique de même que la FISH interphasique sur sang veineux sont souvent normaux chez les patients avec PKS. Cette observation de PKS montre que désormais la confirmation diagnostique de certitude de ce syndrome peut être obtenue par CGH-array grâce à un prélèvement sur sang veineux périphérique permettant ainsi d'éviter une biopsie cutanée souvent traumatisante.

**Mots-clés :** tétrasomie 12p, PKS, CGH-array.

#### ■P133. UN CAS PARTICULIER DE MONOSOMIE 2Q ET TRISOMIE 19Q

G. Pierquin (1), A.C. Hellin (1), M. Jamar (1), C. Debeaufort (2)

(1) Centre de génétique de Liège, CHU de Liège, Belgique ; (2) Clinique pédiatrique de Luxembourg

Contact : genevieve.pierquin@chu.ulg.ac.be

Nous rapportons le cas d'un garçon adressé pour ambiguïté sexuelle ; il a présenté une coarctation aortique, un retard statur-pondéral et psychomoteur, une microcéphalie, une cyphose sévère ; les dysmorphies seront commentées. L'étude quantitative des télomères par MLPA a montré une monosomie 2qter associée à une trisomie 19qter. Ces anomalies chromosomiques cryptiques ont été confirmées par FISH métaphasique. Nous reverrons la littérature concernant la monosomie 2qter et la trisomie 19qter.

La mère n'est pas porteuse de la translocation (2;19) et le père n'a malheureusement pas voulu être examiné. Le risque de récurrence ne peut donc être évalué.

**Mots-clés :** mosomie 2q, trisomie 19q, ambiguïté sexuelle

#### ■P134. ÉTUDE DE LA TRANSMISSION FAMILIALE D'UNE INSERTION INTRACHROMOSOMIQUE DANS LE BRAS LONG DU CHROMOSOME 2 ASSOCIÉE À DES DÉSÉQUILIBRES DANS LA DESCENDANCE : VARIABILITÉ PHÉNOTYPIQUE

M. Béri-Dexheimer (1), C. Bonnet (1), M.J. Grégoire (1), B. Léotard (1), S. Miesch (1), F. Verneau (1), M. Damance (1), B. Leheup (2), P. Jonveaux (1)

(1) Service de génétique, CHU de Nancy, France ; (2) Service de médecine infantile III et de génétique clinique, CHU de Nancy, France

Contact : m.beri@chu-nancy.fr

Nous rapportons le cas d'une insertion inversée 2q31q32.1 en 2q37.2 révélée suite à la description de déséquilibres génomiques (duplication et délétion), au sein d'une même famille. Ces déséquilibres d'une taille de 12,9Mb ont été décelés au caryotype puis caractérisés par array-CGH. La délétion a été mise en évidence chez deux sujets de cinq ans et demi et deux ans adressés dans le cadre d'un retard des acquisitions. En période anténatale, un retard de croissance intra-utérin sévère a été noté. La croissance post-natale a été marquée par un retard statur-pondéral avec une microcéphalie sévère à -5DS. Ils présentent un retard de développement psychomoteur avec absence de langage et d'acquisition de la marche. Les deux enfants présentent une dysmorphie cranio-faciale. Chez le premier enfant, l'IRM cérébrale a en outre révélé une agénésie des amygdales cérébelleuses et une dysplasie du cortex cérébelleux inférieur. Ces deux enfants ont aussi en commun une antéposition anale et une syndactylie bilatérale des 2<sup>es</sup>-3<sup>es</sup> orteils. La présence de la duplication se traduit quant à elle par un phénotype moins sévère : elle a été décrite chez un enfant qui a présenté une hypotonie néonatale et des troubles de la déglutition, un retard des acquisitions psychomotrices avec retard de langage, et sur le plan morphologique, une séquence de Pierre Robin. Ce déséquilibre s'est par ailleurs avéré être transmis par sa mère chez laquelle ont été notées des difficultés scolaires, une voix nasonnée et une dysmorphie (rétrognatisme). L'étude familiale a ainsi montré que ces deux types de réarrangements sont la conséquence du déséquilibre d'une insertion inversée conduisant à une recombinaison entre chromosomes homologues à la méiose. Ces observations soulignent la différence de sévérité du phénotype associé à la délétion ou à la duplication, liée à un effet de dosage génique. Si la délétion se traduit par un phénotype plus sévère et n'est jamais transmise par un parent, la duplication se trouve quant à elle héritée d'un parent présentant un phénotype modéré. Cette variabilité phénotypique intrafamiliale pouvant être liée à une pénétrance incomplète fait ressortir la difficulté d'interprétation des conséquences phénotypiques d'un tel déséquilibre. Enfin, la mise en évidence de ce déséquilibre rare a établi une relation entre les deux familles dont le lien de parenté n'était pas connu *a priori*.

**Mots-clés :** insertion intrachromosomique, délétion/duplication 2q31.1q32.1, retard de développement.

#### ■P135. CARACTÉRISATION CLINIQUE ET MOLÉCULAIRES DU SYNDROME MICRODÉLÉTIONNEL 2Q32

C. Popovici, C. Missirian, J. Martinez, A. Moncla

Laboratoire de Génétique Chromosomique, Département de Génétique Médicale, Hôpital d'Enfants de la Timone, Assistance Publique – Hôpitaux de Marseille, Marseille, France

Contact : corneil.popovici@ap-hm.fr

Environ 25 patients avec délétion interstitielle du bras long du chromosome 2 intéressant la région 2q32 ont été rapportés dans la littérature ou dans la base de données DECIPHER. Parmi eux seulement la moitié a été caractérisée sur le plan moléculaire. Nous rapportons une patiente présentant une microdélétion de la région 2q31.3-q32.3. La patiente, examinée pour la première fois à l'âge de 14 ans, présentait une dysmorphie faciale associant un visage triangulaire avec hypoplasie de l'étage medio-facial, un hypertélorisme, une micro-retrognathie opérée, une scoliose, une atrésie pulmonaire et un retard mental. Le langage verbal était très pauvre mais les capacités de communication sont améliorées par le développement d'un langage non verbal. Le caryotype (RHG, 550 bandes) a mis en évidence la présence d'une translocation réciproque apparemment équilibrée : 46,XX,t(2;5)(p11;q14). L'origine de la translocation n'a pas été précisée car seul le caryotype maternel a pu être contrôlé montrant une formule chromosomique normale. L'analyse par array-CGH a mis en évidence une délétion de 12 Mb localisée dans la région génomique 2q31.3-q32.3, délétion contenant 36 gènes dont 8 associées avec une entée OMIM. Trois



autres patients avec des délétions de taille similaire de la même région chromosomique ont été identifiés. L'absence de régions dupliquées aux points de cassure ainsi que leur position variable suggèrent que des mécanismes différents de la recombinaison homologue non allélique sont impliqués dans l'apparition de ces réarrangements. L'analyse des signes cliniques identifiés chez ces quatre patients permet de définir le phénotype associé à la microdélétion 2q32 : – une dysmorphie faciale associant une macrocéphalie, un visage triangulaire, une hypoplasie de l'étage medio-facial, un hypertélorisme et une micro-retrognathie ; – des anomalies de la colonne vertébrale (scoliose), des mains et des pieds ; – un retard mental sévère avec un langage très pauvre ou absent.

**Mots-clés :** CGH microarray, microdélétion 2q32.

**■P136. RETARD DE DÉVELOPPEMENT ET DYSMORPHIE FACIALE CHEZ UN ENFANT PRÉSENTANT UNE DÉLÉTION INTERSTITIELLE EN 3Q25.1-Q25.32 : DESCRIPTION D'UN CAS CLINIQUE ET REVUE DE LA LITTÉRATURE**

S. Moortgat (1), C. Verellen-Dumoulin (1), B. Parmentier (1), B. Grisart (1), J.-L. Hennecker (2), A. Destrée (1)

(1) Centre de Génétique Humaine, Institut de Pathologie et de Génétique, Charleroi (Gosselies), Belgique ; (2) Département de Pédiatrie, Hôpital Notre-Dame-de-Grâce, Charleroi (Gosselies), Belgique

Contact : stephanie.moortgat@ipg.be

Les délétions interstitielles du bras long du chromosome 3 sont rares et les phénotypes qui y sont associés ne sont pas encore bien caractérisés. Nous rapportons le cas d'une enfant âgée de 5 ans présentant un retard de développement plus particulièrement marqué dans la sphère du langage, associé à une dysmorphie faciale et une microcéphalie. Cette petite patiente aux antécédents personnels et familiaux sans particularité, présente à l'examen clinique un faciès grossier, un synophris, des sourcils arqués, un épicanthus bilatéral, un ptosis, une large ensellure nasale, des oreilles bien ourlées mais bas implantées ainsi qu'une large bouche aux lèvres épaisses. Le caryotype standard révèle une délétion interstitielle en 3q25.1-q25.32 apparue *de novo*. Une analyse par CGH sur micropuce a permis de confirmer et de quantifier la délétion de 8.9 Mb. À notre connaissance, il s'agit de la plus petite délétion interstitielle décrite dans la région 3q2. Le phénotype de notre patient est comparé aux neuf cas rapportés antérieurement impliquant cette région.

**Mots-clés :** délétion 3q25.1-q25.32, Array-CGH, retard de développement et dysmorphie faciale.

**■P137. WOLF HIRSCHHORN : DES MÉCANISMES CHROMOSOMIQUES AUX VARIANTES PHÉNOTYPIQUES D'UN MÊME SYNDROME**

A. Receveur-Ossard (1), M. Mathieu (2), G. Morin (2), B. Demeer (2), S. Kanafani (1), E. Blondeel (1), S. Bouquillon (3), S. Lanta (4), C. Vergne (4), J. Gondry (4), C. Quibel (1), N. Tang (1), J. Andrieux (3), H. Copin (1)

(1) Service de Cytogénétique et Biologie de la Reproduction, CHU Amiens, France ; (2) Service de Pédiatrie génétique, CHU Nord, Amiens, France ; (3) Laboratoire de Génétique Médicale, Hôpital Jeanne-de-Flandre CHRU de Lille, France ; (4) Centre de Gynécologie Obstétrique, CHU Amiens, France

Contact : receveur.aline@chu-amiens.fr

Le syndrome de Wolf Hirschhorn (WHS) est une anomalie chromosomique initialement décrite par Cooper et Hirschhorn en 1961. Il est lié à une délétion minimale de la région 4p15.2 générée par différents mécanismes chromosomiques. Ce syndrome se manifeste habituellement cliniquement par un retard de croissance, un retard mental, des pieds bots, un aspect facial en « casque de guerrier grec », associant un hypertélorisme, une microcéphalie, des malformations auriculaires et une fente labiale. Son incidence est estimée à 1/50 000. Nous rapportons 5 cas de WHS diagnostiqués dans le service, et pour lesquels nous avons identifiés différents mécanismes de remaniements chromosomiques. Pour chacun d'eux, le diagnostic de WHS était suspecté sur des signes d'appel échographiques en prénatal et la clinique en postnatal ; il a été confirmé en cytogénétique conventionnelle et moléculaire. 1<sup>er</sup> cas : Des signes d'appel échographiques à 25SA chez une primipare ont conduit à la réalisation d'une amniocentèse qui a révélé chez un fœtus de sexe masculin une translocation déséquilibrée t(Y;4)(p11.3;p15.1), avec la perte d'une grande partie de l'Y. 2<sup>e</sup> cas : Nouveau-né adressé pour dysmorphie crânio-faciale associée à un retard de croissance. Une asymétrie des télomères du 4p a conduit au diagnostic de WHS qui a été confirmé par FISH. La CGH arrays a révélé l'existence d'une duplication en 8p23.3p23.1 suggérant une translocation déséquilibrée. Ces 2 cas illustrent le mécanisme de translocation déséquilibrée *de*

*novo* retrouvée dans 1,6 % des cas. 3<sup>e</sup> cas : Diagnostic prénatal programmé pour une translocation parentale t(4;5)(p15;p13). Il s'agit d'une transmission déséquilibrée d'une translocation d'origine parentale dont la fréquence est d'environ 5 à 13 %. 4<sup>e</sup> cas : Mise en évidence par un diagnostic prénatal pour RCIU et malformations, d'un anneau du chromosome 4 supposant une délétion des extrémités de ses deux bras. 5<sup>e</sup> cas : Cas classique de WHS par microdélétion chez un enfant présentant des symptômes caractéristiques. C'est le mécanisme le plus fréquemment rencontré. Le WHS est secondaire à la microdélétion d'une région minimale ; les différents mécanismes chromosomiques en cause mettent en lumière le rapport phénotype-génotype. En effet, la taille du segment délété en 4p peut être corrélée à la sévérité du syndrome, et les signes cliniques additionnels peuvent être rapportés à la duplication ou à la perte de gènes du chromosome partenaire. Bien que des signes d'appel échographiques, et en particulier un RCIU sévère avec une quantité de liquide amniotique normale puissent suggérer le diagnostic ; le WHS est reconnu le plus souvent en post natal. Le nombre de diagnostic portés ainsi a posteriori montrent que la fréquence de ce syndrome est très probablement sous estimée.

**Mots-clés :** Wolf Hirschhorn, variants chromosomiques, diagnostic prénatal.

**■P138. RÉCURRENCE FAMILIALE D'UNE DUPLICATION 4Q22.2Q32.3 DUE À UNE MOSAÏQUE GERMINALE MATERNELLE**

L. Tosca (1, 2, 3), S. Brisset (1, 2, 4), F.M. Petit (2, 5), L. Lecerf (6, 7), G. Rousseau (1, 4), C. Bas (2, 3), M. Laroudie (8), M.L. Maurin (1), S. Tapia (9), O. Picone (10), S. Prevot (8), M. Goossens (6, 7), P. Labrune (2, 11, 12), G. Tachdjian (1, 2, 3)

(1) Histologie, Embryologie et Cytogénétique, Hôpital Antoine-Béclère, Clamart, France ; (2) Université Paris Sud, Le Kremlin-Bicêtre, France ; (3) INSERM U935, Villejuif, France ; (4) INSERM U782, Clamart, France ; (5) Biochimie, Hormonologie et Génétique, Hôpital Antoine-Béclère, Clamart, France ; (6) Université Paris Val-de-Marne, Créteil, France ; (7) Plateforme de Génomique IMRB 955, Hôpital Henri-Mondor, Créteil, France ; (8) Anatomie Pathologique, Hôpital Antoine-Béclère, Clamart, France ; (9) Laboratoire Pasteur Cerba, Cytogénétique, Cergy-Pontoise, France ; (10) Gynécologie Obstétrique, Hôpital Antoine-Béclère, Clamart, France ; (11) Pédiatrie, Hôpital Antoine-Béclère, Clamart, France ; (12) INSERM U948, Nantes, France

Contact : lucie.tosca@abc.aphp.fr

Une mosaïque cellulaire chromosomique est définie par la présence d'au moins deux populations de cellules présentant un génotype différent. Dans le mosaïcisme germinale, la survenue des différents types cellulaires se produit dans les cellules germinales avant le début de la méiose. Le mosaïcisme germinale est évident lorsque deux individus d'une même fratrie sont atteints d'une même anomalie chromosomique *de novo*. Le mosaïcisme germinale d'anomalies de structure chromosomique est rare et seulement 5 cas ont été décrits dans la littérature. Nous rapportons ici deux cas d'une fratrie portant une même duplication 4q22.2q32.3. La duplication a été analysée par des techniques de cytogénétique conventionnelle et de cytogénétique moléculaire. Cette anomalie chromosomique de structure était associée dans les 2 cas à une augmentation de la clarté nucale mesurée lors de l'échographie du premier trimestre de la grossesse, à un retard de croissance et à une dysmorphie crânio-faciale. Des anomalies cardiaques et pulmonaires ont été mises en évidence uniquement dans le premier cas. Dans les deux cas, une augmentation de la taille du bras long d'un chromosome 4 a été mise en évidence sur caryotype standard fœtal. L'étude cytogénétique des parents était normale, déterminant ainsi le caractère *de novo* de l'anomalie chromosomique. L'analyse par hybridation *in situ* fluorescente (FISH) a montré qu'il s'agissait d'une duplication (sonde de peinture du chromosome 4) de type intercalaire (sonde subtélomérique 4qter) et directe (sondes BACs). L'utilisation de l'hybridation génomique comparative sur puce (CGH array de type Agilent 105K) a révélé une dup4q22.2q32.3 de 70.8 Mb. Les points de cassure de la duplication ont été confirmés par FISH (sondes BACs). Par ailleurs, l'étude de marqueurs microsatellites par PCR a précisé l'origine maternelle du chromosome dupliqué. Cette analyse a aussi démontré l'existence d'une recombinaison interchromosomique dans le premier cas et intrachromosomique dans le second cas. En conclusion, la récurrence familiale de cette duplication 4q, la normalité de l'exploration chromosomique des parents ainsi que l'origine maternelle de la duplication sont compatibles avec l'hypothèse d'une mosaïque germinale ovarienne. Les manifestations cliniques ici rapportées sont en corrélation avec les études décrivant les trisomies pures 4q à l'exception des anomalies des pouces et des reins ici non observées. Parmi les gènes présents dans la région dupliquée certains ont un rôle dans le développement embryonnaire (DKK2, BMP1B) et dans le développement neurologique (NEUROG2, MAB21L2, PCDH10/18, GRIA2). Enfin,

notre étude souligne que lors du conseil génétique l'hypothèse d'une mosaïque germinale doit être prise en considération pour les anomalies de structure chromosomique *de novo*.

**Mots-clés :** duplication, chromosome 4, mosaïque ovarienne.

**■P139. DUPLICATION DU GÈNE NIPBL, UN PHÉNOTYPE DISTINCT DU SYNDROME DE CORNÉLIA DE LANGE**

C.N. Vilain (1), B. Pichon (2), J. Parma (3), A. De Leener (2, 3), M.J. Abramowicz (1), P. Van Bogaert (4)

(1) Service de génétique, Université Libre de Bruxelles, Brussels, Belgium ; (2) Laboratoire de cytogénétique, ULB Hôpital Érasme, Brussels, Belgium ; (3) Laboratoire de Génétique Moléculaire, ULB Hôpital Érasme, Brussels, Belgium ; (4) Service de neuropédiatrie, ULB Hôpital Érasme, Brussels, Belgium

Contact : cavilain@ulb.ac.be

The use of array CGH analyses for molecular karyotyping in the diagnostic investigation of syndromic and non syndromic mental retardation has led to the identification of new microdeletion and microduplication syndromes. While disruption of the NIPBL gene is responsible for the well known Cornelia de Lange syndrome, duplication of the same locus has been recently described in patients sharing features distinct from Cornelia de Lange syndrome, namely developmental delay, mental retardation, sleep disturbances, and subtle facial dysmorphism. We report the case of a 4 years old girl with a *de novo* duplication of three overlapping BAC clones at the level of the NIPBL gene in 5p13.2 revealed by a CGH array CytoChip (BlueGnome) study. MLPA study confirmed the duplication of the entire NIPBL gene from exon 1 to exon 46. FISH performed on interphase nuclei of cultured blood with one of the duplicated BAC clones showed a heterozygous splitting of the signal, confirming microduplication. Global hypotonia was present from birth, and motor development was delayed. Transient torticoli, and left hip luxation were observed during the firsts months of life. As the child grew, hypotonia and hyperlaxity of the lower limbs, with genu valgum, external rotation of feet, pes planus, and valgum deformity of the ankle were pronounced, and required orthopedic aid. Walking was achieved at 2 years. Language was delayed, with only disyllabic words at the age of 3 years. At the age of 3 years 8 months, mensurations were within normal limits. Facial dysmorphism consisted of a high forehead with narrow bitemporal diameter, high frontal hairline, thin straight eyebrows. The ears were low set, small and simple. The Bayley Scale-III evaluation at the age of 3 years and 3 months stood within normal limits with a score of 90. The patient has a pleasant and voluntary personality, with good social integration in a normal school. She has no sleep disorder, nor feeding difficulties. At the age of four years, this girl presents a milder phenotype than the patient previously described with NIPBL duplication, and shares common dysmorphic traits.

**Mots-clés :** NIPBL, retard de développement, hyperlaxité.

**■P140. DÉLÉTION 5P14.3P15.2 CHEZ UNE JEUNE FEMME ATTEINTE DE RETARD MENTAL SYNDROMIQUE**

N. Le Meur (1, 2), V. Drouin-Garraud (1, 3), L. Guyant-Marechal (1, 4), A. Goldenberg (1, 3), N. Di Fiore (2), A. Charollais (5), T. Frebourg (1, 3, 6), P. Saugier-Verber (1, 3, 6)

(1) Fédération de Génétique de Haute-Normandie, France ; (2) Laboratoire de Cytogénétique, EFS-Normandie, Bois Guillaume, France ; (3) Service de Génétique, CHU de Rouen, France ; (4) Service de Neurologie, CHU de Rouen, France ; (5) Service de Pédiatrie Néonatale et Réanimation, CHU de Rouen, France ; (6) Inserm U614, Institut Hospitalo-Universitaire, Université de Rouen, France

Contact : nathalie.lemeur@efs.sante.fr

Si de nombreuses délétions terminales du bras court du chromosome 5 ont été décrites, les délétions interstitielles apparaissent beaucoup plus rares. Les données publiées rapportent des délétions de grande taille dont les points de cassure, en l'absence de CGH-array, sont imprécis. Nous rapportons l'observation d'une jeune femme de 21 ans présentant un retard mental, une hypoplasie pontocérébelleuse, une microcéphalie, une dysmorphie faciale et une délétion (5)(p14.3p15.2) identifiée par CGH-Array. B. est née au terme d'une grossesse sans problème avec un discret retard de croissance. Elle a développé un retard des acquisitions motrices avec une marche acquise à 23 mois et un retard de langage important. Elle est intégrée en IME à l'âge de 6 ans. Cette patiente est vue en neuropédiatrie et en génétique clinique à l'âge de 13 ans et demi. Elle présente une dysmorphie faciale avec des fentes palpébrales en bas et en dehors, un rétrognathisme, des oreilles décollées, des orteils courts avec une syndactylie 2-3. L'évaluation du QI à l'âge de 20 ans montre un QI global à 45. L'IRM

cérébrale objective une hypoplasie modérée du vermis cérébelleux et du tronc cérébral. Les caryotypes standard et haute résolution ne révèlent pas d'anomalie chromosomique mais la CGH-Array, réalisée avec des lames 105K, met en évidence une délétion de la région 5p14.3p15.2 qui s'étend sur 8,4 Mb. Cette région contient une soixantaine de gènes dont la plupart ont des fonctions inconnues. L'étude des parents indique que ce remaniement est survenu *de novo*. De plus, l'absence de CNVs polymorphes couvrant la totalité de cette région est en faveur de la causalité de ce remaniement dans le phénotype observé. Cette délétion emporte plusieurs gènes candidats, au regard du phénotype, et notamment des gènes de miRNA et les gènes CDH18 et FBXL7. FBXL7 code pour une sous-unité de la E3 Ubiquitine Ligase, exprimée dans le cerveau, et qui intervient dans la dégradation protéosomale des protéines. Ce processus, impliqué notamment dans la régulation du cycle cellulaire, la réponse immunitaire et l'apoptose joue aussi un rôle prépondérant au cours du développement et des altérations de gènes codant pour des protéines des complexes Ubiquitine Ligase ont été identifiées dans plusieurs anomalies du développement : UBE3A dans le syndrome d'Angelman, MID1 dans le syndrome d'Opitz, UBE2A et CUL4B dans des retards mentaux liés à l'X. L'implication définitive de l'un des gènes candidats dans la physiopathologie du phénotype observé devra être démontrée par la mise en évidence de mutations chez des patients atteints de retards mentaux syndromiques.

**Mots-clés :** retard mental, CGH-Array, 5p14.3p15.2.

**■P141. CARACTÉRISATION MOLÉCULAIRE ET CLINIQUE DE DÉLÉTIONS 6Q16 EMPORTANT LES GÈNES MCHR2, SIM1 ET GRIK2 CHEZ 3 PATIENTS PRÉSENTANT UN RETARD MENTAL +/- UNE SURCHARGE PONDÉRALE ET DES EXTRÉMITÉS COURTES**

C. Dubourg (1, 2), S. Jaillard (2, 3), C. Henry (3), O. Raoul (4), J. Lucas (3), J. Mosser (2, 5), V. David (1, 2), H. Journel (6), S. Odent (2, 7)

(1) Génétique Moléculaire, CHU, Rennes, France ; (2) UMR 6061 CNRS, Faculté de Médecine, Université de Rennes-I, France ; (3) Cytogénétique, CHU, Rennes, France ; (4) Cytogénétique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France ; (5) Plateforme Transcriptome Biogenouest IBISA, Rennes, France ; (6) Génétique Médicale, CHBA, Vannes, France ; (7) Génétique Clinique, CHU, Rennes, France

Contact : christele.dubourg@chu-rennes.fr

Des délétions de la région chromosomique 6q16 ont été associées à un phénotype proche du syndrome de Prader-Willi, caractérisé par une obésité, une hypotonie, des extrémités courtes et un retard de développement. Jusqu'en 2008, ces réarrangements chromosomiques étaient détectés par analyse caryotypique standard permettant d'explorer tout le génome mais avec une faible résolution. Les techniques de CGH-array permettent maintenant d'affiner la région d'intérêt. C'est ainsi que cinq cas ont été récemment rapportés par Bonaglia et al (2008), leur permettant de délimiter la région critique à 4,1 Mb. Nous rapportons ici 3 cas supplémentaires de délétions hétérozygotes 6q16 chevauchantes, lesquelles montrent une région minimale commune de 2,8 Mb (100,489,030->103,286,627) (hg18-build36) impliquant quatre gènes : MCHR2 code pour un récepteur de la MCH (Melanin Concentrating Hormone), neuropeptide orexigène jouant un rôle clé dans le contrôle de la prise alimentaire et l'homéostasie énergétique ; SIM1 code pour un facteur de transcription requis pour la différenciation des neurones du noyau paraventriculaire et a été proposé comme gène candidat pour l'obésité ; ASCC3 code pour une hélicase ; enfin, GRIK2 code pour un récepteur au glutamate de la famille des kainates et pourrait être impliqué dans les comportements de type autistique. Nos trois patients présentent un retard de développement modéré avec retard de langage. Deux d'entre eux [Patient N° 1 : del(6)(q16.1q16.3)(93,398,769->104,560,884) (hg18-build36) ; Patient N° 2 : del(6)(q16.3q21)(100,489,030->108,334,568) (hg18-build36)] montrent également une surcharge pondérale voire une obésité en accord avec la perte d'un allèle de SIM1, ainsi qu'un visage rond et des extrémités courtes. Ceci va dans le même sens que les études précédemment rapportées. Le patient N°3 se distingue au contraire par un poids normal et des extrémités sans anomalies, mais il présente un remaniement chromosomique complexe : il existe deux délétions sur le bras long d'un chromosome 6 en 6q16.1 et en 6q16.2q16.3, incluses dans la grande délétion du patient N° 1. De plus, chez le patient N° 3, le chromosome 6 déléte est impliqué dans une translocation réciproque (6;13)(q17;q13) dont le dérivé 6 est porteur d'une inversion paracentrique du bras long. La différence de phénotype et notamment l'absence d'obésité pourrait alors s'expliquer par l'altération de l'expression d'un autre gène, altération qui viendrait contrebalancer la perte d'expression de SIM1.

**Mots-clés :** délétion 6q16, retard mental, SIM1.

#### ■P142. SYNDROME DE SILVER-RUSSELL SÉVÈRE AVEC SYNDROME MYÉLODYSPLASIQUE PAR MONOSOMIE 7 CONSTITUTIONNELLE EN MOSAÏQUE

A. Goldenberg (1, 2), G. Joly-Helas (2, 3), C. Dumant-Forest (4), A. Marie-Cardine (5), C. Lecointre (4), N. Le Meur (2, 6), A. Rossi (2, 6), I. Netchine (7), S. Radi (8), A. Liard-Zmuda (9), F. Le Pessot (10), D. Penther (11), C. Bastard (11), M.P. Callat (12), G. Buchonnet (12), C. Boucher (1, 2, 13), T. Frébourg (1, 2, 13), J.P. Vannier (5), P. Saugier-Verber (1, 2, 13)

(1) Service de Génétique, CHU de Rouen, France ; (2) Fédération de Génétique, CHU de Rouen, France ; (3) Laboratoire de Cytogénétique, CHU de Rouen, France ; (4) Service de Pédiatrie, CHU de Rouen, France ; (5) Service d'Héματο-Oncologie Pédiatrique, CHU de Rouen, France ; (6) Laboratoire de Cytogénétique, EFS Normandie Bois Guillaume, France ; (7) Laboratoire d'Explorations Fonctionnelles Endocriniennes, Hôpital Trousseau Paris, UPMC et INSERM UMR-S938 équipe 4, France ; (8) Service de Néonatalogie, CHU de Rouen, France ; (9) Service de Chirurgie Pédiatrique, CHU de Rouen, France ; (10) Service d'anatomopathologie, CHU de Rouen, France ; (11) Laboratoire de Génétique Oncologique, Centre Henri-Becquerel, Rouen, France ; (12) Laboratoire d'Hématologie, CHU de Rouen, France ; (13) Inserm U614, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Institut Hospitalo-Universitaire, Université de Rouen, France

Contact : alice.goldenberg@chu-rouen.fr

Le syndrome de Silver-Russell (SRS ; MIM 180860) est une affection cliniquement hétérogène caractérisée par un retard de croissance intra-utérin et postnatal sévère, un faciès triangulaire, une asymétrie corporelle et des troubles alimentaires. Il résulte d'anomalies épigénétiques en 11p15 (hypométhylation) dans 50 % des cas et d'une disomie uniparentale maternelle du chromosome 7 dans 10 % des cas. Nous rapportons l'observation d'un patient présentant une symptomatologie très sévère associant un grand retard de croissance intra-utérin et postnatal, une ambiguïté sexuelle à caryotype masculin, un reflux vésico-urétéral grade III bilatéral, des troubles digestifs graves (reflux gastroœsophagien, troubles de l'oralité, diarrhée chronique ayant nécessité une alimentation parentérale puis une gastrostomie), des troubles du développement (retard global des acquisitions, troubles autistiques, spasmes du sanglot avec épilepsie réflexe) et un syndrome dysmorphique. Des anomalies hématologiques chroniques conduisent au diagnostic de myélodysplasie à l'âge de 24 mois. Devant ce tableau nous évoquons l'hypothèse d'un SRS dans une forme très sévère. Il n'a pas été mis en évidence de disomie uniparentale ni d'anomalie de méthylation du chromosome 7, mais l'analyse par CGH array réalisée à partir du sang périphérique oriente vers une monosomie 7 en mosaïque. Parallèlement, sur la moelle, une monosomie 7 homogène est retrouvée. L'existence d'un tableau malformatif et d'une dysmorphie suggère fortement le caractère constitutionnel et non somatique de cette monosomie 7 en mosaïque. L'analyse cytogénétique rétrospective le confirme en montrant que la monosomie 7 en mosaïque est détectable par FISH dans différents tissus étudiés (frottis jugal et biopsie digestive). Sur culture de fibroblastes, la monosomie n'est pas détectable ce qui suggère une pression de sélection des cellules cultivées normales contre les cellules aneuploïdes. Dans le sang périphérique, elle n'est pas détectée sur les premiers prélèvements à la naissance mais s'élève à 13 % à l'âge de 2 ans suggérant un lien avec l'évolution du syndrome myélodysplasique. L'étude de microsatellites du chromosome 7, en condition quantitative, confirme l'origine paternelle du chromosome éliminé. Il s'agit là d'une observation exceptionnelle de monosomie 7 constitutionnelle en mosaïque révélée par un tableau particulièrement sévère de SRS, associé à d'autres signes résultant de l'haploinsuffisance d'autres gènes localisés sur le chromosome 7. Cette observation montre l'utilité de la CGH array pour détecter des altérations génomiques en mosaïque, la nécessité de prendre en considération les métaphases monosomiques lors de la réalisation d'un caryotype et l'intérêt des techniques qui s'affranchissent d'une étape de culture cellulaire pour la caractérisation d'anomalies soumises à pression de sélection.

**Mots-clés :** CGH array, monosomie 7, Silver-Russell.

#### ■P143. QUAND UNE ANOMALIE EN CACHE UNE AUTRE : À PROPOS D'UN CAS

A. Amouri (1), W. Ayed (1), N. Bouayed Abdelmoula (2), M. Meddeb (3), F. Talmoudi (1), I. El Kamel-Lebbi (1), L. Aissaoui (4), B. Meddeb (4), A. Hafsia (4)

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

Contact : amouri.ahlem@pasteur.rns.tn

Nous rapportons l'observation d'une fille âgée de 5 ans, adressée à notre laboratoire de Cytogénétique de l'Institut Pasteur de Tunis pour suspicion d'une anémie de Fanconi, chez qui nous avons découvert une anomalie chromosomique constitutionnelle jusque là méconnue. La réalisation d'un caryotype en présence d'un agent de pontage avait objectivé la présence d'un gros anneau sur la totalité des mitoses analysées mais l'absence de signes d'instabilité chromosomique. Après marquage chromosomique, l'anomalie s'est avérée être un anneau du chromosome 7. L'anneau du chromosome 7 est une anomalie rare ; 18 cas ont été rapportés dans la littérature, présentant des phénotypes différents dont une atteinte cutanée qui se manifeste surtout par des naevi pigmentaires. En se référant à notre observation et à la littérature, nous essayerons d'établir une corrélation génotype-phénotype qui serait utile pour le conseil génétique.

**Mots-clés :** chromosome 7, anneau, anémie de Fanconi.

#### ■P144. DÉLÉTION 7Q22.2-Q31.3 RÉVÉLÉE PAR HYBRIDATION GÉNOMIQUE COMPARATIVE SUR PUCE À ADN CHEZ UN ENFANT ATTEINT DE RETARD MENTAL ASSOCIÉ À UNE TRANSLOCATION T(4;13) ÉQUILIBRÉE AU CARYOTYPE

H. Hannachi (1), I. Ben Abdallah (1), S. Mehri (1), A. Labalme (2), D. Sanlaville (2), A. Saâd (1, 3), H. Elghezal (1, 3)

(1) Service de Cytogénétique et de Biologie de la Reproduction, Hôpital Universitaire Farhat-Hached, Sousse, Tunisie ; (2) Service de Cytogénétique Constitutionnelle, Centre de Biologie et de Pathologie Est, Hospices Civils de Lyon, France ; (3) Unité de Service Commun de Recherche en Génétique, Faculté de Médecine de Sousse, Tunisie

Contact : hatem\_elghezal@rns.tn

Nous rapportons le cas d'un garçon âgé de 3 ans présentant un retard mental avec un retard profond du langage, associé à une épilepsie et à un syndrome dysmorphique caractérisé par une microphthalmie, un épicanthus bilatéral, un philtrum long, un Microretrognathisme et une brachyphalangie des mains et des pieds. Le scanner cérébral et l'échographie cardiaque et abdominale ne montrent pas de malformation associée. Un caryotype standard pratiqué sur lymphocytes sanguins a mis en évidence une translocation réciproque t(4;13). Les caryotypes des parents sont normaux. L'exploration par hybridation *in situ* fluorescente en utilisant des sondes de peinture chromosomique ne montre pas l'implication d'un troisième chromosome dans cette translocation et le cas est classé comme une translocation réciproque équilibrée à phénotype pathologique. Suite au développement de la technologie d'hybridation génomique comparative sur puces à ADN nous avons procédé à un balayage du génome entier de ce patient en utilisant une puce à oligonucléotides (Agilent technology). Cette étude n'a pas montré de déséquilibre au niveau des points de cassures de la translocation confirmant la nature équilibrée de ce remaniement mais a décelé une délétion interstitielle sur le bras long du chromosome 7 d'une taille de 20 Mb (entre les oligonucléotides A\_14\_P100613 et A\_14\_P104445) concernant les bandes 7q22.2-q31.3. Cette délétion sur le chromosome 7 a emporté, entre autres, le gène FOXP2, membre de la famille des gènes FOX, impliqué dans l'embryogenèse des régions cérébrales responsables du développement de la parole et du langage. La perte de ce gène pourrait bien expliquer le retard profond du langage chez notre patient.

**Mots-clés :** retard mental, translocation équilibrée, délétion 7q.

#### ■P145. LIMITES DE LA CYTOGÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE DANS LE DIAGNOSTIC DU SYNDROME DE WILLIAMS

F. Abdelhedi (1), N. Belguith (1), M.A. Ksontini (1), M. Chaabouni (2), H. Chaabouni (2), H. Kamoun (1)

(1) Service de Génétique Médicale, Hôpital Hédi Chaker, Sfax, Tunisie ; (2) Service des maladies congénitales et héréditaires, Hôpital Charles Nicolle, Tunis, Tunisie

Contact : hassan.kamoun@rns.tn

La technique de FISH constitue la méthode de choix pour la détection des remaniements chromosomiques associés aux syndromes microdélétionnels. Le syndrome de Williams et Beuren est un syndrome microdélétionnel rare. Sa prévalence à la naissance est évaluée entre 1/7 500 et 1/20 000. Il est défini sur le plan clinique par une dysmorphie faciale, une cardiopathie, un profil cognitif et comportemental spécifique. Il est associé à une microdélétion de la région 7q11.23. Des sondes commerciales sont disponibles dont la sonde VYSIS LSI ELN couvrant les gènes de l'élastine (ELN) et LIMK1 et qui est utilisée pour la confirmation du diagnostic.

À travers ce travail nous rapportons les observations de 3 enfants qui présentent une dysmorphie faciale évocatrice du syndrome de Williams et Beuren, associée à un retard mental avec trouble du comportement et un rétrécissement aortique supra valvulaire. Le caryotype en bandes G sur lymphocytes périphériques est normal chez les 3 patients ainsi que leurs parents.



L'hybridation *in situ* fluorescente (FISH) par la sonde commerciale VYSIS LSI ELN a permis de confirmer le diagnostic du syndrome de Williams et Beuren chez deux patients uniquement. Pour le troisième cas aucune délétion n'a été mise en évidence.

La délétion classique responsable du syndrome de Williams et Beuren a une longueur de 1.55 Mb dans 95 % des cas, et de 1.84 Mb dans 5 % des cas. Cependant il a été rapporté dans la littérature des délétions atypiques, plus petites, non détectés par la sonde VYSIS LSI ELN, et dont la taille peut arriver jusqu'à 100 Kb. Ces délétions sont détectées par l'utilisation d'autres sondes plus petites ou d'autres techniques de cytogénétique moléculaire plus spécialisées comme la CGH-array.

**Mots-clés :** syndrome de Williams et Beuren, cytogénétique moléculaire, sténose aortique supra-auriculaire.

#### ■P146. DÉSÉQUILIBRE D'UNE INVERSION PARACENTRIQUE ET CONSEIL GÉNÉTIQUE

M. Béri-Dexheimer (1), C. Bénétou (2), C. Bonnet (1), B. Léotard (1), S. Miesch (1), F. Verneau (1), M. Damance (1), B. Leheup (2), P. Jonveaux (1)

(1) Service de génétique, CHU de Nancy, France ; (2) Service de médecine infantile III et de génétique clinique, CHU de Nancy, France

Contact : m.beri@chu-nancy.fr

Nous rapportons le cas d'un enfant de 2 ans présentant une hypotonie, un retard des acquisitions psychomotrices associés à une dysmorphie, sans antécédents familiaux particuliers. Les paramètres staturo-pondéraux à la naissance sont les suivants : poids : 2 630 g, taille : 46 cm, périmètre crânien : 33,5 cm. Son évolution a été marquée par un retard des acquisitions psychomotrices (tenue assise à 11 mois), un retard de langage et un retard de croissance (taille à -2,1DS). Sur le plan morphologique, sont notés un petit nez avec une racine plate, une bouche en chapeau de gendarme, un épicanthus bilatéral, une lèvre inférieure éversée, un palais oval, un cou court, une plagiocéphalie occipitale et une brachycéphalie ainsi que des cheveux rares. Elle présente en outre des pieds en piolet et des mamelons écartés. Une étude par hybridation génomique comparative en microarray à l'aide d'une puce 105K (Agilent) a montré un remaniement du bras long d'un chromosome 7 associant une duplication en 7q33q35 de 5,62Mb et une délétion en 7q35q36.1 de 8,77Mb (arr 7q33q35(137,295,929-142,922,625)x3,7q35q36.1(143,223,662-151,994,994)x1, construction génomique hg18). Ce résultat a été contrôlé par FISH chez l'enfant et a conduit à mettre en évidence chez le père une inversion, inv(7)(q34q36). Ce type de réarrangement déséquilibré survient suite à l'échange de chromatide homologue à la méiose dans la boucle d'inversion chez l'un des parents porteur d'une inversion paracentrique. Par le biais de la découverte d'un déséquilibre par array-CGH, il a donc été possible d'identifier le mécanisme en cause dans ce déséquilibre et de proposer un diagnostic prénatal par FISH au couple au cours d'une seconde grossesse. Cette étude souligne la complémentarité des techniques de cytogénétique moléculaire pour la détection de remaniements chromosomiques et la caractérisation du mécanisme moléculaire à l'origine d'un déséquilibre génomique permettant ainsi un conseil génétique approprié pour le couple et les apparentés.

**Mots-clés :** inversion paracentrique, chromosome 7, array-CGH.

#### ■P147. ARRAY-COMPARATIVE GENOMIC HYBRIDIZATION (ARRAY-CGH) BENEFITS IN MEDICAL CYTOGENETIC : ABOUT A 8P23.1 DELETION

C. Pebrel-Richard (1), L. Gouas (1, 2), E. Eymard-Pierre (1), P. Combes (1), M. Giollant (1, 2), C. Goumy (1, 2), L. Véronèse (1, 2), A. Tchirkov (1, 2), P. Vago (1, 2)

(1) Service de Cytogénétique Médicale, CHU Clermont-Ferrand, France ; (2) Service d'Histologie Cytologie Embryologie Cytogénétique, Faculté de Médecine, Université Clermont 1, Clermont-Ferrand, France

Contact : cpebrel@chu-clermontferrand.fr

Background : Malformations are a major cause of morbidity and mortality in full term children and genomic imbalances are a significant component of their aetiology. However, the causes of defects in many patients with multiple congenital malformations remain unexplained despite thorough clinical examination and traditional laboratory investigations. Methods: We present a seven-year-old patient with cardiopathy, developmental delay, minor dysmorphic abnormalities and a normal karyotype. Further molecular investigations were performed using metaphase Comparative Genomic Hybridization (CGH), Multiplex Ligation Dependent Probe Amplification (MLPA) analysis on subtelomeric regions (SALSA P036, P070, MRC-Holland) and on a panel

of 21 regions associated to syndromes with mental retardation and congenital malformations (MRS-MLPA) (SALSA P245, MRC-Holland) as well as array Comparative Genomic Hybridization (array-CGH) (CytoChip V.2, Blue-gnome). This commercial microarray contains 4400 BAC clones spaced at approximately every 0.5 Mb across the genome. Results : Only the array-CGH revealed a 4.5 Mb deletion in 8p23.1. This deletion was further confirmed by FISH using the BAC clone RP11-23515. Conclusions : Deletion of 8p23.1 is an established genomic disorder presenting with growth and mental retardation, behavioral difficulties, congenital heart disease, diaphragmatic hernia and genital abnormalities. Critical deletion region for the major features of 8p deletion syndrome includes the gene encoding GATA-4, a transcription factor implicated in cardiac gene expression and development. Consequently, GATA-4 has been proposed as a candidate gene for cardiopathy associated with partial monosomy of 8p. Prospective studies of individuals with developmental delay and dysmorphic features have demonstrated that array-CGH can detect various genomic imbalances in 5 to 17 % of individuals showing normal results with conventional cytogenetic methods. In this context, array-CGH will certainly be developed as a routine method of genome-wide screening for unbalanced rearrangements in patients with mental retardation or other developmental disabilities. This technique will allow to refine phenotype-genotype correlation and improve genetic counseling.

**Mots-clés :** array-CGH, unbalanced rearrangements, 8p23.1 deletion.

#### ■P148. TÉTRASOMIE 9P : VARIABILITÉ PHÉNOTYPIQUE ET DIFFICULTÉS DIAGNOSTIQUES

S. Jaillard (1, 2), J. Andrieux (3), L. Pasquier (2, 4), P. Marcorelles (5), C. Vincent-Delorme (6), H. Journel (7), K. Pluquaillec (8), C. Henry (1), C. Dubourg (2, 9), F. Demurger (1), S. Odent (2, 4), J. Lucas (1), M.A. Belaud-Rotureau (1, 2)

(1) Cytogénétique, CHU Rennes, France ; (2) UMR 6061 CNRS, Faculté de Médecine, Université de Rennes 1, France ; (3) Laboratoire de Génétique Médicale, CHRU Lille, France ; (4) Génétique Clinique, CHU Rennes, France ; (5) Anatomie et Cytologie Pathologiques, CHU Brest, France ; (6) Génétique Clinique, CHRU Lille, France ; (7) Génétique Clinique, CHBA Vannes, France ; (8) Laboratoire de Cytogénétique, Cesson-Sévigné, France ; (9) Génétique Moléculaire, CHU Rennes, France

Contact : sylvie.jaillard@chu-rennes.fr

La tétrasomie 9p par isochromosome 9p surnuméraire est une anomalie chromosomique rare, associée à une variabilité phénotypique due à la localisation du point de cassure. Elle s'associe également à une grande variabilité phénotypique pouvant aller d'un phénotype normal ou quasi normal à des formes graves avec anomalies multiples. Des signes cliniques assez caractéristiques sont toutefois rapportés en prénatal ainsi qu'en postnatal. Nous décrivons quatre cas de tétrasomie 9p diagnostiqués par des analyses de cytogénétique conventionnelle et moléculaire (trois en prénatal et un en postnatal) et montrant une présentation clinique différente (Cas n° 1 : prénatal, syndrome polymalformatif et caryotype foetal avec isochromosome 9p homogène, IMG / Cas n° 2 : prénatal, syndrome polymalformatif et caryotype foetal avec isochromosome 9p en mosaïque, IMG / Cas n° 3 : prénatal, fratrie du cas n° 2, clarté nucale augmentée et échec du caryotype foetal, fausse-couche spontanée / Cas n° 4 : postnatal, retard de croissance, caryotype avec isochromosome 9p homogène sur lymphocytes et normal sur fibroblastes). Dans tous les cas, le caryotype des parents est normal. L'existence fréquente d'un mosaïcisme tissulaire à des degrés variables semble expliquer les différences phénotypiques décrites. Contrairement à d'autres mosaïques, l'isochromosome 9p est préférentiellement mis en évidence dans les lymphocytes sanguins. Cette sélection tissulaire complique la réalisation d'un diagnostic prénatal et un caryotype normal sur villosités chorales ou liquide amniotique n'élimine pas une tétrasomie 9p qui devra alors être recherchée par un caryotype sur sang foetal. La CGH-array (tissu foetal ou liquide amniotique non cultivé) a mis en évidence cette anomalie dans les trois cas rapportés en prénatal. Le résultat est en faveur d'une tétrasomie 9p homogène, suggérant que la culture du liquide amniotique pourrait induire un biais de sélection et un mosaïcisme dans le cas n°2. La survenue de deux cas dans la même fratrie (cas n° 2 et n° 3) pourrait par ailleurs s'expliquer par l'existence d'une mosaïque germinale chez un des parents.

**Mots-clés :** isochromosome 9p, mosaïque, variabilité phénotypique.

#### ■P149. PHÉNOTYPE ET CARACTÉRISSATION MOLÉCULAIRE D'UNE TRISOMIE 9Q PARTIELLE PAR RECOMBINAISON D'UNE INVERSION PARACENTRIQUE

M. Jamar, G. Pierquin, A.C. Hellin

Centre Universitaire de Génétique Humaine, CHU Sart Tilman, Liège, Belgique

Contact : mauricette.jamar@chu.ulg.ac.be

Nous rapportons le cas d'un nouveau-né de sexe masculin, référé pour établissement d'un caryotype, suite à l'existence de signes dysmorphiques : microcéphalie, microrétrognathie, yeux enfoncés, cheveux très clairs, pli palmaire unique, arachnodactylie. Le caryotype montre un chromosome 9 anormal, avec allongement de son bras long. Les investigations familiales révèlent que le père du patient est porteur d'une inversion paracentrique du bras long d'un chromosome 9, héritée de sa mère. Le caryotype de l'enfant est redéfini comme suit : 46,XY,rec(9)dup(9q)inv(9)(q13q34)pat. L'array-CGH (Affymétrie 6.0) permet ultérieurement de conclure à une duplication dup(9)(q13q21.3) d'environ 18Mb. Il n'y a pas de délétion associée. Le conseil génétique réalisé à l'âge de trois mois confirme la dysmorphie faciale (hypotélisme, épicanthus, nez fin, philtrum courbé, palais ogival, micrognathie, oreilles peu ourlées) et révèle des antécédents familiaux évocateurs du côté paternel : un cas identique de « chromosome 9q+ » non caractérisé à l'époque (en 1990) avait été diagnostiqué chez un neveu de la grand-mère paternelle. La corrélation génotype-phénotype et les commentaires concernant cette observation seront discutés dans la présentation.

**Mots-clés :** inversion, recombinaison, array-CGH.

**■P150. MICRO-DÉLÉTION 9Q33.3, INCLUANT LE LOCUS LMX1B, CHEZ DES JUMEAUX PRÉSENTANT UN SYNDROME NAIL PATELLA ASSOCIÉ À UN RETARD MENTAL ET UNE ÉPILEPSIE**

A. Vigouroux-Castéra (1), S. Julia (1), G. Quenum (2), S. Manouvrier-Hanu (3), G. Bourrouillou (1), P. Calvas (1)

(1) Service de génétique médicale, hôpital Purpan, CHU Toulouse, Toulouse, France ; (2) Service d'embryologie pathologique et de cytogénétique, Hôpital Saint Antoine, Paris, France ; (3) Service de génétique clinique Guy-Fontaine Hôpital Jeanne-de-Flandre, CHRU, Lille, France  
Contact : vigouroux.a@chu-toulouse.fr

Le syndrome Nail-Patella est une onycho-ostéo-dysplasie caractérisée par une dysplasie des ongles, des rotules hypoplasiques ou absentes, des exostoses des ailes iliaques, une dysplasie des coudes. Ce syndrome, transmis sur le mode autosomique dominant, est lié à une haploinsuffisance du gène LMX1B. Nous rapportons le cas de deux jumeaux présentant un syndrome polymalformatif associant une épilepsie, un retard mental sévère et des anomalies squelettiques. À l'examen, on retrouve des signes cranio-faciaux non spécifiques, une scoliose sévère, une onycho-ostéo-dysplasie, et des pieds bots. Le bilan radiologique met en évidence une absence de rotule, des crêtes iliaques spiculées. Les anomalies squelettiques font porter le diagnostic de « Nail Patella Syndrome ». Compte tenu de l'association d'un retard mental et d'une épilepsie, exceptionnelle dans ce syndrome, une recherche de syndrome micro-délétionnel été réalisée par CGH array. Il a mis en évidence une microdélétion de 1 Mb de la région 9q33.3 (BACs RP11-205K6-->RP373J8) impliquant le gène LMX1B, secondairement confirmé par FISH. Nous discutons l'implication potentielle des gènes de la région dans le retard mental de ces patients, notamment de ceux dont les mutations ont récemment été rapportées chez des patients présentant une épilepsie.

**Mots-clés :** CGH, nail patella, épilepsie.

**■P151. APPORT DE LA CYTOGÉNÉTIQUE DANS LE SUIVI DES ENFANTS GREFFÉS POUR HÉMOPATHIES NON MALIGNES**

W.-Ayed (1), R. Bhourri (1), I. El Kamel-Lebbi (1), F. Mallouli (2), L. Torjmane (2), H. Guermani (1), N. Abidli (1), F. Talmoudi (1), A. Lakkhal (2), S. Ladab (2), A. Abdelkefi (2), T. Ben Othman (2), A. Amouri (1)

(1) Laboratoire d'Histologie et de Cytogénétique Médicale et Unité de recherche EMGOOD : Étude des Maladies Orphelines d'Origine Génétique, Institut Pasteur de Tunis ; (2) Centre National de Greffe de Moelle Osseuse de Tunis, Tunisie  
Contact : amouri.ahlem@pasteur.rns.tn

La greffe de cellules souches hématopoïétiques (CHS) constitue une alternative thérapeutique largement reconnue et efficace en hématologie. Nous nous proposons dans ce travail de montrer l'utilité de la cytogénétique dans la surveillance des patients allogreffés pour des pathologies non malignes. Il s'agit d'une étude rétrospective ayant concerné 50 patients traités par greffe de cellules souches hématopoïétiques et ayant bénéficié d'un ou de plusieurs caryotypes sanguins et/ou médullaires dans notre Laboratoire de Cytogénétique de l'Institut Pasteur de Tunis. Les indications de la greffe de CHS, étaient dominées par l'aplasie médullaire suivies par les hémoglobinopathies, les déficits immunitaires et les maladies de surcharge. Pour

ces patients, une analyse cytogénétique par culture de lymphocytes sanguins et/ou de moelle osseuse a été réalisée par des méthodes conventionnelles avec marquage chromosomique en bandes R, et/ou par Hybridation *In situ* fluorescente (cytogénétique moléculaire) utilisant des sondes spécifiques des chromosomes X et Y dans les cas de greffes de moelle allogénique avec donneur et receveur de sexe opposé. Les caryotypes ont permis de conclure à un état de chimérisme mixte avec persistance des métaphases du receveur chez la majorité d'entre eux. Les autres patients présentent un chimérisme complet avec absence totale de métaphases résiduelles de l'hôte à différents délais après la greffe. La cytogénétique conventionnelle et moléculaire se sont ainsi révélées comme des méthodes efficaces pour la surveillance régulière et attentive du chimérisme chez des patients qui ont bénéficié d'une greffe de moelle osseuse de par son importance pour un diagnostic précoce de la prise de la greffe et pour l'optimisation du traitement post greffe.

**Mots-clés :** chimérisme, FISH, Allogreffe de moelle osseuse.

**■P152. SEARCH FOR SUBMICROSCOPIC REARRANGEMENTS LINKED TO ALTERNATING HEMIPLEGIA OF CHILDHOOD BY SNP-CGH ARRAYS**

C. El Baba (1, 2, 3), E. Panagiotakaki (4), W. Carpentier (5), A. Arzimanoglou (4, 6), the french network for AHC genetics, B. Fontaine (1, 2, 3, 7), S. Nicole (1, 2, 3, 7)

(1) Université Pierre-et-Marie-Curie-Paris 6, centre de recherche de l'institut du cerveau et de la moelle épinière, UMR\_S975, Paris, France ; (2) Inserm, U975, Paris, France ; (3) Cnrs, UMR 7225, Paris, France ; (4) Institut des Epilepsies de l'Enfant et l'adolescent IDEE, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France ; (5) Université Pierre-et-Marie-Curie, Paris 6, Plate-forme Post-Génomique P3S, Paris, France ; (6) Inserm, U821, Lyon, France ; (7) Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Fédération des maladies du système nerveux & centre de référence « canalopathies musculaires », Groupe Hospitalier de la Pitié-Salpêtrière, Paris, France  
Contact : sophie.nicole@upmc.fr

Alternating hemiplegia of childhood (AHC) is a rare neuropediatric disorder characterized by episodes of hemiplegia as well as other paroxysmal manifestations (dystonic attacks, paroxysmal nystagmus, episodes of autonomic disturbances and epileptic seizures). The pathophysiology of AHC has thus far eluded identification. Most of the cases are sporadic. However, a genetic aetiology for AHC is suggested by the stereotyped symptomatology, the lack of association with environmental factors and the concordance of identical twins for the disease status. Our final objective is to identify the gene(s) responsible for AHC. An autosomal dominant inheritance with *de novo* mutations appears to be the more likely genetics model. Since submicroscopic chromosomal alterations such as copy number variations (CNV) have emerged as accounting for a significant proportion of human phenotypic variation, we hypothesize that submicroscopic chromosomal alterations could be linked to the disease in some patients. We have established a French cell and DNA biobank for patients with AHC and their family (28 families included to date). Clinical data of the patients are available in the web-based registry of The European Association for Research on Alternating Hemiplegia (ENRAH), a non-profit European organization established by patient organizations and health workers with the goal to promote knowledge, communication and research concerning AHC. We analysed 15 French patients with AHC and their parents by SNP-CGH array using the new Human660W-Quad DNA arrays (v1.0, Illumina Inc) and blood DNA samples. We searched for LOH and CNV (deletion or amplification) using the CNVpartition (version 1.2.1, Illumina Inc) and PennCNV (University of Pennsylvania) softwares. In a first attempt, we excluded as candidates the chromosomal alterations not identified by the two softwares, inherited from one parent or known as a polymorphism in the public database of genomic variants. Forty eight *de novo* rearrangements were retained as candidates, among which three were common to two patients. The corresponding regions are currently investigated in more details to validate them as candidates to search for the AHC gene. This work is supported by AFM, ANR programme "maladies rares" and AFHA.

**Mots-clés :** alternating hemiplegia of childhood, SNP-CGH arrays, CNV.

**■P153. DÉTECTION DE MOSAÏQUES CHROMOSOMIQUES PAR CGH-ARRAY : EXPÉRIENCE DE TROIS LABORATOIRES FRANÇAIS**

N. Marle (1), P. Callier (1), M. Béri (2), C. Thauvin (3), S. Jaillard (4), A.L. Mosca (1), A. Guichet (5), C. Henry (4), M.A. Collonge-Rame (6), A. Masurel (3), C. Bonnet (2), V. Roze (6), C. Dubourg (7), V. David (7), B. Leheup (8), P. Jonveaux (2), L. Faivre (3), F. Mugneret (1)

(1) Laboratoire de Cytogénétique, CHU Dijon, France ; (2) Laboratoire de Cytogénétique, CHU Nancy, France ; (3) Département de Génétique Clinique, Hôpital d'Enfant, Dijon, France ; (4) Laboratoire de Cytogénétique, CHU Rennes, France ; (5) Département Biochimie et Génétique, CHU Angers, France ; (6) Laboratoire de Génétique, CHU Besançon, France ; (7) Laboratoire de génétique Moléculaire, CHU Rennes, France ; (8) Service de Pédiatrie, Hôpital d'Enfants, Nancy, France  
Contact : nathalie.marle@chu-dijon.fr

Les mosaïques chromosomiques se définissent par la coexistence chez un même individu de deux ou plusieurs populations cellulaires qui bien que dérivées du même zygote, présentent des caryotypes distincts. En raison d'une pression de sélection négative induite par la culture, des variations tissulaires et du faible niveau de certaines mosaïques, certains cas peuvent être ignorés par la cytogénétique conventionnelle. Nous rapportons l'expérience de trois laboratoires français utilisant des puces à ADN dans le bilan étiologique de patients présentant un retard mental à caryotype standard normal. 5 cas de mosaïques chromosomiques (soit 0,6 %) ont été mis en évidence parmi 795 patients étudiés. Le 1<sup>er</sup> patient est un nourrisson de 15 mois présentant une dysmorphie, une hernie ombilicale et un micro-pénis. La CGH-Array (Integrage<sup>®</sup>, 4 898 clones) a mis en évidence un gain pour l'ensemble du bras court du chromosome 12. Le caryotype standard à partir d'une culture de fibroblastes a montré une tétrasomie 12p en mosaïque : 47,XY,+i(12)(p10)[24]/46,XY[1]. Le 2<sup>nd</sup> patient est une fillette de 10 ans présentant un retard de croissance, un retard psychomoteur, une surdité bilatérale, une dysmorphie, une hydrocéphalie, une trachéomalacie et des anomalies squelettiques avec craniosténose, cyphose-scoliose majeure et dysplasie de hanche. La CGH-Array (105K, Agilent<sup>®</sup>) a révélé une amplification partielle 9p et 9q. L'analyse cytogénétique conventionnelle à partir de lymphocytes périphériques a mis en évidence à un idic(9)(q22.1) surnuméraire sur 3 des 85 métaphases analysées. Le 3<sup>ème</sup> patient est un garçon de 5 ans présentant un retard psychomoteur, une épilepsie, un corps calleux hypoplasique, une atrésie des conduits auditifs externes, une dysmorphie et des anomalies génitales. La CGH-Array (44K, Agilent<sup>®</sup>) a détecté une trisomie 18p et une monosomie 18q partielles. L'analyse FISH sur culture de lymphocytes périphériques a montré un isodiscentrique 18q sur 5 des 100 métaphases analysées. Le 4<sup>ème</sup> patient est une fillette de 5 ans avec un retard mental, une dysmorphie et une antéposition anale. La CGH-Array (44K, Agilent<sup>®</sup>) a révélé une délétion de 600 kb en 9q34.3, confirmée sur 30 % des noyaux analysés en FISH (culture de lymphocytes). Le 5<sup>e</sup> cas est particulier car la recherche d'une anomalie cytogénétique constitutionnelle a permis de détecter une anomalie probablement acquise. Il s'agit d'un garçon de 3 ans avec un retard psychomoteur majeur associé à un déficit immunitaire humoral. La CGH-Array (105K, Agilent<sup>®</sup>) a montré une perte pour la totalité du chromosome 7. Les caryotypes sanguin et médullaire ont confirmé la monosomie 7 en mosaïque, suggérant la détection précoce d'une hémopathie. Cette anomalie cytogénétique, limitée au tissu sanguin, ne serait alors pas causale dans le retard psychomoteur. Ces 5 cas nous amènent à discuter, à la lumière de la littérature, l'utilité de la CGH-array dans la détection de très faibles mosaïques dans le sang périphérique.

**Mots-clés :** CGH-Array, mosaïques cryptiques.

#### ■P154. APPORT DE LA CGH-ARRAY DANS LE DIAGNOSTIC DE SYNDROMES MICRODÉLÉTIONNELS ASSOCIÉS À DES PHÉNOTYPES ATYPQUES

A.L. Mosca (1), S. Bouquillon (2), L. Faivre (1), P. Callier (1), J. Andrieux (2), N. Marle (1), C. Bonnet (3), C. Vincent-Delorme (2), M. Berri (3), G. Plessis (2), S. Manouvrier-Hanu (2), C. Thauvin-Robinet (1), E. Pipiras (4), A. Delahaye (4), M. Payet (1), C. Rangon (1), A. Masurel-Paulet (1), E. Questiaux (4), B. Benzacken (4), P. Jonveaux (3), M. Holder-Espinasse (2), F. Mugneret (1)

(1) Département de Génétique, CHU Dijon, France ; (2) Service de Génétique Clinique, Hôpital Jeanne-de-Flandre, CHRU de Lille, France ; (3) Laboratoire de Cytogénétique, rue du Morvan, CHU Nancy, France ; (4) Service d'Histologie-Embryologie et Cytogénétique, Biologie de la Reproduction, Hôpital Jean-Verdier, AP-HP, Bondy, France  
Contact : anne-laure.mosca-boidron@chu-dijon.fr

La majorité des syndromes microdélétionnels décrits avant l'apparition des techniques de CGH-array représentent des entités cliniques bien définies, puisqu'il était nécessaire qu'une suspicion clinique soit portée pour en demander la recherche spécifique par FISH. Cependant, l'introduction des études pangénomiques par CGH-array pour étudier de larges cohortes de patients atteints de retard mental syndromique a permis, en plus de la description de nouveaux syndromes microdélétionnels, le diagnostic fortuit de syndromes cliniquement bien définis mais associés à des phénotypes atypiques. Nous décrivons 10 patients issus des Hôpitaux de Lille, Caen,

Bondy et Dijon présentant un retard mental syndromique plus ou moins sévère associé à un caryotype normal. L'étude par CGH-array (Agilent 44K, 105K ou 244K) a permis de diagnostiquer 3 cas de délétions 7q11.23, 4 cas de délétion 22q11.2, 2 délétions 17p11.2 et 1 délétion 1p36. Ces délétions étaient de taille commune sauf pour un patient présentant une délétion 17p11.2 de plus petite taille que celle habituellement décrite dans le syndrome de Smith-Magenis (2.5 Mb au lieu de 3.7 Mb) mais contenant le gène RAI1. Le diagnostic chez ces patients n'avait pu être porté en se basant sur les critères cliniques habituellement décrits dans ces syndromes. Par exemple, aucun des patients présentant une délétion 22q11.2 ou 7q11.23 n'était porteur d'une anomalie cardiaque. Plusieurs hypothèses peuvent expliquer cette variabilité phénotypique : une pénétrance incomplète, la présence d'une mutation récessive démasquée sur l'allèle restant, l'action de gènes modificateurs, l'action de facteurs environnementaux et épigénétiques ou encore l'action conjointe d'autres CNV décrits comme polymorphiques. De plus, il est à noter que 2 de ces patients ont été examinés à l'âge adulte, la dysmorphie faciale étant souvent moins reconnaissable. Cette étude montre que la variabilité phénotypique de ces syndromes a sûrement été sous-estimée. La CGH-array va permettre de mieux décrire le spectre clinique de ces microdélétions, et donc d'en améliorer le diagnostic. Parallèlement, la description récente de nouveaux remaniements chromosomiques récurrents (1q21.2, 16p13.1 et 15q13.3) associés à des phénotypes variables empêchant une classification syndromique montre l'importance, chez ces patients, d'un diagnostic davantage basé sur le génotype que sur le phénotype.

**Mots-clés :** syndromes microdélétionnels, CGH-array, variabilité phénotypique.

#### ■P155. TRANSFERT EN DIAGNOSTIC DE LA TECHNIQUE DE CGH ARRAY : PRÉSENTATION DU RÉSEAU NATIONAL DES 12 PLATES-FORMES RÉUNISSANT 44 CHU

J. Andrieux (1), B. Arveiler (2), B. Benzacken (3), C. Le Caignec (4), V. David (5), M. Doco-Fenzy (6), S. Drunat (7), S. Du Manoir (8), J.M. Dupont (9), M. Goossens (10), M. Girard (11), P. Jonveaux (12), G. Lefort (11), A. Moncla (13), S. Romana (14), J.P. Siffroi (15), L. Taine (2), M. Vekemans (14), D. Sanlaville (16)

(1) Laboratoire de Génétique Médicale, Hôpital Jeanne-de-Flandre, CHRU de Lille, France ; (2) Service de Génétique Médicale, CHU de Bordeaux, France ; (3) Service de Cytogénétique, Hôpital Jean-Verdier, Paris, France ; (4) CHU Nantes, Service de Génétique Médicale, Nantes, France ; (5) Génétique Moléculaire et Génomique, CHU Pontchaillou, Université de Rennes 1, Rennes, France ; (6) Service de Génétique, CHU-Reims, UFR médecine, EA3801, Reims, France ; (7) Département de Génétique, CHU Robert-Debré, AP-HP, Paris, France ; (8) Institut de Génétique et de Biologie Moléculaire, Illkirch France ; (9) Laboratoire de Cytogénétique, APHP Groupe Hospitalier Cochin, Saint-Vincent-de-Paul, Paris, France ; (10) Service de Génétique Moléculaire, APHP, CHU Henri Mondor, Créteil, France ; (11) Service de Génétique Chromosomique, Hôpital Arnaud-de-Villeneuve, Montpellier, France ; (12) Service de Cytogénétique, Hôpital Pellegrin, Bordeaux, France ; (13) Département de Génétique, APHM, Marseille, France ; (14) Service d'Histologie-Embryologie-Cytogénétique, APHP Hôpital Necker-Enfant Malades, Paris, France ; (15) Service de Génétique et d'Embryologie médicales, Hôpital Armand-Trousseau, Paris, France ; (16) Service de Cytogénétique Constitutionnelle, CHU de Lyon, France

Contact : damien.sanlaville@chu-lyon.fr

La technique de CGH array est une technique d'analyse globale du génome offrant un niveau de résolution bien supérieur à celui du caryotype pour la détection d'anomalies déséquilibrées. Outre son intérêt dans les pathologies acquises, de nombreuses publications soulignent son apport dans le cadre de l'exploration des retards mentaux et des syndromes malformatifs. En effet, elle permet de mettre en évidence des déséquilibres chromosomiques non détectés sur le caryotype chez ces patients dans 10 à 15 % des cas. Soutenus par la Direction de l'Hospitalisation et de l'Organisation des Soins (DHOS), cette technique a pu être implantée dans les laboratoires de diagnostic dès 2007. Douze centres coordonnateurs, en relation avec 44 CHU ont été retenus permettant de couvrir l'ensemble du territoire national. En 2008 environ 4 000 CGH array ont été réalisées dans un cadre diagnostique. Pour répondre à des problématiques communes, les centres ont créé un réseau national ayant pour principal objectif d'apporter des réponses collégiales aux difficultés rencontrées dans le cadre du transfert en diagnostic de la CGH array (problèmes techniques, d'analyse bio-informatique, d'interprétation...). Ainsi, plusieurs groupes de travail ont été créés dont les groupes contrôle de qualité, vérifications, bio-informatique. En raison de la résolution des problèmes techniques et du bénéfice apporté par cette technique, l'utilisation de la CGH array en période prénatale a



été soulevée. Un groupe de travail vient d'être créé afin d'apporter des réponses aux problèmes spécifiques liés à son application en période prénatale et évaluer son bénéfice. Par ailleurs, ce réseau offre la possibilité de réaliser des études collaboratives, en lien avec les généticiens cliniciens, permettant de valoriser les résultats obtenus dans les laboratoires soutenus par la DHOS. Un site web est en cours de création. Il devrait permettre une meilleure lisibilité du réseau et favoriser les échanges d'informations entre ses membres. Nous présenterons la couverture nationale du réseau et détaillerons les différents projets qui sont menés.

**Mots-clés :** CGH array, réseau, DHOS.

**■P156. PLUS DE 14 % DE DÉSÉQUILIBRES GÉNOMIQUES PATHOGÈNES DÉTECTÉS PAR CGH ARRAY CHEZ 50 PATIENTS PRÉSENTANT DES MALFORMATIONS CONGÉNITALES OCULAIRES SYNDROMIQUES**

A. Delahaye (1, 2, 3), E. Pipiras (1, 2), N. Chassaing (4), M. Gérard-Blanluet (5), A. Toutain (6), L. Faivre (7), C. Francannet (8), L. Van Maldergem (9), C. Baumann (5), A. Verloes (2, 5), A. Aboura (2, 5), S. Drunat (5), C. Dupont (1, 5), M.L. Maurin (?), A.C. Tabet (2, 5), P. Gressens (2), J. Elion (3, 5), B. Benzacken (1, 2, 5), P. Bitoun (10)

(1) *Laboratoire d'Histologie-Embryologie-Cytogénétique-BDR-CECOS, Hôpital Jean-Verdier, AP-HP, Université Paris-XIII, UFR SMBH, Bondy, France* ; (2) *UMR 676 Inserm, Universités Paris VII et Paris XIII, France* ; (3) *UMR 763 Inserm, Université Paris-VII, France* ; (4) *Service de Génétique Médicale, Hôpital Purpan, University Hospital of Toulouse, Toulouse, France* ; (5) *Département de Génétique, Hôpital Robert Debré, AP-HP, Université Paris-VII, Paris, France* ; (6) *Département de Génétique, Hôpital Bretonneau, Centre Hospitalier et Universitaire de Tours, Tours, France* ; (7) *Centre de Génétique, Centre Hospitalier et Universitaire de Dijon, Dijon, France* ; (8) *Service de Génétique Médicale, Centre Hospitalier et Universitaire de Clermont-Ferrand, Université Clermont 1, UFR Médecine, Clermont-Ferrand, France* ; (9) *Département de Génétique, Hôpital Henri Mondor, AP-HP, Université Paris-XIII, Créteil, France* ; (10) *Génétique médicale, Hôpital Jean-Verdier, AP-HP, Bondy, France*

Contact : andree.delahaye@jvr.aphp.fr

Les déséquilibres génomiques sont une cause importante de malformations congénitales et de retard mental. La diffusion des techniques de CGH-array pangénomique en diagnostic a considérablement accru le nombre de déséquilibres génomiques connus. Par ailleurs, les maladies héréditaires de l'œil sont une cause fréquente de cécité chez l'enfant. La fréquence des déséquilibres génomiques à l'origine d'anomalies oculaires congénitales est inconnue. Cependant, de nombreuses délétions et duplications chromosomiques associées à des malformations de l'œil ont déjà été décrites, parfois impliquant des gènes majeurs du développement oculaires tels que PAX6, PITX2, FOXC1 ou SOX2. C'est pourquoi, nous avons posé l'hypothèse que la sensibilité de la CGH array pourrait améliorer le taux de diagnostic génétique chez des patients présentant des malformations oculaires associées à un retard mental et/ou à d'autres malformations congénitales. Cinquante patients présentant des malformations oculaires inexplicables et au moins une autre malformation congénitale ou un retard mental ont été étudiés en CGH array avec des puces oligonucléotides Agilent 105K. Les CNV rapportés dans la base de données DGV (<http://projects.tcag.ca/variation/>) ont été exclus. Des déséquilibres potentiellement pathogènes ont été confirmés chez 22 patients. L'étude de la ségrégation familiale et l'analyse bibliographique des gènes impliqués dans ces déséquilibres nous ont permis de conclure à des CNV pathogènes pour 7 patients (14 %). Pour 12 patients, le CNV était hérité d'un parent asymptomatique (8 délétions et 4 duplications), laissant supposer que ces CNV n'étaient pas impliqués dans le phénotype de ces patients. La signification clinique des autres CNV confirmés reste incertaine. Aucune anomalie récurrente n'a été observée. Ces résultats démontrent que la CGH array permet de fournir un bon taux diagnostique chez les patients présentant des malformations congénitales oculaires associées. De façon intéressante, seuls 3 des 7 CNV pathogènes mis en évidence dans cette étude impliquent des gènes déjà connus dans le développement oculaire (FOXC1 et OTX2). Au delà de leur importance pour le diagnostic et pour le conseil génétique, ces résultats ouvrent des perspectives pour l'identification de gènes impliqués dans le développement de l'œil.

**Mots-clés :** CGH array, malformation oculaire, développement de l'œil.

**■P157. DIAGNOSTIC DES RÉARRANGEMENTS CHROMOSOMIQUES ET DISOMIES UNIPARENTALES SUR PUCES SNP CHEZ DES PATIENTS ATTEINTS DE RETARD MENTAL**

B. Keren (1, 2), S. Chantot-Bastarud (3), C. Depienne (1, 2), A. Jacquette (1), P. Leite (1), E. Fonteneau (1), L. Burglen (3), S. Marlin (3), S. Whalen

*M/S hors série n° 1, vol. 26, janvier 2010*

(1), C. Nava (2), A. Afenjar (1, 3), S. Rossignol (4), N. Calmels (5), I. Net-chine (4), D. Bouteiller (2), W. Carpentier (6), F. Soubrier (1, 6), J.P. Sif-froi (3), D. Heron (1), A. Brice (1, 2)

(1) *Département de Génétique et Cytogénétique, CGMC, GH Pitié-Salpêtrière, AP-HP, France* ; (2) *CRICM, Inserm UMR S975, upmc, GH Pitié-Salpêtrière, France* ; (3) *Service de Génétique et Embryologie Médicales, Hôpital Armand-Trousseau, APHP, France* ; (4) *Laboratoire d'Explorations Fonctionnelles Endocriniennes, Hôpital Armand-Trousseau, AP-HP, France* ; (5) *Laboratoire de Diagnostic Génétique, CHRU Strasbourg, France* ; (6) *Plateforme P3S, Inserm, upmc, GH Pitié-Salpêtrière, France*

Contact : boris.keren@psl.aphp.fr

Depuis quelques années, grâce au développement rapide des technologies de puces pangénomiques, la limite de résolution de 5Mb qui était imposée par la cytogénétique conventionnelle dans la détection des anomalies constitutionnelles non ciblées, a pu être significativement abaissée. Si actuellement la CGH array est la technique la plus utilisée, désormais la technologie SNP se développe rapidement, elle aussi, dans cette application. Nous présentons le bilan de l'utilisation des puces SNP dans le centre mutualisé de Cytogénétique Constitutionnelle du GHU Paris-Est. La technique a été réalisée sur des puces Illumina HumanCNV370-Duo et HumanCNV370-Quad qui comportent environ 370 000 oligos dont 320 000 SNP. Après une première phase de validation interne de la technologie sur des anomalies connues, 222 patients non apparentés, atteints de retard mental, à caryotype et analyse des régions sub-télomériques normaux, ont été testés en diagnostic. L'analyse des puces a retrouvé 2 222 CNV (copy number variations) dont 98 ont été retenus comme potentiellement pathogènes (47 pertes et 51 gains), du fait qu'ils touchaient des séquences codantes et n'avaient pas été précédemment décrits chez des populations contrôles (base de données Database of Genomic Variants). Après contrôle des anomalies chez les parents, un caractère causal a été retenu pour 23 CNV dont 19 pertes (de 70 kb à 12,3 Mb) et 4 gains (de 492 kb à 13,1 Mb). Une transmission de l'anomalie par un des parents sains a été retrouvée pour 42 CNV dont 17 pertes (de 41 kb à 1,2 Mb) et 25 gains (de 27 kb à 2,2 Mb). Pour ces derniers, le caractère causal n'a pas été confirmé. Enfin 33 CNV sont encore en cours de validation. Par ailleurs, l'étude des génotypes des SNP et la recherche de LOH (loss of heterozygosity) a permis de retrouver 3 isodisomies uniparentales parmi les 222 patients testés : 2 ont été considérées comme causales (disomie maternelle du 15, disomie paternelle du 16), mais une semble sans rapport avec le phénotype (syndrome de Wiedemann-Beckwith chez une patiente présentant une encéphalopathie sévère).

**Mots-clés :** puces SNP, anomalies chromosomiques, disomies uniparentales.

**■P158. REPORT OF OUR EXPERIENCE, AT THE MEDICAL UNIVERSITY OF SFAX; DEPARTMENT OF HISTOLOGY, OF SETTING UP SPECIFIC GENETIC TESTING STRATEGIES FOR INFANTS WITH CHD ADMITTED TO THE UNIVERSITY HOSPITAL OF SFAX; DEPARTMENT OF CARDIOLOGY**

N.B. Abdelmoula (1), I. Trabelsi (2), R. Louati (1), S. Kammoun (2), T. Rebai (1)

(1) *Laboratoire d'Histologie, Faculté de Médecine de Sfax, Tunisie* ; (2) *Service de Cardiologie, EPS Hedi Chaker Sfax, Tunisie*

Contact : nouha\_abdelmoulabouayed

Congenital heart defects commonly occur in malformation syndromes and genetic disorders. Three approaches, involving classical cytogenetic techniques, fluorescence *in situ* hybridization (FISH), and DNA mutation analysis have been used to identify the genetic basis of CHD on 100 affected patients. Clinical screening assessment of CHD was made by the pediatric cardiologist who permits an accurate diagnosis of the type of CHD. Accurate medical history of family members, extended pedigree and specific assessment of dysmorphic features were performed by the geneticist. All patients were then subjected to classical cytogenetic analysis. FISH analysis of 22q11 region was conducted for all conotruncal CHD whereas 7q11.23 microdeletion screening, also by FISH, was done for all subjects with supravalvular aortic stenosis. Patients with pulmonary stenosis or suspected to have Noonan's syndrome are tested for PTPN11 mutations by sequencing. Genomic DNA samples were collected from all patients. First results of our genetic strategy of CHD will be presented and compared to literature findings. We conclude that through multidisciplinary care and research, the goal to prevent and improve clinical outcomes in CHD will guide future investigations.

**Mots-clés :** congenital heart disease, cytogenetics, molecular genetics.



### ■P159. DIFFICULTÉS D'INTERPRÉTATION DES ANOMALIES DU CHROMOSOME X DÉTECTÉES PAR CGH ARRAY

A. Labalme (1), J. Andrieux (2), G. Lesca (1), C. Vincent-Delorme (3), O. Boute (3), M. Holder (3), J.M. Cuisset (4), B. Delobel (5), M. Mathieu (6), G. Plessis (7), M.P. Cordier (8), M. Rossi (1), R. Touraine (9), M. Till (1), H. Copin (10), P. Roy (11), P. Edery (1, 12), D. Sanlaville (1, 12)  
(1) Service de Cytogénétique Constitutionnelle, CHU de Lyon, France ; (2) Laboratoire de génétique médicale, Hôpital Jeanne-de-Flandre, CHRU de Lille, France ; (3) Service de génétique clinique, Hôpital Jeanne-de-Flandre, CHRU de Lille, France ; (4) Service de Neuropédiatrie, Hôpital Salengro, CHRU de Lille, France ; (5) Centre de Génétique Chromosomique, Hôpital St-Vincent-de-Paul, GHICL, France ; (6) Service de Pédiatrie-Génétique, Hôpital Nord, CHU d'Amiens, France ; (7) Service de Génétique, Hôpital CHU Clemenceau, Caen, France ; (8) Service de Génétique, CHU de Lyon, France ; (9) Service de génétique, CHU de Saint-Étienne, France ; (10) Laboratoire de Cytogénétique, Hôpital Nord, CHU d'Amiens, France ; (11) Service de Biostatistique, CHU de Lyon, France ; (12) EA 4171, Université Claude-Bernard, Lyon 1, France  
Contact : audrey.labalme@chu-lyon.fr

La CGH array permet de mettre en évidence des anomalies de petites tailles (quelques kilobases), d'interprétation délicate et ce d'autant plus que le déséquilibre est localisé sur le chromosome X. Nous avons colligé entre le CHU de Lille et celui de Lyon 42 cas de remaniements détectés sur le chromosome X par CGH array. La moitié (21 sur 42) correspondent à des duplications mises en évidence chez un garçon. Leur taille varie de 95 kb à 6 Mb. Pour la moitié (12 cas sur 21) ces duplications sont héritées. Le lien de causalité entre ces duplications sur chromosome X et l'affection du patient est parfois difficile à établir. Nous rapportons deux familles pour lesquelles nous présentons notre stratégie d'étude. Dans la première famille, une duplication Xq21.33, héritée, de 484,2 kb a été mise en évidence chez un patient présentant une tétralogie de Fallot. Une étude familiale chez quatre autres membres de la famille a pu montrer qu'un oncle maternel était porteur de la duplication sans manifestation clinique. Cette duplication est donc très probablement polymorphique. Pour le patient de la deuxième famille présentant une microcéphalie, un retard mental, des malformations cérébrales, cardiaques et rénales ainsi qu'un retard de croissance et dont la maman est en début de deuxième grossesse, nous avons mis en évidence une duplication Xq13.1, héritée, de 596,6 kb. Cinq membres supplémentaires de la famille ont été testés. La duplication a été transmise par la grand-mère maternelle mais n'a pas été retrouvée chez les trois oncles maternels « sains ». Au terme de toutes ces investigations aucune conclusion ne peut être tirée quant au possible rôle pathogène de cette duplication. De ces études de cas, nous concluons qu'une étude familiale complète s'impose lors de la mise en évidence d'une duplication héritée du chromosome X chez un garçon afin de se donner le maximum de chances de conclure sur la caractère pathogène ou non de l'anomalie. En pratique, nous proposons une stratégie d'analyse basée sur les critères proposés par Bauters *et al.* 2008 : 1 – Étudier le caractère hérité ou *de novo* de la duplication. 2 – Rechercher au sein du remaniement la présence d'un gène impliqué en pathologie. 3 – Rechercher si le remaniement a déjà été rapporté dans DGV. 4 – Élargir l'étude familiale en recherchant une ségrégation entre le CNV et la pathologie. 5 – L'intérêt de l'étude du profil d'inactivation du chromosome X sera discuté. En conclusion, les duplications de l'X chez les garçons sont plus fréquentes que les délétions qui, en général, ne sont pas viables ou alors sont de petite taille. Ces aberrations, très souvent héritées, posent donc un certain nombre de questions et de contraintes. Une étude familiale complète s'impose en général impliquant l'accès aux prélèvements d'autres membres de la famille, un coût supplémentaire des techniques et un délai de réponse augmenté.

**Mots-clés :** Chromosome X, CGH array, duplications.

### ■P160. HÉTÉROGÉNÉITÉ CHROMOSOMIQUE ET CLINIQUE DU SYNDROME DE TURNER : PRÉSENTATION DE CAS

A. Dobrescu (1), C. Lichiardopol (2), F. Burada (1), S.T. Tudorache (3), L. Sirbu (4), Z.I. Hertzog (1)  
(1) UMF Craiova, Département de Génétique Médicale, Craiova, Roumanie ; (2) UMF Craiova, Département d'endocrinologie, Craiova, Roumanie ; (3) UMF Craiova, Département de Gynécologie, Craiova, Roumanie ; (4) Hôpital de Psychiatrie, Craiova, Roumanie  
Contact : amelia\_dobrescu@yahoo.com

Le syndrome Turner est une maladie génétique qui touche 1 femme sur 2 500 et qui est due à la perte totale ou partielle du chromosome X chez le fœtus du sexe féminin, survenue accidentellement. Dans la plus part des cas, la perte d'un chromosome X est totale (45,X) mais par la suite d'autres anomalies ont été décrites (délétion, isochromosome, chromosome dicentrique, mosaïques de l'X et de l'Y). La double aneuploïdie 45,X/46,X+21

est une aberration chromosomique très rare (1 : 2 millions de naissances). La grande diversité clinique pourrait être expliquée par cette hétérogénéité chromosomique. Parmi les signes cliniques, le pli palmaire transverse unique, est un signe sans spécificité mais souvent rencontré dans cette maladie, associé ou non avec une trisomie 21 et qui peut créer des erreurs diagnostiques. Patients et méthode : Notre travail a eu comme but le diagnostic d'une jeune fille, âgée de 24 ans, hospitalisée dans le service d'endocrinologie à cause d'une amenorrhée primaire diagnostiquée à l'âge de 18 ans. L'examen clinique a mis en évidence, à part la symptomatologie classique : taille moyenne, palais ogival, oreilles implantées bas, difficultés de mémorisation et d'attention, des signes qu'on ne retrouve pas d'habitude dans le syndrome Turner : visage rond, front allongé, yeux antimongoloïdes, pli palmaire transverse unique bilatérale. Le pterigium colli n'est pas présent. Pour l'analyse cytogénétique de ce cas on a utilisé la culture des lymphocytes (le sang total, recueilli stérilement sur héparine, incubé 72 heures dans le milieu de culture RPMI 1640, supplémenté de 15 % sérum de veau et contenant 0,2 ml PHA pour 10 ml milieu de culture) et la technique standard pour la préparation des chromosomes (après l'incubation, la culture a été arrêtée avec de la colchicine et le sédiment a été hipotonisé et fixé avec le fixateur obtenu par le mélange méthanol :acide acétique) ; on a analysé 50 métaphases bandées G, obtenues après traitement des chromosomes par la trypsine. Résultats : L'analyse cytogénétique a révélé des cellules normales 46,XX (75 %), à côté de cellules aneuploïdes 45, X (20 %) et 46, X+21 (5 %). On a identifié aussi des cellules trinucleées (5 %) et poliploïdes (5 %). L'analyse des dermatoglyphes a révélé la présence de la pli palmaire transverse unique bilatérale, la manque du triradius « c » palmaire droite, l'angle atd de 80C – main droite et de 44C – main gauche et une fréquence élevée des arches au niveau des phalanges distales. Conclusions : La symptomatologie peu spécifique pour le syndrome Turner est la conséquence de la double aneuploïdie 45,X/46,X+21 et de la fréquence réduite des cellules monosomiques. La présence des cellules trinucleées et poliploïdes suggère aussi un défaut de ségrégation et une déficience de la construction du fuseau mitotique.

**Mots-clés :** syndrome Turner, pli palmaire transverse unique, cellules trinucleées et poliploïdes.

### ■P161. ÉTUDE D'UNE ANOMALIE DE STRUCTURE D'UN CHROMOSOME X ASSOCIÉE À UN SYNDROME POLY-MALFORMATIF

S. Jaillard (1, 2), P. Loget (3), J. Lucas (1), C. Dubourg (2, 4), G. Le Bouar (5), V. David (2, 4), S. Odent (2, 6), M.A. Belaud-Rotureau (1, 2)  
(1) Cytogénétique, CHU Rennes, France ; (2) UMR 6061 CNRS, Faculté de Médecine, Université de Rennes 1, France ; (3) Anatomie et Cytologie Pathologiques, CHU Rennes, France ; (4) Génétique Moléculaire, CHU Rennes, France ; (5) Gynécologie-Obstétrique, CHU Rennes, France ; (6) Génétique Clinique, CHU Rennes, France  
Contact : sylvie.jaillard@chu-rennes.fr

Nous rapportons le cas d'un syndrome polymalformatif visualisé à l'échographie morphologique du deuxième trimestre associant une hernie diaphragmatique gauche, un retard de croissance intra-utérin, une hypoplasie du cœur gauche et une agénésie partielle du corps calleux. Le caryotype prénatal en bandes RHG (liquide amniotique) a montré un fœtus de sexe féminin avec une anomalie de structure au niveau d'un chromosome X : trisomie Xpter-Xp22 et monosomie Xq21-Xqter. Cette anomalie est la conséquence d'une aneusomie de recombinaison d'une inversion péricentrique maternelle inv(X)(p22q21). Elle correspond donc à un recombinant déséquilibré de l'inversion péricentrique maternelle. La naissance a eu lieu à 39 semaines d'aménorrhée et a été suivie d'un décès rapide de l'enfant. La vérification autopsique a confirmé la hernie diaphragmatique gauche et a montré une dysmorphie faciale, une cardiopathie complexe, des anomalies spléniques et ovariennes. Des techniques de cytogénétique et de biologie moléculaires ont été réalisées pour préciser le profil d'inactivation des chromosomes X (XIST présent sur le recombinant X) et/ou d'éventuels microremaniements additionnels. Il existe chez l'enfant un biais total d'inactivation de l'X et la CGH-array met en évidence une délétion terminale 15q26.2-15qter d'environ 7 Mb. Ces résultats suggèrent l'inactivation du chromosome X anormal chez l'enfant (absence de disomie X fonctionnelle) et l'implication de la délétion 15qter dans la survenue du phénotype.

**Mots-clés :** chromosome X, hernie diaphragmatique, délétion 15qter.

### ■P162. DESCRIPTION D'UN REMANIEMENT DU CHROMOSOME X SURPRENANT ET UNIQUE CHEZ UNE PETITE FILLE HANDICAPÉE

S. Laibe (1), C. Missirian (1), C. Popovici (1), J. Martinez (1), R. Bernard (2), J. Ambert (1), A. Moncla (1)

(1) Laboratoire de Génétique Chromosomique, Département de Génétique Médicale, CHU Timone enfants, Marseille, France ; (2) Laboratoire de Biologie Moléculaire, Département de Génétique Médicale, CHU Timone enfants, Marseille, France  
Contact : anne.moncla@ap-hm.fr

Les remaniements de structure déséquilibrés du chromosome X sont généralement responsables d'un phénotype sévère chez le garçon, et modéré voire asymptomatique chez les filles. L'inactivation préférentielle du dérivé X chez la femme rend compte de cette différence d'expression phénotypique. Nous rapportons l'observation d'une patiente présentant à la naissance une hypotonie axiale, une dysmorphie faciale, une camptodactylie aux mains. Elle évolue avec un retard mental sévère avec une absence de développement du langage, une microcéphalie postnatale (-2DS), l'apparition d'une épilepsie. L'imagerie cérébrale visualise une hypotrophie du corps calleux associée à une hypoplasie cérébelleuse. Un caryotype sanguin met en évidence un remaniement chromosomique complexe d'un chromosome X, survenu *de novo*. L'étude du profil d'inactivation du chromosome X, en cytogénétique avec incorporation de BRDU dans la culture cellulaire et en biologie moléculaire par étude de la méthylation au locus AR montre un biais d'inactivation de 95 % au profit du chromosome X anormal. Une analyse sur puces oligonucléotides (technologie Agilent, 44k et 244k) en hybridation génomique comparative permet d'identifier les régions génomiques en déséquilibre du chromosome X anormal mais ne précise pas leur localisation physique. Ainsi sont identifiées : une duplication de la bande Xpter-Xp22.32 (> 5,1 mégabases), une délétion Xp22.12 de 180 kilobases, une triplication interstitielle Xq21.1-Xq22.23 (25,2 mégabases), une délétion Xq22.2-Xqter (48,2 mégabases). Pour localiser ces régions en déséquilibre, des analyses complémentaires en hybridation *in situ* (peinture chromosomique spécifique de chacun des bras chromosomiques et loci spécifiques avec des clones de type BACs des régions d'intérêt) sont réalisées. La synthèse des résultats montre que le bras court du der(X) est constitué d'une délétion Xp22.12, avec en Xp22.33 l'insertion d'un segment chromosomique du bras long de la bande Xq21.1 à Xq22.23 et contenant le gène PLP1 ; le bras long du der(X) est partiellement délété de la région Xq22.2-Xqter avec la présence de la région pseudo autosomale Xp22-Xpter. Plusieurs hypothèses sont formulées pour rendre compte du phénotype anormal de notre patiente : l'absence d'inactivation des régions en déséquilibre en raison de leur localisation en cis sur le chromosome, un échappement de l'inactivation des gènes localisés au niveau des points de cassure, mécanisme décrit par Vokac et al (clin genet, 2002) responsable d'une disomie pour certains gènes localisés sur le chromosome X, la localisation aberrante du gène PLP1 tripliqué à proximité de la région pseudo autosomale. À notre connaissance, aucun remaniement chromosomique déséquilibré aussi complexe du chromosome X n'a été rapporté dans la littérature.

**Mots-clés :** CGH microarrays, remaniement chromosomique complexe.

#### ■P163. MOSAÏCISME SOMATIQUE ET GERMINAL CHEZ UNE FEMME PORTEUSE D'UNE GRANDE DÉLÉTION AU LOCUS XP21 LOCUS ET VECTRICE DE GRANULOMATOSE SEPTIQUE CHRONIQUE ET DU SYNDROME DE MC LEOD

C. Kannengiesser (1, 2), N. Mahlaoui (3), D. Henry (1), E. Al Ageeli (1), S. Quentin (4), D. Moshous (3), M.C. de Blois (5), A. Auvrignon (6), F. Monceaux (7), S. Perdereaux (7), S. Briault (8), M. Gougerot-Pocidallo (2, 9), B. Grandchamp (1, 2)  
(1) AP-HP, Hôpital Bichat, service de Biochimie hormonale et Génétique et Université Paris-Diderot, France ; (2) INSERM U773, Faculté Bichat, Paris, France ; (3) AP-HP, Hôpital Necker, service d'Immunologie et hématologie pédiatriques, Paris, France ; (4) AP-HP, Plate forme génomique Hôpital Saint-Louis et Université, Paris-Diderot, France ; (5) AP-HP, Hôpital Necker, département de Génétique, Paris, France ; (6) AP-HP, Hôpital Trousseau, service d'Hématologie-Oncologie pédiatrique, Paris, France ; (7) CHR Orléans, Pédiatrie, Orléans, France ; (8) CHR Orléans, cytogénétique, Orléans, France ; (9) AP-HP, Hôpital Bichat, Service d'Hématologie-immunologie et Université Paris Diderot, France  
Contact : bernard.grandchamp@inserm.fr

La granulomatose septique chronique est un déficit immunitaire résultant de mutations de l'un des 4 gènes CYBB, CYBA, NCF1 et NCF2 (Online Mendelian Inheritance in man MIM#s 233690, 306400, 233700, 233710) codant respectivement pour les sous-unités de la NADPH oxydase (gp91phox, p22phox, p47phox et p67phox), complexe enzymatique qui participe au système de défense immunitaire non spécifique assurée par les cellules phagocytaires. Le défaut de NADPH oxydase chez les patients entraîne des infections bactériennes ou fongiques graves répétées. Dans de rares cas la granulomatose septique, dans sa forme liée à l'X, est due à de grandes délétions du gène CYBB et est associée à d'autres anomalies telles

que le syndrome de McLeod lorsque le locus locus XK localisé aussi en Xp21 est compris dans la délétion. Nous avons suspecté un syndrome de gènes contigus chez un jeune garçon présentant à l'âge de 3 mois une lymphadénite granulomateuse. Le test au NBT (Nitroblue tetrazolium test) permit d'établir le diagnostic de granulomatose septique chronique (Chronic Granulomatous Disease) et le patient avait aussi une acanthocytose suggérant un syndrome de McLeod. Le phénotype et l'absence d'amplification de l'ADN du cas index avec les amorces du gène CYBB suggérait l'existence d'une délétion emportant au moins le locus XK et le gène CYBB. Nous avons mis en évidence cette délétion de 1.6 Mb emportant CYBB par CGH array en utilisant des puces Agilent « à façon » et nous avons caractérisé précisément les points de cassure par séquençage d'un amplicon obtenu à l'aide d'amorces s'hybridant de part et d'autre de la délétion. L'étude de l'ADN extrait du sang de la mère par PCR quantitative au locus CYBB suggérait l'existence d'un mosaïcisme somatique pour la délétion (en moyenne 1,7 copie du gène par cellule), hypothèse que nous avons confirmée par la mise en évidence d'un fragment PCR spécifique du chromosome X délété. La demi-sœur du cas index était vectrice, hétérozygote pour la délétion. L'analyse de la ségrégation de marqueurs microsatellites dans cette famille (cas index, mère, demi-sœur et 3 demi-frères sains) a révélé que le même chromosome X avait été transmis par la mère sans délétion à deux fils non atteints et la fille vectrice, montrant ainsi l'existence d'un mosaïcisme germinale. Dans de nombreuses maladies liées à l'X ou autosomiques dominantes, des mutations *de novo* s'accompagnent plus ou moins fréquemment d'un mosaïcisme soit somatique soit germinale. L'étude présentée ici a permis de documenter l'un des rares cas où un mosaïcisme existe à la fois dans les cellules somatiques et les cellules germinales et donc de dater l'apparition de la mutation à un stade précoce de l'embryogénèse qui précède la séparation des lignées somatiques et germinales.

**Mots-clés :** mosaïcisme, granulomatose, délétion.

#### ■P164. REVERSION SEXUELLE PAR DISOMIE FONCTIONNELLE XP PAR TRANSLOCATION DÉSÉQUILIBRÉE X/AUTOSOME

J. Ghomid (1), B. Duban-Bedu (1), L. Egretteau (2), M. Ouali (2), S. Joriot (3), B. Delobel (1)  
(1) Service de Génétique Chromosomique, Hôpital Saint-Vincent-de-Paul, GHICL, Lille, France ; (2) Service de Médecine Néonatale, CH Calais, France ; (3) Service de Neuropédiatrie, Hôpital Roger-Salengro, CHRU, Lille, France  
Contact : j.ghomid@netcourrier.com

Après sa découverte, le gène SRY semblait jouer un rôle prépondérant dans la différenciation sexuelle. Cependant, l'étude des anomalies de ce processus a permis de montrer l'implication d'autres gènes dont DAX1, localisé en Xp21.2. En effet, il a été décrit des réversions sexuelles en cas de disomie fonctionnelle de ce gène, chez des individus 46,XY. DAX1 (NR0B1), est un récepteur nucléaire qui inhibe indirectement l'action de SF1, lui-même activateur de la synthèse des stéroïdes et de l'hormone anti-müllérienne (Swain *et al.*, 1998). SF1 est activé par une cascade moléculaire initiée par SRY et inhibé de façon dose dépendante par DAX1. Ainsi une surexpression de DAX1 entrave la différenciation testiculaire et la masculinisation d'un fœtus initialement programmé pour devenir un garçon. Les anomalies chromosomiques engendrant une réversion sexuelle par disomie fonctionnelle du bras court de l'X sont rares. Quatorze cas ont été décrits à ce jour. Parmi eux, six présentent une duplication Xp intercalaire, quatre une translocation déséquilibrée X/autosome et quatre une translocation déséquilibrée X/Y (Sanlaville *et al.* 2004). Le bras court de l'X ne contenant pas le centre d'inactivation (XIST en Xq13), ces anomalies chromosomiques conduisent à une disomie fonctionnelle pour l'ensemble des gènes localisés en Xp et donc entraînent une expression en double dose de DAX1. Par ailleurs en fonction de leur taille les anomalies de dosage génique des autres loci entraînent des anomalies de développement variables. Nous rapportons le cas d'une petite fille vue en période néonatale présentant une réversion sexuelle complète et une dysmorphie. Cette patiente est le troisième enfant d'un couple non consanguin ; les antécédents familiaux sont sans particularité. La grossesse a été marquée par un retard de croissance intra-utérin harmonieux, l'accouchement s'est fait par césarienne systématique à 38 SA. Le poids de naissance est à -2 DS, la taille de naissance à -2,5 DS et le périmètre crânien à -1 DS. Elle présente une dysmorphie faciale marquée avec une malposition anale sans ambiguïté sexuelle. Sur le plan neurologique, l'enfant est hypotonique avec une ETF et une IRM cérébrale normales tout comme le reste du bilan malformatif. L'analyse cytogénétique a retrouvé une duplication Xp par translocation X/autosome *de novo* 46,XY,der(14)t(X;14)(p11.23;q10)dn. L'analyse par FISH a permis de préciser les points de cassures et la présence en deux copies du gène DAX1 et du gène SRY en une copie. Les

autres gènes du bras court de l'X qui induisent les anomalies du développement par effet dose dépendant restent encore mal connus, pourtant ce sont eux qui font le pronostic. Certains candidats ont été identifiés (Hunter *et al.*, 2009) mais ils sont impliqués dans des syndromes liés à l'X en cas de mutation délétère et non de disomie fonctionnelle. Les mécanismes qui sous-tendraient leur implication dans ces phénotypes restent cependant mystérieux.

**Mots-clés :** disomie fonctionnelle Xp, reversion sexuelle, anomalie du développement.

**■P165. DUPLICATION XQ12Q13.1 COMPORTANT LE GÈNE EFNBI, CHEZ UN PATIENT PRÉSENTANT UNE HERNIE DIAPHRAGMATIQUE**

F. Petit (1), J. Andireux (2), S. Bouquillon (2), L. Storme (3), T. Pennafort (3), S. Manouvrier-Hanu (1)

(1) Service de Génétique Clinique, Hôpital Jeanne-de-Flandre, CHRU de Lille, France ; (2) Département de Cytogénétique, Hôpital Jeanne-de-Flandre, CHRU de Lille, France ; (3) Service de Néonatalogie – Soins intensifs, Hôpital Jeanne-de-Flandre, CHRU de Lille, France

Contact : [florence.petit@chru-lille.fr](mailto:florence.petit@chru-lille.fr)

La hernie diaphragmatique congénitale est une embryopathie qui se définit par l'absence de développement de tout ou partie d'une coupole diaphragmatique. En Europe, la prévalence moyenne enregistrée est de 1 sur 4 000 naissances. Des malformations associées surviennent dans 20 % des cas, les hernies diaphragmatiques pouvant s'intégrer dans près d'une centaine de syndromes. Parmi ceux-ci, le syndrome cranio-frontonasal (CFNS, OMIM#304110) de transmission dominante liée à des mutations du gène EFNBI en Xq12, est à l'origine d'une dysmorphie faciale caractéristique chez les femmes, associée à des anomalies unguéales. Chez les hommes, le phénotype est habituellement plus discret (hypertélorisme isolé le plus souvent). Une description récente fait état de deux garçons non apparentés, présentant un phénotype plus sévère associé à une hernie diaphragmatique (Vasudevan *et al.*, 2006). Nous rapportons l'observation d'un garçon présentant une hernie diaphragmatique droite de découverte anténatale. Le caryotype standard et la recherche de tétrasomie 12p sur ponction de liquide amniotique étaient normaux. À la naissance, l'enfant présentait également une camptodactylie unilatérale ainsi qu'un mamelon droit mal-implanté. Il n'y avait pas de dysmorphie cranio-faciale. Une analyse pangénomique en CGH-array 44K était réalisée, mettant en évidence une duplication Xq12q13.1 de taille comprise entre 1 et 1,3 Mb. Cette duplication survenue *de novo* concernait 5 gènes, dont EFNBI et OPHN1. À notre connaissance, aucune duplication de EFNBI n'a été décrite jusqu'à présent. Notre observation semble donc confirmer l'implication d'EFNBI dans l'embryogenèse du diaphragme. Parmi les autres gènes concernés par la duplication, la présence d'OPHN1 impliqué dans des formes syndromiques de retard mental récessif lié à l'X pose question (OMIM#300127). La duplication de ce gène n'a fait l'objet que d'une seule publication à notre connaissance (Bedeschi *et al.*, 2008), chez un patient présentant un retard mental. Dans notre cas, le recul est actuellement encore insuffisant pour déterminer si cette association est confirmée.

**Mots-clés :** hernie diaphragmatique, EFNBI.

**■P166. MISE EN ÉVIDENCE PAR CGH SUR MICROPUCE D'UNE DUPLICATION XQ25 CHEZ UNE PATIENTE PORTEUSE D'UNE TRANSLOCATION ENTRE UN CHROMOSOME X ET UN CHROMOSOME 13**

S. Rombout, B. Grisart, C. Verellen-Dumoulin, A. Destrée  
Centre de Génétique Humaine, Institut de Pathologie et de Génétique, Charleroi (Gosselies), Belgique  
Contact : [sonia.rombouts@ipg.be](mailto:sonia.rombouts@ipg.be)

L'introduction de la technique de CGH sur micropuce comme analyse complémentaire au caryotype standard permet l'identification d'anomalies chromosomiques déséquilibrées jusque là décrites comme apparemment balancées. Nous décrivons la mise en évidence d'une microduplication concernant le chromosome X dans la région q25 chez une patiente porteuse d'une translocation entre les bras longs d'un chromosome X et ceux d'un chromosome 13. Cette patiente est suivie dans le cadre d'un retard psychomoteur, d'une déficience intellectuelle et d'une dysmorphie faciale mineure (synophris, front étroit, cheveux bas implantés, palais ogival). Elle présente également un mamelon surnuméraire et 4 taches « café au lait » sur le corps. L'analyse cytogénétique standard réalisée il y a plusieurs années avait montré le caryotype suivant : 46,XX,t(X;13)(q2;q22),inv(9)(p12q13). Récemment, une analyse par CGH sur micropuce a permis de découvrir une duplication de 830 kb de la région Xq25 concernant 5 gènes (en totalité ou

partiellement). Il a été possible de démontrer par FISH que la région dupliquée se trouve sur le chromosome 13 impliqué dans la translocation observée au caryotype. Quelques cas de duplications plus grandes chez des sujets féminins sont décrits dans la littérature et la symptomatologie qui est associée comprend un retard de croissance intra-utérin, une petite taille, une microcéphalie, un retard de développement psychomoteur et intellectuel, une hypotonie mais également parfois des difficultés alimentaires en période néonatale, une dysgénésie gonadique, une asymétrie du corps, un ptosis. Dans notre cas, le phénotype présenté par notre patiente est probablement en relation avec cette duplication Xq25 étant donné que la région dupliquée, présente sur le chromosome 13 remanié échappe à l'inactivation.

**Mots-clés :** duplication Xq25, translocation t(X;13), CGH sur micropuce.

**■P167. DUPLICATION XQ25 ASSOCIÉE À UN RETARD DE DÉVELOPPEMENT ET UNE DYSMORPHIE FACIALE DANS 2 FAMILLES**

A. Philippe (1), V. Malan (1), M.L. Jacquemont (1), N. Boddaert (2), J.P. Bonnefont (1), S. Odent (3), A. Munnich (1), L. Colleaux (1), V. Cormier-Daire (1)

(1) INSERM U781 et Département de Génétique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France ; (2) Service de Radiologie Pédiatrique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France ; (3) Département de Génétique, CHU Rennes, Rennes, France

Contact : [anne.philippe@inserm.fr](mailto:anne.philippe@inserm.fr)

Nous avons précédemment rapporté une duplication de 1,2 Mb en Xq25 chez un patient de 20 ans présentant un retard mental syndromique, identifiée lors d'une étude systématique par CGHarray (Jacquemont *et al.* 2006). Cette duplication contenait quatre gènes dont le gène GRIA3 (Glutamate Receptor, Ionotropic, AMPA subunit 3) qui code pour une sous-unité du récepteur au glutamate. Plusieurs anomalies dans ce gène (délétion, mutations faux-sens, duplications partielles) ont été rapportées dans la littérature chez des individus présentant un retard mental (Wu *et al.* 2007, Chiyonobu *et al.* 2007, Bonnet *et al.* 2008, Guilmatre *et al.* 2009). Notre objectif était de rechercher d'autres sujets porteurs d'une duplication du gène GRIA3 avec la technique de MLPA afin de mieux caractériser le phénotype associé. Une trentaine de patients présentant un retard mental syndromique et partageant au moins un signe clinique avec notre premier patient, ont été testés. Nous avons identifié un deuxième patient avec une duplication complète de GRIA3 confirmée par des analyses en FISH qui révélèrent que cette duplication Xq25 s'étendait sur 2,8 Mb. Ce deuxième patient était l'unique patient de notre série qui présentait des caractéristiques faciales similaires au premier. Outre la morphologie faciale semblable associant une hypoplasie malaire, une éversion des paupières inférieures, une hypotonie faciale et des lèvres charnues, ils présentaient tous deux, un retard psychomoteur, une hypotonie, un retard cognitif modéré et des anomalies non spécifiques à l'IRM cérébrale. Dans les 2 cas, la duplication était héritée de la mère qui présentait un biais d'inactivation du chromosome X. À partir des données de la littérature, nous discutons l'implication des autres gènes de la région minimale critique dans le phénotype observé. En conclusion, cette étude suggère que la duplication Xq25 entraîne une forme syndromique de retard mental chez les garçons dont le signe le plus évocateur pour le diagnostic clinique est la morphologie faciale.

**Mots-clés :** duplication Xq25, GRIA3, dysmorphie faciale.

**■P168. ÉTUDE CYTOGÉNÉTIQUE CONVENTIONNELLE ET MOLÉCULAIRE CHEZ UN GARÇON PORTEUR DU DÉRIVÉ X D'UNE TRANSLOCATION T(X;Y), SRY POSITIF**

J. Lucas (1), S. Jaillard (1, 2), S. Odent (2, 4), F. Demurger (1), M. Blayau (3), C. Dubourg (2, 4), C. Henry (1), M.A. Belaud-Rotureau (1, 2)

(1) Cytogénétique, CHU de Rennes, France ; (2) UMR6061CNRS, Faculté de Médecine, Université de Rennes, France ; (3) Service de Génétique moléculaire, CHU de Rennes, France ; (4) Service de Génétique clinique, CHU de Rennes, France

Contact : [josette.lucas@chu-rennes.fr](mailto:josette.lucas@chu-rennes.fr)

Nous rapportons un nouveau cas de syndrome d'« homme XX, SRY positif ». Ce cas a été diagnostiqué lors de la réalisation d'un caryotype chez un garçon de 18 ans pour une suspicion de syndrome de Klinefelter. Ce patient présente principalement une hypotrophie testiculaire avec une taille normale. Le bilan biologique met en évidence un hypogonadisme hypergonadotrope. La formule chromosomique observée est 46,XX. Le caryotype est complété par des analyses de FISH. La sonde ciblant le gène SRY, localisé en Yp11.31, s'hybride sur la partie terminale d'un des chromosomes X. La sonde correspondant au gène SHOX, localisé en Xp22.33, s'hybride sur chacun des deux chromosomes X. Les sondes BACs



spécifiques de la région AZF (a, b et c) ne s'hybrident pas. L'absence de la totalité de cette région AZF est corroborée par l'analyse en PCR. L'étude moléculaire du profil d'inactivation des chromosomes X montre une absence de biais d'inactivation (49%/51%). La CGH-array a permis de borner le déséquilibre génomique du patient : en effet elle montre une délétion d'un segment terminal du bras court d'un chromosome X d'environ 3,3 Mb, incluant PAR1, et la présence d'un segment additionnel de la partie distale du bras court du chromosome Y d'environ 5,2 Mb, incluant SRY. L'ensemble de ces analyses cytogénétiques ont permis d'affirmer la nature du mécanisme d'apparition du remaniement chromosomique : il s'agit ici d'une translocation réciproque entre deux segments de bras courts des chromosomes X et Y, t(X;Y)(p22;p11), survenue lors de la méiose paternelle dans une spermatogonie, à l'origine du dérivé X de la translocation présent chez le patient. Un conseil génétique peut alors être apporté.

**Mots-clés :** 46,XX,SRY positif, pseudo Klinefelter, CGH-array.

#### ■P169. PROXIMAL AZFC REGION MICRODELETIONS AND RECURRENT PREGNANCY LOSS: IS THERE A RELATIONSHIP?

N.B. Abdelmoula (1), O. Kaabi (1), A. Amouri (2), R. Louati (1), T. Rebai (1)

(1) *Laboratoire d'Histologie, Faculté de Médecine de Sfax, Tunisie ; (2) Laboratoire de Cytogénétique, Institut Pasteur de Tunis, Tunisie*  
Contact : nouha\_abdelmoulabouayed@yahoo.fr

Recurrent pregnancy loss usually defined as a loss of 3 or more consecutive pregnancies ; affects about 1 % of couples. In 50 % or more couples with recurrent pregnancy loss will have no certain diagnosis and male factors are largely unexplored. Two recent papers demonstrate that AZF microdeletion may be a potential cause of recurrent pregnancy loss. In this study, we try to determine whether there is an association between AZF regions and recurrent pregnancy loss in our Tunisian population. Twenty one males from recurrent pregnancy loss couples, twenty men from couples with a live birth and no history of miscarriages and 60 men from couples with male factor infertility (oligospermia) were explored at the cytogenetic and molecular levels. DNA was extracted from peripheral blood lymphocytes by using standard phenol-chloroform procedures. All patients were tested for microdeletions in the AZFa (SY84 and SY86) AZFb (SY127 and SY134) AZFc (SY254 and SY255) and proximal AZFc (SY67, SY129 and SY152) regions by three multiplex polymerase chain reaction. We don't found any Y microdeletion in our 101 patients. In particular, DYS235 and DYS220 regions did not yield any microdeletions for males of couples with recurrent pregnancy loss. Our results are in contradiction with these of the two latest studies. In fact, in the first study, authors report AZF microdeletions for 82 % of males with recurrent pregnancy loss (DYS235 and DYS236 yielded most deletions) whereas in the second study, only 16 % had AZF microdeletions and the STSs labeled DYS 220, yielded most deletions.

**Mots-clés :** recurrent pregnancy loss, chromosome Y, microdélétion.

#### ■P170. DUPLICATION COMPLÈTE DU CHROMOSOME Y ASSOCIÉE À UNE CRYPTOZOOSPERMIE

S. Toujani (1), L. Tosca (1, 2), V. Izard (3), P. Folliot (1), J.P. Allart (4), G. Tachdjian (1, 5), S. Brisset (1, 2)

(1) *Service d'Histologie-Embryologie Cytogénétique, Hôpital Antoine-Béclère, Clamart, APHP, France ; (2) INSERM U782, Clamart, France ; (3) Service d'Urologie Hôpital Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre – APHP, France ; (4) Cabinet médical Gynécologie Obstétrique, Paris, France ; (5) INSERM U935, Villejuif, France*  
Contact : saloua.toujani@abc.aphp.fr

Les chromosomes Y isocentriques (idic(Yq12)) sont des réarrangements rapportés dans le cadre d'un bilan d'infertilité. Néanmoins, leur caractérisation est loin d'être exhaustive. Par ailleurs, ils sont instables au cours des divisions cellulaires, et sont souvent associés à une lignée 45,X. Nous rapportons la caractérisation cytogénétique d'un chromosome Y dicentrique inhabituel présent à l'état homogène chez un patient adressé pour une cryptozoospermie. La cytogénétique conventionnelle réalisée sur lymphocytes sanguins a montré, sur toutes les métaphases analysées, une augmentation importante de la taille du chromosome Y. L'hybridation *in situ* fluorescente (FISH) avec la peinture de l'Y, a révélé un remaniement pur du chromosome Y. Un seul signal a été détecté au niveau du chromosome Y remanié avec la sonde Yq12 (DYZ1). Deux centromères ont été observés avec la sonde centromérique alpha satellite (DYZ3). Un des 2 centromères est actif, donnant un seul signal compact, l'autre, inactif, se traduisant par un signal réparti sur les 2 chromatides sœurs. Avec les sondes SRY,

subtélomère Ypter, UTY (AZFa), SMCY (AZFb) et BPY2 (AZFc), une duplication du signal a été notée aux loci correspondants. Enfin, un signal au milieu de l'hétérochromatine a été détecté avec la sonde subtélomérique Yqter. Dans la littérature, les idic(Y)(q12) sont rares et généralement associés à une lignée 45,X. Dans notre cas, le chromosome Y dicentrique présent à l'état homogène, doit probablement avoir un appariement altéré avec le chromosome X au cours de la méiose entraînant un blocage de la spermatogénèse. Cette anomalie est survenue soit au cours de la méiose paternelle, soit lors des premières divisions de l'œuf. Les idic(Y) sont réputés être très instables au cours des divisions cellulaires, situation non observée dans notre cas. L'inactivation d'un des 2 centromères pourrait éventuellement expliquer cette stabilité (Jakubowski, *et al.*, 2000). Il semble que le point de cassure sur l'Yq joue un rôle dans la stabilité du dicentrique. La caractérisation par FISH des idic (Y) est indispensable pour définir correctement l'anomalie, faire une corrélation génotype-phénotype et comprendre le mécanisme de formation.

**Mots-clés :** idic (Y), subtélomères, méiose, FISH.

#### ■P171. BILAN D'UNE DÉCENNIE D'ACTIVITÉS BIOLOGIQUES DU LABORATOIRE DE CYTOGÉNÉTIQUE DE LA FACULTÉ DES SCIENCES DE LA SANTÉ DE COTONOU AU BÉNIN ET PERSPECTIVES D'AVENIR

F. Gangbo, A. Laleye, M. Adjagba, P. Lawani, R. Darboux  
*Laboratoire de Cytogénétique ; Faculté des Sciences de la Santé, Cotonou, Bénin*

Contact : armandegangbo@yahoo.fr

But : Cette étude visait deux objectifs : 1) déterminer les caractéristiques épidémiologiques des patients et les résultats de leurs examens biologiques réalisés de 1999 à 2009, au laboratoire de Cytogénétique de la Faculté des Sciences de la Santé (LaCyFSS) de Cotonou au Bénin ; 2) calculer le degré de concordance ou de discordance entre les indications et ces résultats. Matériel et méthode : Cette étude a porté sur les dossiers de patients ayant bénéficié de caryotypes, de la technique de Polymerase Chain Reaction (PCR) en vue du diagnostic des infections paucibacillaires à Mycobacterium tuberculosis, de la drépanocytose en anténatal et de la préparation de l'ADN pour des tests de paternité. Résultats : Le caryotype est l'activité prédominante au LaCyFSS (n = 763). Viennent ensuite le diagnostic anténatal de la drépanocytose (n = 67), le diagnostic de la tuberculose paucibacillaire (n = 25) et les tests de paternité (n = 23). Parmi les anomalies du caryotype, la plus fréquente est la trisomie 21 (19,73 %). Dans les retards mentaux, la trisomie 21 et l'inversion du chromosome 9 sont fréquemment observées. Les cardiopathies congénitales sont révélatrices de la trisomie 21 environ une fois sur deux. Le taux d'anomalies chromosomiques observé dans les cas de stérilité est de 12,74 %, avec en tête de liste, le syndrome de Klinefelter et l'inversion du chromosome 9. Dans deux cas sur trois environ, les résultats de caryotype sont compatibles avec les hypothèses diagnostiques. La maladie drépanocytaire est diagnostiquée en période prénatale dans un cas sur quatre. La recherche de la maladie tuberculeuse par PCR négative une fois sur deux (52 %). La demande de test de paternité, faite selon une procédure de règlement à l'amiable ; a révélé que le présumé père était le vrai dans deux cas sur trois. Toutefois, signalons qu'au Bénin, il existe un vide juridique dans ce domaine. Conclusion : Le LaCyFSS œuvre pour l'intégration et le développement des sciences fondamentales, biologiques au Bénin et dans la sous région Ouest-Africaine.

**Mots-clés :** caryotype, diagnostic anténatal de la drépanocytose, diagnostic de la tuberculose paucibacillaire.

#### ■P172. CHROMOSOMAL ABNORMALITIES AND PRIMARY OVARIAN INSUFFICIENCY

W. Ayed (1), N. Bouayed Abdelmoula (2), I. El Kamel-Lebbi (1), F. Harzallah (3), A. Amouri (1)

(1) *Laboratoire de Cytogénétique et Unité de recherche EMGOOD : Etude des Maladies Orphelines d'Origine Génétique, Institut Pasteur de Tunis, Tunisie ; (2) Laboratoire d'Histologie Embryologie Cytogénétique, Faculté de Médecine de Sfax, Tunisie ; (3) Service d'endocrinologie, Hôpital La Rabta, Tunis, Tunisie*

Contact : amouri.ahlem@pasteur.rns.tn

Primary ovarian insufficiency (POI) is a common condition, affecting approximately 1 :100 women. It is characterised by amenorrhea, hypogonadism, and elevated gonadotrophin levels in women under the age of 40. It is often an unexpected and distressing diagnosis, which coincides with infertility and menopausal symptoms. The disorder may have environmental as well as genetic causes. A genetic basis is well established and was definitively demonstrated by the report of numerous



familial cases. There is a well recognised genetic basis to the development of IOP. Sixty five women were referred to our Cytogenetic laboratory for chromosomal exploration because of primary or secondary amenorrhea. Metaphase chromosomes were prepared using standard cytogenetic methods. Chromosomes were analysed by using RHG banding and karyotypes were interpreted according to ISCN 1995 nomenclature. The mean patient age was 28 years. An overall frequency of 16, 94 % chromosomal abnormalities was detected for our 65 patients. Sex chromosome abnormalities were predominant (90 % of cases). Among primary amenorrhea women, 16 had a 46,XX karyotype and 5 (26.3 %) had abnormal karyotype: 45,X /46,XX; 46,X idic(X)(q11); 46,X,del(X)(q21); 46,XY and 45,X /46,XY. Karyotypes of patients with secondary amenorrhea were abnormal in 5 cases (12,5 %) including four X chromosome mosaicism and one autosomal translocation: 45, X /46,XX; 46,XX /47,XXX; 45X/47,XXX and 46,XX, t(12;19) (q13;q13). The present study has emphasized that karyotyping is one of the fundamental investigations in the evaluation of IOP. Cytogenetic abnormalities mainly involve the X chromosome. Women with different cytogenetic types of X chromosome abnormalities should be diagnosed at young age and beneficiate of a carefully followed throughout life. Genetic counseling is very hard for these patients but mutational analysis of candidate genes in 46, XX idiopathic amenorrhea is needed to determine which genes contribute to the cause of this disorder.

**Mots-clés :** premature ovarian failure, chromosome abnormalities, Molecular Biology.

**■P173. 14 % DES FEMMES ATTEINTES D'INSUFFISANCE OVAIRIENNE PRÉMATURÉE IDIOPATHIQUE ONT UNE MONOSOMIE X EN MOSAÏQUE DÉTECTABLE PAR FISH INTERPHASIQUE**

N. Bouali (1), R. Berguiga (1), B. Lakhal (1), R. Braham (2), M. Chaieb (2), A. Saâd (1, 3), H. Elghezal (1, 3)

(1) Service de Cytogénétique et de Biologie de la Reproduction, Hôpital Universitaire Farhat Hached, Sousse, Tunisie ; (2) Service d'endocrinologie, Hôpital Universitaire Farhat Hached, Sousse, Tunisie ; (3) Unité de Service Commun de Recherche en Génétique, Faculté de Médecine de Sousse, Tunisie

Contact : hatem.elghezal@rms.tn

L'insuffisance ovarienne prématurée (IOP) est une pathologie relativement fréquente qui touche près de 4 % des femmes. Les causes de cette déplétion prématurée de la fonction ovarienne sont multiples : chromosomiques, génétiques, toxiques, auto-immunes et infectieuses. Cependant une cause n'est identifiée que dans près de 20 % des cas seulement. En dehors d'une analyse du caryotype qui peut révéler une anomalie chromosomique dans près de 12 % des cas et de la recherche d'une prémutation du gène FMRI qui doivent être systématiques, la recherche de mutation de l'un des gènes candidats reste longue coûteuse et très peu rentable. La monosomie X en mosaïque est une anomalie qui peut s'exprimer par un tableau clinique très variable allant d'un phénotype turnérien complet à un phénotype parfaitement normal. Cette variabilité phénotypique dépendrait du degré de mosaïcisme mais aussi des tissus embryonnaires touchés par ce mosaïcisme. Le degré de mosaïcisme est en plus très difficilement évaluable par l'analyse du caryotype vu le nombre réduit des mitoses analysés et aussi le billet de sélection des cellules cultivées qui sont analysées. La monosomie X en mosaïque non détectable par l'analyse du caryotype serait – elle impliquée dans l'installation d'une IOP chez certaines patientes ? 200 patientes âgées de 17 à 38 ans et atteintes d'IOP à caryotype normal sont explorées par hybridation *in situ* fluorescente (FISH) sur noyaux interphasiques en utilisant une sonde spécifique du centromère du chromosome X et une deuxième sonde centromérique utilisée comme témoin. 100 femmes enceintes d'âge comparable et sans aucune histoire pathologique sont aussi explorées par la même technique afin d'évaluer le taux de monosomie X chez elles. Dans le groupe des femmes témoins le taux de mosaïcisme varie entre 0,80 % et 3,8 % avec une augmentation linéaire qui paraît clairement liée à l'âge. Cette étude nous a permis d'établir une courbe étalon qui permet de calculer le taux physiologique du mosaïcisme en fonction de l'âge. Dans le groupe des femmes atteintes d'IOP le taux de mosaïcisme varie entre 0,64 % et 10,23 %. 86 % des patientes ont un taux de mosaïcisme qui correspond à une valeur physiologique selon leurs âges. Par contre 14 % ont un taux de mosaïcisme franchement supérieur. La monosomie X en mosaïque serait donc une cause principale d'IOP et doit être systématiquement recherchée par FISH interphasique lorsque le caryotype est normal.

**Mots-clés :** insuffisance ovarienne prématurée, monosomie X, FISH.

**■P174. SYNDROME DE PRADER-WILLI PAR TRANSLOCATION CHROMOSOMIQUE RÉCIPROQUE DE NOVO ENTRE UN CHROMOSOME 15 ET UN CHROMOSOME 18**

B. Simon-Bouy (1), A.S. Arbues (2), A. Cailho (2), C. Muti (1), C. Charles (1), C. Galimard (1), A. Taillandier (1), F. Vialard (5), P. Boukobza (3), M.C. Jacquemot (3), S. Lyonnet (4), E. Mornet (1), P. Foucaud (2)

(1) Laboratoire SESEP, CH Versailles, Le Chesnay, France ; (2) Service de pédiatrie, CH Versailles, Le Chesnay, France ; (3) Service de gynécologie-obstétrique, CH Versailles, Le Chesnay, France ; (4) Service de génétique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France ; (5) Service de génétique, Hôpital de Poissy Saint-Germain, France

Contact : bsb@laboseseop.org

Introduction. Le syndrome de Prader-Willi (SPW) est un dysfonctionnement hypothalamohypophysaire grave lié à l'absence de contribution chez le sujet atteint des gènes de la région 15q11-q13 d'origine maternelle. Trois mécanismes étiologiques sont observés : délétion interstitielle de la région 15q11-13 (70 %), disomie uniparentale maternelle (25 à 30 %) ou mutation d'empreinte (<5 %). Parmi les cas de délétions interstitielles, on observe de rares exemples de translocations chromosomiques déséquilibrées. Cette observation présente un enfant atteint de SPW lié à une translocation chromosomique déséquilibrée entre un chromosome 15 et un chromosome 18 et expose ses particularités cliniques. Observation clinique. Septième enfant (6 enfants bien portants) d'un couple non consanguin (32ans et 39ans). L'échographie réalisée à 32SA avait mis en évidence un retard de croissance intra-utérin, une ventriculomégalie cérébrale bilatérale, une diminution des mouvements actifs, un hypospadias, un oedème généralisé, un excès de liquide amniotique et des reins de petite taille. Une amniocentèse a permis le diagnostic avant la naissance. Les parents ont choisi de poursuivre la grossesse. L'enfant est né au terme de 40 SA. L'examen clinique retrouve un syndrome polymalformatif associant une dysmorphie, une fente vélaire, une atteinte cardiaque associant une CIA et une CIV, une cryptorchidie bilatérale, une hypoplasie rénale, une ventriculomégalie ainsi qu'une hypotonie axiale importante et une absence d'autonomie alimentaire. L'évolution ultérieure est marquée par la reprise d'une alimentation autonome à 6 mois, la persistance d'une hypotonie axiale sévère et d'un important trouble du développement psychomoteur. Analyses chromosomique et moléculaire. Le caryotype fœtal a mis en évidence une translocation chromosomique déséquilibrée à 45 chromosomes : 45,XY,-15,der(18)t(15;18) survenue *de novo* (confirmée sur le caryotype sanguin après la naissance), un test de PCR-méthylation a mis en évidence l'absence de contribution paternelle. L'étude par hybridation *in situ* fluorescente a montré que le centromère du chromosome 15 et le locus SNRPN sont délétés, mais qu'il n'y a pas de délétion au niveau du bras court du chromosome 18. Une étude des marqueurs microsatellites a montré que D15S113, GABR3, D15S11 et D15S165 sont délétés, mais le marqueur D15S153 ne l'est pas. Il n'y a pas de délétion du marqueur D18S476. La délétion implique donc le bras court, le centromère et le bras long d'un chromosome 15 jusqu'au milieu de la bande 15q14, le chromosome 18 n'est pas délété. Ces résultats ont été confirmés par la CGH Array qui situe la délétion autour de 36 Mégabases. Conclusion. Cet enfant est atteint d'un SPW avec une délétion sur le chromosome 15 de beaucoup plus grande taille que dans la forme avec microdélétion classique. Aux signes cliniques classiques du PWS s'associent d'autres signes cliniques et une dysmorphie particulière qui seront discutés en détail.

**Mots-clés :** syndrome de Prader-Willi, Translocation chromosomique.

**■P175. PHÉNOTYPE PRADER-WILLI CHEZ UNE FILLE AVEC MONOSOMIE 2PTER, UN LOCUS DE L'OBÉSITÉ**

M. Vincent, J. Puechberty, G. Lefort, A.M. Chaze, P. Sarda, D. Geneviève Service de Génétique Médicale et Chromosomique, Centre de Référence Maladies Rares Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs Sud-Languedoc Roussillon, Hôpital Arnaud-de-Villeneuve, CHRU Montpellier, Université Montpellier 1, Faculté de Médecine de Montpellier-Nîmes, Montpellier, France

Contact : d-genevieve@chu-montpellier.fr

La monosomie isolée de la partie télomérique du bras court du chromosome 2 est une anomalie chromosomique rare. La monosomie 2p distale est le plus souvent associée à une inversion duplication du bras court du chromosome 2 ou à une trisomie d'un autre chromosome lors de la transmission d'un dérivé de translocation. Nous rapportons ici le cas d'une patiente avec monosomie 2pter isolée survenue *de novo* présentant un phénotype proche du syndrome de Prader-Willi. La patiente a présenté une hypotonie sévère avec difficultés alimentaires lors de la première année de vie puis un retard psychomoteur modéré associé à une obésité morbide due à une hyperphagie (à 4 ans poids 32 kg, + 9 DS ; Taille +2 DS, PC +1 DS ; IMC à 28,5 – normale comprise entre 13,5 et 18). La région



télomérique du bras court du chromosome 2 est connue comme étant associée à l'obésité. En effet, une méta-analyse par Willer et al portant sur des études d'associations génome entier dans des cohortes de patients avec obésité, a permis d'identifier un SNP fortement associé à l'obésité en 2p25. Dong *et al.*, estime également que la région 2pter est impliquée dans l'obésité mais soumise à empreinte parentale. La délétion 2pter pure à été rapportée chez seulement 4 individus. Les patients avec délétion 2pter présentent une obésité morbide associée à des symptômes cliniques proches du syndrome de Prader-Willi pour 2 d'entre eux. Un autre patient présente des symptômes cliniques ressemblant au syndrome d'Angelman suggérant la possibilité d'une région soumise à empreinte en 2p25 semblable à la région 15q11.2 impliquée dans les syndromes de Prader-Willi et d'Angelman. Le dernier patient présente un syndrome autistique avec retard psychomoteur sans obésité ou ataxie. La délétion 2p25 chez ce dernier patient correspond à la plus petite délétion décrite à ce jour (1,1 Mb). Cette délétion est située à distance de la région impliquée dans l'obésité. Nous pensons que la recherche d'une délétion 2pter par hybridation *in situ* devrait être proposée pour des patients avec une obésité morbide et des symptômes proches du syndrome de Prader-Willi.

**Mots-clés :** obésité, phénotype Prader-Willi, monosomie 2pter.

#### ■PI176. UTILISATION EN ROUTINE DE LA PCR MÉTHYLATION-SPÉCIFIQUE POUR LE DIAGNOSTIC DES SYNDROMES DE PRADER-WILLI ET D'ANGELMAN : EXPÉRIENCE DE 5 ANS DANS UN CENTRE DE GÉNÉTIQUE HUMAINE

S. Boulanger, M. D'amico, P. Hilbert, C. Verellen-Dumoulin, I. Maystadt  
Institut de Pathologie et de Génétique, Centre de Génétique Humaine, Charleroi, Belgique

Contact : sebastien.boulanger@ipg.be

Les syndromes de Prader-Willi (PWS) et d'Angelman (AS) sont des maladies génétiques causées par la perte de fonction de gènes soumis à l'empreinte parentale dans la région 15q11-q13. Plusieurs mécanismes sont responsables de ces pathologies : le plus fréquent étant une délétion de la région 15q11-q13 survenant *de novo*, une disomie uniparentale, ou, dans le cas du syndrome d'Angelman, une mutation dans le gène UBE3A. Un autre mécanisme consiste en un défaut d'empreinte (~ 1 % dans les PWS et ~ 2-3 % dans les AS) dû à une microdélétion dans le centre de l'imprinting ou à un phénomène épigénétique. De nombreuses techniques ont été décrites pour différencier ces mécanismes étiologiques. Il y a environ 5 ans, notre laboratoire s'est orienté vers la PCR méthylation-spécifique (MS-PCR) pour remplacer la technique de southern blot. Sur un total de 320 patients testés, 9 ont montré un profil de méthylation compatible avec un PWS et 2 un profil de méthylation compatible avec un AS. Nous détaillons ici les différents mécanismes à l'origine de l'anomalie du profil de méthylation chez ces patients positifs en MS-PCR. Nous décrivons également le cas d'un patient présentant une hyperphagie, une obésité, un retard mental léger et des troubles de comportement. La MS-PCR montre un profil de méthylation compatible avec un PWS, qui n'a cependant pas été confirmé par une analyse MLPA, laissant présager un résultat faussement positif. Sur l'allèle paternel, nous avons identifié par séquençage la présence d'un SNP dans la séquence correspondant à une des amorces utilisées pour la MS-PCR. Ce variant n'a, à notre connaissance, jamais été décrit. De manière intéressante, le père présente le même variant avec un profil de méthylation normal en MS-PCR. Les grands parents paternels n'ont pas pu être testés. Bien que dans l'état actuel de nos connaissances, nous ne puissions exclure définitivement le rôle pathogène de ce variant nucléotidique, il s'agit le plus vraisemblablement d'un polymorphisme à l'origine d'un résultat faussement positif. Cette observation souligne l'importance de confirmer un résultat positif en MS-PCR par une autre technique (MLPA,...), du moins si le mécanisme étiologique sous-jacent n'a pu être identifié.

#### ■PI177. LA FRAGILITÉ DE L'X, FRAXE, CAUSE MÉCONNUE DE RETARD MENTAL MODÉRÉ LIÉ À L'X ?

A. Jacqueline (1), S. Chantot-Bastarud (2), C. Beldjord (3), P. Charles (1), E. Chevalier (4), C. Hyon (2), M.P. Beaujard (2), E. Al Ageeli (2), P. Mabboux (2), J.P. Siffroi (2), M.F. Portnoi (2)

(1) Département de Génétique, Centre Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France ; (2) Service de Génétique et Embryologie médicales, Hôpital Armand-Trousseau, Paris, France ; (3) Service de Biochimie et Génétique moléculaire, Hôpital Cochin, Paris, France ; (4) Service de Nutrition, Centre Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France  
Contact : marie-france.portnoi@trs.aphp.fr

Le site Fragile FRAXE est beaucoup moins étudié que FRAXA et n'est pas analysé systématiquement en routine. Il résulte d'un polymorphisme de triplets GCC, situés en position distale, à 600 kb de FRAXA, avec un

profil d'expansion similaire à FRAXA. L'arrêt d'expression du gène FMR2, dû à une hyperméthylation des îlots CpG adjacents à l'expansion des triplets répétés, est responsable d'un retard mental chez les garçons, plus modéré que dans le syndrome FRAXA. Il n'y a pas de description précise du phénotype associé. En raison de son phénotype modéré, le diagnostic est moins souvent suspecté cliniquement, bien qu'il soit une des formes communes non syndromiques de retard mental léger lié à l'X. L'analyse cytogénétique des patients avec site fragile est un test sensible, car en plus de FRAXA, il détecte les sites fragiles non spécifiques, FRAXE et FRAXF (sans phénotype associé), en sachant que certains patients sont cytogénétiquement négatifs. En effet, les sites fragiles du chromosome X ne s'expriment qu'après culture en milieu pauvre en folates, et seulement dans une faible proportion de cellules (10 %-40 %). La majorité des rares patients FRAXE décrits, ont été identifiés après une découverte cytogénétique positive, et négative en biologie moléculaire pour FRAXA. Nous rapportons ici une nouvelle observation de FRAXE, chez un homme né en 1974, avec hypogonadisme et obésité, porteur d'un syndrome de Kallmann avec mutation de FGFR1. La présence chez le patient d'un déficit intellectuel modéré et de troubles de l'équilibre a fait poser l'indication d'un caryotype. Une fragilité Xq28 a été mise en évidence à l'examen cytogénétique, dans 18 % des cellules étudiées. L'analyse moléculaire de FRAXA s'est révélée négative. Devant ces résultats, une mutation FRAXE a été recherchée, et confirmée, avec plus de 200 copies du triplet GCC. Une enquête familiale est en cours, d'autant plus qu'un frère du patient a lui aussi, un retard mental et une obésité. Un bilan complémentaire a permis de mieux préciser le phénotype de notre patient, tout particulièrement au niveau mental et comportemental par des tests d'évaluation neuropsychologique. Notre observation contribue ainsi à une meilleure connaissance de cette pathologie, qui pourrait être une cause sous-évaluée de retard mental modéré lié à l'X.

**Mots-clés :** fragilité de l'X, FRAXE, chromosome X.

#### ■PI178. ÉTUDE DES ANEUPLOÏDIÉS SPERMATIQUES CHEZ DES HOMMES AYANT LE SYNDROME DES TÊTES MACROCÉPHALES AVEC FLAGELLES MULTIPLES

S. Brahem, M. Mehdi, H. Elghazal, A. Saad

Laboratoire de Cytogénétique, Biologie Moléculaire et Biologie de la Reproduction Humaines, CHU Farhat Hached, Sousse, Tunisie  
Contact : brahemsonia@yahoo.fr

**Objectifs :** Le but de cette étude était de déterminer l'incidence des aneuploïdies spermatiques ainsi que le taux d'ADN fragmenté chez des patients présentant au spermogramme le syndrome des spermatozoïdes macrocéphales polyflagelles. **Matériel et méthodes :** Notre étude a porté sur 5 patients ayant une tétrazoospermie totale à 100 % avec prédominance des têtes macrocéphales avec flagelles multiples. L'évaluation du taux d'aneuploïdies spermatiques a été faite par Hybridation *in situ* fluorescente (FISH) sur spermatozoïdes avec des sondes centromériques des chromosomes X, Y et 18. La fragmentation de l'ADN spermatique est mesurée par la technique TUNEL (Terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated dUDP nick-end Labelling). **Résultats :** Le caryotype de ces patients est normal mais l'hybridation *in situ* met en évidence la présence d'un taux très élevé d'aneuploïdies spermatiques (96.14 %). 22.38 % des spermatozoïdes sont diploïdes, 19.7 % triploïdes et 22.01 % tétraploïdes. La fréquence de disomie gonosomique (XX, YY et XY) est plus importante que celle de la disomie 18. Les anomalies des chromosomes sexuels dus à la méiose I (disomie XY) sont moins importantes que celles dues à la méiose II (disomie XX et disomie YY) respectivement 26.02 % versus 96 %. Aussi nos patients présentent un taux très élevé d'ADN fragmenté (40 %). **Conclusions :** Ce syndrome des spermatozoïdes macrocéphales avec flagelles multiples est caractérisé par un taux extrêmement élevé d'anomalies chromosomiques ainsi que d'ADN fragmenté. D'où sa présence est une contre indication à toute procréation médicalement assistée.

**Mots-clés :** macrocéphales poly flagellés, ADN fragmenté, aneuploïdies spermatiques.

#### ■PI179. LA QMPSF À FAÇON : UNE MÉTHODE SIMPLE ET RAPIDE POUR L'ANALYSE CIBLÉE DES CNVS DÉTECTÉS PAR CGH ARRAY

P. Saugier-Veber (1, 2), P. Chambon (1, 3), N. Le Meur (4), E. Kasper (1), N. Drouot (2), C. Boucher (2), S. Fehrenbach (2), J. Bou (2), G. Bougeard (1), T. Frébourg (1, 2), J.M. Flaman (1)

(1) Inserm U614, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Institut Hospitalo-Universitaire, Université de Rouen, France ; (2) Service de Génétique, CHU de Rouen, France ; (3) Laboratoire de Cytogénétique, CHU de Rouen, France ; (4) Laboratoire de Cytogénétique, Établissement Français du Sang de Haute-Normandie, Bois-Guillaume, France

Contact : jean-michel.flaman@univ-rouen.fr

Le développement, au cours de ces dernières années, de la CGH array à très haute résolution dédiée à l'analyse du génome humain a permis l'identification d'un nombre considérable de CNVs (Copy Number Variations) qui peuvent être polymorphiques ou délétères. Ces CNVs sont de taille variable, de quelques centaines de paires de bases à plusieurs mégabases, et touchent soit plusieurs gènes, soit une partie d'un gène, soit des régions intergéniques potentiellement régulatrices. Actuellement, tous les CNVs polymorphiques, en particulier de petite taille, ne sont pas recensés dans les bases de données. Il est donc aujourd'hui nécessaire de développer des technologies ciblées en aval de l'analyse pangénomique pour valider la présence des CNVs nouvellement identifiés et pour déterminer leur caractère polymorphique ou délétère dans les pathologies étudiées. Notre unité Inserm a développé depuis 10 ans une méthode de PCR multiplex quantitative appelée QMPSF qui a été diffusée à de nombreux laboratoires de génétique pour le diagnostic moléculaire de maladies géniques ou génomiques. À travers deux exemples, nous montrerons l'intérêt de différents protocoles de QMPSF à façon dans l'analyse ciblée des CNVs identifiés par CGH array sur des puces oligonucléotidiques Agilent. Le premier exemple concerne l'identification par des puces Agilent catalogue, de remaniements génomiques dans le cadre du bilan étiologique d'un retard mental syndromique. En effet, tout CNV potentiellement délétère doit être confirmé par une méthode indépendante avant l'édition d'un compte rendu diagnostique. Nous avons développé une version non fluorescente de la QMPSF pour réduire les coûts de l'étape de vérification tout en conservant le bénéfice de la robustesse de la méthode. Le deuxième exemple concerne la recherche de CNVs de petite taille dans une prédisposition héréditaire au cancer, le syndrome de Li-Fraumeni, grâce à l'utilisation de puces Agilent développées à façon pour obtenir la résolution maximale (une sonde tous les 200 pb) au niveau des gènes d'intérêt et notamment TP53. Dans cette application, la très petite taille des remaniements, exceptionnellement répertoriés dans la base de données de CNV polymorphiques, impose l'exploration d'un grand nombre de témoins normaux pour déterminer la fréquence de ces remaniements dans la population générale et pour les interpréter. Une QMPSF ciblée explorant en un seul temps tous les remaniements à vérifier constitue dans ce contexte l'outil de choix. L'intérêt de la QMPSF à façon, en aval de la CGH array, a conduit la société Prestagen à développer une activité de prestation de service basée sur la QMPSF pour répondre aux différentes problématiques résultant des résolutions toujours plus importantes des puces oligonucléotidiques.

**Mots-clés :** CGH array, CNV, QMPSF.

#### ■P180. MALSÉGRÉGATION ET EFFET INTERCHROMOSOMIQUE CHEZ LES PATIENTS PORTEURS D'UNE TRANSLOCATION ROBERTSONNIENNE

F. Ferfour (1, 3), P. Clement (4), D. Molina Gomes (1, 3), M. Albert (1, 3), M. Bailly (2, 3), B. Wainer (1, 3), J. Selva (1, 3), F. Vialard (1, 3)  
(1) Laboratoire d'Histologie, Embryologie, Biologie de la Reproduction, Cytogénétique et Génétique Médicale, CHI Poissy-Saint Germain, Poissy, France ; (2) Service de Gynécologie Obstétrique, CHI Poissy-Saint Germain, Poissy, France ; (3) EA 2493, UVSQ, France  
Contact : fvialard@hotmail.com

Introduction : Les translocations robertsoniennes, résultant de la fusion centrique entre deux chromosomes acrocentriques, sont, avec une fréquence de 2‰, les remaniements chromosomiques équilibrés les plus fréquents de la population générale avec majoritairement les rob(13;14) et rob(14;21). Elles sont associées au risque de transmission d'une anomalie chromosomique déséquilibrée dans la descendance et prédisposent à une altération de la spermatogénèse. L'objectif de ce travail est de déterminer, en fonction du type de translocation robertsonienne et de la numération spermatique, s'il existe une variation du taux de malségrégation de la translocation et du risque de malségrégation des chromosomes non impliqués dans la translocation ou effet interchromosomique. Méthode : Pour cette étude nous avons utilisé l'hybridation *in situ* fluorescente sur spermatozoïdes ou sperm-FISH, avec des sondes spécifiques des chromosomes impliqués dans les translocations robertsoniennes et les sondes des chromosomes 13, 18, 21, X et Y (Abbott Molecular) pour l'étude de l'effet interchromosomique. Matériels : 22 patients porteurs d'une translocation robertsonienne ont été inclus, 5 normospermiques et 17 oligospermiques. L'effet interchromosomique a été analysé en comparant les résultats à ceux obtenus dans 2 groupes de patients à caryotype normal, 10 patients contrôles normospermiques et 10 patients oligospermiques. Résultats : L'étude de la ségrégation de la translocation (n = 17880) a montré un taux d'aneuploïdie augmenté chez les patients oligospermiques par rapport aux patients normospermiques (n = 4704) (18,3 % vs 9,4 % (p = 0,0054)). De plus, chez les patients oligospermiques, le taux de malségrégation de la

translocation varie en fonction du type de translocation, avec des taux respectifs de 16,7 % pour les plus fréquentes [rob(13;14) et rob (14;21)] et de 25,3 % (p = 0,0154) pour les autres translocations. Pour l'effet interchromosomique, si l'on compare les patients à caryotype normal et ceux porteurs d'une translocation robertsonienne, on observe une variation des taux d'aneuploïdies pour les chromosomes 13 et 21 et une absence de variation pour les chromosomes 18, X et Y. Discussion Conclusion : Au total, le type de translocation robertsonienne (fréquente [rob(13;14) et rob (14;21)] ou rare) et la numération spermatique influencent le taux de malségrégation d'une translocation robertsonienne. En ce qui concerne l'effet interchromosomique, celui-ci semble être limité aux chromosomes acrocentriques (13 et 21), puisqu'il n'existe pas de différence pour les gonosomes et le chromosome 18 si l'on compare les patients normospermiques au groupe témoin, et les oligospermiques au groupe contrôle. Afin de s'assurer que l'effet interchromosomique est limité aux chromosomes acrocentriques, cette étude devra être complétée par l'analyse de la ségrégation des autres chromosomes.

**Mots-clés :** translocation robertsonienne, ségrégation, effet interchromosomique.

#### ■P181. A DE NOVO UNBALANCED KARYOTYPE 45,XY,-22, DER(11)T(11;22)(Q23;Q11) IN A TUNISIAN BOY WITH VENTRICULAR SEPTAL DEFECT, DYSMORPHIC FEATURES AND MENTAL RETARDATION

N.B. Abdelmoula (1), L. Lamine (2), M. Cherif (3), R. Louati (1), I. Traibelsi (4), T. Rebai (1)  
(1) Laboratoire d'Histologie, Faculté de Médecine de Sfax, Tunisie ; (2) Gynécologie de LP, Sfax, Tunisie ; (3) Laboratoire de Génétique LP, Tunis, Tunisie ; (4) Service de Cardiologie, EPS Hedi Chaker Sfax, Tunisie  
Contact : nouha\_abdelmoulabouayed@yahoo.fr

We report on a dysmorphic Tunisian boy (13 years old) with congenital heart disease (CIV which closed spontaneously), language deficit and mental retardation, in whom conventional cytogenetic analysis reveals a *de novo* unbalanced chromosome complement. Specifically, a derivative chromosome from a *de-novo* unbalanced translocation of chromosomes 11 and 22 resulted in partial monosomy of 22pter to 22q11 and deletion of the long arm of chromosome 11 distal to band q23 (11q23.3-qter) : 45,XY,-22, der(11)t(11;22)(q23;q11). Banding analysis indicate that the breakpoints on 11q and 22q in the patient were in the previously described region common to typical recurrent t(11;22). Chromosomal analysis of the parents was normal and family history doesn't reveal any clinically similar cases. Although partial terminal deletion of the long arm of chromosome 11, occurring within the Jacobsen syndrome region, facial dysmorphic features are not typical. In fact, facial abnormalities consist of triangular face, small forehead, upward slanting palpebral fissures, prominent nasal bridge, prominent columella, thin philtrum, low-set ears, everted frequently open mouth with thick lips, short neck, hypoplastic hypotenar regions and abnormal palmar creases. The child manifests behavioural problems with severe mental retardation, severe speech delay with expressive speech deficit, hyperphagia and difficult controlled food-seeking. To the best of our knowledge, this is an unique case of der(11)t(11;22)-22 observation reported in the literature. However, for phenotype-genotype correlation, additional molecular cytogenetic delineation of this unbalanced rearrangement is needed and will be carried out by FISH using painting and specific locus techniques.

**Mots-clés :** cytogenetics, mental retardation, translocation.

#### ■P182. MONOSOMIE PARTIELLE 11QTER ET TRISOMIE PARTIELLE 16QTER RÉSULTANT D'UNE T(11;16) CRYPTIQUE MATERNELLE

A. Basinko (1, 2, 3), S. Audebert-Bellanger (4), J. Lefranc (4), P. Parent (4), C. Bovo (2), F. Morel (1, 2, 3), M.J. Le Bris (1), N. Douet-Guilbert (1, 2, 3), M. De Braekeleer (1, 2, 3)  
(1) Laboratoire de Cytogénétique Cytologie et Biologie de la Reproduction, CHU Brest, France ; (2) Laboratoire d'Histologie Embryologie et Cytogénétique, Faculté de Médecine et des Sciences de la Santé, UBO, Brest, France ; (3) INSERM U613, Génétique Moléculaire et Génétique Épidémiologique, Brest, France ; (4) Département de Pédiatrie et de Génétique Médicale, CHU Brest, France  
Contact : audrey.basinko@chu-brest.fr

Les réarrangements cryptiques subtélomériques chez des enfants présentant un retard mental modéré à sévère sont estimés à 7,4 %. Nous décrivons ici un cas familial d'anomalie cryptique subtélomérique. Les patients, une fille de 6 ans et son frère de 22 mois, sont nés prématurément après une grossesse marquée par une prééclampsie et un retard de croissance



intra-utérin (RCIU). En période néonatale, les 2 enfants présentent une hypotonie et une hémorragie intraventriculaire. Les principaux signes cliniques communs sont le retard mental et psychomoteur, le retard statur pondéral, la dysmorphie faciale, la surdité, les anomalies des extrémités et des vertèbres. En outre, la fille présente une micromélie et une communication inter-auriculaire, et son frère présente une thrombopénie transitoire dans les premiers jours de vie, une épilepsie, une atrophie du nerf optique, un micropénis et un asthme sévère. Les caryotypes RHG (550 bandes) sont considérés normaux pour les 2 enfants. L'analyse des subtélomères (ToTel® Abbott, Rungis, France) détecte chez le garçon un der(11)t(11;16)(qter;qter). L'hybridation *in situ* fluorescente des sondes 11qter et 16qter (Abbott) révèle la même anomalie chez la sœur. L'enquête familiale décèle chez la mère une t(11;16)(qter;qter) équilibrée cryptique. Les points de cassure, déterminés par hybridation de panels de chromosomes artificiels bactériens, sont identiques chez les enfants et leur mère, localisés en 11q24.3 (RP11-75P14) et en 16q23.2 (RP11-164G23). Les enfants ont donc une monosomie partielle 11q24.3-11qter de 6,1 Mb et une trisomie partielle 16q23.2-16qter de 9,0 Mb, résultant de la malségrégation méiotique d'une t(11;16) maternelle. Les trisomies partielles 16qter sont rarement décrites dans la littérature. Parmi les signes cliniques présentés par les 2 enfants, certains peuvent être imputés à la trisomie 16 partielle : retard mental, RCIU, hypotonie, anomalies vertébrales et génitales, micromélie. Les grossesses pour ces 2 enfants sont marquées par une prééclampsie, qui est également rapportée dans des trisomies 16 en mosaïque. D'autres observations de trisomies 16 partielles sont nécessaires afin d'affiner la corrélation génotype-phénotype de ce déséquilibre. Les délétions terminales 11qter sont associées au syndrome de Jacobsen. Les enfants de notre étude présentent certains signes de ce syndrome (dysmorphie faciale, retard psychomoteur, thrombopénie transitoire, hémorragie intraventriculaire, surdité, atrophie du nerf optique...). Le principal gène candidat des thrombopénies du syndrome de Jacobsen est le gène FLI1 en 11q24.3. Chez nos patients, FLI1 n'est pas délété, nous faisant suspecter l'implication d'autre(s) gène(s) dans l'épisode hémorragique. Cependant, la cassure en 11q24.3 se fait à moins de 135 kb de FLI1, suggérant une possible altération de son expression. Cette hypothèse reste à confirmer par la réalisation d'une RT-PCR quantitative de FLI1.

**Mots-clés :** monosomie 11qter, trisomie 16qter, réarrangement subtélomérique cryptique.

#### ■P183. MICRODÉLÉTION INTERSTITIELLE DE LA RÉGION XQ27.2-Q28 CHEZ UNE FILLE ASSOCIÉE À UNE EXPRESSION CLINIQUE COMPATIBLE AVEC UN SYNDROME DE L'X FRAGILE ET UNE MYOPATHIE MYOTUBULAIRE

C. Missirian (1), C. Popovici (1), J. Martinez (1), R. Bernard (2), A. Moncla (1)

(1) Laboratoire de Génétique Chromosomique, Département de Génétique Médicale, CHU Timone enfants, Marseille, France ; (2) Laboratoire de Biologie Moléculaire, Département de Génétique Médicale, CHU Timone enfants, Marseille, France.

Contact : chantal.missirian@ap-hm.fr

Nous rapportons le deuxième cas d'enfant de sexe féminin présentant un syndrome des gènes contigus lié à une microdélétion interstitielle du bras long du chromosome X (Xq27.2-Xq28). Cliniquement, à l'âge de 6 ans, elle présente un retard mental avec un retard de langage, associé à une faiblesse musculaire prédominant aux membres inférieurs, à la ceinture pelvienne et au tronc, contrastant avec une motricité normale aux membres supérieurs. L'examen montre une avance statur pondérale (+ 3DS) avec avance de l'âge osseux, une macrocéphalie (+ 2DS), une dysmorphie faciale avec hypomimie et un discret ptosis. Ce tableau évocateur d'une pathologie neuromusculaire a conduit à la prescription du dosage des enzymes musculaires, d'un EMG et d'une IRM cérébrale qui se sont révélés normaux. Le caryotype en haute résolution est interprété comme normal. L'analyse sur puces à ADN en CGH (technologie Agilent, puces 44K) permet d'identifier une délétion interstitielle de 9,3 Mb localisée en Xq27.2-q28, confirmée en FISH et survenue *de novo*. L'intervalle délété contient 8 gènes dont 5 sont associés à des pathologies ayant une entrée dans OMIM. Parmi eux, sont délétés les gènes FMR1, AFF2, IDS et MTM1 dont les mutations sont responsables respectivement des syndromes de l'X fragile, de FRAXE, d'Hunter et de la myopathie myotubulaire. L'étude du profil d'inactivation du chromosome X de cette patiente a mis en évidence un biais d'inactivation partiel. Le syndrome de l'X fragile est majoritairement causé par la mutation instable du gène FMR1 ; les délétions partielles de ce gène ou l'englobant sont exceptionnelles. Quelque soit le mécanisme moléculaire, le tableau clinique observé est similaire : forme classique chez le garçon, forme modérée chez les filles. Le diagnostic clinique reste plus difficile dans ce dernier cas comme pour notre patiente. Les myopathies

myotubulaires liées au chromosome X sont responsables chez le garçon d'une hypotonie néonatale sévère avec détresse respiratoire et décès précoce. Classiquement asymptomatique chez les filles, des signes mineurs peuvent parfois être observés : une faiblesse musculaire avec aréflexie, une asymétrie corporelle. Notre patiente présente des signes cliniques communs à ces deux syndromes conséquence de l'inactivation préférentielle du chromosome X normal. L'absence de biais total d'inactivation rend compte de l'absence de signes cliniques liés à l'hémizygotie du gène IDS. Une revue de littérature retrouve 6 patientes au total, présentant une délétion interstitielle de grande taille Xq27-q28 identifiée en technique de cytogénétique conventionnelle (Wolff *et al.*, 1997, Hum Genet ; Dahl *et al.*, 1995, Am J Hum Genet). Un seul cas est rapporté à ce jour de délétion inframicropique de cette région de taille inférieure à notre anomalie et rapportée chez une fillette présentant une avance statur pondérale associée à un retard mental (Probst, 2007, Am J Med Genet).

**Mots-clés :** CGH microarrays, FMR1, MTM1.

#### ■P184. FACTEUR MASCULIN DANS LES AVORTEMENTS SPONTANÉS À RÉPÉTITION

W. Ayed (1), N. Bouayed Abdelmoula (2), I. El Kamel-Lebbi (1), H. Guermani (1), S. Hentati (1), N. Abidli(1), F. Zhioua (3), A. Amouri (1)

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

Contact : amouri.ahlem@pasteur.rns.tn

L'avortement spontané à répétition (ASR) est la survenue d'au moins trois avortements consécutifs. On estime qu'1 à 3 couples/300 en sont concernés. Ils constituent un motif de consultation assez fréquent en pathologie gynécologique. Les étiologies sont multiples. Elles concernent l'un des partenaires du couple ou sont communes aux deux. Si les facteurs féminins ont été largement évoqués dans les ASR, en revanche, les facteurs masculins le sont rarement. Pourtant, les résultats en Fécondation *in vitro* semblent montrer clairement que les ASR observés après FIV sont souvent liés à des oligoasthénospermies. Nous rapportons ici l'étude de 80 couples ayant bénéficié d'un caryotype sur culture de lymphocytes sanguins dans le cadre du bilan étiologique de pertes fœtales à répétition. Ces cas ont été colligés dans notre laboratoire de Cytogénétique de l'Institut de Pasteur de Tunis. Dans ce travail, nous évaluons la participation constitutionnelle, chromosomique paternelle aux avortements. Si la découverte d'une anomalie chromosomique contribue à éclaircir l'étiologie des fausses couches à répétition, elle implique néanmoins un conseil génétique bien établi pour informer le couple du risque de transmission parent-enfant, et justifie un diagnostic prénatal dans les grossesses ultérieures à haut risque.

**Mots-clés :** pertes fœtales à répétition, caryotype, conseil génétique.

## Éthique, génétique et société

#### ■P185. CHIRURGIE PROPHYLACTIQUE POUR LES PATIENTES ASYMPTOMATIQUES AYANT UNE MUTATION BRCA : SURVEILLANCE ATTENTIVE OU MASTECTOMIE PROPHYLACTIQUE ?

L. Demange, S. Cappellone, N. Heil

Service d'Oncologie Génétique, Polyclinique de Courlancy, Reims, France

Contact : ldemange@oncorad.courlancy.fr

Pour les patientes asymptomatiques porteuses d'une mutation BRCA, l'expérience collective française renvoie à deux attitudes : la mastectomie prophylactique ou la surveillance attentive (clinique et radiologique). Outre Atlantique, la pratique la plus habituelle est celle de la mastectomie prophylactique tandis qu'en France c'est la surveillance qui apparaît choisie de façon préférentielle. Une ablation mammaire prophylactique réduit le risque d'apparition d'un cancer du sein de 80 à 10 % ; proposer une surveillance mammaire oriente le choix vers un dépistage précoce d'un cancer du sein, plus exactement, celui de la potentielle attente d'un cancer du sein à un stade précoce. Adopter une surveillance mammaire signifie faire un examen radiologique tous les six mois. Cette attitude ne véhiculerait-elle pas l'angoisse de la crainte de voir apparaître un cancer ? Faire pratiquer une mastectomie prophylactique diminue voire annule pratiquement le risque d'avoir un cancer du sein. En adoptant une surveillance on garde ses seins dans leur intégrité ; en faisant une mastectomie prophylactique, on perd ses seins et les solutions de remplacement ne sont pas toujours « idéales » (cicatrices, modification de la sensibilité...). En tout état de cause l'esthétique initiale n'est jamais retrouvée. La décision des femmes tient probablement compte de la façon dont elles vivent « la présence ou



l'absence » de leurs seins, la façon dont elles perçoivent le risque d'avoir la maladie. La décision est, quoi qu'il en soit, induite par la façon dont le médecin propose le choix de la surveillance ou de la mastectomie. La présentation de ce choix est-elle toujours neutre ? Y a-t-il une projection des médecins sur les patientes ? Y a-t-il des différences d'explications, si l'information est véhiculée par un médecin homme ou un médecin femme ? Quel rôle imaginaire du médecin peut-il se jouer dans la façon dont il donne cette information ? Voici autant de questions que nous nous sommes posées au cours de nos consultations d'annonce, pour aboutir à la nécessaire concertation pluridisciplinaire associant patiente, oncogénéticien, psychologue et chirurgien.

**Mots-clés :** génétique, cancer du sein, prophylaxie.

**■P186. COMPARAISON DES EFFETS PSYCHOLOGIQUES DES TESTS GÉNÉTIQUES DANS LES FORMES HÉRÉDITAIRES DE CANCER DU SEIN/OVAIRE ET DU SYNDROME DE LYNCH – RÉSULTATS D'UNE ÉTUDE MULTICENTRIQUE AU SEIN DU CANCÉROPOLE NORD-OUEST**

C. Fantini-Hauwel (1, 2), S. Lejeune (1), M. Corbeil (1), C. Le Bec (1), P. Vennin (3), T. Frebourg (4), P. Berthet (5), A. Chevrier (6), G. Morin (7), G. Plessis (8), V. Christophe (9), S. Quandalle (1), V. Nicolas (1), A. Rossi (4), J. Mauillon (4), A. Hédouin (4), M. Mathieu (7), B. Duffour (5), C. Adenis (3), M. Reich (3), S. Manouvrier-hanu (1, 10)

(1) *Service de Génétique Clinique Guy-Fontaine, Hôpital Jeanne-de-Flandre, CHRU de Lille, France* ; (2) *Université de Provence. Laboratoire Psyclé, Aix en Provence, France* ; (3) *Département de sénologie, Centre Oscar-Lambret, Lille, France* ; (4) *Département de Génétique, CHU, Rouen, France* ; (5) *Centre François-Baclesse, Caen, France* ; (6) *Centre Henri-Becquerel, Rouen, France* ; (7) *Unité de génétique clinique, Hôpital Nord-CHU, Amiens, France* ; (8) *Département de génétique, CHU, Caen, France* ; (9) *Université de Lille 3, Laboratoire URECA, Équipe FASE, Villeneuve-d'Ascq, France* ; (10) *Université Lille 2, France*  
*Contact : sylvie.manouvrier@chru-lille.fr*

Les syndromes de prédisposition héréditaire tumorale les mieux identifiés et les plus fréquents sont ceux prédisposant aux cancers du sein et de l'ovaire, et ceux prédisposant aux cancers colo-rectaux (notamment le syndrome de Lynch). Une fois la mutation délétère responsable du syndrome identifiée dans la famille, un test génétique pré-symptomatique peut être proposé aux apparenté(e)s dans le but d'adapter les moyens de dépistage et de prévention en fonction du risque tumoral. Les conséquences psychologiques de ces « tests génétiques » ont largement été étudiées, concernant l'un ou l'autre de ces syndromes. Néanmoins, peu d'études se sont intéressées à la comparaison des conséquences psychologiques des tests génétiques en cas de prédisposition aux cancers « sein/ovaire » ou « côlon/rectum ». Méthodologie : Nous avons donc mis en place en septembre 2007 au sein du canceropôle Nord-Ouest (Amiens, Caen, Lille et Rouen) une étude multicentrique regroupant 6 équipes d'oncogénétique, dans le but d'évaluer et de comparer, en fonction des syndromes considérés (1) les caractéristiques des patients qui réalisent le test génétique pré-symptomatique (2) l'impact émotionnel de la consultation de conseil génétique chez ces patients, ainsi que le type de prise en charge proposée (médicale et/ou psychologique) (3) les stratégies de régulation émotionnelles utilisées par les patients pour faire face à l'annonce diagnostique afin de repérer d'éventuels prédicteurs à un ajustement émotionnel difficile. 350 patients (179 HNPPC, 171 HBOC), ont accepté de participer à une étude longitudinale qui inclut 5 périodes d'évaluation : avant la consultation d'information, 15 jours après celle-ci, 15 jours, 6 mois, 1 an et 2 ans après l'annonce du résultat génétique. En plus des informations démographiques et médicales nous avons utilisé des échelles d'auto-évaluation de la symptomatologie dépressive (CES-D), de l'anxiété (STAI) et des stratégies de coping (WCC, ERQ) ainsi qu'une mesure du stress perçu. Résultats : Nous n'avons pas observé de différence significative selon la pathologie quant à la symptomatologie anxieuse et dépressive. Si nous constatons une diminution significative de l'anxiété à l'issue de l'annonce d'un résultat favorable, nous n'avons pas constaté de modification pour les sujets porteurs de l'anomalie génétique. Concernant la symptomatologie dépressive, une diminution significative n'est observée que chez les patients non porteurs de l'anomalie prédisposant aux cancers sein/ovaire et non chez ceux concernés par le syndrome de Lynch, quelque soit leur résultat. Les résultats mettent en avant une absence d'effet délétère du statut génétique. Mais, eu égard la grande variabilité interindividuelle des résultats, nous nous sommes penchés sur l'étude de la dispersion. Il faut alors considérer non plus l'impact du statut génétique, mais l'effet d'interaction entre le niveau d'anxiété initial et le résultat. Si l'anxiété initiale reste la même chez les personnes non porteuses et ce de manière significative, cette relation est beaucoup plus ténue concernant les personnes porteuses de la mutation. Ce résultat

va dans le sens d'une réorganisation du système de fonctionnement de l'individu à l'issue de l'annonce d'un résultat défavorable, impliquant de rechercher des prédicteurs autres que l'état psychologique préalable. Nous développerons cet aspect au travers de la notion de régulation émotionnelle qui prend ici tout son sens.

**Mots-clés :** test prédictif, conséquences psychologiques, cancer.

**■P187. ÉTUDE COMPARATIVE SUR LA PROFESSION DE CONSEILLER EN GÉNÉTIQUE EN EUROPE**

C. Cordier (1, 2, 3), M.A. Voelckel (1, 4)

(1) *Association Française des Conseillers en Génétique, Marseille, France* ; (2) *Service de cytogénétique, Hôpital de Mulhouse, France* ; (3) *Centre Régional de Génétique Médicale de Strasbourg, Strasbourg, France* ; (4) *Service de Génétique Médicale, Hôpital de la Timone, Marseille, France*

*Contact : cordierc@ch-mulhouse.fr*

Les conseillers en génétique sont des professionnels de santé ayant une formation spécialisée et des compétences dans le domaine de la génétique humaine et le conseil génétique. Ils travaillent en tant que membre d'une équipe médicale pluridisciplinaire à des fins de santé publique. Dans la plupart des pays européens, la profession de conseiller en génétique est relativement nouvelle et n'est pas toujours reconnue. L'European Network of Genetic Nurses and Counsellors (ENGNC), dont plusieurs conseillers en génétique français font partis, tente d'établir des recommandations notamment pour la formation et l'activité de ces professionnels dans un but d'homogénéisation à l'échelle européenne. Dans ce cadre, nous avons mené une étude afin de mieux connaître les pratiques actuelles en Europe. Les membres de l'ENGNC ont été interrogés par le biais d'un questionnaire électronique sur la description la plus large possible du métier de conseiller en génétique au sein de leur propre pays. 12 pays ont répondu à notre enquête. Ce questionnaire montre qu'il existe différentes façons d'aborder la formation de conseiller en génétique ainsi que d'exercer la profession. En effet, la formation peut être dispensée en hôpital, en faculté de médecine, en faculté des sciences ou dans des écoles d'infirmières. Cette différence d'enseignement ainsi que la divergence des mentalités sur cette nouvelle profession de santé engendre le fait que les conseillers en génétiques ont des responsabilités différentes que nous précisons. Cette étude comparative réalisée avec le concours de l'Association Française des Conseillers en Génétique (A.F.C.G.), montre combien les conseillers en génétique Français sont impliqués dans l'évolution de leur métier et ont su acquérir une reconnaissance Européenne. À noter qu'à ce jour, seule la France est dotée d'un décret d'application.

**Mots-clés :** conseiller en génétique, Profession de santé, AFCG.

**■P188. FORMATIONS PRATIQUES EN BIOLOGIE POUR LES MEMBRES D'ASSOCIATIONS DE MALADIES GÉNÉTIQUES RARES ET DE MALADIES AUTO-IMMUNES : UNE INITIATIVE UNIQUE EN EUROPE**

M. Mathieu, J. Thimonier, C. Hammond

*Association Tous Chercheurs, INMED, Parc scientifique de Luminy, Marseille, France*

*Contact : mathieu@touschercheurs.fr*

L'association Tous Chercheurs a initié en mai 2004 un projet novateur à l'égard des associations de maladies chroniques. Ce projet découlait du constat suivant : l'implication des associations de malades dans les avancées en recherche est de plus en plus grande (participation aux essais cliniques et aux enquêtes, collecte de fonds pour soutenir la recherche,...). Mais il persiste toujours un gouffre entre le milieu scientifique et les malades, lié au manque de connaissances de ces derniers sur la recherche et la biologie. Nous avons donc imaginé et mis en place des formations pratiques en biologie spécifiquement adaptées aux membres d'associations de malades. Ces formations, d'une durée de 3 jours, se déroulent dans notre laboratoire (Inserm, Marseille) : Les stagiaires apprennent ainsi à observer, à émettre des hypothèses et ils réalisent des expériences, encadrés par des chercheurs. De plus, chaque stage comprend une demi-journée de discussion et d'échange avec un chercheur ou médecin chercheur spécialiste de la pathologie correspondante. Les stagiaires peuvent ainsi acquérir de solides bases de biologie et comprendre concrètement le travail de chercheur et les spécificités de la recherche. Initialement, nos formations étaient destinées aux membres d'associations de maladies génétiques rares, mais ont été étendues, en 2008, aux maladies à composante auto-immune. Le bilan de cette action, menée depuis 5 ans, est extrêmement positif, puisque plus de 300 membres d'associations de malades, provenant de 25 associations, ont été formés à Marseille. Ceci souligne l'intérêt des malades pour ce



type de formations. D'autre part, nous avons étendu notre action à l'échelle nationale en 2007 en la transférant à la Fédération francophone des Écoles de l'ADN. Nous cherchons actuellement à étendre notre action à l'échelle européenne.

**Mots-clés :** formations, expérimentation, associations de malades.

#### ■P190. CONSEILLER EN GÉNÉTIQUE ET MÉDECINE PRÉDICTIVE – LE MÉTIER ET SON ACTUALITÉ

C. Cordier (1, 2), M. Belleguic (1, 3), A. De Pauw (1, 4), L. Monteil (1, 5), N. Pasz (1, 6), M.A. Voelckel (1, 7)

(1) *AFCG, Association Française des Conseillers en Génétique, Marseille, France* ; (2) *Service de cytogénétique, Hôpital de Mulhouse, France* ; (3) *Service de génétique médicale, Hôpital de Rennes, France* ; (4) *Service de génétique oncologique, Institut Curie, Paris, France* ; (5) *Service de génétique médicale, Hôpital de Toulouse, France* ; (6) *Service de génétique médicale, Hôpital de Lille, France* ; (7) *Service de génétique médicale, Hôpital de Marseille, France*  
 Contact : cordierc@ch-mulhouse.fr

Le Master Professionnel de Pathologie Humaine : « Conseil en Génétique et Médecine Prédictive » a accueilli les premiers étudiants de cette spécialité en France dès l'année universitaire 2004-2005. Aujourd'hui, 72 diplômés ont été formés pour exercer leur nouveau métier dans les différents services de génétique de tout le pays, voir même à l'étranger. Selon les données de l'AFCG (Association Française des Conseillers en Génétique – Professionnels et Étudiants), nous proposons de présenter la parcours mené pour la valorisation de cette nouvelle profession de santé, tant dans l'évolution de la formation et du recrutement des étudiants, que dans le dynamisme et la pluridisciplinarité des conseillers en génétique. Nous décrirons la diversité des compétences acquises au travers de la multitude des fonctions occupées et accordées aux conseillers en génétique, aussi bien dans les équipes de génétique médicale que dans les services d'oncogénétique, de cardiogénétique et/ou de neurogénétique. Nous discuterons de leur intégration dans les différents centres pluridisciplinaires de diagnostic prénatal, leur implication dans les consultations de diagnostic prédictif et celle de l'assistance médicale à la procréation. Nous insisterons également sur l'action menée pour une intégration au niveau national, européen et international de ces nouveaux professionnels français.

**Mots-clés :** conseiller en génétique, AFCG.

#### ■P191. LA CONSANGUINITÉ, QUEL CONSEIL GÉNÉTIQUE EN FRANCE ?

L. Monteil (1, 8), M.T. André (2, 8), M. Belleguic (3, 8), C. Cordier (4, 8), M. Di Maria (3, 8), V. Nicolas (5, 8), B. Troude (6, 8), M.A. Voelckel (7, 8)

(1) *Service de Génétique Médicale, CHU Purpan, Toulouse, France* ; (2) *Service de Génétique Médicale, CHU de Nantes, France* ; (3) *Service de Génétique Médicale, CHU de Rennes, France* ; (4) *Service de cytogénétique, CH de Mulhouse, France* ; (5) *Service de Génétique Clinique, CHRU de Lille, France* ; (6) *Service de Génétique Médicale, CHU de Clermont-Ferrand, France* ; (7) *Département de Génétique Médicale, APH Marseille, France* ; (8) *Association Française des Conseillers en Génétique*  
 Contact : monteil.l@chu-toulouse.fr

La consanguinité au sein d'un couple justifie une consultation de conseil génétique. Néanmoins celui-ci ne semble pas toujours équivalent selon le praticien ou son centre d'exercice. Le risque de survenue des maladies génétiques de transmission autosomique récessive est augmenté de façon relative par rapport à la population générale dans la descendance des couples présentant un lien de parenté entre eux. Ainsi, l'objectif principal de la consultation est d'informer le couple quant à un risque relativement augmenté par rapport à la population générale de survenue d'une maladie héréditaire autosomique récessive dans leur descendance après l'avoir évalué au regard du degré de consanguinité et éventuellement des origines géographiques du couple. En fonction de ces informations, même en l'absence d'antécédent familial évocateur, des tests génétiques sont parfois proposés à ces couples pour rechercher une situation de risque avéré pour une ou plusieurs maladies autosomiques récessives pour lesquelles des kits d'analyses moléculaires d'un bon taux de couverture et d'une bonne sensibilité sont accessibles. Notre objectif ici est de faire un état des lieux des pratiques du conseil génétique en France pour motif de consanguinité. Pour ce faire, nous avons adressé un questionnaire électronique simple à tous les généticiens et les conseillers en génétique des centres de génétique médicale français. L'analyse et la synthèse des réponses vont nous conduire à décrire les différentes

pratiques du conseil génétique inter et intra centres. Celles-ci concernent la prescription ou non de tests génétiques, la nature et le nombre des analyses demandées. Nous tentons aussi d'évaluer quelles circonstances peuvent influencer ces différences. Les commentaires libres apportés en fin de questionnaires nous permettront de discuter les enjeux soulevés par ce conseil génétique.

**Mots-clés :** conseil génétique, consanguinité.

#### ■P192. EUROGENE : LE PREMIER SERVICE PANEUROPEEN DE FORMATION DANS LE DOMAINE DE LA GÉNÉTIQUE HUMAINE

F. Clerget-Darpoux, au nom du Consortium EUROGENE  
 INSERM, Université Paris-Sud, France  
 Contact : francoise.clerget@inserm.fr

Objectifs : EUROGENE est un projet financé par l'Union Européenne dans le cadre du programme « e-Content Plus ». Le but de ce projet est de mettre en place un portail européen de référence permettant de développer efficacement, par des outils d'intelligence artificielle, du matériel didactique multimédia de haute qualité en Génétique Humaine, et ceci dans plusieurs langues. Méthodes : Pour atteindre cet objectif, Eurogene a créé, dans le domaine de la Génétique Humaine, une ontologie, une hiérarchie de termes et tout un ensemble d'outils sur internet permettant de déposer, de trouver et de traduire des contenus numériques d'enseignement. Un partenaire peut fournir, dans des formats divers, du matériel éducatif au serveur Eurogene qui réalisera automatiquement les étapes suivantes : analyse du matériel, annotation des concepts clés à partir du thésaurus d'Eurogene et traduction dans différentes langues. Au moment où il envoie son matériel, le partenaire peut participer à son annotation en ajoutant le titre, l'auteur, le résumé, en sélectionnant le niveau d'enseignement et des mots-clés. Il peut également contrôler le bon déroulement du processus décrit précédemment et en corriger les sorties. Les utilisateurs (enseignants ou étudiants) peuvent chercher un contenu éducatif en spécifiant une combinaison de sujets, mots clés, langue ou niveau de formation. Des options de recherche plus sophistiquées existent tels que choisir une présentation et chercher un contenu éducatif similaire, choisir un thème initial et final de formation et obtenir une ensemble ordonné de présentations à suivre. Résultats : Eurogene offre un accès partagé et la ré-utilisation de contenus éducatifs certifiés de qualité. Il permet de trouver des enseignements multimédia dans 9 langues Européennes, des enseignements organisés en modules thématiques, un accès à un outil de traduction automatique personnalisé au domaine de la Génétique Humaine, une gestion des connaissances et des technologies internet les plus récentes ainsi que l'intégration de contenus de sujets connexes (statistique, médecine, clinique...). Pour plus d'informations, voir le site [www.eurogene.eu](http://www.eurogene.eu) ou contacter Richard Stevens ([richard.stevens@eurogene.org](mailto:richard.stevens@eurogene.org))

**Mots-clés :** portail européen, enseignement numérique, multilinguisme.

#### ■P193. TESTS PRÉSYMPTOMATIQUES CHEZ LES MINEURS : INTÉRÊT DES CONSULTATIONS PRÉPARATOIRES DESTINÉES AUX PARENTS

K. Lahlou-Laforet (1), X. Jeunemaître (2, 3), S.M. Consoli (1, 3), A.P. Gimenez-Roqueplo (2, 3)

(1) *Service de Psychologie Clinique et Psychiatrie de Liaison, Hôpital Européen Georges-Pompidou, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Paris, France* ; (2) *Service de Génétique, Hôpital Européen Georges-Pompidou, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Paris, France* ; (3) *Université Paris-Descartes, Paris, France*  
 Contact : khadija.lahlou-laforet@egp.aphp.fr

Introduction La pratique des tests présymptomatiques chez les sujets mineurs se réfère au cadre légal, basé sur l'existence d'un bénéfice médical immédiat au moment du test. Les modalités de la réalisation de ces tests sont variables selon les équipes. Description de la procédure de test L'équipe multidisciplinaire du Département de Génétique de l'HEGP a procédé chez 34 enfants (âge moyen = 10,6 ans ± 1,9) au dépistage présymptomatique des tumeurs endocrines héréditaires (28), du syndrome d'Ehlers-Danlos vasculaire (5) et des cardiomyopathies hypertrophiques (1). 19 résultats ont déjà été rendus (12 positifs et 7 négatifs). La procédure est en cours pour 13 enfants et semble interrompue pour 2. La procédure comporte plusieurs étapes. La première étape préparatoire est destinée aux parents, qui sont informés de l'intérêt et des conséquences du test et peuvent réfléchir à leur décision dans un cadre multidisciplinaire. La seconde étape comporte la consultation avec le mineur, seul et en présence de ses parents. Le généticien et le psychiatre s'assurent de la bonne information du mineur et de son accord pour faire le test, et le prélèvement est alors

effectué. Lors de la troisième étape le généticien annonce le résultat au mineur en présence de ses parents et l'adresse, en cas de résultat positif, à un service spécialisé. Une consultation psychologique pour le mineur et ses parents est associée à cette annonce. Les parents sont revus un mois plus tard par le psychiatre s'ils le souhaitent. Notre expérience nous fait penser que la première étape préparatoire avec les parents est capitale pour le bon déroulement du test présymptomatique chez le mineur. Nous avons recherché des critères de bon déroulement en mesurant rétrospectivement la fréquence de leur respect dans le suivi des 19 enfants pour lesquels les résultats ont été rendus. Nous avons par ailleurs tenté de classer les 19 procédures en fonction du climat dans lequel l'annonce a été effectuée : bon déroulement (16/19), mauvais déroulement (3/19). La somme des 4 critères suivants est associée à un bon déroulement (test de Mann & Whitney  $p = 0,004$ ) : décision prise par les deux parents reçus en consultation préparatoire (14/19) ; conseils sur la façon d'en parler à l'enfant (15/19) ; le moment le plus propice pour pratiquer le test chez l'enfant a été discuté (13/19) ; ce moment se situe en dehors d'une période de bilan ou d'hospitalisation pour le parent porteur de la mutation (14/19). Conclusion L'expérience du test présymptomatique chez le mineur dans notre équipe a abouti à une procédure bien définie, mettant l'accent sur la phase préparatoire au test destinée aux parents, visant à leur donner l'assurance et la compétence nécessaires à l'accompagnement de leur enfant dans ce processus. Cette étude préliminaire permet d'envisager une étude prospective à plus grande échelle, visant à tester les critères de « bon déroulement » du test.

**Mots-clés :** test présymptomatique chez le mineur, consultation préparatoire pour les parents, consultation multidisciplinaire.

#### ■P194. FRENCH BIOETHICS LAW IN REVISION : WHAT CHALLENGES FOR GENETIC TESTING REGULATION?

G. Bertier (1, 2), E. Rial-Sebbag (1, 2), S. Julia (1, 3), P. Ducourneau (1, 2), A. Cambon-Thomsen (1, 2)  
(1) UMR Inserm, Université Paul Sabatier, U 558, Faculté de médecine, Toulouse, France ; (2) Plateforme « Génétique et société », GIS Genotoul, Toulouse, France ; (3) Service de génétique médicale, CHU Toulouse, France

Contact : cambon@cict.fr

Since 1994 in France, a bioethics law regulates genetic testing. It was revised in 2004 (a) and a new revision is planned for 2010. Debates and consultations at various institutional, professional and social levels are underway. We describe the principles underpinning the law, the present legal regulation and organization of genetic testing, the points of debate, factors that hamper efficient policy making in this domain. The law restricts the production and use of genetic information to medical, scientific and judiciary domains. The profession of "genetic counselor" was created in 2004. The main legal principles involved were separately identified in 2004. They include respect for human dignity, for privacy, for medical confidentiality, and right to access to one's origin. The balance between these fundamental principles is challenged by developments of genetic technologies, and their spreading throughout all social spheres. Five reports from national public bodies (b) and a general public consultation (c) were used as sources for this analysis (d). In the medical context, the debates focus primarily on modalities of disclosure of information in families, and on the conditions of validation of genetic tests, and the extension of their scope of use in procreation technologies and multifactorial diseases (e). Interestingly, the large scale production of genetic information was not a prominent feature in the general public debate. In the scientific context, secondary uses of samples and data and the power of identification of genetic information deriving from them are the main topics discussed. Direct to consumer (DTC) genetic tests are discussed separately, as their regulation has a national and an international level. Besides, the ability of a national law to regulate such a global phenomenon is also identified as a main challenge. Even if opinions differ on the matter, all bodies insist on the importance to regulate the quality of the tests, and to provide validated information. Proposals sometimes differ significantly among the bodies consulted. For instance, about family disclosure of genetic information, if the citizens consulted in the "États Généraux" view medical confidentiality as imperative, both the "Conseil d'État" and the National Biomedical Agency propose simplifications of procedures of disclosure in specific cases, and discuss the patient's responsibility. This analysis showed that a number of questions remained mainly discussed in professional arenas, such as the scope of action of genetic counselors, whereas others, like that of the availability of genetic tests on the internet raised interest among all actors of the debate. However, empirical data are still lacking in this domain in France. a) LOI n° 2004-800 du 6 août 2004 b)

OPECST, CCNE, Conseil d'Etat, Sénat, Agence de la biomédecine. c) [www.etatsgenerauxdelabioethique.fr](http://www.etatsgenerauxdelabioethique.fr) d) <http://societal.genotoul.fr/> e) "Tests génétiques" expertise collective de l'Inserm, 2008.

**Mots-clés :** éthique, loi, génétique.

#### ■P195. DÉMOGRAPHIE DES INTERNES DE GÉNÉTIQUE DE FRANCE

I. Marey (1, 2), S. Whalen (2), S. Bouquillon (2), C. Nava (2)  
(1) Génétique moléculaire, Hôpital Cochin, Paris, France ; (2) Société des internes de génétique de France  
Contact : misa.asi@free.fr

Depuis sa création en 1995, le Diplôme d'Études Spécialisées de « Génétique Médicale, clinique, chromosomique et moléculaire » (DES 48) permet aux internes de médecine choisissant de se spécialiser en Génétique, d'acquiescer une formation globale dans cette spécialité. Lors des dernières Assises de Génétique Humaine et Médicale en 2008, nous présentions la démographie des jeunes généticiens issus de ce DES, avec 64 inscrits depuis sa création. Nous présentons ici un état des lieux 2 ans plus tard. Depuis janvier 2008, 7 internes ont choisi le DES de génétique médicale, ce qui porte à 71 le nombre total d'internes inscrits depuis 1995, date de la création de ce diplôme. Par ailleurs, 10 internes ont terminé leur cursus lors de ces 2 dernières années, et 23 sont actuellement en cours de formation au niveau national. Sur le plan géographique, on retrouve 3 internes à Paris, à Bordeaux et à Strasbourg, 2 internes à Lille, Rennes, Poitiers, Montpellier, 1 interne à Lyon, à Rouen. La plupart des internes souhaitent s'orienter vers la génétique clinique ou vers une activité mixte de clinique et de biologie moléculaire ou de cytogénétique. Six internes sont intéressés par une activité de foetopathologie. Deux internes souhaitent s'orienter spécifiquement vers l'oncogénétique. La plupart des internes complètent leur formation médicale par une formation en recherche à travers la réalisation d'un Master 2, et près de la moitié poursuivent par une thèse de science, après leur internat. Cette mise à jour de la situation des jeunes généticiens et des anciens internes du DES de génétique 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. 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 génétique, interne, démographie.

#### ■P196. LES ENJEUX ÉTHIQUES DU TOURISME PROCRÉATIF DANS LE CONTEXTE DES DIAGNOSTICS GÉNÉTIQUES ANTÉNATAUX

V. Couture, C. Bouffard  
Service de génétique, département de pédiatrie, Faculté de médecine et des sciences de la santé de l'Université de Sherbrooke, Sherbrooke, Québec, Canada  
Contact : chantal.bouffard@usherbrooke.ca

Le tourisme procréatif peut être défini comme le déplacement d'une personne d'une institution, d'une juridiction ou d'un pays vers d'autres institutions, juridictions ou pays lorsque certains services d'assistance médicale à la procréation (AMP) leur sont inaccessibles ou interdits (Pennings, 2002). Depuis peu, le tourisme procréatif suscite l'intérêt de la communauté scientifique en raison de la profondeur des enjeux éthiques, juridiques et sociaux qu'il soulève. Inscrite dans une économie de marché qui favorise le « direct-to-consumer genetic testing », cette réponse sociale à la régulation de l'AMP demeure peu étudiée. Le plus souvent, les travaux sur le tourisme procréatif abordent le sujet d'une façon générale. D'un point de vue éthique, on s'y intéresse surtout sous l'angle de l'infertilité, du « family balancing » et du « social sex selection », et ce, malgré l'importance croissante de la place que prennent les diagnostics génétiques anténataux. Replacés dans le cadre des mouvements transnationaux, ceux-ci demandent à ce que nous nous interroguions sur les enjeux bioéthiques et socioéthiques du tourisme procréatif lié à la génétique. Méthodologie : Analyse de la littérature éthique, des lignes directrices et des documents normatifs portant sur le tourisme procréatif. Résultats : Comme mentionné plus haut, la grande majorité des écrits sur le tourisme procréatif brosse un portrait général de la situation. Pourtant, si le phénomène est décrit, très peu de recherches visent à le comprendre et le décrire. De plus, on n'y distingue pas toujours le tourisme procréatif visant à pallier l'infertilité, de celui qui repose sur le diagnostic des maladies héréditaires et des anomalies génétiques ou chromosomiques. Pourtant, ce dernier type de tourisme procréatif soulève des problèmes éthiques et logistiques qui lui sont



propres. Par exemple, on n'a qu'à penser aux enjeux transculturels du conseil génétique tant au niveau linguistique, moral que symbolique. La reconnaissance, par les équipes médicales locales, des services offerts à l'étranger, ainsi que la couverture des séquelles psychologiques et des problèmes de santé découlant des diagnostics anténataux doivent aussi être considérées. Conclusion : Dans le contexte des diagnostics génétiques anténataux, le croisement des technologies de la reproduction et de la génétique repose sur une offre de services qui s'adresse à une clientèle spécifique, motivée par des impératifs et des besoins différents des acteur(trice)s qui utilisent le tourisme procréatif pour des questions relatives à l'infertilité et à la vente de gamètes et d'embryons. Les diagnostics génétiques ayant d'autres finalités que l'AMP visant à donner des enfants, ces particularités appellent à une réflexion éthique qui se doit de prendre en considération les besoins et les univers moraux et politico-économiques relatifs aux clientèles visées et aux types de pratiques sollicitées.

**Mots-clés :** tourisme reproductif, diagnostics génétiques anténataux, bioéthique.

#### ■P197. NEUROFIBROMATOSE DE TYPE 1 ET SYNDROME DE PROTÉE : UNE CONFUSION QUI PERDURE

C.M. Legendre, C. Charpentier-Côté, R. Drouin, C. Bouffard  
Service de génétique, département de pédiatrie, Faculté de médecine et des sciences de la santé de l'Université de Sherbrooke, Sherbrooke, Québec, Canada  
Contact : chantal.bouffard@usherbrooke.ca

En 1986, Tibbles et Cohen ont montré que Joseph Merrick, plus connu sous le nom d'Elephant Man, souffrait du syndrome de Protée et non de la neurofibromatose de type 1 (NF1), comme l'avait affirmé le dermatologue Parkes en 1909. À l'heure actuelle, des critères cliniques bien établis et des tests génétiques fiables rendent possibles le diagnostic de la NF1 et, par conséquent, la différenciation de ces deux maladies. Pourtant, la confusion perdure, alors que la NF1, avec une prévalence de 1/3 000, est une des maladies génétiques les plus répandues au monde et que le syndrome de Protée est une maladie extrêmement rare, avec une prévalence inférieure à 1/1 000 000. Méthodologie – Ethnographie : revue de la littérature (112 documents de la littérature scientifique, éthique et de la presse papier et électronique), observation participante, entrevues informelles (médecins, patients, proches). Résultats † Nos résultats montrent que plusieurs médias et beaucoup de médecins confondent la NF1 et syndrome de Protée. Même le Stedman's Medical Dictionary donne encore deux définitions de la maladie, l'une associée au Syndrome de Protée et l'autre à la NF1. Enfin, certains médecins croient que cette confusion sert la cause de la NF1 en faisant connaître la maladie. Par conséquent, la NF1 reste peu connue du grand public et des professionnels de la santé. Cependant, selon ce que nous rapportent les patients et leurs proches, cette association contribue à la désinformation concernant la maladie, alimente les préjugés envers le patient(e)s atteint(e)s, aggravant ainsi les impacts de la maladie sur leur qualité de vie, leur développement cognitif, leur image d'eux-mêmes, la perception des autres sur ce qu'ils sont et leurs décisions en matière de procréation, tout en les privant de soins et de conseil génétique adéquats. Conclusion – D'un point de vue médical et éthique, même si plusieurs des médecins qui enseignent et pratiquent aujourd'hui ont été formés avant la découverte de Tibbles et Cohen, il est difficile de justifier une confusion qui a d'importantes répercussions cliniques et psychosociales pour les patient(e)s atteint(e)s et leurs familles. Si les associations appellent leurs membres à sortir de l'ombre, ils interpellent aussi la communauté médicale et scientifique afin qu'elle contribue à ce que la NF1 soit mieux connue et reconnue.

**Mots-clés :** neurofibromatose, Elephant Man, bioéthique.

#### ■P198. CONSENTEMENT DE COMPLAISANCE VS LIBRE EXERCICE DE L'AUTONOMIE : LES CONDITIONS DE PARTICIPATION DES ADOLESCENTS ATTEINTS DE NEUROFIBROMATOSE À LA RECHERCHE EN SCIENCES SOCIALES

C.M. Legendre, R. Drouin, C. Bouffard  
Service de génétique, département de pédiatrie, Faculté de médecine et des sciences de la santé de l'Université de Sherbrooke, Sherbrooke, Québec, Canada  
Contact : chantal.bouffard@usherbrooke.ca

L'autonomie de la personne est au cœur des préoccupations de l'éthique de la recherche en génétique. Ceci est particulièrement vrai lorsque les participants sont des personnes mineures. Cependant, si les risques encourus dans le cadre de la recherche biomédicale diminuent la probabilité qu'un parent contraigne son enfant à participer à une étude, il en est autrement dans le domaine des sciences humaines et sociales. Les risques

et les inconvénients de ce type de recherche n'étant pas forcément évidents, les enfants peuvent être assujettis à l'influence, même bien intentionnée, de leurs parents. Comme nous avons pu le constater lors de nos recherches sur le dialogue intergénérationnel entre les personnes atteintes de neurofibromatose, la volonté des parents de faire avancer la recherche peut parfois supplanter l'intérêt de leur enfant. Cette situation est particulièrement vraie pour les enfants et les adolescents atteints de la Neurofibromatose (NF) parce que, de part les caractéristiques physiques et psychosociales de leur maladie, ils sont particulièrement vulnérables à l'influence de leurs proches. Méthodologie – Ethnographie (entrevues et observation participante) Résultats – D'abord, il est important de noter que la littérature éthique nationale et internationale insiste sur la nécessité d'un consentement libre de toute contrainte et de toute influence excessive. Elle met aussi les chercheurs en garde contre les rapports d'autorité. Or, bien que le Rapport du Comité international de bioéthique de l'UNESCO et que l'Énoncé de politique des trois conseils du Canada donnent des exemples de relation d'autorité pouvant avoir des influences sur l'exercice du libre choix (milieu militaire, étudiant, etc.) dans le contexte de la recherche, aucun ne tient compte de la relation d'autorité entre les parents et leurs enfants. Ensuite, comme les risques encourus par les sujets qui participent à des recherches qualitatives sont pratiquement nuls, la volonté des parents de voir s'améliorer les conditions de vie de leur enfant peut supplanter le pouvoir d'autonomie accordé aux adolescents en matière de consentement. Dans le cas de la NF, cette volonté est exacerbée par la rareté des études psychosociales et des recherches biomédicales. Dans ces conditions, nous nous sommes interrogés sur la qualité du consentement des adolescents atteints de NF lorsqu'ils acceptaient de participer à nos recherches. Surtout que leur maladie fait en sorte qu'ils ont une propension à vouloir plaire et une capacité d'empathie plus élevées que la normale. Conclusion – D'un point de vue éthique, il importe de considérer que s'il est peu probable que le refus d'un enfant à participer à une étude puisse être à l'origine d'une sanction, la relation parents/enfants demeure une relation hiérarchique où les parents sont en position d'autorité. D'un point de vue scientifique, il est aussi nécessaire de s'interroger sur les réels bénéfices d'un consentement de complaisance.

**Mots-clés :** éthique de la recherche, consentement des mineurs, neurofibromatose.

#### ■P199. PROSPECTIVES ÉTHIQUES SUR LES IMPACTS DES TESTS DE DIAGNOSTIC ANTÉNATAL FAITS À PARTIR DE CELLULES FŒTALES CIRCULANT DANS LE SANG MATERNEL (CFCSM)

C. Bouffard, A. Ducos, K. Krachi, R. Drouin  
Service de génétique, département de pédiatrie, Faculté de médecine et des sciences de la santé de l'Université de Sherbrooke, Sherbrooke, Québec, Canada  
Contact : chantal.bouffard@usherbrooke.ca

À partir d'une simple prise de sang, les femmes enceintes pourraient un jour recourir à un diagnostic anténatal non invasif fait à partir des cellules fœtales circulant dans leur sang. Pratiqué au premier trimestre, cette forme de diagnostic permettrait de savoir si un fœtus présente des anomalies chromosomiques et génétiques, sans recourir à des techniques invasives comme l'amniocentèse ou la choriocentèse. En revanche si, d'un point de vue bioéthique, cette approche semble plus acceptable, elle pose des problèmes socioéthiques qu'il convient d'analyser d'une façon prospective. Méthodologie – Ethnographie : Analyse de la littérature scientifique et éthique sur le diagnostic des CFCSM Analyse transdisciplinaire des résultats. Résultats : Les rares articles qui traitent des aspects éthiques concernant les tests faits sur les CFCSM, ne font pas la distinction entre ce qui relève de l'ordre du social et de l'ordre du biomédical. Pourtant, une analyse transdisciplinaire nous a permis de distinguer quatre niveaux de réalité qu'il convient d'analyser. D'abord au niveau de la réalité biomédicale, cette forme de diagnostic anténatal est simple, non invasive, plus précoce et donc, moins anxiogène. De plus, elle élimine le problème du risque de perte fœtale et permet de laisser plus de temps pour réfléchir à l'issue de la grossesse. Par conséquent, elle a des effets bénéfiques immédiats au niveau de réalité bioéthique. Cependant, au niveau de la réalité socioculturelle, le diagnostic fait à partir des CFCSM pourrait conduire à de nombreuses dérives socioéthiques. Les sélections pour des raisons sociales ou culturelles basées sur le sexe fœtal, le « family balancing » et le marché du « direct-to-consumer genetic testing » au moyen d'internet en sont des exemples. Dans ces conditions, une analyse éthique qui ne tiendrait pas compte de ces divers niveaux de réalité ne permettrait pas d'identifier les différences qui existent entre ces quatre niveaux. Conclusion : Même si le diagnostic fait à partir des CFCSM n'est pas encore accessible, selon toute probabilité, il pourrait être introduit sous peu en milieu clinique. Comme



on peut l'imaginer, il pourrait être favorablement accueilli par la plupart des femmes et couples. C'est pourquoi, il importe de bien identifier les populations concernées par les problèmes socioéthiques soulevés dans notre étude. Dans une démarche ultérieure, il faudrait aussi explorer le désir individuel d'accès aux informations génétiques et les effets psychosociaux des tests anténataux directement offerts aux consommateurs(trice)s sur Internet. Plus encore, nous nous devons d'étudier les pressions sociales exercées par, et sur, les femmes enceintes et, plus généralement, la place des handicapés intellectuels dans nos sociétés.

**Mots-clés :** diagnostic anténatal sur les cellules fœtales, bioéthique, transdisciplinarité.

## Gènes, chromosomes et cancer

### ■P200. EXPRESSION D'ATM DANS DES LIGNÉES LYMPHO-BLASTOÏDES ÉTABLIES CHEZ DES ENFANTS ATTEINTS D'ATAXIE TÉLANGIECTASIE ET PORTANT AU MOINS UNE MUTATION FAUX-SENS DU GÈNE ATM

S. Jacob (1, 2), C. Dubois D'Enghien (1), A. Laugé (1), M. Debré (3), F. Rivier (4), N. Philip (5), D. Stoppa-Lyonnet (1, 2, 6), M.-H. Stern (1, 2)

(1) Service de Génétique Oncologique, Institut Curie, Paris, France ; (2) Unité INSERM U830, Institut Curie, Paris, France ; (3) Unité Immuno et Hématologie, Hôpital Necker, Paris, France ; (4) Service de Neuropédiatrie, CHU Montpellier-Hôpital St-Éloi, Montpellier, France ; (5) Centre de Diagnostic Prénatal, Hôpital d'Enfants de la Timone, Marseille, France ; (6) Université Paris Descartes, Paris, France  
Contact : catherine.dubois-denghien@curie.net

L'ataxie télangiectasie (A-T) est une maladie génétique rare caractérisée par un syndrome cérébelleux, des télangiectasies, un déficit immunitaire, une instabilité chromosomique, une sensibilité aux radiations ionisantes et une prédisposition aux cancers. L'A-T est liée à l'inactivation bi-allélique du gène ATM. Environ 70 % des mutations conduisent à l'introduction d'un codon stop. En revanche, près de 20 % d'entre elles sont des faux-sens dont le retentissement sur la perte de fonction de la protéine n'est pas toujours établi. Une lignée lymphoblastoïde a été établie chez 16 enfants, a priori non apparentés, présentant un tableau évocateur d'A-T et porteurs d'au moins une mutation ATM faux-sens. Une diminution importante de l'expression protéique d'ATM a été observée dans 11 cas (dans 5 cas, taux quasi nul, dans 6 cas, taux de 10 à 40 %). La diminution de l'expression d'ATM n'était pas liée à une diminution des transcrits, situation attendue si la mutation nucléotidique, interprétée comme un faux-sens, était en fait une anomalie d'épissage conduisant à un transcrit instable. L'analyse de la localisation subcellulaire d'ATM dans les 6 lignées présentant une expression diminuée a mis en évidence dans 5 cas une expression exclusivement cytoplasmique alors qu'elle est physiologiquement en proportion égale dans les compartiments nucléaires et cytoplasmiques. Dans ces 5 cas, (dont deux présentant la même mutation à l'état homozygote), il s'agissait de mutations localisées dans une région conservée, entre les domaines kinase et FAT et en dehors du signal de localisation nucléaire (NLS) : c.8737G>T ; p.Asp2913Tyr, c.7985T>A ; p.Val2662Asp et c.7879T>C ; p.Tyr2627His. La diminution de l'expression protéique d'ATM et son absence d'expression dans le noyau, localisation essentielle à son activité, sont en faveur du caractère délétère de ces 3 mutations faux-sens. L'analyse de l'expression d'ATM et de sa localisation peut ainsi contribuer à établir le caractère délétère de nouveaux variants, éléments déterminant pour le diagnostic de la maladie.

**Mots-clés :** ataxie télangiectasie, faux-sens, expression diminuée.

### ■P201. DÉLÉTIONS DU GÈNE LMP1 DE L'ÉPSTEIN BARR VIRUS ET CARCINOMES DU NASOPHARYNX

H. Toumi (1), F. Farah (1), H. Nehdi (2), H. Ayari (1), L. Hila (3), S. Ben Jilani (1)

(1) Service d'anatomie et de cytologie pathologiques, EPS Charles-Nicolle, Tunis, Tunisie ; (2) Section de génétique, faculté de médecine de Tunis, Tunisie ; (3) Laboratoire de neurobiologie moléculaire et neuropathologie, Institut de Neurologie La Rabta, Tunisie  
Contact : lamia\_hila@yahoo.fr

Introduction : Les carcinomes du nasopharynx sont des cancers particuliers au sein des cancers de la sphère oto-rhino-laryngologique en raison de leurs étiologies multifactorielles et de leur distribution géographique caractéristique. En Tunisie, ils posent un problème de santé publique. Le gène BNLF1, codant pour la protéine LMP1, issu de biopsies de carcinomes du nasopharynx montre des variations structurales et fonctionnelles incluant

des substitutions de plusieurs bases dans la région du promoteur et de la séquence codante, des délétions de 30 paires de bases et de 15 paires de bases, l'insertion de répétitions de 33 paires de bases dans le domaine C-terminal...

Objectifs du travail : Nous nous sommes proposé de rechercher, la présence de ce gène à la recherche de délétions et en particulier la délétion 30 pb, dans une série de cancers du nasopharynx du type UCNT majoritairement fréquent en Tunisie, afin d'estimer la fréquence de celle-ci dans notre série en comparaison avec les études de la littérature.

Matériel et méthodes : L'étude a été réalisée à partir d'ADN viral, extrait de 34 biopsies incluses en paraffine, de patients présentant un carcinome indifférencié du nasopharynx de type III (UCNT). 13 biopsies de cavum normal (adressés pour suspicion de NPC dont l'analyse histologique a infirmé la présence de toute malignité nasopharyngée) ont été utilisées comme témoins. Ces échantillons diagnostiqués au service d'anatomie et de cytologie pathologiques de l'EPS Charles Nicolle de Tunis, ont été colligés sur une période de cinq ans (2002-2007). Les échantillons ont été amplifiés à l'aide d'amorces flanquant la délétion 30 pb, au niveau de la partie carboxyterminale du gène LMP1, ont été utilisées.

Résultats : Le pourcentage de détection du gène LMP1 dans notre série était de 47 %. Aucune délétion n'a été rapportée au niveau des tissus nasopharyngés sains. Pour les tissus cancéreux, nous avons observé 13 délétions 30 pb (224 pb), une délétion 69 pb (185 pb). Seuls deux individus ont présenté la forme sauvage du gène LMP1 (254 pb).

Le pourcentage de délétion pour notre série était de 87,5 %. La délétion 30 pb représentait 81,25 % et la délétion 69 pb, 6,25 % des cas.

Discussion : L'EBV est quasi associé au carcinome nasopharyngé de type indifférencié (UCNT) connu pour son agressivité. La protéine LMP1 est considérée comme l'oncoprotéine majeure dans sa forme délétée de 30 paires de bases (del-30 Pb LMP1).

Des études rapportent une association entre délétion et risque élevé de survenue de NPC. Certaines études trouvent des fréquences plus importantes pour la forme sauvage, de l'ordre de 90 %. D'autres sont comparables à la notre (études marocaine et chinoise). Une autre étude Tunisienne (originaire du centre du pays) rapporte une fréquence supérieure.

Une étude Malaisienne récente rapporte des résultats comparables aux nôtres, en effet, la fréquence de délétion au niveau des tissus cancéreux était très élevée (55,9 %) par rapport au tissu non malin (0 %). De même cette fréquence était inférieure en comparaison aux études malaisiennes précédentes. Pour la délétion 69 pb, nos résultats sont conformes à ceux de la littérature.

Conclusion : La littérature, met l'accent sur la variabilité de la répartition et de l'association de cette délétion à l'UCNT. Ceci serait dû à une distribution géographique ou ethnique liée à des facteurs environnementaux et génétiques. Notre travail est en cours pour vérifier la corrélation entre cette variante de la LMP1 et l'UCNT, estimer sa fréquence réelle dans notre pays.

**Mots-clés :** Carcinomes du nasopharynx, del LMP1, EBV.

### ■P202. CARCINOMES À CELLULES CLAIRES PRÉSENTANT DES PROFILS CYTOGÉNÉTIQUES EN FAVEUR D'UN DIAGNOSTIC D'UN AUTRE SOUS-TYPE DE CARCINOME À CELLULES RÉNALES : À PROPOS DE 4 CAS

B. Hoch (1, 3), J. Haudebourg (2), T. Fabas (1, 3), N. Cardot-Leccia (2), F. Burel-Vandenbos (2), A. Vieillefond (4), M. Gigante (5), J.F. Michiels (2), F. Pedetour (1, 3)

(1) Laboratoire de génétique des tumeurs solides, Université de Nice, France ; (2) Département d'anatomie pathologique, CHU de Nice, France ; (3) CNRS, UMR 6543, Faculté de Médecine, Université de Nice, Sophia-Antipolis, France ; (4) Département d'anatomie pathologique, Hôpital Cochin, Paris, France ; (5) Département d'Urologie, CHU de Nice, France  
Contact : bigben.hoch@gmail.com

Les carcinomes à cellules rénales (CCR) représentent 3 % des cancers de l'adulte. Il s'agit d'un groupe morphologiquement hétérogène incluant dix entités décrites dans la classification de l'OMS de 2004. Les deux sous types les plus fréquemment observés sont les carcinomes à cellules claires (ccCCR) (80 %) et les carcinomes papillaires (pCCR) (15 %). Chaque sous type présente des caractéristiques histologiques, biologiques, une histoire naturelle et un pronostic spécifique. Dans la grande majorité des cas, l'examen histologique seul suffit au diagnostic positif des différents sous types histologiques de CCR. L'immunohistochimie peut aider à caractériser ces tumeurs. Cependant, approximativement 7 % des tumeurs rénales demeurent inclassées selon les critères définis par l'OMS en 2004. Les CCR présentent généralement des anomalies chromosomiques numériques ou structurales simples et récurrentes utiles à la caractérisation des



différents sous types histologiques. La perte partielle ou totale du chromosome 3 est l'anomalie caractéristique des carcinomes à cellules claires, tandis que les tumeurs papillaires présentent des gains de matériel génétique intéressant les chromosomes 7 et 17, associés à la perte du chromosome Y chez l'homme. Nous vous présentons ici 3 cas issus de notre travail, dont l'histologie présentait à la fois des caractéristiques de carcinomes à cellules claires et de carcinomes papillaires de part la présence, à la fois, d'une cytologie de type carcinome à cellules claires, et d'une architecture comportant un pourcentage variable de structures papillaires (5 % à 100 %). Selon les critères établis par la classification de l'OMS de 2004, le diagnostic initial était celui carcinome à cellules claires pour 1 cas et carcinome inclassé pour les 2 autres. La réalisation d'analyses immunohistochimiques et cytogénétiques conventionnelles et moléculaires incluant notamment l'utilisation de puce à très haute résolution (SNP array) ont permis de poser le diagnostic de carcinome papillaire dans deux cas et de révéler un profil hybride papillaire/cellules claires dans un cas. Nous vous présentons un autre cas, chez un patient de 54 ans, dont l'histologie est caractéristique d'un carcinome à cellules claires, mais dont l'analyse du caryotype complétée d'une étude en FISH a révélé un carcinome à translocation Xp11.2, une entité rare chez l'adulte et dont l'incidence est probablement sous estimée en raison de l'absence de réalisation systématique d'analyse cytogénétique des CCR.

**Mots-clés :** carcinome à cellules rénales, SNP array, carcinome à translocation MITF/TFE.

### ■P203. DÉVELOPPEMENT D'UNE STRATÉGIE DE DIAGNOSTIC MOLÉCULAIRE DES TUMEURS DU REIN DE CLASSIFICATION HISTOLOGIQUE DIFFICILE

S. Reynaud (1, 2)\*, S. Arrufat (1, 2)\*, V. Molinié (3), A. Vieillefond (4), O. Delattre (1, 2), G. Pierron (1, 2), J. Couturier (1, 2)

(1) *Service de Génétique oncologique, Unité de Génétique somatique/Cytogénétique, Institut Curie – Hôpital, Paris, France* ; (2) *Plateforme Hospitalière de Génétique Moléculaire INCa, Institut Curie – Hôpital, Paris, France* ; (3) *Service d'Anatomie pathologique, Hôpital Saint-Joseph, Paris, France* ; (4) *Service d'Anatomie pathologique, Hôpital Cochin, Paris, France*

\* participation égale au travail

Contact : jerome.couturier@curie.net

Les tumeurs à cellules rénales forment un groupe hétérogène constitué essentiellement des carcinomes à cellules claires (75 % des cas) et des carcinomes papillaires de type 1 (10 %), de diagnostic histologique en règle aisé. Environ 10 % des tumeurs rénales posent des problèmes de classification, voire de diagnostic de malignité, en raison de caractéristiques histologiques combinées ou chevauchantes entre les types, d'une morphologie inhabituelle, ou de l'expression ambiguë de marqueurs immunohistochimiques. Les anomalies chromosomiques caractérisant les principaux types de tumeurs rénales ont permis de préciser la classification ; celles-ci se répartissent globalement en types à déséquilibres génomiques systématisés, et types à translocations de gènes TFE (famille MiT), pour les carcinomes juvéniles. L'analyse caryotypique permet d'identifier les anomalies chromosomiques caractéristiques, mais elle est inappropriée au diagnostic de routine. L'analyse systématique de plus de 50 tumeurs non à cellules claires, non papillaires de type 1, dans le cadre de la Plateforme Hospitalière de Génétique Moléculaire INCa de l'Institut Curie, nous a permis de montrer qu'une stratégie utilisant soit la RT-PCR, soit la FISH, soit la CGH-array, selon les indications, permettait une classification de ces tumeurs de diagnostic difficile. Les tumeurs potentiellement à déséquilibres génomiques ont été analysées par CGH-array (support NimbleGen 72K ; résolution moyenne 40 kb). Cette analyse pangénomique a permis la reconnaissance de déséquilibres caractéristiques de différents types tumoraux. Carcinomes chromophobes : pertes combinées des chromosomes 1, 2, 6, 10, 13, 17, 21. Carcinomes tubulo-mucineux : pertes des 1, 4, 6, 8, 9, 13, 14, 15, 22. Oncocytomes : absence de déséquilibres, ou bien perte de 1, de 14, et d'Y. Les carcinomes juvéniles sont caractérisés par deux types de translocations. Le premier implique le gène TFE3 situé en Xp11.2, qui peut être transloqué aux gènes PRCC, ASPSCR1, PSF, NONO, ou CLTC, respectivement localisés en 1q21, 17q25, 1p34, Xq12, ou 17q23. Le second implique TFEB, situé en 6p21, placé sous la dépendance de l'activité promotrice du gène Alpha, localisé en 11q13. Nous avons développé le diagnostic moléculaire de ces remaniements. Pour les translocations TFE3, une RT-PCR multiplexe en temps réel permet de tester en une seule étape l'ensemble les variants connus, tandis que pour les t(6;11)(p21;q13) une analyse par FISH mettra en évidence les altérations du locus TFEB. Ainsi, le développement d'un panel de techniques applicables en routine doit permettre de classer les types tumoraux de diagnostic histologique difficile quelque soit le type de prélèvement

disponible. L'intégration progressive des données issues de la génétique moléculaire devrait permettre à terme d'optimiser la prise en charge des patients, par une meilleure évaluation du pronostic et la possibilité de la détermination de l'éligibilité à une thérapeutique spécifique.

**Mots-clés :** rein, cancer, chromosome.

### ■P204. ANALYSE PANGÉNOMIQUE DES CHORIOCARCINOMES POST-MOLAIRES PAR CGH-ARRAYS HAUTE RÉOLUTION (244,000 K)

H. Poaty (1, 2), P. Coullin (2), J.J. Candelier (2), A.L. Diata (3), J.M. Afoutou (3), E. Leguern (4), S. Prévot (2), C. Gombé (5), J.F. Peko (5), J.Y. Picard (2), A. Bernheim (1)

(1) *Laboratoire de génomique cellulaire des cancers, FRE 2939 CNRS, Institut Gustave-Roussy, Villejuif, France* ; (2) *INSERM U782, Endocrinologie et génétique de la reproduction et du développement, Clamart, France* ; (3) *Laboratoire de cytogénétique et de la reproduction et service d'obstétrique, Hôpital Ledantec, Dakar, Sénégal* ; (4) *UF de neurogénétique moléculaire et cellulaire, Hôpital de la Salpêtrière, Paris, France* ; (5) *Service de carcinologie et d'anatomopathologie, CHU Brazzaville, Congo*

Contact : poaty\_henriette

Les môles hydatiformes complètes (MHC) sporadiques caractérisées par l'absence d'embryon, et une dégénérescence des villosités placentaires ont majoritairement une étiologie androgénique. Elles résultent de la fécondation d'un ovocyte dont le pronucléus maternel est inactif ou absent. L'incidence de la MHC dans les pays « en voie de développement » est élevée et le risque d'évolution vers le choriocarcinome y représente un important problème de santé publique. Les CHM sont « diploïdes » et pour 10 d'entre elles que nous avons étudiées par CGH métaphasique, nous n'avons observé aucun gain ou perte chromosomique. Dans l'hypothèse où la cancérisation de certaines môles est le corollaire de désordres chromosomiques acquis, nous avons recherché si les choriocarcinomes post-molaires présentaient des anomalies cytogénétiques récurrentes suggérant la perte d'anti-oncogènes ou le gain d'oncogènes spécifiquement impliqués dans cette dérive et les diverses formes d'agressivité observées. Par CGH métaphasique, puis par la technique CGH-arrays comprenant 244,000 oligonucleotides (Agilent), nous avons étudié 11 choriocarcinomes post-molaires et 3 lignées cellulaires de choriocarcinome. Pour les choriocarcinomes, la certitude du diagnostic a été au préalable vérifiée par histopathologie. L'étiologie androgénique et l'absence de contamination de l'ADN tumoral par l'ADN maternel l'ont été par l'analyse de marqueurs microsatellites. Ces analyses ont permis d'observer un certain nombre de remaniements chromosomiques sur les tumeurs, et davantage sur les lignées. Les chromosomes 1, 5, 8, 12, 14, 18, 20, X sont impliqués à divers degrés. Pour chaque bande chromosomique d'intérêt, une région minimale critique (MCR) a été définie, et des gènes candidats susceptibles de jouer un rôle dans l'oncogénèse du choriocarcinome, ont été recherchés. Ainsi sur le chromosome 14 une MCR en +14q32.2q32.3<100,26-101,22> de 0.96 Mb, avec un ratio de 1.74, contient parmi plus de 10 gènes, les gènes DIO3, DLK1 soumis à empreinte parentale et RTL1 qui est un gène de rétrotransposon ; sur le chromosome 20, une MCR en +20q11.2<32,34-34,90> de 2.5 Mb, avec un ratio de 1.7 contient parmi plus de 15 gènes, les gènes PROCR et MMP24 impliqués dans les pertes fœtales et le développement embryonnaire ; sur le chromosome X, la MCR -Xp22.2p21.3<12,57-25,24> de 12.6 Mb, avec un ratio de 0.4 contient parmi plus de 25 gènes, les gènes PRDX4 et CNKSR2 : le premier est un facteur de transcription impliqué dans le développement embryonnaire précoce et le second est un possible régulateur des voies de signalisation de RAS. Dans le processus de cancérisation des môles, des dérèglements géniques conséquences d'anomalies chromosomiques se superposeraient aux déséquilibres initiaux d'expression des gènes soumis à empreinte. Le processus d'acquisition d'anomalies chromosomiques de la môle diploïde au choriocarcinome reste à déterminer sur des séries plus importantes.

**Mots-clés :** choriocarcinome post-molaire, CGH arrays haute résolution.

### ■P205. CARACTÉRISTIQUES CLINIQUES, HISTOLOGIQUES ET ÉPIDÉMIOLOGIQUES DE L'ASSOCIATION MÉLANOME ET CANCER DU REIN

E. Maubec (1, 2), V. Chaudru (1), H. Mohamdi (1), C. Théodore (3), H. Baumert (4), B. Escudier (5), A. Spatz (5), M.J. Terrier-Lacombe (5), S. Dalle (6), M. Doré (7), N. Dupin (8), F. Grange (9), A. Carlotti (8), E. Marinho (2), B. Crickx (2), J.J. Patard (10), T. Lesimple (11), B. Bressac-de Paillerets (5), F. Demenais (1), M.F. Avril (8)

(1) *INSERM U 946, Paris, France* ; (2) *APHU Hôpital Bichat, université Paris 7, Paris, France* ; (3) *Hôpital Foch, Paris, France* ; (4) *Hôpital Saint Joseph, Paris, France* ; (5) *Institut Gustave-Roussy, Villejuif, France* ; (6)

Hôpital Hôtel-Dieu, Lyon, France ; (7) Le Havre, France ; (8) Hôpital Cochin, université Paris 5, Paris, France ; (9) Centre hospitalier de Reims, France ; (10) Centre hospitalier de Rennes, France ; (11) Centre Eugène-Marquis, Rennes, France  
Contact : eve.maubec@bch.aphp.fr

De récentes études d'association pangénomiques ont montré que des régions communes du génome pouvaient être associées à plusieurs cancers, dont le mélanome(MM). Bien qu'un excès de mutations de CDKN2A(gène de prédisposition au MM) ait été identifié dans des familles à cas multiples de MM présentant des agrégations d'autres cancers(en particulier de cancers du pancréas), l'association de mutations germinales de CDKN2A avec la présence de MM et d'autres cancers au niveau individuel a été peu étudiée. Dans le cadre de la pratique clinique, il a été observé que les patients ayant un MM ont un risque accru de carcinome rénal(CR) et réciproquement qu'il existe un excès de MM chez les sujets ayant un CR. Le but de cette étude était de rechercher les facteurs de risque et les caractéristiques cliniques et histologiques des sujets présentant un carcinome rénal et un mélanome(CR+MM) ainsi que les mutations du gène CDKN2A. Quarante-deux patients présentant l'association CR+MM ont été recensés entre 1975 et 2008 à l'institut Gustave Roussy et dans 6 autres centres. Les données recueillies incluaient le sexe, l'âge et le stade AJCC au diagnostic pour chaque cancer ainsi que la survenue d'autres tumeurs chez le patient. Des informations sur les phénotypes pigmentaires, l'exposition au soleil, le phototype et les naevus étaient disponibles chez 76 % des cas. Ces données ont été comparées à 2 séries de MM ou CR tout venant à l'aide des tests du Chi-2 ou de Fisher pour les variables qualitatives, ou du test de Student pour les variables quantitatives. La première série(MM) incluait 293 patients non sélectionnés pris en charge entre 1986 et 1989 pour un mélanome et la deuxième série(CR) incluait 1 527 patients français ayant un CR. Des mutations de CDKN2A ont été recherchées pour tous les cas familiaux et tous les cas de MM multiples sporadiques. Vingt-trois hommes et 19 femmes avaient l'association CR+MM. Les CR étaient diagnostiqués après le MM dans 83 % des cas et étaient caractérisés par une forte proportion de tumeurs asymptomatiques au diagnostic (70 %). Les tumeurs de stade I étaient plus fréquentes chez les cas MM+CR par rapport aux cas CR seuls (61 % vs 40 %, p = 0,013). Comparés à la série MM, les patients CR+MM, étaient plus souvent des hommes (55 % vs 34 %, p = 0,008), étaient plus âgés au diagnostic du MM (56 vs 46 ans, p = 1,85).

**Mots-clés :** mélanome, carcinome rénal, CDKN2A.

#### ■P206. CORRÉLATION ENTRE MUTATIONS FRAMESHIFT DE GÈNES CIBLES ET INFILTRAT LYMPHOCYTAIRE DANS LES CANCERS COLORECTAUX À INSTABILITÉ MICROSATELLITAIRE

E. Fauquembergue (1), D. Tougeron (1, 2), P. Maby (1), F. Le Pessot (3), R. Sesboïe (1), J.C. Sabourin (3), P. Michel (2), M. Tosi (1), T. Frebourg (1), J.B. Latouche (1)

(1) Inserm U614, Institut Hospitalo-Universitaire, Faculté de Médecine, Université de Rouen, France ; (2) Unité de Dépistage et Traitement des Tumeurs Digestives, CHU de Rouen, France ; (3) Laboratoire de Génétique Somatique des Tumeurs, CHU de Rouen, France  
Contact : jean-baptiste.latouche@chu-rouen.fr

Les cancers colorectaux (CCR) avec instabilité microsatellitaire (MSI) ou phénotype RER (Replication Error), associés à une altération des gènes MMR (Mismatch Repair), sont caractérisés par un infiltrat lymphocytaire T important et un bon pronostic. Cette instabilité induit des mutations somatiques secondaires décalant le cadre de lecture de gènes cibles présentant des séquences répétées codantes. Ces mutations secondaires peuvent être impliquées dans l'oncogenèse des tumeurs MSI+, mais aussi dans la réponse immunitaire anti-tumorale développée localement, notamment du fait de l'apparition de néo-peptides potentiellement immunogènes. Afin de caractériser les principales mutations répondant à ces critères, nous avons analysé dans un premier temps, dans 61 CCR MSI+, 19 gènes cibles de l'instabilité microsatellitaire par PCR multiplexe fluorescente. Nous avons corrélé la présence de mutations avec le taux d'infiltration lymphocytaire T (CD3+) des tumeurs. Les quatre gènes les plus fréquemment mutés étaient ACVR2 (92 %), TAF1B (84 %), ASTE1/HT001 (80 %) et TGFBR2 (77 %). Le taux de lymphocytes infiltrant était associé avec le nombre total de mutations présentes dans la tumeur, et surtout avec les mutations de 2 gènes cibles : ASTE1/HT001 et PTEN (Modern Pathology, 2009 Sep ;22 :1186-95). Grâce à l'utilisation du TMA (Tissue Micro Array, véritable système de puces tissulaires) et de logiciels d'analyse d'images, nous caractérisons maintenant plus précisément l'infiltrat lymphocytaire observé dans cette première étude. Nous étudions la réponse immunitaire innée avec les marqueurs CD68 (monocytes/macrophages) et CD56 (cellules Natural Killer), ainsi que la réponse immunitaire adaptative avec les marqueurs CD20 et CD79a (lymphocytes B/plasmocytes), CD3

(lymphocytes T), CD8 (T cytotoxiques), CD4 (T auxiliaires), et FoxP3 (T régulateurs). Ce travail est réalisé sur une cohorte d'une centaine de CCR MSI+ incluant les 61 tumeurs de la première série. L'étude des mutations décalant le cadre de lecture est également complétée, et nous tenterons de corréler, de façon plus fine, les résultats des profils mutationnels avec les caractéristiques des différentes sous-populations lymphocytaires infiltrant les tumeurs. L'objectif est de définir quels néo-antigènes permettraient de développer une approche d'immunothérapie dans les CCR MSI+ s'intégrant en particulier à un syndrome de Lynch.

**Mots-clés :** cancer colorectal, instabilité microsatellitaire, infiltrat lymphocytaire.

#### ■P207. CARACTÉRISATION MORPHOLOGIQUE DE LA POLYPOSE ADÉNOMATEUSE ASSOCIÉE À UNE MUTATION BIALÉLIQUE DU GÈNE MYH, À PARTIR DE 9 CAS

P. Cuillière-Dartigues (1), J.F. Fléjou (1), Y. Parc (3), F. Coulet (2), C. Colas (2)

(1) Service d'Anatomie Pathologique, Hôpital Saint-Antoine, AP-HP, Paris, France ; (2) Laboratoire d'Oncogénétique et d'Angiogénétique, Groupe Hospitalier Pitié Salpêtrière, AP-HP, Paris, France ; (3) Service de Chirurgie Digestive, Hôpital Saint-Antoine, AP-HP, Paris, France  
Contact : chrystelle.colas@psl.aphp.fr

20 % des polyposes adénomateuses colorectales non mutées sur le gène APC, sont liées à des mutations bi-alléliques du gène MYH. Un phénotype « atténué » de la maladie, est rapporté, sans description histologique précise des lésions colorectales. Dans ce travail, nous avons caractérisé les lésions colorectales d'une série de patients MYH mutés, opérés dans notre centre. Il s'agissait de 9 patients (6 hommes, 3 femmes), âgés en moyenne de 47 ans (35-59 ans), opérés entre 2001 et 2006 : 4 coloproctectomies totales, 6 colectomies subtotaux, 1 résection sigmoïdienne, 4 polypectomies (2 duodénales, 1 de la papille, 1 colique) et 2 tumeursctomies hépatiques, ont été analysées. Le nombre moyen de polypes était de 183 par coloproctectomie totale (127-266) et de 64 par colectomie subtotale (34 - 175) ; leur taille variait de 1 à 70 mm. Ces polypes, disséminés, siégeaient majoritairement dans le côlon droit, étaient pédiculés, parfois sessiles, rarement plans. Il s'agissait d'adénomes, majoritairement tubuleux, parfois tubulovilloux et rarement villoux, jamais festonnés, en dysplasie de bas grade, avec pour certains, des foyers de haut grade en surface. 3 cas comportaient un polype hyperplasique. 11 Adénocarcinomes (ADK) étaient identifiés chez 7 patients (3 cancers synchrones dans 1 cas, 2 cancers synchrones dans 2 cas), localisés dans le côlon droit (5), le côlon transverse (1), le côlon gauche (1) et le recto-sigmoïde (4). Ils répondaient tous à des ADK lieberkuhniens bien et moyennement différenciés ; 3 avaient un contingent mucineux de 5, 20 et 30 % . Le stroma était le plus souvent de type « Crohn-like ». Le front d'invasion tumoral était expansif ou infiltrant. La taille tumorale variait de 20 à 60 mm. Deux cancers étaient stade pT1, 2 pT2 et 7 pT3. Un cas présentait des métastases ganglionnaires (N2). Les 2 segmentectomies hépatiques comportaient une métastase synchrone et une métastase métachrone, développée 4 ans après le diagnostic de CCR chez le patient N2. Cette étude de l'aspect morphologique des tumeurs intestinales développées dans le contexte rare de mutation du gène MYH, a montré une atteinte prédominante du côlon droit par des adénomes et adénocarcinomes sans caractères spécifiques. Enfin, contrairement à ce qui est évoqué dans la littérature, le diagnostic différentiel avec la polypose adénomateuse familiale « classique » due à une mutation du gène APC, ne semble pas pouvoir être facilité par l'étude immunohistochimique de la protéine MYH. Ces premiers résultats vont être étendus par l'étude de 12 nouveaux cas découverts depuis cette analyse.

**Mots-clés :** polypose, MYH, anatomo-pathologie.

#### ■P208. NOUVELLE ÉVIDENCE DE L'EXISTENCE D'ÉPIMUTATIONS HÉRITABLES DU GÈNE MLH1 COMME CAUSE DE SYNDROME DE LYNCH

M. Crépin (1\*), M.C. Dieu (1\*), S. Lejeune (2), F. Escande (1), D. Boidin (1), T. Lovecchio (1), A. Wacrenier (3), C. Lelarge (4), F. Lamarche (4), N. Porchet (1, 5, 6), S. Manouvrier (2, 6), M. Mathieu (7), M.P. Buisine (1, 5, 6)

(1) Pole de Biochimie et Biologie Moléculaire, Oncologie et Génétique Moléculaires, CHRU de Lille, France ; (2) Service de Génétique Clinique, CHRU de Lille, France ; (3) Pole d'Anatomie et Cytologie Pathologiques, CHRU de Lille, France ; (4) Cabinet d'Anatomie et Cytologie Pathologiques, Abbeville, France ; (5) INSERM U837, Centre de Recherche JP Auber, Équipe n° 5, Lille, France ; (6) Faculté de Médecine H. Warembourg, Université de Lille 2, Lille, France ; (7) Unité de Génétique Clinique et d'Oncogénétique, CHU d'Amiens, France

\* les auteurs ont contribué de manière équivalente au travail

Contact : marie-pierre.buisine@chru-lille.fr



Contexte : Des épimutations constitutionnelles des gènes de réparation des mésappariements de l'ADN ont été rapportées récemment comme pouvant être à l'origine de syndrome de Lynch. Cependant, il existe peu d'information quant à leur prévalence. De plus, le risque de transmission des épimutations du gène MLH1, ainsi que le risque pour les porteurs de ces épimutations de développer des cancers est actuellement peu connu. Patients et méthodes : Nous avons recherché la présence d'épimutations constitutionnelles des gènes MLH1 et MSH2 chez 130 patients du Nord-Pas-de-Calais et Picardie suspectés d'être atteints d'un syndrome de Lynch sans anomalie détectée dans les gènes MLH1, MSH2, MSH6 (mutation ou réarrangement exonique). Le profil de méthylation du promoteur des gènes MLH1 et MSH2 a été analysé par pyroséquence après traitement de l'ADN au bisulfite de sodium. Nous avons également recherché chez les patients la présence de délétions du gène EPCAM, une cause possible de méthylation du gène MSH2, par la technique de MLPA. Résultats : Nous avons identifié une épimutation constitutionnelle du gène MLH1 chez deux patients. Dans l'un des cas, nous montrons l'évidence d'une transmission maternelle à deux enfants ayant développé des tumeurs coliques à un âge précoce. L'allèle maternel porteur de l'épimutation n'a pas été hérité par les deux autres enfants testés. Dans une des tumeurs testées, l'épimutation était associée à la présence d'une mutation du gène BRAF. Aucune épimutation du gène MSH2 n'a été détectée dans notre étude. Au total, la fréquence des épimutations constitutionnelles était de 1,5 % dans notre population sélectionnée, indiquant que les épimutations des gènes MMR constituent une cause très rare de syndrome de Lynch dans le Nord de la France.

**Mots-clés** : syndrome de Lynch, méthylation, gènes MMR.

#### ■P209. CARACTÉRISATION DES FAMILLES DE SYNDROME DE LYNCH D'ORIGINE CANADIENNE-FRANÇAISE PORTEUSES D'UNE MUTATION DES GÈNES MMR

S. Nolet (1, 2, 3), I. Gorska (1, 2, 3), M. Breguet (2, 4), S. Côté (2, 4), N. Dumas (2), M.C. Binet (2), L. Gaboury (1, 2, 3), P. Hamet (2, 4), B. Maranda (5), G. Proulx (1), C. Wilmart (2, 4), C. Maugard (2, 6, 7, 8), C. Richard (2, 9), B. Panzini (2, 6, 10)

(1) Département de pathologie, Centre hospitalier de l'Université de Montréal (CHUM), Canada ; (2) Service médecine génique, Département de médecine, CHUM, Canada ; (3) Département de pathologie et biologie cellulaire, Université de Montréal, Canada ; (4) Centre de recherche du Centre hospitalier de l'Université de Montréal (CRCHUM), Canada ; (5) Service de génétique médicale, Département de pédiatrie, Département de biologie médicale, Centre hospitalier universitaire de Québec (CHUQ), Canada ; (6) Département de médecine, Université de Montréal, Canada ; (7) Institut du cancer de Montréal (ICM)/CRCHUM, Canada ; (8) Laboratoire de diagnostic génétique, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, France ; (9) Service de chirurgie digestive, Département de chirurgie, CHUM, Canada ; (10) Service de gastroentérologie, Département de médecine, CHUM, Canada

Contact : serge.nolet.chum@ssss.gouv.qc.ca

**INTRODUCTION** : Le syndrome de Lynch est la forme la plus commune de prédisposition héréditaire au cancer colorectal familial. Il a été associé à des mutations germinales des gènes MMR (mismatch repair) (MLH1, MSH2, MSH6 et PMS2) entraînant une perte d'expression de l'une ou l'autre de ces protéines ainsi qu'une instabilité des microsatellites dans le tissu tumoral. **OBJECTIFS** : Les buts de cette étude sont de caractériser les mutations germinales responsables du syndrome de Lynch dans les familles canadiennes-françaises (CF) recrutées à la Clinique des cancers familiaux et d'identifier les caractéristiques cliniques de ces familles afin d'établir une corrélation génotype-phénotype. **MÉTHODES** : Sélection des familles selon les critères d'Amsterdam ou de Bethesda révisés. Analyse de l'instabilité des microsatellites à partir d'ADN extrait des blocs tumoraux du cas-index et étude en immunohistochimie des protéines MLH1, MSH2, MSH6 et PMS2. Recherche de grands réarrangements génomiques par MLPA (MLH1 et MSH2). Recherche de mutations ponctuelles par séquençage des régions codantes et des jonctions intron-exon (MLH1, MSH2 et MSH6). **RÉSULTATS** : Sur 146 familles sélectionnées, 26 (18 %) présentaient une instabilité des microsatellites, 18 (12 %) ont été associées à une mutation germinale des gènes MMR. Quinze mutations distinctes ont été identifiées dont 7 sur MLH1, 6 sur MSH2, 1 sur MSH6, et 1 sur PMS2. Trois familles distinctes partagent la même mutation dans l'exon 19 de MLH1 (c.2195\_2198dupAACAA) et 2 autres la même mutation dans l'exon 1 de MSH6 (p.Q4X). Trente-trois pourcent des mutations germinales rencontrées (5/15) sont des délétions de grandes tailles, 2 sur MLH1 et 3 sur MSH2. Parmi les familles porteuses de mutations des gènes MMR, 12/18 (67 %) rencontraient les critères d'Amsterdam I ou II mais 6/18 (33 %) ne rencontraient que les critères de Bethesda révisés. Les deux familles qui ne présentaient aucun cancer extra-colique, avaient toutes

2 associées une mutation de MLH1. Les cancers de l'endomètre ont été retrouvés aussi bien dans les familles avec mutations de MLH1 (11 cas dans 7 familles), MSH2 (10 cas dans 5 familles) ou MSH6 (2 cas dans 1 famille). Les cancers urothéliaux ont été retrouvés exclusivement dans les familles avec mutations de MSH2 (6 membres dans 2 familles). **CONCLUSIONS** : Dans la population CF du Québec, plusieurs familles porteuses de mutations des gènes MMR ne rencontrent pas les critères d'Amsterdam. L'utilisation des critères de Bethesda semble plus adaptée au contexte clinique. Les familles mutées avec cancers du côlon seulement sont peu fréquentes et montrent davantage de mutations du gène MLH1. L'association cancers urothéliaux et mutations MSH2 s'accorde avec les données récentes. La fréquence de grandes délétions dans notre population souligne la nécessité d'inclure le MLPA dans notre stratégie diagnostique. L'effet fondateur ne semble pas prédominer dans nos familles CF avec syndrome de Lynch.

**Mots-clés** : syndrome de Lynch, gènes MMR, relation génotype-phénotype.

#### ■P210. CONTRIBUTION DES VARIATIONS DE NOMBRE DE COPIES (CNV) AU SEIN DES RÉGIONS NON CODANTES DES GÈNES MMR DANS LE SYNDROME DE LYNCH

P. Chambon (1, 2), J. Tinat (1, 2), M.P. Buisine (2, 3), S. Baert-Desurmont (1, 2), Q. Wang (4), C. Dugast (5), F. Charbonnier (1, 2), J.P. Kerkaert (2, 6), M. Tosi (1, 2), T. Freboung (1, 2)

(1) Inserm U614, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Institut Hospitalo-Universitaire, Université de Rouen et Fédération de Génétique, CHU de Rouen, France ; (2) Cancéropôle Nord-Ouest, France ; (3) Laboratoire de Biochimie et Biologie Moléculaire, CHU de Lille, France ; (4) Plateforme mixte de Génétique Constitutionnelle des cancers fréquents, Hospices Civils et Centre Léon Bérard, Lyon, France ; (5) Oncogénétique, CHU et CRLCC Eugène-Marquis, Rennes, France ; (6) Inserm U817, Institut de Recherche sur le Cancer, Lille, France

Contact : pascal.chambon@chu-rouen.fr

Le criblage des régions codantes des gènes MMR, séquençage et recherche de grands réarrangements, n'identifie une altération délétère que chez 80 % des patients hautement évocateurs d'un syndrome de Lynch sur la base de l'histoire familiale et la présence, dans la tumeur, d'un phénotype RER et la perte d'expression d'une protéine ou d'un hétérodimère MMR. Il est donc légitime de penser qu'il existe d'autres types d'altérations, en particulier de régions non codantes situées à distance des gènes MMR et impliquées dans leur régulation. À partir de la cohorte de 1200 prélèvements adressés au laboratoire de génétique moléculaire du CHU de Rouen, notamment dans le cadre du réseau français des laboratoires analysant les gènes MMR, nous avons sélectionné 43 patients présentant une histoire personnelle ou familiale fortement évocatrice associée à un phénotype RER et à une perte de l'expression protéique, sans mutation ou réarrangement exonique des gènes MSH2, MLH1 ou MSH6. Nous avons développé pour les locus MSH2-MSH6 (2p22-p21) et MLH1 (3p21), deux lames Agilent de CGH array à haute résolution de format 4 x 44k, comprenant 37 000 sondes et ciblant 2 Mb en amont et en aval de chacun de ces locus. Ces lames dédiées explorent les régions codantes et non codantes de ces gènes et de potentielles séquences régulatrices situées à distance. L'espacement moyen de 100 pb entre chaque sonde permet de détecter des variations du nombre de copies (CNV) d'une taille inférieure à 1 Kb et de caractériser précisément leurs bornes. L'analyse des 43 patients sélectionnés avec ces lames dédiées nous a permis d'identifier deux délétions génomiques hétérozygotes de petite taille. La première de 25 Kb emporte le promoteur et le premier exon de MSH6, dont l'analyse par QMPSF n'est pas possible en raison d'une structure particulièrement complexe de cette région. Cette délétion résulte d'une recombinaison homologue non allélique entre deux séquences AluSX hautement homologues au sein d'une région particulièrement riche en séquences Alu. La seconde délétion, de 12,5 Kb, est située 1 Mb en aval de MSH6. Une QMPSF explorant spécifiquement cette région délétée a été développée pour confirmer ce résultat de CGH array. Cette délétion n'a pas été retrouvée chez 95 témoins analysés par cette QMPSF, confirmant qu'il ne s'agissait pas d'un CNV polymorphique. Cette région de 12,5 kb contient des séquences hautement conservées mais la mesure d'expression allélique de MSH6 par SnAPShot, chez la patiente présentant cette délétion génomique en aval de MSH6, n'a pas permis de mettre en évidence de déséquilibre d'expression allélique et d'étayer la présence de séquences régulatrices. En conclusion, notre étude montre que (i) le syndrome de Lynch peut résulter, dans de rares cas, de CNV touchant les régions promotrices des gènes MMR et (ii) que les CNVs localisés en dehors des régions codantes des gènes MSH2, MSH6 et MLH1 ne correspondent pas à un mécanisme fréquent d'altération des gènes MMR.

**Mots-clés** : syndrome de Lynch, CGH array, CNV.



**■P211. LA RÉVERSION POST-ZYGOTIQUE D'UNE MUTATION DE NOVO DU GÈNE APC CONFIRME LE RÔLE CLEF DE LA PROTÉINE APC DANS LES ÉTAPES PRÉCOCES DE L'EMBRYOGENÈSE HUMAINE**

S. Baert-Desurmont (1), N. Piton (1), J. Bou (1), J. Tinat (1), R. Guimbaud (2), J. Selves (3), T. Frébourg (1)

(1) Inserm U614, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Institut Hospitalo-Universitaire, Université de Rouen et Service de Génétique, CHU de Rouen, France ; (2) Service d'Oncogénétique, Institut Claudius Regaud et CHU de Toulouse, France ; (3) Service de Pathologie, CHU de Toulouse, France

Contact : stephanie.baert-desurmont@chu-rouen.fr

Les mutations en mosaïque du gène APC représenteraient approximativement 11 % des cas sporadiques de Polypose Adénomateuse Familiale (PAF). Nous rapportons un cas remarquable de mosaïque APC caractérisée par la présence de deux allèles mutants. Le cas index a présenté à l'âge de 29 ans une forme typique de PAF. Le séquençage du gène APC a permis d'identifier une mutation délétère hétérozygote située dans l'exon 15 (c.2099del, p.Asp700AlafsX18). L'analyse par séquence a révélé que cette mutation était héritée de son père présentant une forme classique de PAF révélée à 54 ans par des adénocarcinomes colorectaux. L'analyse de 6 marqueurs microsatellites au locus APC a montré que cette mutation était apparue *de novo* dans un des gamètes grand-parentaux, ce résultat expliquant l'absence d'histoire familiale de PAF chez les 6 frères et sœurs du père du cas index. L'enquête familiale poursuivie dans la fratrie du cas index permit de détecter, de manière inattendue, chez l'un de ses frères une autre mutation du gène APC touchant le même nucléotide (c.2099A>C, p.Asp700Ala). Cette variation correspond à un UV mais la normalité de la coloscopie à 18 ans chez l'apparenté présentant cet UV plaide en faveur de son caractère non délétère. L'analyse des haplotypes au locus APC a montré que les 2 mutations (c.2099del et c.2099A>C) étaient portées par le même allèle paternel. Afin d'assurer une détection sensible de ces différentes variations, nous avons mis au point un SNaPshot explorant spécifiquement le nucléotide c.2099 du gène APC. Cette analyse par SNaPshot, contrairement au séquençage nucléotidique, a permis de détecter dans le sang périphérique du père du cas index les 2 allèles mutants (c.2099del et c.2099A>C) et la mesure quantitative a confirmé que l'allèle mutant c.2099del était majoritaire. Le SNaPshot a également révélé que, chez le père du cas index, les 2 allèles mutants étaient présents dans le tissu colique non tumoral, les adénomes, l'adénocarcinome, le tissu hépatique sain et métastatique. Ainsi ces deux allèles mutants sont présents dans les dérivés de l'endoderme et du mésoderme. Cette observation exceptionnelle de mosaïque avec présence de 2 allèles mutants s'explique probablement par la survenue d'une mutation délétère *de novo* (c.2099del) au stade pré-zygotique chez l'un des grands-parents paternels du cas index, suivie par une tentative précoce de réversion de mutation post-zygotique chez le père du cas index aboutissant à la mutation c.2099A>C. Cette tentative de réversion confirme le rôle clef de la protéine APC au cours des étapes précoces de l'embryogenèse, rôle démontré initialement dans la drosophile.

**Mots-clés :** mosaïque APC, polypose adénomateuse familiale, réversion de mutation.

**■P212. L'INACTIVATION BI-ALLÉLIQUE DU GÈNE APC (ADÉNOMATOUS POLYPOSIS COLI) EST IMPLIQUÉE DANS LA TUMORIGÈNE CORTICOSURRÉNALIENNE SURVENANT DANS LE CADRE DES POLYPOSES ADÉNOMATEUSES FAMILIALES**

S. Gaujoux (1, 2), S. Pinson (3), A.P. Gimenez-Roqueplo (4, 5, 6, 7, 8, 9), L. Amar (10), B. Ragazzon (1), P. Launay (1), T. Meatchi (11), R. Libé (1, 9, 12), X. Bertagna (1, 5, 9, 12), J. Zucman-Rossi (13, 14), F. Tissier (1, 5, 9, 15), J. Bertherat (1, 5, 9, 12)

(1) INSERM U567, CNRS UMR8104, Institut Cochin, Département Endocrinologie, Métabolisme et Cancer, Paris, France ; (2) AP-HP, Hôpital Cochin, Service de chirurgie digestive et endocrinienne, Paris, France ; (3) HCL, Service de Génétique clinique et moléculaire, Hôpital Édouard Herriot, Lyon, France ; (4) AP-HP, Hôpital Européen Georges-Pompidou, Service de Génétique, Paris, France ; (5) Université Paris Descartes, Paris, France ; (6) INSERM, UMR 970, Paris, France ; (7) Collège de France, Paris, France ; (8) Paris-Cardiovascular research Center at HEGP, Paris, France ; (9) Rare Adrenal Cancer Network-Corticomédullosurrénale Tumeur Endocrine, Institut National du Cancer, Paris, France ; (10) AP-HP, Hôpital Européen Georges-Pompidou, Service d'hypertension artérielle, Paris, France ; (11) AP-HP, Hôpital Européen Georges-Pompidou, Service d'anatomo-pathologie, Paris, France ; (12) AP-HP, Hôpital Cochin, Service d'endocrinologie, Centre des maladies

rares de la surrenale, Paris, France ; (13) Génomique Fonctionnelle des Tumeurs Solides, INSERM : U674, Université Denis Diderot – Paris VII, IFR 105, Hôpital Saint-Louis – IFR 105 Paris VII Paris, France ; (14) IUH, Institut Universitaire d'Hématologie, Université Denis Diderot – Paris VII, Hôpital St-Louis, France ; (15) AP-HP, Hôpital Cochin, Service d'anatomo-pathologie, Paris, France  
Contact : sebastien.gaujoux@gmail.com

Introduction : L'activation de la voie Wnt/beta-catenine est fréquemment impliquée dans la tumorigenèse corticosurrénalienne, principalement par le biais de mutations du gène de la beta-caténine (CTNNB1). Cependant ces mutations ne suffisent pas à expliquer l'activation de la voie dans toutes les tumeurs, et des mutations d'autres acteurs de la voie sont suspectées. Les tumeurs corticosurrénales sont fréquemment retrouvées chez les patients présentant une Polypose Adénomateuse Familiale (PAF) avec mutation du gène APC (Adenomatous Polyposis Coli), ou dans le syndrome de Beckwith-Wiedemann en association à des tumeurs de Wilms, pour lesquelles la voie Wnt/beta-caténine peut être activée par des mutations de WTX. Des mutations d'APC ou de WTX pourraient donc être impliquées dans la tumorigenèse corticosurrénalienne. Patients et méthodes : Après étude immunohistochimique de la beta-caténine et séquençage de CTNNB1, 4 tumeurs surrenaliennes issues de 3 patients appartenant à 2 familles de PAF ont été étudiées et 20 corticosurrénales sporadiques, présentant une activation de la voie Wnt/beta-caténine en immunohistochimie mais sans mutation de CTNNB1 associée. APC a été analysé d'une part par dHPLC suivi du séquençage direct des profils anormaux puis par MLPA. En cas de négativité du génotypage APC, WTX a été séquéncé. Résultats : Dans les 4 tumeurs surrenaliennes (une hyperplasie macronodulaire bilatérale, un adénome et un carcinome corticosurrénal) diagnostiqués chez 3 patients atteint de PAF, il existait une accumulation cytoplasmique et/ou nucléaire de beta-caténine signant une activation de la voie Wnt/beta-caténine mais sans mutation de CTNNB1 associée. En plus des mutations constitutionnelles d'APC portées par ces patients, 3 mutations somatiques (1863>1866del/c. 4667>4668insA ; p.Thr>1556fsX1558/ c. 3234 T>A/Tyr1078X) et une perte d'hétérozygotie ont été identifiées démontrant une inactivation bi-allélique d'APC au sein de ces tumeurs. Dans les tumeurs sporadiques, on retrouvait à l'état hétérozygote un variant iso-sémantique non précédemment décrit (c.3340 C>A ; p. R1114R) et un polymorphisme rare (c.3949 G>C ; p. E1317Q) d'APC. Aucune mutation de WTX n'a été identifiée dans les tumeurs sporadiques. Conclusion : Cette étude suggère que dans le cadre de la polypose colique familiale, l'inactivation bi-allélique du gène APC, par le biais de l'activation de la voie Wnt/beta-caténine, est impliquée dans la tumorigenèse corticosurrénalienne. Les tumeurs corticosurrénales doivent donc être considérées comme faisant partie du spectre des tumeurs associées à la PAF. Le rôle d'APC dans les tumeurs sporadiques reste débattu.

**Mots-clés :** tumeur corticosurrénalienne, polypose colique familiale, APC.

**■P213. SYNDROME DE LYNCH : UNE NOUVELLE FAMILLE PORTEUSE DE LA MUTATION TACSTD1**

J. Chiesa (1), S. Baert-Desurmont (2), F. Le Pessot (3), C. Arnould (1), L. Mansour-Hendili (1), T. Frebourg (2), J.F. Bourgaux (4), A. Arnaud (5), T. Lavabre-Bertrand (1), J.B. Gaillard (1), S. Bravo (1), D. Reboul (1), A. Combes (1), J.M. Rey (6)

(1) Laboratoire de Cytogénétique, Hôpital Caremeau, Nîmes, France ; (2) Unité de Génétique Moléculaire, Hôpital Charles-Nicole, Rouen, France ; (3) Laboratoire de Génétique Somatique des Tumeurs, Hôpital Charles-Nicole, Rouen, France ; (4) Service de Gastro Entérologie, Hôpital Caremeau, Nîmes, France ; (5) Laboratoire d'Hématologie, Hôpital Caremeau, Nîmes, France ; (6) Laboratoire de Biologie Cellulaire et Hormonale, Hôpital Arnaud-de-Villeneuve, CHU Montpellier, France  
Contact : jean.chiesa@chu-nîmes.fr

Le cancer colorectal familial non polyposique (HNPCC) est causé par des mutations germinales des gènes MLH1, MSH2, MSH6 et PMS2. Cependant plus de 30 % des patients atteints de cancer du syndrome de Lynch ne présentent pas de mutation des gènes MMR (Mismatch-Repair), ce qui laisse suggérer la présence d'autres mécanismes génétiques de prédisposition. Trois publications récentes font état d'un nouveau gène candidat pour le HNPCC, il s'agit d'une délétion germinale des derniers exons du gène TACSTD1 (Tumor Associated Calcium Signal Transducteur 1). Nous décrivons ici une des premières familles Françaises où s'égrègent des cancers du spectre HNPCC liés à une délétion germinale hétérozygote du gène TACSTD1. 7 cancers du colon en lien direct sur 3 générations sont décrits, 7 personnes ont été explorées pour TACSTD1, 4 atteintes de cancer sont porteuses de la mutation, 3 personnes asymptomatiques sont non porteuses. Comme pour les 15 familles décrites à ce jour porteuses de cette même



mutation, nous observons une instabilité des microsatellites et une extinction somatique de la protéine MSH2 et MSH6. Au point de vue clinique les cancers observés dans cette famille sont exclusivement coliques avec un âge moyen de survenu du premier cancer de 45 ans. 20 % des HNPCC sans mutation des gènes MLH1, MSH2, MSH6 avec instabilité microsatellitaire et ou avec extinction de la protéine MSH2 seraient associés à une mutation du gène TACSTD1. Il s'agit d'un nouvel espoir pour bien des familles réduites aux seules coloscopies dans la prise en charge préventive du cancer du colon non polyposique, par ailleurs il semble que le spectre de cette nouvelle mutation soit uniquement colique ce qui va singulièrement simplifier la prise en charge de ces patients en particulier les femmes pour l'endomètre et l'ovaire.

**Mots-clés** : prédisposition génétique aux cancers, syndrome de Lynch, TACSTD1.

#### ■P214. CANCER GASTRIQUE DIFFUS HÉRÉDITAIRE (CGDH) : L'EXPÉRIENCE LILLOISE

N. Pasz (1, 2), S. Lejeune (1), V. Nicolas (1, 2), M. Blayau (3), J.P. Triboulet (4, 7), C. Mariette (4, 7), A. Wacrenier (5), T. Frébourg (6), S. Manouvrier-Hanu (1, 7)

(1) Service de Génétique, Clinique Guy-Fontaine, Hôpital Jeanne-de-Flandre, CHRU de Lille, France ; (2) Association Française des Conseillers en Génétique, France ; (3) Service de Génétique Moléculaire, CHRU Pontchaillou de Rennes, France ; (4) Clinique de Chirurgie Digestive, Hôpital Claude Huriez, CHRU de Lille, France ; (5) Anatomie et Cytologie Pathologiques, Pôle de Pathologie, CHRU de Lille, France ; (6) Département de Génétique, Hôpital Ch. Nicolle, CHU de Rouen, France ; (7) Université Lille2, France

Contact : nelly.pasz@chru-lille.fr

Environ 1 à 3 % des cancers gastriques sont héréditaires et surviennent dans un contexte syndromique ou non syndromique. Les cancers gastriques diffus héréditaires (CGDH) sont caractérisés par une agrégation familiale non syndromique de cancers gastriques de type diffus et sont dus à des mutations du gène CDH1. Une altération de ce gène confère un risque de développer un cancer gastrique estimé à 70 %, elle est également associée à une augmentation du risque de carcinomes mammaires infiltrants de type lobulaire et d'adénocarcinomes colorectaux. Des critères internationaux ont été établis en 2000 pour sélectionner les familles suspectes de CGDH : (i) au moins deux cas de cancers gastriques de type diffus chez des apparentés au premier ou second degré dont un cas diagnostiqué avant l'âge de 50 ans, (ii) au moins trois cas de cancers gastriques de type diffus chez des apparentés au premier ou second degré quels que soient les âges au diagnostic. Puis les critères ont été étendus : (iii) un cas de cancer gastrique de type diffus diagnostiqué avant 45 ou 40 ans, (iv) une association d'un cancer gastrique de type diffus et d'un carcinome mammaire de type lobulaire infiltrant ou d'un carcinome colorectal à cellules indépendantes chez un même individu ou chez deux apparentés au premier ou second degré. Nous pensons qu'il faut y ajouter les cas de cancer gastrique de type diffus associés à une fente labio-palatine. Pour les sujets indemnes porteurs d'une mutation CDH1 la prise en charge prophylactique recommandée par l'INCa, et qui doit être largement discutée avec les patients, comporte d'une part une gastrectomie préventive entre 20 et 30 ans, avec anse jéjunale en Y, d'autre part, chez la femme, une surveillance mammaire (examen clinique semestriel, échographie et IRM mammaires voire mammographie annuelle). Depuis 2000, nous avons reçu à Lille en consultation d'oncogénétique 25 familles présentant une suspicion de CGDH. 6 d'entre-elles répondaient aux critères internationaux et 18 aux critères élargis. Une mutation germinale délétère du gène CDH1 a été décelée dans 3 familles, dont une correspondant aux critères élargis. Un test génétique présymptomatique a pu être proposé aux apparenté(e)s : 23 sujets asymptomatiques ont été testés, 11 d'entre eux se sont révélés être porteurs de la mutation familiale. Deux ont refusé, pour l'instant, la gastrectomie préventive et la réalisation de fibroscopies gastriques avec biopsies étagées. Chez deux autres des biopsies ont révélé la présence d'adénocarcinomes gastriques, la gastrectomie réalisée a donc été thérapeutique. Enfin 7 gastrectomies totales prophylactiques ont été effectuées. Pour deux d'entre elles l'analyse anatomopathologique a permis d'identifier un adénocarcinome gastrique. Au total 4/9 patients indemnes porteurs d'une mutation CDH1, ayant accepté une prise en charge préventive (surveillance ou gastrectomie) étaient porteurs d'un cancer gastrique à cellules indépendantes. Leur moyenne d'âge était égale à 34 ans mais avec des extrêmes de 19 et 54 ans. En conclusion, sur cette petite série, nous pensons qu'il est légitime de discuter avant même l'âge de 20 ans la prise en charge préventive du cancer gastrique chez les personnes indemnes porteurs d'une mutation CDH1, tout en ayant à l'esprit la lourdeur du geste chirurgical et ses éventuelles complications notamment nutritionnelles.

**Mots-clés** : cancer gastrique, CDH1, diagnostic présymptomatique.

#### ■P215. CDH1, CANCER DE L'ESTOMAC ET CANCER DU SEIN : L'EXPÉRIENCE FRANÇAISE

O. Caron (1), L. Huiart (2), S. Lejeune (3), C. Colas (4), J.P. Fricker (5), L. Faivre (6), JM. Limacher (7), D. Gaillard (8), C. Monnerat (9), D. Malka (1), A. Sézeur (10), JC. Saurin (11), L. Mansuy (12), N. Soufir (13), J. Mauillon (14), T. Frébourg (14), S. Manouvrier(3), C. Dugast (15), YJ. Bignon (16), F. Coulet (4), F. Soubrier (4), M. Blayau (17), S. Olschwang (2)

(1) Consultation d'Oncogénétique, Département de Médecine, Institut Gustave Roussy, Villejuif, France ; (2) Département d'Oncologie Génétique, de Prévention et Dépistage, Institut Paoli-Calmettes, Marseille, France ; (3) Service de Génétique Clinique, Hôpital Jeanne-de-Flandre, CHRU, Lille, France ; (4) Laboratoire d'Oncogénétique et d'angiogénétique, Département de Génétique, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, AP-HP, Paris, France ; (5) Consultation de Génétique, CRLCC Paul Strauss, Strasbourg, France ; (6) Unité d'Oncogénétique, Centre Georges François Leclerc, Dijon, France ; (7) Consultation de Génétique, Médecine B, CH Pasteur, Colmar, France ; (8) Service de Génétique, Hôpital Maison Blanche, CHRU, Reims, France ; (9) Service de Génétique Médicale, CHU Vaudois, Lausanne, Suisse ; (10) Service de Chirurgie, Groupe Hospitalier Diaconesses-Croix-Saint-Simon, Paris, France ; (11) Service d'Hépatogastro-Entérologie, Hôpital Sud, Hospices Civils de Lyon, Pierre-Bénite, France ; (12) Consultation de Génétique, Centre Alexis Vautrin, Nancy, France ; (13) Laboratoire de Biochimie Hormonale et Génétique, CHU Xavier-Bichat- Claude-Bernard, Paris, France ; (14) Unité de Génétique Clinique, CHU Charles-Nicolle, Rouen, France ; (15) Service de Génétique Clinique, Hôpital Sud, CHU, Rennes, France ; (16) Département de Génétique, Centre Jean -Perrin, Clermont-Ferrand, France ; (17) Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHU Pontchaillou, Rennes, France

Contact : olivier.caron@igr.fr

Les mutations constitutionnelles du gène CDH1 sont impliquées dans des familles comportant de nombreux cancers de l'estomac à cellules dissociées et/ou des cancers du sein, spécifiquement d'histologie lobulaire, diagnostiqués à un âge jeune. Des critères cliniques internationaux ont été élaborés pour détecter ces familles. Selon les recommandations nationales (InCa 2009), le risque de cancer dans ce contexte justifie la proposition d'une gastrectomie prophylactique et un suivi sérologique de type BRCA. À ce jour, une centaine de familles ont été rapportées de par le monde. En France, 5 laboratoires réalisent l'analyse du gène en routine. En moins d'une dizaine d'années, 30 familles ont été identifiées. Cinq parmi elles ont déjà fait l'objet de publications. Nous présentons ici la description des nouvelles familles, en complétant les données sur les familles déjà publiées. Sept familles ont pu être regroupées avec une autre, vue dans une consultation différente. Cinq mutations étaient présentes dans plus d'une famille, a priori non reliées généalogiquement (c.283C>T : deux familles, c.1488\_1494del : 3 familles, c.1565+1G>A : 3 familles, c.1565+1G>C : 2 familles, c.2398delC : 2 familles). Cette récurrence fait évoquer soit des points chauds de mutation, notamment pour des mutations identifiées dans d'autres pays, soit un lien par un ascendant commun méconnu, compte-tenu de la proximité géographique. Six familles ne remplassaient pas les critères consensuels internationaux. Au total, les familles comportaient 55 cancers de l'estomac, avec un âge moyen au diagnostic de 36 ans. Le cancer le plus jeune était diagnostiqué à 17 ans et le plus âgé à 65. L'histologie n'a pu être vérifiée dans tous les cas, mais lorsqu'elle l'était, il s'agissait exclusivement d'adénocarcinomes à cellules dissociées. Des cancers lobulaires du sein étaient retrouvés dans 6 familles, avec un âge moyen au diagnostic de 53 ans. Par ailleurs, nous décrivons le cas apparemment sporadique d'une jeune patiente mutée avec fente labio-palatine et d'un cancer gastrique à cellules dissociées, association déjà rapportée dans deux familles dont une française. Par ailleurs, une quarantaine de tests présymptomatiques ont été réalisés. Au moins 3 personnes indemnes, âgées de plus de 50 ans étaient porteuses de la mutation familiale. Nous présentons la prise en charge des personnes porteuses asymptomatiques et les résultats de 8 gastrectomies prophylactiques effectuées. Des microfoyers invasifs étaient fréquemment retrouvés, essentiellement lorsqu'un protocole minutieux d'analyse de la pièce opératoire était appliqué. Cette contribution, augmentant de près de 20 % le nombre de familles déjà publiées, permet de renforcer les données connues sur la pénétrance, le spectre tumoral de cette prédisposition, les pathologies associées. Elle apporte des arguments supplémentaires pour l'amélioration de recommandations de prise en charge, toujours complexe, de ces familles.

**Mots-clés** : CDH1, cancer estomac, cancer du sein

## ■P216. CANCER HÉRÉDITAIRE DE L'ESTOMAC ET MUTATIONS DU GÈNE *CDH1* : L'EXPÉRIENCE RENNAISE SUR UNE COHORTE DE 120 PATIENTS

M. Blayau (1), C. Dugast (2), S. Manouvrier (3), T. Frebourg (4), J. Maullon (4), D. Malka (5), L. Faivre (6), J. Duffour (7), C. Ferec (8), J.F. Bretagne (9), V. David (1)

(1) Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHRU Rennes, France ; (2) Oncogénétique, CHRU Rennes, France ; (3) Service de Génétique clinique, CHRU Lille, France ; (4) Génétique clinique, CHU Rouen, France ; (5) Service de Génétique, IGR Villejuif, France ; (6) Centre de Génétique, CHU Dijon, France ; (7) Oncogénétique digestive, CRLC Montpellier, France ; (8) Laboratoire de Génétique moléculaire et d'histocompatibilité, CHU Brest, France ; (9) Service des maladies de l'appareil digestif, CHRU Rennes, France

Contact : martine.blayau@chu-rennes.fr

Des mutations germinales du gène de la E-cadhérine (*CDH1*) sont responsables de certaines formes familiales de cancer de l'estomac et de cancer lobulaire du sein. Sur le plan histologique, les adénocarcinomes gastriques sont de type diffus et sont caractérisés par une faible différenciation avec présence de cellules indépendantes dites « en bague à chaton ». L'âge moyen de survenue de ces cancers est de 40 ans et la mortalité est élevée. Le diagnostic précoce de ces formes diffuses est difficile et les symptômes n'apparaissent qu'à un stade avancé de la maladie. L'identification d'une mutation du gène *CDH1* est primordiale dans les familles concernées pour diagnostiquer les personnes à risque qui se verront proposer une gastrectomie préventive. Nous rapportons l'expérience rennaise de l'étude du gène *CDH1* portant sur une cohorte de 120 patients atteints d'un cancer de l'estomac. Les critères d'inclusion étaient, outre l'histologie, l'existence d'antécédents familiaux ou, à défaut, un âge précoce d'apparition du cancer (<45 ans). 40 sujets asymptomatiques apparentés aux patients mutés ont pu secondairement bénéficier d'un test présymptomatique. Les 16 exons et les bornes introniques du gène *CDH1* ont été séquencés et la recherche des réarrangements de grande taille a été effectuée par MLPA. Des mutations ont été identifiées chez 10 proposants (soit 8,3 % des cas) : - 4 mutations d'épissage : c.1565+1G>A, c.1565+1 G>C, 832+1G>T, 531+2T>A - 2 mutations non sens : c.283C>T (p.Gln95X), c.11G>A (p.Trp4X) - 2 petites délétions : c.1488\_1494del, c.1645del - 1 mutation faux sens : c.892G>A (p.Ala498Thr) - 1 délétion de la totalité de l'exon 11. Sur les 10 patients, 8 avaient des antécédents familiaux connus de cancer de l'estomac et/ou du sein, 2 cas étaient non documentés. L'âge moyen au diagnostic était de 39 ans (17 ans-51 ans). Sur les 40 tests présymptomatiques réalisés, la mutation familiale a été retrouvée dans 50 % des cas. La mère de l'un des patients, asymptomatique à 58 ans, était en fait porteuse de la mutation identifiée chez son fils, décédé à l'âge de 34 ans. L'étude de cette série de 120 patients confirme donc les données de la littérature à savoir que les mutations germinales du gène *CDH1* sont responsables de cas familiaux de cancer gastrique. L'âge d'apparition du cancer est le plus souvent précoce avec des variations au sein d'une même famille. La description des réarrangements de grande taille du gène *CDH1* est une donnée récente. Nous avons pu mettre en évidence la délétion de la totalité de l'exon 11 chez une patiente opérée à 44 ans d'un cancer de l'estomac. L'analyse du gène de la cadhérine E ne doit donc pas se limiter à la recherche de mutations ponctuelles.

**Mots-clés** : cancer gastrique familial, mutations du gène *CDH1*, diagnostic présymptomatique.

## ■P217. DÉTECTION ET CARACTÉRISATION D'UN GRAND RÉARRANGEMENT DU GÈNE *CDH1* PAR QPCR-HRM ET CGH-ARRAY DÉDIÉE DANS LE CADRE D'UNE PRÉDISPOSITION AU CANCER LOBULAIRE DU SEIN

E. Rouleau (1), F. Cornelis (2), C. Lefol (1), A. Briaux (1), B. Jesson (3), F. Vialard (4), V. Vidal (3), D. Meseure (5), L. Demange (1), I. Bièche (1), C. Nogues (6), D. Stoppa-Lyonnet (7), R. Lidereau (1)

(1) Laboratoire d'Oncogénétique, Centre René-Huguenin, France ; (2) Hôpital Avicenne, Consultation d'oncogénétique, France ; (3) IMAXIO Division Diagnostique, Biopôle, Saint-Beauzire, France ; (4) Laboratoire d'Histologie, Embryologie, Biologie de la Reproduction, Cytogénétique et Génétique médicale, CHI Poissy-Saint-Germain, France ; (5) Epidémiologie Clinique, Consultation d'Oncogénétique, Centre René-Huguenin, France ; (6) Service d'anatomopathologie, Centre René Huguenin, France ; (7) Service de génétique, Institut Curie et Université Paris-Descartes, France

Contact : rouleau@crhl.org

Le gène *CDH1* (OMIM 192090) code pour une glycoprotéine d'adhésion cellulaire (E-cadhérine). Les mutations germinales hétérozygotes tronquantes et plus récemment les grands réarrangements de *CDH1* ont été

directement associés à la prédisposition au cancer gastrique héréditaire diffus. L'implication des mutations germinales de *CDH1* a été discutée pour la prédisposition aux cancers du sein en particulier la forme lobulaire. Nous rapportons ici une délétion complète de l'exon 3 du gène *CDH1* décalant le cadre de lecture (c.164\_387del, p.Val55GlyfsX38) identifiée dans le cas d'un cancer lobulaire du sein jeune. La patiente a eu dans un premier temps un cancer lobulaire invasif bilatéral à 32 ans. À cause de l'apparition précoce du cancer, un criblage des gènes *BRCA1/2* gènes a été réalisé sans mutation identifiée. Trois ans plus tard, la patiente a déclaré un cancer gastrique diffus. Aucun cas de cancer n'était rapporté dans l'histoire familiale d'une fratrie de 9 enfants et de parents de plus de 60 ans. Le criblage du gène *CDH1* est alors effectuée en utilisant par une méthode de préséquençage qPCR-HRM qui combine la recherche des mutations ponctuelles et des grands réarrangements sur LightCycler 480 (Roche Diagnostic). Une délétion de l'exon 3 a été détectée par qPCR et les bornes de la délétion ont été précisément caractérisées en utilisant une puce de CGH array dédiée au gène *CDH1* - puce de 556 oligonucléotides couvrant l'ensemble du gène et ses régions promotrices. La taille de la délétion était précisément de 6 974-bp. Cette étude confirme l'intérêt de l'exploration grands réarrangements du gène *CDH1* dans l'étude des familles combinant cancer lobulaire du sein et cancer gastrique. L'approche qPCR-HRM offre la possibilité de détecter tous les événements sur ce gène. La responsabilité du gène *CDH1* reste discuté pour les familles avec comme seule entrée le cancer du sein. Ce cas clinique devrait permettre de mieux définir les critères de sélection des familles sans ségrégation de cancers gastriques pouvant bénéficier de ce criblage.

**Mots-clés** : *CDH1*, qPCR-HRM, CGH-array.

## ■P218. ÉVALUATION DU POTENTIEL GÉNOTOXIQUE DE L'EXPOSITION PROFESSIONNELLE AUX CYTOSTATIQUES DANS LE MILIEU HOSPITALIER PAR LA RECHERCHE DE CASSURES CHROMOSOMIQUES ET PAR LE TEST DE MICRONOYAUX

S. Bouraoui (1), A. Braham (2), F. Tabka (2), N. Mrizek (2), A. Saad (1, 3), H. Elghezal (1, 3)

(1) Laboratoire de cytogénétique, biologie moléculaire et biologie de la reproduction humaines, CHU Farhat Hached, Sousse, Tunisie ; (2) Service de médecine de travail, CHU Farhat Hached, Sousse, Tunisie ; (3) Unité de Service Commun de Recherche en Génétique, Faculté de Médecine de Sousse, Tunisie

Contact : hatem.elghezal@rms.tn

Introduction : Les cytostatiques sont des substances ayant la propriété de bloquer la synthèse, le fonctionnement ou la multiplication cellulaires. Le recours à l'utilisation de ces produits a amélioré le pronostic de nombreuses affections néoplasiques. Cependant, les cytostatiques possèdent des propriétés cancérigènes, tératogènes et mutagènes préjudiciables pour le personnel de santé le manipulant. Au cours de notre étude, nous avons essayé d'évaluer le potentiel génotoxique de l'exposition professionnelle aux cytostatiques chez le personnel hospitalier par l'utilisation de deux biomarqueurs cytogénétiques à savoir les aberrations chromosomiques (CA) et le test de micronoyaux (MN). Matériel et méthodes : Les altérations chromosomiques consécutives à l'exposition professionnelle aux cytostatiques ont été analysés des lymphocytes périphériques de 20 personnel de santé du CHU Farhat Hached de Sousse (4 hommes et 16 femmes) comparés à 20 témoins appariés pour l'âge, le sexe et le mode de vie. L'évaluation de l'effet génotoxique est étudiée par la recherche de cassures chromosomiques en culture lymphocytaire sous Mitomycine C à raison de 25 ng/ml et aussi à l'aide du test de micronoyaux en réalisant un blocage de la cytotidère suite à une culture lymphocytaire sous Cytochalasine B à 5µg/ml. Deux milles cellules binucléés ont été analysés pour chaque cas. Résultats et discussion : La fréquence de cellules binucléées micronucléées s'est avérée significativement élevée chez le personnel soignant en comparaison avec les témoins ( $9,4 \pm 2,88$  versus  $4,368 \pm 1,32$ ),  $p < 0,05$ ). Il en est de même pour la fréquence des cassures chromosomiques avec une élévation significative chez les exposés ( $1,85 \% \pm 1,56$  versus  $0,32 \% \pm 0,1$ ). Bien que le personnel exposé aux cytostatiques présentait certains troubles (cutanées, respiratoires...) aucune corrélation significative de ces biomarqueurs cytogénétiques avec ces affections n'a été trouvée. Conclusion : La présence de certaines altérations chromosomiques chez le personnel soignant manipulant les cytostatiques souligne la nécessité de renforcer les mesures de prévention et d'utiliser de façon optimale les systèmes de protection depuis l'étape de la reconstitution jusqu'à l'administration des cytostatiques pour éviter l'effet génotoxique cancérigène de ces substances.

**Mots-clés** : génotoxicité, cytostatiques, micronoyau.



### ■P219. ASSOCIATION D'UN OLIGODENDROGLIOME ANAPLASIQUE ET D'UNE MUTATION GERMINALE DE BRCA 1 CHEZ UN PATIENT : IMPORTANCE DE LA RÉFLEXION CLINIQUE ET DU CONSEIL GÉNÉTIQUE

M. Frenay (1), F. Van Den Bos (2), L. Nasca (1), M. Met-Domestici (1), P. Vennin (3), H. Sobol (4), C. Lebrun (5)

(1) Centre Antoine Lacassagne, Nice, France ; (2) Laboratoire d'anatomopathologie, Hôpital Pasteur, Nice, France ; (3) Centre Oscar Lambret, Lille, France ; (4) Institut Paoli-Calmette, Marseille, France ; (5) Neurologie Hôpital Pasteur, Nice, France

Contact : marc.frenay@nice.fnclcc.fr

**INTRODUCTION** Les mutations des gènes BRCA 1 et 2 augmentent le risque de développer des cancers du sein et de l'ovaire mais aussi le risque d'incidence d'autres types de cancers. Chez l'homme, le risque de développer un cancer du sein, de la prostate, du pancréas ou de l'estomac est plus élevé chez les porteurs de mutation. Si aucune imputabilité n'a été établie entre les mutations de BRCA 1 et 2 et les tumeurs gliales, quelques rares cas cliniques évoquent un lien. **PATIENTS ET METHODES** Une tumeur cérébrale a été diagnostiquée chez un patient de 35 ans ayant présenté des céphalées et une épilepsie. Il a bénéficié d'une résection chirurgicale partielle avec un diagnostic histologique d'oligodendrogliome anaplasique (classification OMS). L'arbre généalogique montre 3 cancers ovariens liés au premier degré évoquant une prédisposition familiale aux cancers du sein et de l'ovaire. Une analyse des gènes BRCA a été faite chez une apparentée atteinte trouvant la mutation c.3819delGTAAA, p.1241ter de l'exon 11 de BRCA 1. La même mutation a été confirmée chez le patient. Il a été traité par une chimiothérapie (CT) associant Procarbazine-CCNU et Vincristine mais des contrôles biologiques avant le second cycle ont montré une toxicité hépatique. Une radiothérapie (RT) a alors été recommandée mais refusée par le patient. Une CT de deuxième ligne a été faite avec du temozolomide seul. Après le troisième mois, l'IRM de contrôle a montré une progression. La RT est alors proposée à nouveau au patient. Aucune réponse à la RT n'est obtenue et l'état du patient se dégrade 15 mois après le diagnostic entraînant le décès. Une analyse immuno-histo-chimique de BRCA1 dans la tumeur est en cours. **RÉSULTATS** Le risque de développer un cancer du sein ou une autre tumeur est accru en cas de mutation des gènes BRCA qui n'ont pas, à date, été associées au développement de gliomes. Certains évènements semblent jouer un rôle à la fois dans la cancérogenèse mammaire et dans celle du glioblastome comme dans les syndromes de Li et Fraumeni et de Cowden qui prédisposent à la fois au glioblastome et au cancer du sein. **CONCLUSION** Les mutations BRCA chez la femme engendrent un risque élevé de cancer du sein et de l'ovaire. Chez l'homme, les risques sont moins bien connus. Ce cas clinique soulève l'hypothèse de l'imputabilité de la tumeur gliale à l'expression phénotypique de BRCA 1.

**Mots-clés** : BRCA 1, gliome.

### ■P220. GLIOMES MALINS : IDENTIFICATION DE MARQUEURS PRONOSTIQUES PAR MÉTA-ANALYSE DE DONNÉES DU TRANSCRIPTOME

M. De Tayrac (1), M. Aubry (2), S. Saïkali (3), A. Etcheverry (1, 2), MD. Galibert (1), V. Quillien (1, 4), P. Menei (5), J. Mosser (1, 2)

(1) UMR6061 - CNRS, Université de Rennes 1, Rennes, France ; (2) Biogenouest® Plateforme transcriptome, Université de Rennes 1, Rennes, France ; (3) Département d'anatomie et cytologie pathologiques, CHU de Rennes, France ; (4) Département de biologie, CRLCC Eugène-Marquis, Rennes, France ; (5) Département de Neurochirurgie, CHU d'Angers, France

Contact : jean.mosser@univ-rennes1.fr

Les gliomes malins sont les formes les plus agressives des tumeurs primaires du système nerveux central. À l'heure actuelle, le grade de malignité apporte des informations importantes sur le pronostic vital des patients. Cependant, cette classification est imparfaite et ne fait pas l'unanimité parmi les neuropathologistes. L'établissement du diagnostic reste peu reproductible et ne permet pas d'estimer l'hétérogénéité de survie au sein de ces patients. Des études récentes ont montré que l'analyse des données du transcriptome peut être utile à la classification des gliomes et à l'orientation thérapeutique des patients. Néanmoins, la concordance des résultats de ces études reste faible. Notre objectif est de palier ce manque de reproductibilité afin de pouvoir proposer des biomarqueurs pronostiques robustes pour les gliomes malins. Une méta-analyse des données du transcriptome a été réalisée sur les données de microarray de 267 patients provenant de trois études publiées. La sélection des gènes différentiellement exprimés entre gliomes de grade III et IV a été réalisée : (i) par une analyse classique des données pour chaque étude prise individuellement, et (ii),

par l'évaluation des données combinées *via* une méthode non-paramétrique basée sur les rangs. Une analyse de survie a été réalisée afin de déterminer parmi les gènes liés au grade, ceux étant spécifiquement corrélés à la survie. Ces gènes ont été utilisés pour sélectionner un modèle de survie optimal et pour établir un score prédictif. La performance des résultats a été évaluée sur deux ensembles indépendants de patients par l'intermédiaire de deux techniques (microarrays : 56 patients ; RTQ-PCR : 194 patients) et a été comparée à celle de la mutation R132 du gène IDH1, cette mutation étant à l'heure actuelle le facteur de bon pronostic le plus reconnu. La validation de l'expression protéique de ces gènes a également été évaluée par immuno-histochimie (96 patients). L'approche par méta-analyse a mis en évidence 65 gènes spécifiquement exprimés dans les glioblastomes. Ces gènes significativement associés au grade de malignité sont principalement liés au développement du système nerveux et à la matrice extracellulaire. Un modèle optimal de survie a été construit à partir des données d'expression de 4 gènes (CHAF1B, PDLIM4, EDNRB et HJURP). Les scores prédictifs associés à ce modèle permettent la stratification des patients en deux groupes de pronostics significativement différents. La valeur prédictive de ce modèle s'est avérée plus importante que celle de la mutation du gène IDH1, soulignant un ensemble de tumeurs non-mutées de bon pronostic. L'analyse des marquages relatifs aux protéines p60/CAF-1, PDL14, EDNRB et HJURP a souligné le pouvoir prédictif de ces marqueurs au niveau protéique. Ce modèle de survie à 4 gènes constitue un outil particulièrement robuste pour évaluer le pronostic des patients atteints de gliomes malins.

**Mots-clés** : gliome, marqueurs, transcriptomique.

### ■P221. PROFILAGE PAR SNP ARRAY DANS LA MALADIE DE WALDENSTROM : IDENTIFICATION DE NOUVELLES ANOMALIES GÉNÉTIQUES

S. Poulain (1), C. Roumier (2), M. Cheok (2), S. Galiegue-Zouitina (2), A. Daudignon (1), O. Nibourel (2), V. Soenen (2), J.L. Lai (3), S. Gefroy (2), J. Fernandes (4), C. Preudhomme (2), P. Duthilleul (1), P. Morel (5), X. Leleu (2)

(1) Service d'Hématologie Immunologie Cytogénétique, CH de Valenciennes, France ; (2) U837 / CHRU de Lille, France ; (3) Laboratoire de Cytogénétique, CHRU de Lille, France ; (4) Service d'Hématologie Clinique, CH de Valenciennes, France ; (5) Service d'Hématologie Clinique, CH de Lens, France

Contact : poulain-s@ch-valenciennes.fr

La maladie de Waldenstrom (MW) est une hémopathie lymphoïde B rare définie par la présence d'un pic monoclonal de type IgM et une infiltration lymphoplasmocytaire médullaire. La physiopathologie de la MW reste mal connue. La disomie uniparentale acquise (UPD) induite par une perte d'hétérozygotie (LOH) constitue un mécanisme oncogénétique important dans les hémopathies. Le profilage SNP (Single Nucleotide Polymorphism) à haut débit sur microarrays est une technique à haute résolution permettant à la fois la détection des LOH et des variations de nombre de copies (CNV). Notre objectif est d'identifier des CNV et LOH acquis impliqués dans la pathogénèse de la MW par puces à SNP. **Matériel et Méthodes**. L'ADN a été extrait après sélection des cellules CD19 des prélèvements de moelle de 15 patients (pts) atteints de WM et hybridé sur des puces Genome-Wide Human SNP Array 6.0 (Affymetrix chips). Chez 9 pts, un couple d'échantillons homologues (tumeur / lymphocytes T, référence intra individuelle) a été utilisé pour caractériser les anomalies somatiques acquises. Pour 6 pts, les polymorphismes constitutionnels ont été éliminés par confrontation aux bases de données (<http://projects.tcag.ca/variation>) et référence genotyping data (the HapMap project). Les régions de LOH et CNV ont été mis en évidence par genotyping console 3.02 software (Affymetrix) and Partek genomic suite. La taille et la localisation des gènes impliqués ont été référencées par rapport au UCSC Genome Browser HG18 assembly. Les délétions 6q ; 13q14, 11q22, TP53et les trisomies 4 et 12 ont été recherchées par FISH. **Résultats**. 40 CNV (25 gains, 15 pertes) ont été mises en évidence chez 12/15 pts, (moyenne : 2.7 anomalies par pt (0 à 10). 50 % des CNV ont une taille < 5 mb. Les anomalies observées au caryotype et en FISH ont été retrouvées. Toutefois, 19 anomalies cryptiques ont été identifiées parmi les CNV somatiques dans 10 pts : 14 gains et 5 pertes. Les gains récurrents sont observés sur les bandes 5p15 (2pts), Xq21 (8pts), Xq27-q28 (2pts). Nous avons identifié 54 LOH chez 12/15 pts. Les LOH observés en l'absence de CNV sont compatibles avec des UPD dans 85 % des cas. Ces régions d'UPD varient en taille de 0.4 à 154 mb. Deux régions récurrentes ont été identifiées sur les chromosomes 4 impliquant les gènes DCLK2 et LRBA et 13 impliquant les gènes KPNA3, ARL11 et SETDB2. Parmi les 7 pts ne présentant pas d'anomalies en FISH et en cytogénétique conventionnelle, 4 pts présentent au moins un CNV et ou une UPD. Au total, le profilage par puces à SNP a permis la



détection de 94 anomalies génétiques (CNV ou LOH) (6.2 per genome). Parmi les 976 gènes localisés dans ces zones, 159 sont impliqués dans la prolifération cellulaire, 165 dans les cancers, 69 dans le cycle cellulaire. En conclusion, les puces à SNP ont permis d'identifier une fréquence élevée d'UPD dans la MW, un mécanisme crucial qui pourrait contribuer à l'inactivation de gènes suppresseurs de tumeurs au cours de la progression tumorale.

**Mots-clés :** maladie de Waldenström, puces à SNP.

#### ■P222. TRANSLOCATION (1;17)(P36;Q21) DANS UN SYNDROME MYÉLODYSPLASIQUE ACUTISÉ DE L'ENFANT AVEC MASTOCYTOSE SYSTÉMIQUE

A. Ittel (1), M. Lafage (1), M. Loosveld (2), L. Deluche (3), G. Michel (4), C. Preudhomme (3), H. Zattara-Cannoni (1)

(1) Laboratoire de Cytogénétique Onco-hématologique, CHU Timone Enfants, Marseille, France ; (2) Laboratoire d'Hématologie, CHU Timone, Marseille, France ; (3) Laboratoire d'Hématologie, CHU Lille, France ; (4) Service d'Hématologie Pédiatrique, CHU Timone Enfants, Marseille, France

Contact : ittel@live.fr

Nous rapportons l'observation d'un enfant de 5 ans hospitalisée pour syndrome pseudo-occlusif. Dans ces antécédents, on retrouve un retard statur pondéral, l'apparition d'une thrombopénie modérée (90-120 G/L) à 3 ans avec myélogramme et caryotype médullaire normaux et présence d'anticorps antiplaquettes. L'examen clinique retrouve une volumineuse splénomégalie associée à des macules pigmentées (visage, bras, tronc) évocatrices de mastocytose. L'hémogramme montre une anémie (Hb = 110g/L) normochrome normocytaire arégénérative, une thrombopénie (Pl = 40G/L) et une hyperleucocytose (GB = 35G/L) constituée de 35 % de blastes de type myéloïde avec maturation granuleuse dysplasique, et la présence de nombreux amas de mastocytes. L'analyse par cytométrie en flux met en évidence la population blastique exprimant MPO, CD34, CD117, CD13, CD33, CD11b et la population de mastocytes exprimant CD2, CD117, CD45. Le caryotype médullaire révèle la présence d'une translocation t(1;17)(p36;q21) sur les 20 mitoses analysées. La mutation de c-kit (D816V) est mise en évidence en biologie moléculaire. Aucune mutation ou duplication de FLT3 n'est retrouvée (RT-PCR) ni fusion AML1/ETO ou BCR/ABL. Cette enfant est traitée selon le protocole ELAM 02. Au myélogramme de fin d'induction, considéré en rémission cytologique de la LAM avec une maladie résiduelle < 0,1 % en immunophénotypage, on observe la persistance d'un grand nombre de mastocytes. Le myélogramme de fin de consolidation retrouve 20 % de cellules blastiques et de nombreux mastocytes alors que le caryotype montre 100 % de mitoses avec t(1;17). Cette dissociation entre le pourcentage de blastes et de mitoses anormales est en faveur d'un syndrome myélodysplasique (SMD) sous-jacent. Malgré plusieurs stratégies thérapeutiques (Flag, Mylotarg, Dasatinib), aucune rémission n'a pu être obtenue et la patiente est décédée 6 mois après le diagnostic. Le diagnostic évoqué est celui d'une acutisation de SMD associée à une mastocytose systémique. L'association avec une hémopathie maligne non mastocytaire définit le type « SM-AHNMD » (Systemic Mastocytosis with Associated clonal Hematological Non-Mast-cell lineage Disease). Bien que la patiente ait été diagnostiquée au stade de LAM, l'absence du gène de fusion AML1/ETO et l'évolution sont plus en faveur du sous-type SM-MDS que SM-AML. La t(1;17)(p36;q21) a été décrite dans 2 cas de LAM3 et un cas de LAM2. Dans notre cas, l'analyse FISH PML-RARA est négative et le locus RARA n'est pas réarrangé et centromérique par rapport au point de cassure 17q21 de la t(1;17). L'implication du gène PRDM16/MEL1 (MDS/EV11-Like1) situé en 1p36 a été démontrée dans des SMD/LAM avec translocation t(1;3)(p36;q21), des LAM et LMC avec t(1;21)(p36;q21) ou délétion 1p36. Dans notre cas l'analyse FISH de PRDM16 montre l'absence de réarrangement, le point de cassure situé sur le bras court du chromosome 1 étant plus télomérique et l'analyse par RT-PCR ne met pas en évidence d'hyperexpression de PRDM16.

**Mots-clés :** t(1;17)(p36;q21), mastocytose, myélodysplasie de l'enfant.

#### ■P223. MUTATION GERMINALE DE CDKN1C (P57KIP2) CHEZ UN ENFANT ATTEINT DU SYNDROME DE BECKWITH-WIEDEMANN ET D'UNE LEUCÉMIE AIGÜE LYMPHOBLASTIQUE DE TYPE T. LIEN DE CAUSALITÉ ?

C. Abadie (1), F. Bernard (2), I. Netchine (3, 4), D. Sanlaville (5), A. Roque (6), R. Tichit (7), G. Margueritte (7), Y. Le Bouc (3, 4), S. Rosignol (3, 4), I. Coupier (1, 8)

(1) Service de Génétique Médicale, Unité d'Oncogénétique, CHU Montpellier, France ; (2) UAM Antalgie, Soins Palliatifs Pédiatriques Service Anesthésie Réanimation A, CHU Montpellier, France ; (3) APHP Hôpital

Armand-Trousseau, Service d'Endocrinologie pédiatrique, Paris, France ; (4) Unité INSERM U983, Paris, France ; (5) Service de Cytogénétique, HCL, Groupement Hospitalier Est, Centre de Biologie et de Pathologie Est, Bron, France ; (6) Cabinet de psychothérapie, Saint Jean de Védas, France ; (7) Unité d'Hémo-Oncologie pédiatrique, CHU Montpellier, France ; (8) Service d'Oncogénétique, CRLCC Val d'Aurelle, Montpellier, France

Contact : abadie\_caro@yahoo.fr

Le syndrome de Beckwith-Wiedemann (SBW) (OMIM 130650) est un syndrome de croissance excessive prédisposant au développement de tumeurs dans l'enfance. Les tumeurs les plus fréquemment décrites dans ce syndrome sont des tumeurs embryonnaires telles le néphroblastome, l'hépatoblastome, le neuroblastome, le rhabdomyosarcome et le cortico-surrénalome. La variabilité phénotypique de ce syndrome reflète son hétérogénéité génétique. Cette dernière implique une dérégulation de gènes contrôlant la croissance localisés dans la région 11p15.5, soumise à empreinte parentale. La dérégulation de cette région complexe peut être secondaire à différents mécanismes : anomalie de l'empreinte, mutations délétères du gène CDKN1C (p57KIP2), disomie uniparentale de la région 11p15.5 et anomalies chromosomiques structurelles (duplication paternelle, translocation maternelle) de cette même région. Nous rapportons le cas d'un enfant de 10 ans atteint du SBW qui a développé une leucémie aiguë lymphoblastique de type T. L'étude génétique moléculaire a permis d'identifier une anomalie constitutionnelle délétère du gène CDKN1C (p57KIP2), d'origine maternelle. À notre connaissance, il s'agit du premier cas rapporté de leucémie aiguë lymphoblastique de type T chez un enfant atteint du SBW. Nous nous interrogeons sur la possibilité d'une association entre cette hémopathie particulière et le SBW et discutons l'éventualité d'un tel lien, notamment par le biais de la voie impliquant le Transforming Growth Factor bêta, un des régulateurs négatifs bien connu de l'hématopoïèse et dépendant de l'expression de CDKN1C (p57KIP2).

**Mots-clés :** CDKN1C, leucémie aiguë lymphoblastique de type T, syndrome de Beckwith-Wiedemann.

#### ■P224. RECHERCHE DE FACTEURS GÉNÉTIQUES PRÉDISPOSANT AUX DYSGLOBULINÉMIES

C. Dumontet (1), P. Galia (2), X. Leleu (3), H. Avet-Loiseau (4), H. Sobol (5)

(1) Service Hématologie, Hospices Civils de Lyon et LCMT, Lyon, France ; (2) LCMT, Lyon, France ; (3) Service des maladies du sang, CHRU Lille, France ; (4) Département d'Hématologie, CHU Nantes, France ; (5) Cancérologie et Génétique Médicale, Institut Paoli-Calmettes, Marseille, France

Contact : charles.dumontet@chu-lyon.fr

Le myélome multiple est une hémopathie maligne rare survenant dans la grande majorité des cas de façon isolée, sans contexte familial. Les gammopathies monoclonales de signification indéterminée (MGUS) correspondent à l'existence d'un clone plasmocytaire sécrétant une immunoglobuline monoclonale et peuvent chez certains patients évoluer vers un authentique myélome. 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 myélome multiple. L'objectif de cette étude est d'identifier les facteurs génétiques prédisposant aux dysglobulinémies familiales grâce à la mise en place d'une banque d'ADN. Le sang périphérique est prélevé sur les individus atteints d'une dysglobulinémie (myélome multiple, MGUS) et les membres sains de leur famille. Des lignées lymphoblastoïdes sont établies pour les analyses génétiques. Ce projet est réalisé grâce à la participation de l'Inter-groupe Francophone du Myélome (IFM) et le Myeloma Autograft Group (MAG) et s'intègre dans le Réseau National INCa sur la Prédisposition Héritaire aux Hémopathies Malignes par la Société Française d'Hématologie. Cette étude a débuté en Octobre 2007 et au 30 Juin 2009, 80 familles avec au moins deux cas de dysglobulinémie (moyenne 2, écart 2-5) ont été identifiées. Sur 68 familles en cours de participation, 410 inclusions ont été réalisées. Sur 178 cas de dysglobulinémies, 106 sont des myélomes multiples, 45 des MGUS et le reste est réparti entre des amyloses, des maladies de Waldenström et des nouveaux cas identifiés par le biais de l'étude. La répartition des sexes est de 57 % pour les hommes et 43 % pour les femmes. L'âge moyen à l'inclusion est de 67 ans (écart de 33 à 87 ans). La distribution du type de chaîne lourde est, de façon attendue, une majorité d'IgG. 37 % correspondent à des cas impliquant les parents et les enfants, et 40 % correspondent à des cas impliquant des frères et sœurs, 9 % des cas impliquent le mari et la



femme. Une fois les 100 familles collectées, une analyse permettant d'identifier les facteurs génétiques débutera.

**Mots-clés :** myélome multiple, MGUS, familial.

**■P226. MUTATIONS DE GATA1 DANS LES HÉMOPATHIES DE L'ENFANT TRISOMIQUE 21**

S. Drunat (1), C. Guidal-Giroux (1), J. Aregui (2), Y. Perel (2), H. Cavé (1)

(1) Département de Génétique, CHU Robert Debré, APHP, Paris, France ; (2) Unité Onco-hématologie Pédiatrique, Hôpital des Enfants, Bordeaux, France

Contact : severine.drunat@rdp.aphp.fr

Les études épidémiologiques ont montré que les enfants porteurs d'une trisomie 21 sont prédisposés au développement de leucémie aiguë (risque multiplié par 20) et plus particulièrement de leucémie aiguë mégacaryoblastique (LAM 7, risque multiplié par 500). Dix pourcent des nouveaux nés porteurs d'une trisomie 21 développent un syndrome myéloprolifératif transitoire (TMD), initié in utero, qui disparaît avant 3 mois de vie. Dans 30 pourcent des cas, cet épisode néonatal évolue vers une leucémie aiguë mégacaryoblastique (LAM7) avant l'âge de 3 ans. Le gène GATA1, situé sur le chromosome X, code pour un facteur de transcription exprimé dans les progéniteurs hématopoïétiques. Son rôle est essentiel dans le développement et la maturation des lignées, notamment érythroïdes et mégacaryocytaires. Récemment, des mutations acquises de GATA1 ont été mises en évidence dans la quasi totalité des cas de TMD et de LAM7 et ce, uniquement chez les enfants trisomiques 21. Les mutations de GATA1 constituent donc un marqueur moléculaire spécifique et stable du clone (pré)leucémique. Dans le cadre de la mise en place en France d'un protocole de prise en charge des LAM de l'enfant trisomique 21, nous avons recherché les mutations de GATA1 sur les prélèvements blastiques de 20 enfants. Nous avons analysé 10 patients présentant une LAM7 néonatale et 10 patients présentant un TMD. Les mutations de GATA1 ont été retrouvées chez tous les patients étudiés. Chez les 2 enfants qui ont développé une LAM7 secondaire au TMD, la mutation de GATA1 initialement détectée en période néonatale a été retrouvée dans les blastes leucémiques. Les mutations sont majoritairement (18/20) des insertions/délétions situées sur l'exon 2 (1 seule mutation sur l'exon 3) et 2 mutations modifient un site d'épissage. Toutes ces mutations entraînent l'apparition un codon stop prématuré qui conduit vraisemblablement, par homologie avec les données de la littérature, à la synthèse d'une forme tronquée de GATA1 à partir d'un site alternatif d'initiation de la transcription. Cette étude préliminaire démontre que les mutations de GATA1 sont des marqueurs sensibles et précoces d'hémopathie chez le trisomique 21 qui pourront permettre de prédire et d'anticiper l'apparition d'une LAM7 après un TMD. Par ailleurs, ce sont des cibles moléculaires stables et spécifiques pour détecter la maladie résiduelle permettant ainsi de suivre l'efficacité de la prise en charge thérapeutique et de prévenir les rechutes en adaptant le traitement au risque. L'étude des mutations GATA1 contribuera donc, d'une part, à l'amélioration de la prise en charge clinique des patients mais aussi à mieux comprendre les étapes de la transformation leucémique dans ce modèle biologique spécifique où des mutations somatiques émergent dans un contexte de trisomie constitutionnelle.

**Mots-clés :** trisomie 21, LAM, GATA1.

**■P227. MISE EN ÉVIDENCE D'UNE TRANSLOCATION RÉCIPROQUE CRYPTIQUE T(20;21)(Q13.2;Q22.12) INDUISANT UNE FUSION DES GÈNES ZFP64 ET RUNX1**

N. Douet-Guilbert (1, 2, 3), E. De Braekeleer (1, 2, 3), A. Basinko (1, 2, 3), M.J. Le Bris (1), A. Herry (2), F. Morel (1, 2, 3), M. De Braekeleer (1, 2, 3)

(1) Laboratoire de Cytogénétique, Cytologie et Biologie de la Reproduction, CHU Brest, France ; (2) Laboratoire d'Histologie, d'Embryologie et de Cytogénétique, Faculté de Médecine et des Sciences de la Santé, UBO, Brest, France ; (3) INSERM U613, Génétique Moléculaire et Génétique Épidémiologique, Brest, France

Contact : nathalie.douet-guilbert@chu-brest.fr

La leucémie myélonocyttaire chronique (LMMC) est une hémopathie myéloïde chronique incluse dans la catégorie des néoplasmes myéloplasiques/myéloprolifératifs (Organisation Mondiale Santé, 2008). Dans la LMMC, les anomalies du chromosome 20 sont majoritairement déséquilibrées et les remaniements équilibrés du chromosome 20 sont rares. Le but de cette étude est d'analyser les points de cassure par hybridation *in situ* fluorescente (FISH) d'une translocation réciproque cryptique t(20;21) découverte chez une patiente atteinte d'une LMMC. Une étude en cytogénétique conventionnelle à partir d'un prélèvement sanguin a été réalisée.

L'étude systématique en FISH des remaniements du gène RUNX1 (AML1) avec la sonde locus spécifique TEL-AML1 (Abbott\*, Rungis, France) a été effectuée. Des investigations complémentaires ont été accomplies avec les sondes subtelomériques du chromosome 20 (Abbott\*) et des sondes à façon (Bacterial artificial chromosomes référencés sur <http://genome.ucsc.edu>) situés sur le bras long du chromosome 20. Le caryotype standard met en évidence 2 populations cellulaires : 47,XX,+8[7]/46,XX[12]. L'étude FISH révèle une translocation réciproque cryptique t(20;21) dans toutes les métaphases analysées et dans 91 % des cellules en interphase. Les points de cassure se situent en 20q13.2 et en 21q22.12. Ils sont localisés dans le gène ZFP64 sur le chromosome 20 et le gène RUNX1 sur le chromosome 21. Dans la littérature, seulement deux cas de t(20;21)(q13;q22) sont décrits dans les hémopathies myéloïdes (Secker-Walker *et al.*, 1995, Richkind *et al.*, 2000) dont un cas dans un syndrome myéloplasique. Richkind *et al.* ont défini le point de cassure uniquement sur le dérivé du chromosome 21 au niveau de l'oncogène RUNX1. Les translocations impliquant le gène RUNX1 sont récurrentes. Actuellement 17 gènes partenaires sont identifiés dont certains sont rares. Dans notre étude, nous avons mis en évidence un nouveau gène partenaire du gène RUNX1, le gène ZFP64. ZFP64 est une protéine qui interviendrait dans la régulation de la transcription. Des travaux récents (Sakamoto *et al.*, 2008) ont montré que la protéine ZFP64 interagit avec le domaine intracellulaire de NOTCH1, protéine de signalisation jouant un rôle important dans la différenciation des cellules mésenchymateuses. L'expression de ZFP64 est sous le contrôle de RUNX2 (situé en 6p21), facteur de transcription appartenant à la même famille que RUNX1. Des études complémentaires de biologie moléculaire sont nécessaires pour déterminer les caractéristiques et le rôle leucémogène de cette fusion entre les gènes ZFP64 et RUNX1. Secker-Walker *et al.* Br J Haematol. 1995 ; 121 : 490-501. Richkind *et al.* Cancer Genet and Cytogenet. 2000 ; 91 : 141-143. Sakamoto *et al.* J Cell Science. 2008 ; 122 : 1613-23.

**Mots-clés :** t(20;21)(q13.2;q22.12), partenaire de RUNX1, gène ZFP64.

**■P228. UNE MICRODÉLÉTION 3'MLL DÉCELÉE PAR FISH, TÉMOIN DANS UNE LAM, D'UN GÈNE DE FUSION MLL RARE DE DÉCOUVERTE RÉCENTE : MLL-CBL**

M.J. Décovertre (1), E. Lhermey (1), C. Ballard (1), N. Péard (1), B. Léotard (1), M. Béri (1), S. Bologna (2), J.F. Lesesve (3), P. Jonveaux (1) (1) Laboratoire de génétique-EA 4368, CHU Nancy, France ; (2) Hématologie Médecine interne, CHU Nancy, France ; (3) Service d'hématologie biologique, CHU Nancy, France ; Contact : mj.decovertre@chu-nancy.fr

Les analyses chromosomiques, réalisées à partir d'un prélèvement de moelle osseuse, pour un patient de 63 ans présentant une LAM secondaire à une polyglobulie de vaguez traitée 8 ans par hydroxyurée, ne décèle aucun remaniement dans les 32 mitoses analysées. Cependant, le contrôle par FISH du locus MLL, réalisé de façon systématique, montre une délétion partielle cryptique, de la partie 3' de ce gène. Les mécanismes de leucémogénèse ne sont pas liés, a priori, à une simple délétion en 3' du gène MLL. Par contre, les gènes de fusion impliquant MLL, avec l'un de ces nombreux partenaires potentiels responsables de leucémies et en particulier de leucémies secondaires, se créent par fusion avec la partie 5'MLL et perte de la partie 3'. 3 gènes localisés en 11q23.3, LARG (ARHGEF12), CBL, BCL9L ont été identifiés comme nouveaux partenaires de MLL, ces fusions résultant d'une délétion interstitielle : LARG en 2000 (Proc Nat Acad Sci USA, 2000 ; 97 : 2145-50), CBL en 2003 (Genes, chromosomes et cancer, 2003 ; 37 : 214-9), BCL9L ou encore TIRAP/DCPS en 11q24.2 décrits en 2006 (Biotechnol J, 2006 ; 1 : 656-63). À la lumière des résultats d'hybridation *in situ*, une RT-PCR, réalisée à partir de l'ARN extrait des cellules médullaires au diagnostic, a effectivement mis en évidence un transcrite de fusion MLL-CBL, dont la séquence est identique à celui décrit dans la publication princeps de 2003 ; la détection de ce transcrite de fusion offre la possibilité de suivre l'efficacité du traitement chez ce patient. Il s'agit donc du 2ème cas décrit de fusion MLL-CBL ; CBL est traduit en une protéine cytoplasmique pourvue d'un domaine Leucine Zipper ; la conservation de ce domaine dans la protéine chimérique, en activant la dimérisation de la partie 5'MLL, concourrait, *via* une dérégulation des gènes HOX, au processus leucémique.

**Mots-clés :** MLL-CBL, FISH MLL, LAM secondaire.

**■P229. MISE EN ÉVIDENCE DE TOP3A EN TANT QUE NOUVEAU GÈNE PARTENAIRE DE MLL DANS UN CAS DE LAM DE NOVO PRÉSENTANT UNE T(11;17)(Q23;P12)**

C. Herbaux (1), S. Poulain (2), C. Meyer (3), A. Renneville (4), J. Fernandes (1), M. Simon (1), P. Duthilleul (2), A. Daudignon (2)

(1) Service d'Hématologie Clinique, CH Valenciennes, France ; (2) Service d'Hématologie Immunologie Cytogénétique, CH Valenciennes,

France ; (3) Institute of Pharmaceutical Biology, University of Frankfurt, Germany ; (4) Centre de Biologie-Pathologie, Laboratoire d'Hématologie, CHRU Lille, France  
Contact : charles.herbaux@yahoo.fr

**Introduction :** Les remaniements de MLL (Mixed leukemia lineage) sont observés dans 5 à 10 % des leucémies aiguës myéloïdes (LAM) *de novo* ou secondaires. 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. Jusqu'à présent, 104 réarrangements impliquant MLL ont été décrits dans les leucémies aiguës. Parmi ceux-ci, 64 gènes partenaires ont pu être caractérisés sur le plan moléculaire. Nous rapportons le cas d'une LAM *de novo* chez un patient de 51 ans, présentant une t(11;17)(q23;p12) impliquant le gène MLL. Présentation du cas : Le patient est adressé aux urgences pour bilan d'une altération de l'état général avec hyperthermie à 40 °C. Une infection pulmonaire est diagnostiquée. La numération formule sanguine retrouvait une pancytopenie comprenant une anémie normocytaire à 9,3 g/dL, une thrombopénie à 19 000 et une leucopénie modérée à 3,7 G/L avec présence de 28 % de blastes. Une infiltration par 80 % de blastes de morphologie myéloïde est observée au myélogramme. L'immunophénotypage en cytométrie de flux a mis en évidence l'expression de marqueurs myéloïdes (myéloperoxydase, CD13, CD33, CD117) et l'absence de marqueurs lymphoïdes. Le diagnostic de LAM est posé. Le caryotype médullaire a conclu à la présence d'une translocation t(11;17)(q23;p12-13) dans 20 métaphases. Aucune mutation de CEBPalpha, NPM et/ou duplication de FLT3 n'a été observée. Il n'est pas retrouvé de duplication du gène MLL, en revanche une surexpression de EVI1 et de WT1 est détectée. Sur le plan thérapeutique, le patient a bénéficié d'une double induction selon le protocole CLARA (Daunorubicine de J1 à J3 et J8 J9 et Aracytine J1 à J3 et J8 à J10) permettant l'obtention d'une rémission complète à J30. Les cures de consolidation sont en cours. Ce réarrangement de MLL, associé à un pronostic péjoratif, a conduit à l'indication d'une allogreffe de moelle osseuse. Analyse moléculaire de la t(11;17)(q23;p12-13) : L'analyse par hybridation *in situ* utilisant la sonde LSI-MLL Dual Color, Break Apart Rearrangement (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 17 remanié [der(17)] et maintien du signal 5'MLL sur le der(11). La recherche du partenaire potentiel sur le chromosome 17 a été effectuée par long-distance inverse PCR puis par séquençage et a mis en évidence un nouveau gène partenaire, TOP3A localisé en 17p12.1. Ce gène code pour une DNA topoisomérase qui interagit avec la protéine BLM, une hélicase de type RecQ impliquée dans le syndrome de Bloom. En conclusion, cette observation rapporte le cas d'une LAM *de novo* avec une t(11;17)(q23;p12.1) impliquant MLL et un nouveau partenaire, TOP3A.

**Mots-clés :** MLL, TOP3A, LAM.

#### ■P230. MISE EN ÉVIDENCE DES ANOMALIES CYTOGÉNÉTIQUES DE LA LEUCEMIE LYMPHOÏDE CHRONIQUE : APPORT DE LA MLPA

L. Véronèse (1), P. Combes (1), J.O. Bay (2), L. Gouas (1), E. Eymard-Pierre (1), C. Pebrél-Richard (1), C. Goumy (1), P. Vago (1), O. Tournilhac (2), A. Tchirkov (1)

(1) Univ Clermont1, UFR Médecine, CHU Clermont-Ferrand, Service de Cytogénétique Médicale, France ; (2) CHU Clermont-Ferrand, Service d'Hématologie, Clinique Adulte et Thérapie Cellulaire, Hôtel-Dieu, France

Contact : lveronese@chu-clermontferrand.fr

**Introduction :** La leucémie lymphoïde chronique (LLC) est un syndrome lymphoprolifératif fréquent dans les pays occidentaux. La mise en évidence d'anomalies cytogénétiques récurrentes par FISH interphasique (FISH) est indispensable à la prise en charge thérapeutique et à l'évaluation du pronostic de cette hémopathie en routine. La MLPA (multiplex ligation-dependent probe amplification) est une technique de quantification génique qui permet d'explorer simultanément une quarantaine de locus afin de rechercher des pertes ou des gains de matériel génomique. Matériel et méthodes : Nous avons réalisé la technique de MLPA chez 42 patients atteints de LLC en utilisant 2 kits commerciaux permettant d'explorer 55 locus distincts et de rechercher entre autre les anomalies récurrentes les plus fréquentes (délétions 17p13, 11q22, 13q14 et trisomie 12). Les résultats obtenus ont été comparés aux données de FISH. Résultats : Il existe une bonne corrélation entre les résultats de MLPA et les résultats de FISH ; 87 % des 47 anomalies mises en évidence sont détectées par les 2 approches. Dans 4 cas, la MLPA n'a pas mis en évidence de perte ou gain en matériel génomique en raison d'un faible nombre de cellules portant l'anomalie clonale. Dans 1 cas, la MLPA a permis d'identifier une anomalie non récurrente. Conclusion : Facilement

applicable en routine, la MLPA est une technique peu onéreuse, à haut débit, qui permet la détection simultanée de plusieurs déséquilibres génomiques et qui est adaptée aux grandes séries de patients ; à ce titre, la MLPA représente une alternative intéressante à la FISH sur noyaux interphasiques. Cette approche reste néanmoins complémentaire de la cytogénétique conventionnelle qui permet la mise en évidence d'anomalies équilibrées ou de déséquilibres non ciblés par les kits utilisés.

**Mots-clés :** leucémie lymphoïde chronique, MLPA, quantification génique.

#### ■P231. ÉTUDE MOLÉCULAIRE DU GÈNE CEBPA DANS LES HÉMOPATHIES MALIGNES FAMILIALES

R. El Abed (1), V. Bourdon (2), L. Huiart (2), F. Eisinger (2), Y. Ben Youssef (3), M. Frenay (4), P. Gesta (5), L. Demange (6), H. Dreyfus (7), V. Bonadona (8), C. Dugast (9), H. Zattara (10), L. Faivre (11), T. Noguchi (2), R. Sauvan (2), Z. Soua (1), H. Sobol (2, 12)

(1) UR Biologie moléculaire des leucémies et lymphomes – Laboratoire de Biochimie, Faculté de Médecine, Sousse, Tunisie ; (2) Département d'Oncologie Génétique, de Prévention et Dépistage, IPC, Marseille, France ; (3) Service d'Hématologie Clinique, CHU F. Hached, Sousse, Tunisie ; (4) Centre Antoine Lacassagne, Nice, France ; (5) CHG Niort, France ; (6) Polyclinique de Courlancy, Reims, France ; (7) Institut Ste Catherine, Avignon, France ; (8) Unité de génétique épidémiologique, Centre Léon-Bérard, Lyon, France ; (9) Centre Eugène-Marquis, Rennes, France ; (10) Département de Génétique, Hôpital de la Timone, Marseille, France ; (11) Hôpital d'Enfants, CHU de Dijon, France ; (12) Université d'Aix Marseille II, France

Contact : hagay.sobol@inserm.fr

Des agrégations familiales de malignités hématologiques ont été décrites mais les bases génétiques de ces formes restent largement inconnues. Quelques gènes ont été identifiés comme prédisposant aux malignités hématologiques. Parmi lesquels RUNX1 et CEBPA qui prédisposent aux leucémies aiguës myéloïdes (LAM). CEBPA est un facteur de transcription qui joue un rôle important dans la différenciation myéloïde. Dans cette étude, nous analysons le gène CEBPA à la recherche de mutations germinales dans un large panel de familles présentant une agrégation de cancers hématologiques (incluant des leucémies, myéloïdes ou lymphoïdes, chroniques ou aiguës ; des lymphomes de Hodgkin ou non Hodgkiniens ; des syndromes myéloprolifératifs ou myélodysplasiques associés ou pas à des tumeurs solides). Nous rapportons 2 nouveaux variants, dont le rôle n'est pas clairement défini. Il s'agit d'une mutation faux sens (c.724G>A, p.Gly242Ser) et d'une substitution silencieuse (c.111G>A, p.Ala37Ala). Ces 2 variants n'ont pas été retrouvés dans une population contrôlée de 163 individus sains. Néanmoins, il faudrait réaliser une étude fonctionnelle afin de pouvoir distinguer une mutation causale impliquée dans l'oncogénèse ou de pertinence clinique d'un polymorphisme neutre. Par ailleurs, nous confirmons que l'insertion c.1175\_1180dup (p.P194\_H195dup) est un polymorphisme germlinal comme le décrivent de récents travaux.

**Mots-clés :** hémopathies malignes familiales, CEBPA, mutation germinale.

#### ■P232. ÉVALUATION DU STATUT MUTATIONNEL DE PERFORINE DANS LES HÉMOPATHIES MALIGNES FAMILIALES

R. El Abed (1), V. Bourdon (2), Y. Ben Youssef (3), H. Omri (3), L. Huiart (2), F. Eisinger (2), M. Frenay (4), P. Gesta (5), L. Demange (6), H. Dreyfus (7), V. Bonadona (8), C. Dugast (9), H. Zattara (10), L. Faivre (11), M. Zaier (12), S. Yacoub Jemni (12), T. Noguchi (2), R. Sauvan (2), I. Voskoboinik (13), H. Sobol (2, 14), Z. Soua (1)

(1) UR Biologie moléculaire des leucémies et lymphomes – Laboratoire de Biochimie, Faculté de Médecine, Sousse, Tunisie ; (2) Département d'Oncologie Génétique, de Prévention et Dépistage, IPC, Marseille, France ; (3) Service d'Hématologie Clinique, CHU F. Hached, Sousse, Tunisie ; (4) Centre Antoine Lacassagne, Nice, France ; (5) CHG Niort, France ; (6) Polyclinique de Courlancy, Reims, France ; (7) Institut Ste Catherine, Avignon, France ; (8) Unité de génétique épidémiologique, Centre Léon-Bérard, Lyon, France ; (9) Centre Eugène-Marquis, Rennes, France ; (10) Département de Génétique, Hôpital de la Timone, Marseille, France ; (11) Hôpital d'Enfants, CHU de Dijon, France ; (12) Centre régional de transfusion sanguine de Sousse, Tunisie ; (13) Cancer Cell Death Laboratory - Peter MacCallum Cancer Center, Australie ; (14) Université d'Aix, Marseille II, France

Contact : zohra\_soua@yahoo.fr

Perforine est une protéine cytotolytique exprimée spécifiquement dans les cellules cytotoxiques T et NK. Elle est essentielle pour l'immunosurveillance, l'homéostasie lymphocytaire et l'induction de la mort cellulaire indépendante de Fas. Des mutations délétères de perforine sont associées à des formes héréditaires de Syndromes hémophagocytaires. Dans ce travail, nous



recherchons des mutations constitutionnelles du gène perforine chez 89 patients d'origines génétiques différentes présentant des hémopathies malignes familiales. Nous avons identifié 3.37 % de mutations dans la région codante du gène perforine. Nous retrouvons 2 mutations qui ont déjà été documentées dans la littérature : N252S et A91V et décrivons chez 2 patients cousins germains tunisiens (issus d'une famille consanguine) ayant développé un lymphome de Hodgkin, un variant de PRF1 jamais décrit auparavant. La mutation est une substitution hétérozygote faux-sens A211V. Nous avons étudié sa ségrégation dans la famille en question, sa prévalence dans la population tunisienne témoin et ses conséquences fonctionnelles sur la cytotoxicité de perforine vis à vis des cellules cibles. Ce nouveau variant n'a été retrouvé chez aucun des témoins analysés. Un test fonctionnel sur un système RBL (Rat Basophil leukemia cells) a été réalisé. Nous avons constaté que la protéine PRF recombinante A211V conserve une activité cytotolytique normale. Une mutation monoallélique de PRF pourrait être considérée comme un facteur de risque hérité qui interagit avec d'autres événements mutationnels (soma-tiques ou constitutionnels) pour conduire à une néoplasie hématologique.

**Mots-clés :** hémopathies malignes familiales, perforine, mutation germinale.

#### ■P233. UTILISATION DE LA PCR MULTIPLEXE SPÉCIFIQUE DU GÈNE *IGKDE* POUR LE GÉNOTYPAGE D'UNE LAL-PREB DE L'ADULTE TUNISIEN

W.S. Hamadou (1), S. Hafsi (1), Y. Ben Youssef (2), A. Khelif (1, 2), M.P. Lefranc (3), Z. Soua (1)

(1) UR : Biologie moléculaire des leucémies et lymphomes, Laboratoire de Biochimie, Faculté de Médecine, Sousse, Tunisie ; (2) Service d'Hématologie Clinique, CHU F. Hached, Sousse, Tunisie ; (3) Laboratoire d'Immunogénétique moléculaire, IGH, Montpellier, France

Contact : walid\_sabrimail@yahoo.fr

Dans les proliférations malignes lymphoïdes B Iglambda+, le locus IGK des immunoglobulines est inactivé grâce à un réarrangement délétionnel impliquant le segment Kde (kappa deleting element) et l'un des gènes Vk ou la séquence RSS. Ce réarrangement *via* Kde est détecté dans la majorité des leucémies aiguës lymphoblastiques à précurseurs B (LAL-préB) dans 35 à 50 % des cas. Chez l'adulte, ces délétions IGK concernent exclusivement les gènes Vk et jamais l'intron RSS. Le réarrangement Kde étant clonal et stable, nous l'utiliserons comme cible moléculaire dans une PCR multiplexe que nous mettons au point afin de caractériser génotypiquement une LAL-préB de l'adulte. La leucémie analysée est diagnostiquée chez un homme tunisien de 68 ans et classée par immunophénotypage comme une LAL-préB. Nous avons montré par Southern blot chimiluminescent et grâce aux sondes Ck et Kde, la présence d'une délétion bi-allélique du locus IGK. Ces données concordent avec le réarrangement et l'expression en surface de la molécule Iglambda par les cellules leucémiques. En présence d'amorces spécifiques des familles de gènes VkI, VkJI, VkJII, VkJIII, VkJIV et des séquences RSS et Kde, la PCR multiplexe a permis d'amplifier le réarrangement délétionnel de type intron RSS-Kde sur les deux allèles. Des PCR simples l'ont confirmé. Ce modèle de réarrangement Kde, décrit pour la première fois dans une LAL-préB, sera investigué dans une grande série d'échantillons. Il pourrait permettre de définir des sous-groupes évolutifs différents. Il pourrait être corrélé au pronostic plus sévère des LAL B de l'adulte et aux moins bons résultats obtenus avec nos patients comparativement aux séries occidentales. Le réarrangement délétionnel Kde est un événement unique dans chaque clone tumoral B. Il peut ainsi constituer une véritable « empreinte génétique » spécifique à chaque LAL B et pourra servir à sa caractérisation moléculaire, à la détermination de facteurs pronostiques et à l'évaluation de la maladie résiduelle.

**Mots-clés :** LAL-préB, réarrangement Kde, PCR multiplexe.

#### ■P234. IDENTIFICATION DE GÈNES PARTENAIRES DE *MLL* ET ÉTUDE DE L'EXPRESSION DES GÈNES DE FUSION CHEZ 26 PATIENTS ATTEINTS DE LEUCÉMIE AIGUË

E. De Braekeleer (1, 2, 3), C. Meyer (4), M.J. Le Bris (3), N. Douet-Guilbert (1, 2, 3), A. Basinko (1, 2, 3), F. Morel (1, 2, 3), R. Marschalek (4), C. Ferec (1, 5), Marc De Braekeleer (1, 2, 3)

(1) Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale (INSERM), U613, Brest, France ; (2) Laboratoire d'Histologie, Embryologie et Cytogénétique, Faculté de Médecine et des Sciences de la Santé, Brest ; (3) Service de Cytogénétique, Cytologie et Biologie de la Reproduction, Hôpital Morvan, CHU Brest ; (4) Institute of Pharmaceutical Biology / DCAL / ZAFES, JWG-University of Frankfurt, Frankfurt/Main, Allemagne ; (5) Établissement Français du Sang-Bretagne, Brest

Contact : etienne.debraekeleer@etudiant.univ-brest.fr

Le gène « Mixed Lineage Leukemia » (MLL), situé en 11q23, est un gène ubiquitaire qui est réarrangé dans un grand nombre de translocations. Il existe

actuellement plus d'une soixantaine de gènes partenaires du gène MLL qui ont été décrits sur un plan moléculaire. Le but de cette étude est de faire une revue et d'identifier les gènes partenaires de MLL ainsi que d'étudier l'expression de ces gènes de fusion. L'étude porte sur 26 patients atteints de leucémie aiguë lymphoblastique (70 %) ou de leucémie aiguë myéloblastique (30 %) et présentant un réarrangement du chromosome 11 en q23 parmi les prélèvements conservés depuis 1995. Pour tous les patients, nous avons réalisé une étude cytogénétique conventionnelle et une analyse FISH en utilisant la sonde commerciale MLL (Abbott®) afin de déterminer si ce gène est impliqué. Ensuite, une analyse par LDI-PCR a été réalisée afin de déterminer le gène partenaire. Nous avons confirmé la fusion à l'aide de Chromosomes artificiels de bactéries. Enfin, nous avons étudié l'expression des gènes de fusion par RT-PCR. Le gène partenaire de MLL est AFF1 (AF4) pour 7 patients, MLLT3 (AF9) pour 5, ELL pour 3, MLLT6 (AF17) pour 2, EPS15 pour 2, MLLT1 (ENL) pour 1, MLLT11 (AF10) pour 1, MLLT4 (AF6) pour 1, SEPT6 pour 1 et 1 ELL pour 1. Parmi les 26 prélèvements, nous avons mis en évidence 2 nouveaux gènes partenaires de MLL, les gènes FLNA [1] et KIAA0284 [2]. Le gène FLNA est situé en Xq28. La fonction de la protéine est peu connue, elle régulerait notamment le cytosquelette d'actine, l'activité des intégrines, des récepteurs membranaires et des facteurs de transcription tels que les protéines Rho. Le gène KIAA0284 est situé en 14q32.33. En plus de notre patient, un autre cas a été rapporté dans la littérature comme ayant ce même gène partenaire. La protéine n'a pas de fonction connue et n'apparaît pas dans la littérature, impliquée dans une pathologie hématologique. Concernant l'expression des gènes de fusion, nous avons mis en évidence une fusion MLL/EPS15 après épissage [3]. Contrairement aux remaniements classiques où les points de cassure sont dans deux gènes différents, ici, un point de cassure est situé dans le gène MLL et l'autre en amont d'une dizaine de kb d'un gène partenaire. La fusion ne se produit que lors de l'épissage des transcrits. Ce phénomène est déjà décrit dans la littérature, 1/3 des points de cassure sont localisés en amont du gène EPS15. Par contre, nous avons décrit pour la première fois la fusion après épissage pour le gène partenaire ELL [3]. La production d'un transcrit chimérique fonctionnel après épissage est devenue une nouvelle propriété de MLL. En conclusion, nous avons mis en évidence deux nouveaux gènes partenaires de MLL ainsi qu'un nouveau mécanisme de fusion avec le gène partenaire ELL.

#### Références

1. De Braekeleer E., *et al.*, Br J Haematol, 2009 ; 146 (6) : 693-5.
2. De Braekeleer E., *et al.*, Blood Cells Mol Dis, 2009 ; 42 (3) : 292-3.
3. Meyer C., *et al.*, Leukemia, 2009 ; 23 (8) : 1490-9.

**Mots-clés :** gène de fusion, MLL, leucémie aiguë.

#### ■P235. IDENTIFICATION D'UN GÈNE DE FUSION *MLL-AF6* RÉSULTANT D'UNE T(6;11)(Q27;Q23) SE PRÉSENTANT COMME UNE DÉLÉTION DU BRAS LONG DU CHROMOSOME 11 DANS UN CAS DE LEUCÉMIE AIGUË LYMPHOBLASTIQUE À CELLULES T E

E. De Braekeleer (1, 2, 3), C. Meyer (4), M.J. Le Bris (3), N. Douet-Guilbert (1, 2, 3), A. Basinko (1, 2, 3), F. Morel (1, 2, 3), R. Marschalek (4), C. Ferec (1, 5), Marc De Braekeleer (1, 2, 3)

(1) Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale (INSERM), U613, Brest, France ; (2) Laboratoire d'Histologie, Embryologie et Cytogénétique, Faculté de Médecine et des Sciences de la Santé, Brest ; (3) Service de Cytogénétique, Cytologie et Biologie de la Reproduction, Hôpital Morvan, CHU Brest ; (4) Institute of Pharmaceutical Biology / DCAL / ZAFES, JWG-University of Frankfurt, Frankfurt/Main, Allemagne ; (5) Établissement Français du Sang-Bretagne, Brest

Contact : etienne.debraekeleer@etudiant.univ-brest.fr

Les anomalies de structure impliquant le gène MLL sont associées à de nombreux types de leucémies, mais rarement aux leucémies aiguës lymphoblastiques à cellules T (LALT). De plus, la cytogénétique conventionnelle ne permet pas toujours d'identifier la nature du réarrangement de MLL. Nous présentons ici un cas de LALT de l'enfant associée à une délétion intercalaire du bras long du chromosome 11 qui s'est avérée être un réarrangement cryptique entraînant la formation d'un gène de fusion MLL-AF6. Un garçon âgé de 3 ans et 7 mois a été vu pour la première fois en septembre 1999 pour de nombreuses adénopathies cervicales. À l'admission, une hépatosplénomégalie était aussi trouvée. À la ponction, la moelle osseuse était très riche et infiltrée par 36,5 % de lymphoblastes dont l'immunophénotypage montrait le caractère T. Le traitement d'induction a dû être intensifié à cause de la cortico- et de la chimiorésistance. La rémission complète était acquise en novembre 1999 et maintenue jusqu'en avril 2000, date à laquelle l'enfant reçut une transplantation autologue de cellules souches médullaires. L'enfant a été revu en septembre 2009 ; il est en rémission complète. Le caryotype en bandes R montrait une délétion intercalaire, del(11)(q14q24q) dans 15 des 44 métaphases examinées. L'hybridation *in situ* fluorescente (FISH) avec la sonde LSI MLL dual color (Abbott) montrait une délétion partielle de MLL, la partie 5' (signal



vert) restant sur le chromosome 11 alors que la partie 3' du gène (signal rouge) était délétée. Grâce à la technique de PCR longue distance inverse (LDI-PCR), nous avons déterminé que la partie 5' du gène MLL (point de cassure dans l'intron 11) fusionnait avec la partie 3' du gène AF6 (MLLT4) (point de cassure dans l'intron 1), ce dernier gène étant normalement situé dans la bande q27 du chromosome 6. La FISH réalisée avec une sonde sub-télomérique 6q montre la présence de celle-ci sur le dérivé du chromosome 11. Le gène de fusion MLL-AF6 résulte d'une translocation récurrente, t(6;11)(q27;q23). Elle a été principalement identifiée dans les leucémies aiguës myéloblastiques (M4) et monoblastiques (M5). Elle a aussi été décrite dans 7 cas de LAL dont 5 cas de LALT. Les délétions de la bande 11q23 sont une anomalie récurrente dans les syndromes myélodysplasiques et les leucémies aiguës myéloblastiques et lymphoblastiques. Certaines délétions apparentes en cytogénétique conventionnelle sont en fait des translocations impliquant le gène MLL. Cela semble être le cas pour la t(6;11)(q27;q23) puisque quelques rapports, incluant celui-ci, ont maintenant montré les délétions impliquant 11q23 vues en cytogénétique conventionnelle pouvaient en fait être des translocations t(6;11)(q27;q23). Cette étude confirme que toute délétion identifiée en cytogénétique conventionnelle devrait faire l'objet d'une analyse en cytogénétique moléculaire et en biologie moléculaire pour élucider les éventuels réarrangements de MLL sous-jacents.

**Mots-clés :** MLL, AF6, LAL-T.

**■P236. MISE EN ÉVIDENCE DE 8 ANOMALIES GÉNOMIQUES DÉSÉQUILIBRÉES CHEZ UNE PATIENTE ATTEINTE DE LA MALADIE DE WALDENSTRÖM ET PRÉSENTANT UNE T(3;4)(P14;P16) CYTOGÉNÉTIQUEMENT ÉQUILIBRÉE**

E. Labis (1), J. Andrieux (1), O. Theisen (1), C. Roche-Lestienne (1), B. Cazin (2), X. Leleu (2), J.L. Lai (1)

(1) *Laboratoire de Génétique Médicale, Hôpital Jeanne-de-Flandre, CHRU de Lille, France*; (2) *Service des Maladies du Sang, CHRU de Lille, France*

Contact : j-andrieux@chru-lille.fr

La macroglobulinémie de Waldenström est une hémopathie maligne rare correspondant à une prolifération lymphoplasmocytaire associée à une gammapathie monoclonale. Les anomalies cytogénétiques de nombre les plus souvent rencontrées sont les trisomies 3 et 4, les monosomies totales ou partielles des chromosomes 13 et 20, la perte de l'Y chez l'homme, d'un X chez la femme et la trisomie 12. Les anomalies cytogénétiques de structure les plus fréquentes sont les délétions 6q23, 13q14, 11q22 (ATM) et 17p13 (TP53). La fréquence des anomalies de structure à l'origine de trisomies partielles des chromosomes 3 et 4 et de délétion partielle 20q- est peut-être sous-estimée dans la mesure où les cariotypes comportent des chromosomes marqueurs non identifiés. Une patiente de 74 ans, suivie depuis 1997 pour une maladie de Waldenström compliquée d'anémie hémolytique auto-immune à agglutinines froides ayant nécessité une splénectomie thérapeutique, est hospitalisée en mars 2008 pour épisode fébrile et altération de l'état général. Les différentes explorations réalisées mettent en évidence une aggravation de l'hyperlymphocytose (20000/mm<sup>3</sup>) avec 1/3 de lymphocytes de morphologie atypique, persistance de l'anémie (10 g/dl) et légère augmentation du pic d'IgM. Devant l'hyperlymphocytose circulante importante et l'aggravation du tableau hémolytique auto-immun avec anémie profonde, la patiente reçoit deux cures selon le protocole R-Mini CHOP compliquées d'une détresse respiratoire associée à un épanchement pleural nécessitant un transfert en réanimation. Actuellement, la patiente semble être en rémission complète avec amélioration de l'état général (reprise de l'alimentation et de la marche) même si celui-ci reste précaire. Le cariotype retrouve une t(3;4)(p14;p16) et une monosomie X dans 8 cellules. La FISH utilisant la sonde RP11-572O17 (couvrant FGFR3 en 4p16) montre une délétion dans 85 % des noyaux. Afin de préciser la délétion et de détecter d'éventuelles anomalies additionnelles, une CGH-array Agilent 44K est réalisée. Elle met en évidence plusieurs anomalies déséquilibrées : -del 1p36.1p35.1 (6,2 Mb) qui emporte de nombreux gènes dont LCK. - remaniement complexe du chromosome 3 : dup 3p21.1p11.1 (38 Mb), del 3q13.33 (2,8 Mb), dup 3q26.3q29 (15,4 Mb). - remaniement complexe du chromosome 4 : del 4p16.3p14 (38,6 Mb), dup 4p14p13 (4,6 Mb), del 4p13p12 (4,3 Mb), dup 4p12p11 (1 Mb) qui coupe le gène TXX et qui emporte le gène TEC. -del 8p21.3p12 (8 Mb) qui emporte notamment plusieurs gènes de la famille des TNF-R dont TRAIL-R1 et TRAIL-R2, gènes suppresseurs de tumeur déjà impliqués dans les lymphomes de type B. -del 9q32q34.13 (17,8 Mb). -del 13q12.3q13.1 (2 Mb) qui emporte le gène suppresseur de tumeur BRCA2. Plusieurs gènes codant pour des Tyrosine-kinases sont impliqués dans ce remaniement complexe qui illustre la complémentarité du cariotype et la fiabilité de la CGH-array pour le diagnostic d'anomalies cytogénétiques complexes.

**Mots-clés :** Waldenström, CGH-array.

**■P237. ANALYSE PAR FISH INTERPHASIQUE DE 14 CAS DE LYMPHOMES PRIMITIFS DU SYSTÈME NERVEUX CENTRAL**

M. Le Calvé (1), S. Saïkali (2, 3), A. Hamlat (4), S. Caulet-Maugendre (3), S. Jaillard (1, 2), J. Lucas (1), C. Henry (1), T. Lamy de la Chapelle (5), Y. Guegan (4), M.A. Belaud-Rotureau (1, 2)

(1) *Laboratoire de Cytogénétique et Biologie Cellulaire, CHU Pontchaillou, Rennes, France*; (2) *UMR 6061 CNRS, IFR 140, Université de Rennes 1, France*; (3) *Laboratoire d'Anatomie et Cytologie Pathologiques, CHU Pontchaillou, Rennes, France*; (4) *Service de neurochirurgie, CHU Pontchaillou, Rennes, France*; (5) *Service d'Hématologie, CHU Pontchaillou, Rennes, France*

Contact : marc-antoine.belaud-rotureau@chu-rennes.fr

Les lymphomes primitifs du système nerveux central (LPSNC) sont des lymphomes B de haut grade associés à un mauvais pronostic. Des anomalies chromosomiques récurrentes ont été rapportées dans les LPSNC mais ces pathologies ont été assez peu décrites. Cette étude a pour but de détecter de nouvelles anomalies génomiques et de préciser leur impact pronostic. Une analyse multiparamétrique par FISH interphasique de 14 cas de LPSNC a été réalisée. Les coupes de tissus fixés par le formol et inclus en paraffine ont été analysés avec les sondes spécifiques des loci suivants : 1p22 (BCL-10), 3q27 (BCL-6), 11q13 (CCND1), 14q32 (IGH), 18q21 (BCL-2 et MALT-1). L'analyse par FISH a été contributive pour 74 % des préparations (62/84). Des déséquilibres génomiques (pertes gains) ou des translocations ont été retrouvés dans 53 % des cas (33/62). Les anomalies les plus fréquentes concernaient les loci des gènes BCL-6 (77 % ; 10/13) et IGH (78 % ; 7/9). Les déséquilibres génomiques étaient toujours représentés par des gains (trisomie, tétrasomie,...) sauf pour 2 loci présentant une délétion : 1p22 (BCL-10 ; N = 2) et 18q21 (MALT1 ; N = 1). Les gains les plus souvent observés impliquaient les loci des gènes BCL-6 (54 % ; 7/13), BCL-2 (36 % ; 5/14), MALT 1 (37 % ; 4/11) et CCND1 (31 % ; 4/13). Des translocations impliquant les loci 3q27 (BCL-6 ; N = 3) et 14q32 (IGH ; N = 4) ont été mises en évidence par FISH. Elles concernaient 3 patients avec probablement un réarrangement IGH-BCL-6 d'une t(3;14)(q27;q32) et 1 patient avec 1 réarrangement impliquant le gène IGH sans partenaire identifié. Les cas porteurs d'une translocation ne présentaient pas d'anomalie des autres loci analysés. Nos résultats sont en accord avec les rares publications sur les LPSNC qui ont montré des translocations fréquentes impliquant les gènes IGH et BCL-6 ainsi que des gains récurrents sur le bras long du chromosome 3 (BCL-6) et du chromosome 18 (BCL-2, MALT-1). Nous rapportons en plus des gains impliquant le gène CCND1 en 11q13. La corrélation de ces données avec l'évolution clinique des patients montre dans la limite de la petite taille de notre série que la survie des patients est plus courte en cas d'anomalies génomiques multiples.

**Mots-clés :** FISH, lymphome, CCND1.

**■P238. RÉCURRENCE FAMILIALE D'HÉPATOBLASTOME ET DE CARCINOME HÉPATOCELLULAIRE CHEZ DES ENFANTS RÉUNIONNAIS : HYPOTHÈSE D'UNE TRANSMISSION AUTOSOMIQUE RÉCESSIVE**

M. Girard (1, 2), B. Aulagne (1, 3), F. Lacaille (2), F. Sauvat (4), I. Aerts (5), V. Verkarre (6), M. Fabre (7), A. Munnich (1, 8), F. Cartault (9), S. Lyonnet (1, 8), A. Henrion-Caude (1)

(1) *Inserm U781, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France*; (2) *Département de Gastroentérologie, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France*; (3) *Service de Chirurgie, Hôpital Félix-Guyon, La Réunion, France*; (4) *Service de Chirurgie, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France*; (5) *Service d'Oncologie Pédiatrique, Institut Curie, Paris, France*; (6) *Service d'Anatomopathologie, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France*; (7) *Service d'Anatomopathologie, Hôpital Kremlin-Bicêtre, Paris-Sud 11 Le Kremlin-Bicêtre, France*; (8) *Département de Génétique, Hôpital Necker-Enfants Malades, AP-HP, Université Paris-Descartes, Paris, France*; (9) *Service de Génétique, Hôpital Félix-Guyon, La Réunion, France*

Contact : alexandra.caude@inserm.fr

Aucune récurrence familiale d'hépatoblastome (HB) et de carcinome hépatocellulaire (CHC) n'est connue à ce jour. Nous rapportons le cas de 3 enfants issus de la même famille et de parents consanguins ayant eu soit un hépatoblastome soit un hépatocarcinome dans un contexte d'hépatopathie chronique sous-jacente. Deux enfants sont d'une même fratrie tandis que le troisième enfant est un cousin du second degré. Le fait que tous les patients soient originaires de l'île de La Réunion permet d'envisager un effet fondateur. Le fonds génétique commun ainsi que l'existence de l'hépatopathie sous-jacente chez les 3 cas permettent d'envisager l'existence d'un trait récessif de prédisposition aux tumeurs du foie de l'enfant. L'interrogatoire de toute la famille n'a mis en évidence aucun cas de polyadénomatose. De même, aucune cause habituelle de cirrhose n'a pu être mise en évidence. L'ADN génomique des patients, de leurs frères sains,



et de leurs parents a été analysé par puce Affymetrix 250K NspI. La cartographie par autozygotie permet de délimiter une région de 1,2 Mb comprenant des gènes candidates, en cours d'analyse. Cette description d'une récurrence d'hépatoblastome et de carcinome hépatocellulaire au sein d'une même famille devrait permettre d'identifier un facteur de prédisposition génétique aux tumeurs de l'enfant, associées à une hépatopathie chronique.

**Mots-clés :** hépatoblastome, isolat, consanguinité.

#### ■P239. MLPA ET DHPLC : DEUX MÉTHODES COMPLÉMENTAIRES POUR L'ANALYSE DU GÈNE *NF1*

S. Pinson (1, 3, 4), A. Toussaint (1), B. Chambe (1), P. Combemale (2, 3, 4), S. Lefevre (1), S. Giraud (1), A. Calender (1)

(1) Service de Génétique Clinique et Moléculaire, Hôpital Édouard Herriot, Hospices Civils de Lyon, France ; (2) Service de Dermatologie, CLB, Lyon, France ; (3) Centre de compétence Neurofibromatose Rhône-Alpes Auvergne ; (4) Réseau de soin national pour les neurofibromatoses NF, France  
Contact : stephane.pinson@chu-lyon.fr

L'identification de mutations du gène *NF1* responsable de la neurofibromatose de type 1 (*NF1* – OMIM 162200) reste un travail difficile qui est principalement expliqué par la grande taille du gène (350 kb – 60 exons) et le nombre restreint de mutations récurrentes. La prévalence importante de la *NF1*, qui touche un individu sur 3 500, a orienté notre laboratoire à choisir deux méthodes complémentaires pour l'analyse du gène *NF1* : – La MLPA (multiplex ligation-dependant probe amplification) pour la détection des grands réarrangements (P081 et P082 – P122C1/MRC Holland) – et la dHPLC (Chromatographie liquide à haute pression en condition dénaturante) comme méthode de criblage des mutations du gène *NF1*. L'analyse par MLPA a été validée en détectant 19 grandes délétions déjà connues du gène *NF1*. Nous avons également testé 39 mutations ponctuelles différentes capables d'interférer avec les résultats de la MLPA (localisation à proximité des sites de ligature des sondes). Nous avons détecté une diminution anormale (0,5 à 0,6) de la surface normalisée du pic d'intérêt pour la moitié de ces mutations. L'analyse par dHPLC a été optimisée pour permettre un criblage rapide de l'ensemble des 60 exons codants et des régions introniques flanquantes comprenant les sites consensus d'épissage du gène *NF1*. La méthode a été validée par l'analyse, dans un second temps, 260 variants connus localisés dans les deux tiers des exons. Nous avons aussi évalué la sensibilité de la dHPLC pour la détection de mosaïcisme *NF1*. La sensibilité de l'analyse MLPA/dHPLC a été évaluée lors de l'analyse de 150 patients *NF1* dont le diagnostic était certain (Présence d'au moins deux critères diagnostiques de Bethesda) et qui appartenaient à des familles indépendantes. Sept grandes délétions ont d'abord été détectées par l'analyse MLPA P081/P082 (6 délétions complètes du gène *NF1* et 1 partielle). Nous avons utilisé le kit MLPA/P122C1 pour caractériser la taille et les limites des délétions complètes. Parmi les 143 patients restants, des mutations ont été identifiées chez 136 d'entre eux permettant d'atteindre un taux global de détection de mutation de 96 % dans cette série [IC95 % : 91-98]. Nos résultats confirment l'intérêt d'utiliser les deux méthodes complémentaires que sont la MLPA et la dHPLC pour l'identification de mutations *NF1*. Le taux de détection trouvé dans notre série montre une nouvelle fois la nécessité d'un recueil précis des informations cliniques pour poser le diagnostic.

**Mots-clés :** neurofibromatose, MLPA, DHPLC.

#### ■P240. SCHWANNOMATOSE : ÉTUDE RÉTROSPECTIVE DE 32 PATIENTS

E. Cartier (1), P. Combemale (2, 4, 5), S. Pinson (3, 4, 5)  
(1) Service de Dermatologie, Hôpital Nord, CHU de Saint Étienne, France ; (2) Service de Dermatologie, CLB, Lyon, France ; (3) Service de Génétique Clinique et Moléculaire, Hôpital Édouard Herriot, Hospices Civils de Lyon, France ; (4) Centre de compétence Neurofibromatose Rhône-Alpes Auvergne, France ; (5) Réseau de soin national pour les neurofibromatoses NF, France  
Contact : stephane.pinson@chu-lyon.fr

La schwannomatose appartient au groupe des neurofibromatoses et a récemment été distinguée des neurofibromatoses de type 1 et 2. Elle se caractérise principalement par la présence de schwannomes multiples sans atteinte vestibulaire, et, sur le plan moléculaire, par des mutations du gène *INI1*, principalement détectées dans des formes familiales de schwannomatose. Cette étude rétrospective propose de préciser les caractéristiques cliniques, génétiques et thérapeutiques de la schwannomatose. Méthodes : Entre 1986 et 2009, 32 patients ont été pris en charge dans les consultations multidisciplinaires du réseau NF France devant la présence de schwannomes multiples sans atteinte vestibulaire. Les informations cliniques, les

éléments histologiques et thérapeutiques ont été relevés de manière rétrospective et un séquençage du gène *INI1* a été pratiqué chez (pour) 16 patients. Résultats : 32 patients, 16 hommes et 16 femmes, ont été inclus. L'âge médian de début de la maladie était de 29 ans. L'apparition d'une tumeur et/ou la survenue d'une douleur étaient les symptômes inauguraux prédominants. La localisation prédominante des schwannomes était sous-cutanée. L'atteinte vestibulaire était constamment absente. La présence de tâches café-au-lait était notée dans 41 % des cas. Les formes sporadiques sont nettement majoritaires. Aucune mutation du gène *INI1* n'a été détectée chez les 12 patients sporadiques analysés alors que 4 individus d'une même famille étaient porteurs d'une substitution intronique (c.IVS4-25A>T) non décrite antérieurement. La revue de la littérature montre que l'expression phénotypique de la schwannomatose est tardive. Il est dominé par la découverte de schwannomes sous-cutanés associée à une surfréquence de tâches-café-au-lait. L'atteinte vestibulaire est constamment absente mais une surveillance attentive est nécessaire avant 30 ans afin d'éliminer le diagnostic de *NF2* avec certitude. La présence de méningiomes chez ces patients est possible, mais avec une fréquence plus faible que dans la *NF2*. Le risque de dégénérescence maligne des schwannomes est non négligeable. Les formes familiales sont minoritaires, une anomalie du gène *INI1* étant alors mise en évidence dans 68 % des cas. Conclusion : La schwannomatose représente la troisième forme majeure de neurofibromatose. Il n'existe pas actuellement de recommandations pour la prise en charge de ces patients. Le pronostic est généralement favorable et la principale complication grave clairement établie est le risque de survenue d'un schwannosarcome.

#### ■P241. INTÉRÊT DE L'ANALYSE DU GÈNE *SPRED1* DANS LES NEUROFIBROMATOSSES ATYPIQUES

A. Putoux (1), P. Combemale (2, 3, 4), S. Pinson (1, 3, 4)  
(1) Service de Génétique Clinique et Moléculaire, Hôpital Édouard-Herriot, Hospices Civils de Lyon, France ; (2) Service de Dermatologie, CLB, Lyon, France ; (3) Centre de compétence Neurofibromatose Rhône-Alpes Auvergne, France ; (4) Réseau de soin national pour les neurofibromatoses NF, France  
Contact : stephane.pinson@chu-lyon.fr

La neurofibromatose de type 1 ou maladie de Recklinghausen (*NF1*) est une pathologie neuro-cutanée liée à des mutations hétérozygotes du gène *NF1*. Le diagnostic repose sur une association de critères cliniques comprenant en particulier des signes cutanés : tâches café-au-lait, lentigines, neurofibromes en nombre suffisants. Un nouveau syndrome, proche de la *NF1*, a été récemment décrit et se caractérise par la présence de tâches café-au-lait multiples, d'éphélides axillaires et/ou d'une macrocéphalie et de l'absence de neurofibrome. Ce syndrome (Syndrome de Legius) est lié à des mutations perte de fonction du gène *SPRED1* qui, comme le gène *NF1*, appartient à une famille de protéines intervenant comme régulateur négatif de la voie RAS. Ce syndrome reste mal connu et la littérature ne rapporte actuellement que 23 patients ou familles pour lesquels une mutation du gène *SPRED1* a été détectée. Nous avons séquencé le gène *SPRED1* dans une cohorte de 16 patients présentant des critères cliniques de *NF1* dont l'analyse du gène *NF1* était négative. Deux mutations ont été retrouvées chez deux patients non apparentés et qui appartenaient, chacun, à des familles dont plusieurs membres sont porteurs de nombreuses tâches café-au-lait. Chez la première patiente, présentant uniquement des tâches café-au-lait (>6), a été détectée une délétion de deux paires de bases dans l'exon 8. Cette délétion entraîne théoriquement l'apparition prématurée d'un codon STOP trois acides aminés plus loin (c.980-981delAA ; p.Lys327fsX330). Chez le second patient, qui associe des tâches café-au-lait (>6) et quelques lentigines axillaires, a été trouvée une mutation non-sens dans l'exon 8 (c.1175C>A ; p.Ser392X). Cette mutation a été retrouvée également chez la mère et le fils du proposant, qui présentent un tableau clinique similaire. Ces 2 mutations n'ont, à notre connaissance, pas été décrites dans la littérature. Conclusion : la découverte de mutations du gène *SPRED1* chez 2 patients, parmi les 16 étudiés dans notre cohorte présentant un tableau clinique *NF1*-like sans mutation dans le gène *NF1*, est compatible avec les données de la littérature. Nous soulignons l'intérêt diagnostique majeur de l'étude de ce gène puisque les données cliniques actuelles n'associent pas les mutations *SPRED1* à des prédispositions particulièrement graves comme celles rencontrées dans la neurofibromatose de type 1. Ces résultats suggèrent l'importance d'étudier ce gène en cas de négativité de l'analyse de *NF1*, en particulier lorsque les critères cliniques et familiaux sont compatibles. Une étude plus systématique du gène *SPRED1* permettra d'améliorer notre connaissance concernant le phénotype de ces patients, d'évaluer la nécessité ou pas d'une surveillance régulière, et d'affiner les indications pour l'analyse moléculaire du gène *SPRED1*.

**Mots-clés :** neurofibromatose, syndrome de Legius, *SPRED1*.

#### ■P242. TYROSINASE VARIANTS AND MUTATIONS ARE ASSOCIATED TO PIGMENTATION CHARACTERISTICS AND SKIN CANCER RISK IN THE FRENCH POPULATION

H.H. Hu (1), M. Guedj (2), V. Descamps (3), A. Bourillon (1), P. Dieude (4), B. Grandchamp (1), N. Basset-Segin (5), N. Soufir (1)

(1) *Laboratoire de Biochimie Hormonale et Génétique, Hôpital Bichat Claude-Bernard, APHP, IFR02, Université Paris 7, Paris, France*; (2) *Programme CIT, Ligue Nationale Contre le Cancer, Paris, France*; (3) *Service de Dermatologie, Hôpital Bichat Claude Bernard, APHP, Université Paris 7, Paris, France*; (4) *Service de Rhumatologie, Hôpital Bichat Claude-Bernard, APHP, Université Paris 7, Paris, France*; (5) *Service de Dermatologie, Hôpital Saint-Louis, APHP, Université Paris 7, Paris, France*

Contact : andrea.hu1712@gmail.com

Background: Tyrosinase is the key enzyme involved in melanin synthesis, and is mutated in oculocutaneous type I albinism. A functional variant in the exon 4 of TYR (rs1126809, R402Q) has been shown to be associated to melanoma and basal cell carcinoma risks in European populations. In this study, we investigated whether this variant was also associated to pigmentation characteristics and skin cancer risk in the French population, and whether other TYR mutations were also implicated in skin cancer risk. Patients and methods : Nine hundred and ninety seven patients with cutaneous melanoma, 216 patients with BCC (multiple and/or familial and < 40 year old) and 925 ethnic Caucasian controls skin cancer free were genotyped for this TYR variant (Infinium Illumina, Bead express). Statistical analysis was performed by the R computer package (version 2.7.1). Conformity of genotype to Hardy-Weinberg equilibrium was tested in controls. The effect of rs1126809 on melanoma risk and on pigmentation characteristics were assessed using Fisher exact test and Odds Ratio (OR) calculations, and logistic regression was also performed taking into account potential confounders. The TYR coding sequence was entirely sequenced in 73 patients having a familial melanoma, and 216 patients with BCC (multiple and/or familial and < 40 year old). Results : The SNP rs1126809 was strongly associated with skin type (P value = 9.32E-08 ; OR = 1.50), and moderately associated with nevus count (P value = 0.016 ; OR = 1.23) and eye color (P value = 0.023). This SNP was also associated to skin cancer risk (P value = 0.023, OR = 1.57) for the homozygous R402Q allele. Furthermore, rs1126809 was also associated to multiple melanoma (P value = 1E-03, OR = 1.76) and to familial melanoma (P value = 5E-03, OR = 1.46). Six rare non-synonymous TYR variants were identified in 1 melanoma and 6 BCC patients, but 4 non-synonymous TYR variants were also identified in 5 controls (P value>0.05). However, 1 none sense mutation (Y85X) and two variants affecting mRNA splicing (c.1037-7 T>A, c.1366+4 A>G) were identified in 1 familial melanoma patient and 2 BCC patients. Conclusion : In this study, we confirm that the SNP rs1126809 is associated to skin cancer in the French population, and also strongly associated to skin type and eye color. In addition, we show for the first time that it is particular associated to multiple melanoma and to familial melanoma. This SNP therefore adds to the growing list of low penetrant alleles associated to pigmentation and melanoma susceptibility. Besides, multiple rare deleterious TYR mutations may be also play a role in skin cancer predisposition.

**Mots-clés :** tyrosinase variants, skin cancer risk, pigmentation characteristics.

#### ■P243. KÉRATO-ACANTHOMES MULTIPLES HÉRÉDITAIRES : SYNDROME DE FERGUSON-SMITH EN FRANCE

A. Ervais-Wakosa (1, 4), C. Thauvin-Robinet (2), M. D'alessandro (3), J. Friedel (1), L. Faivre (2), D. Goudie (5), F. Corgibet (6), P. Vabres (4) (1) *Unité de dermatologie, CH William-Morey, France*; (2) *Centre de génétique, Hôpital d'Enfants, Dijon, France*; (3) *Cancer Research UK Cell Structure Research Group, Dundee University School of Life Sciences, United Kingdom*; (4) *Service de Dermatologie, CHU du Bocage, Dijon, Chalon-sur-Saône, France*; (5) *Ninewells Hospital, Dundee, United Kingdom*; (6) *5 av Mar Foch, Dijon, France*

Contact : jean.friedel@ch-chalon71.fr

Les kérato-acanthomes ou carcinomes spino-cellulaires auto-involutifs sont des cancers cutanés épithéliaux évoluant spontanément vers la régression. Lorsqu'elles sont multiples et qu'il existe plusieurs cas familiaux, ces tumeurs définissent le syndrome de Ferguson-Smith (SFS), syndrome très rare de prédisposition héréditaire aux cancers, de transmission autosomique dominante. Le gène impliqué demeure inconnu mais a été localisé sur le chromosome 9q22-q31. Le SFS a été initialement décrit en Écosse. Deux associations familiales ont été décrites en France. Nous rapportons l'observation d'une famille française dont l'analyse des marqueurs polymorphes est compatible avec la localisation en 9q22-q31 précédemment

rapportée. Nous avons examiné quatre frères atteints, âgés de 70 à 82 ans. Chez le proband, examiné à l'âge de 80 ans, les premières tumeurs sont apparues à l'âge de 73 ans. Elles étaient situées sur les oreilles et les membres supérieurs ou inférieurs. Certaines ont involué spontanément ; d'autres ont été traitées par chirurgie ou acitréline. Ses trois frères âgés de 70 à 79 ans, ont présenté le même type de tumeurs multiples, de localisation cutanée ubiquitaire, sans complication particulière. Deux des trois sœurs de la même fratrie (non examinées) seraient atteintes. Leur mère, d'origine britannique, avait vraisemblablement elle aussi présenté des kérato-acanthomes ou des carcinomes spino-cellulaires multiples. Aucun autre cancer ou manifestation cutanée associée n'ont été observés dans la famille. Aucun autre facteur de risque de cancer cutané n'a été identifié à l'exception d'un séjour prolongé en Afrique équatoriale chez l'un des frères. L'étude des marqueurs ADN microsatellites de la région 9q22-q31 a montré un haplotype commun chez les trois frères étudiés, sans cependant d'événement de recombinaison permettant de réduire l'intervalle génétique. Cet haplotype est différent de celui des patients écossais rapportés, permettant d'exclure un ancêtre commun initialement suspecté devant l'origine britannique de la famille. L'étude du quatrième frère et des sœurs indemnes est en cours. Dans le SFS, les tumeurs sont exclusivement cutanées, sans autre cancer ou anomalie du développement. Elles se situent en général sur les régions exposées aux UV mais pas exclusivement. Il n'existe aucune explication actuellement pour leur caractère auto-involutif. Le SFS se différencie nettement du xeroderma pigmentosum, où s'observent aussi des kérato-acanthomes, par son âge tardif d'apparition et l'absence d'autres cancers cutanés. Il ne comporte pas de carcinomes baso-cellulaires comme les syndromes de Gorlin ou de Bazex-Dupré-Christol ni de prolifération sébacée comme dans le syndrome de Muir et Torre. La survenue séquentielle se distingue des kératoacanthomes éruptifs miliaires de Grzybowski ou de Witten-Zak. Cette famille française pourrait peut-être contribuer à la réduction de l'intervalle génétique et l'identification du gène en cause.

**Mots-clés :** kératoacanthome, Ferguson-Smith, chromosome 9.

#### ■P244. FACTEURS PRÉDICTIONNELS DE LA PRÉSENCE DE MUTATIONS DU GÈNE CDKN2A SELON LE DEGRÉ D'AGRÉGATION FAMILIALE DU MÉLANOME

E. Maubec (1, 2), V. Chaudru (1), B. Bressac-de Paillerets (3), H. Mohamdi (1), E. Corda (1), S. Dalle (4), F. Boitier (5), L. Vincent Fetita (5), P. Vabres (6), J. Blombed (3), D. Stoppa Lyonnet (7), L. Thomas (4), Groupe français d'étude du mélanome familial, F. Demenais (1), MF. Avril (5)

(1) *INSERM U 946, Paris, France*; (2) *APHP Hôpital Bichat, université Paris 7, Paris, France*; (3) *Institut Gustave-Roussy, Villejuif, France*; (4) *Hôpital Hôtel-Dieu, Lyon, France*; (5) *Hôpital Cochin, université Paris 5, Paris, France*; (6) *Centre Hospitalier de Dijon, France*; (7) *Institut Curie, Paris, France*

Contact : eve.maubec@bch.aphp.fr

Le gène CDKN2A est le principal gène de prédisposition héréditaire au mélanome. Les facteurs associés à une fréquence plus élevée de mutations germinales de CDKN2A ont été identifiés dans des familles de différents continents, avec au moins 3 sujets ayant un mélanome cutané (MC). Ces facteurs incluent un nombre élevé de cas de MC dans la même famille, la survenue de plusieurs mélanomes primitifs multiples (MPM) chez un même sujet, un âge précoce au diagnostic, et la survenue de cancer du pancréas (CP) dans la famille. Notre objectif a été de déterminer les facteurs associés à la présence de mutations de CDKN2A dans des familles à cas multiples de mélanomes en fonction du nombre de sujets atteints dans les familles : 2 cas (Fam\_2cas) versus 3 cas ou plus (Fam\_3+cas). Cette étude porte sur un échantillon de 625 familles françaises (500 Fam\_2cas et 125 Fam\_3+cas) avec au moins 2 cas de MC confirmés histologiquement, et génotypés pour CDKN2A. Les facteurs recueillis par famille sont : le nombre de sujets ayant un MC, l'âge de diagnostic du premier MC, la survenue de MPM, la survenue de CP chez les patients et leurs apparentés du 1<sup>er</sup> degré. Une association entre chaque facteur et la présence de mutations de CDKN2A a été recherchée dans tout l'échantillon, puis dans les groupes Fam\_2cas et Fam\_3+cas à l'aide du test de Khi-2 ou du test exact de Fisher. L'effet conjoint de ces facteurs a été investigué par une analyse de régression logistique pas à pas. Une hétérogénéité selon le type de famille a été recherchée par le test de Cochran. Résultats : Au total, 105 familles (16.8 %) présentent des mutations germinales de CDKN2A. La fréquence des mutations est plus élevée dans les Fam\_3+cas (32.8 %) que dans les Fam\_2cas (12.8 %),  $p = 9 \times 10^{-8}$ . Dans l'échantillon total, les facteurs significativement associés aux mutations de CDKN2A sont : présence de MPM (OR = 3,77 [2,44-5,83]), présence de CP (OR = 4,86 [2,57-9,19]), âge médian au diagnostic <40 ans (OR = 2,60 [1,65-4,08]). Tous ces facteurs restent significativement associés aux



mutations de CDKN2A lorsque les familles Fam\_2cas et Fam\_3+ cas sont analysées séparément. L'analyse multivariée montre que les facteurs prédictifs de mutations sont : les MPM (OR = 2,95 [1,63-5,34]) et l'âge médian au diagnostic < 40 ans (OR = 2,73 [1,52-4,91]) dans les Fam\_2cas, tandis que ce sont les MPM (OR = 3,08 [1,27-7,46]) et le CP (OR = 9,92 [2,70-36,38]) dans les Fam\_3+cas. La présence de CP dans la famille est plus fortement associée à l'existence de mutations de CDKN2A dans les Fam\_3+cas que les Fam\_2cas bien que le test d'hétérogénéité ne soit pas significatif ( $p = 0.07$ ). Conclusion : Cette étude, réalisée dans une large série de familles françaises, a permis d'identifier des facteurs prédictifs de mutations dans les Fam\_2cas. De façon intéressante la survenue de CP dans la famille n'est un facteur prédictif de mutations de CDKN2A que dans les Fam\_3+cas suggérant que cette association pourrait résulter de mutations spécifiques.

**Mots-clés :** mélanome familial, CDKN2A, cancer du pancréas.

#### ■P245. ADHÉSION DES APPARENTÉS À LA DEMARCHE DE TESTS PRÉSYMPTOMATIQUES EN ONCOGÉNÉTIQUE : BILAN À PARTIR DE 122 FAMILLES AVEC UNE ALTÉRATION DES GÈNES BRCA1/BRCA2 IDENTIFIÉE AU CRLCC P. STRAUSS

C. Degermann, D. Muller, I. Schultz, S. Casalanguida, J.P. Fricker  
Unité d'Oncogénétique, CRLCC P. Strauss, Strasbourg, France  
Contact : CDegermann@strasbourg.fnclcc.fr

Depuis l'identification en 1994 et 1995 des gènes BRCA1 et BRCA2 prédisposant aux cancers du sein et de l'ovaire, une mutation constitutionnelle a été identifiée chez 148 familles au CRLCC Paul Strauss (période de 1995 à janvier 2009). Le résultat informatif (mutation délétère confirmée) a été remis au probant dans 122 familles. Les apparentés, personnes susceptibles de porter la même mutation et d'être ainsi à haut risque de développer un cancer peuvent dès lors accéder, en théorie, à un test génétique orienté « présymptomatique ». Dans notre série, la découverte d'une mutation constitutionnelle familiale implique en moyenne 12 apparentés des 1<sup>er</sup> et 2<sup>nd</sup> degrés tous âges et sexes confondus. Nous avons étudié cette population pour estimer l'impact réel chez les apparentés en vie : dans quelle proportion sont-ils effectivement testés et quel lien de parenté les unissent avec la personne index (période de 1995 à septembre 2009). Nous constatons : a/ 39 % des apparentés au 1<sup>er</sup> degré du cas index ont fait une demande de test génétique présymptomatique. b/ les ascendants en vie sont testés à hauteur de 56 %, pour un sex-ratio = 0,6 (sex-ratio de référence = 0,9 pour cet échantillon). c/ 39 % des collatéraux ont souhaité réaliser l'analyse génétique pour un sex-ratio = 0,4 (sex-ratio de référence = 1,0). d/ Les descendants sont mineurs pour 18 % et majeurs pour 82 % dans notre série. Parmi ces derniers seuls autorisés à accéder au test 32 % ont choisi d'effectuer l'analyse pour un sex-ratio = 0,3 (sex-ratio de référence = 1,2). e/ Si nous considérons l'ensemble des proches des 1<sup>er</sup> et 2<sup>nd</sup> degrés chez qui le test génétique serait indiqué (majeurs et dont le lien de parenté avec la personne index n'est pas interrompu par un proche pour lequel le résultat du test génétique est négatif) 28 % ont réalisé l'analyse génétique présymptomatique, pour un sex-ratio de 0,3 (sex-ratio de référence = 1,0). En conclusion, lorsqu'un résultat informatif d'une primo analyse génétique est rendu à la personne index, cela induit en moyenne une consultation chez 2 apparentés sur 5 appartenant au 1<sup>er</sup> degré, ou 3 proches sur 10 des 1<sup>er</sup> et 2<sup>nd</sup> degrés. Nous constatons également la très forte prédominance d'adhésions féminines à ces tests génétiques ciblés quel que soit le lien de parenté avec la personne index. L'exploitation familiale de l'information génétique délivrée à la personne index est donc sub-optimale. Elle pourrait être imputable aux difficultés de communication au sein de la famille ainsi qu'à des motifs de nature psychologique et/ou sociale qui sont des freins possibles d'adhésion des apparentés à la démarche, au moment où des stratégies efficaces en terme de prévention et de suivi, de prophylaxie et voire de traitements spécifiques peuvent ou pourront être proposés à ces personnes à risque élevé de développer un cancer du sein et/ou de l'ovaire.

**Mots-clés :** gènes BRCA1/2, consultation, présymptomatique.

#### ■P246. FEMMES PORTEUSES D'UN SYNDROME HNPCC : CONNAISSANCE DES RISQUES DE CANCERS, SUIVI ET ACCEPTABILITÉ D'UNE CHIRURGIE PELVIENNE PROPHYLACTIQUE

A. Saleyron (1), F. Coulet (1), A. Beaufils (1), F. Soubrier (1), Y. Ansquer (2), C. Colas (1)  
(1) Laboratoire d'Oncogénétique et d'Angiogénétique, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, AP-HP, Paris, France ; (2) Service de Gynécologie, Hôpital Saint-Antoine, AP-HP, Paris, France  
Contact : chrystelle.colas@psl.aphp.fr

Le syndrome HNPCC est une prédisposition héréditaire aux cancers tant colorectaux qu'extra-coliques. Si la surveillance colorectale est bien

établie, le suivi gynécologique, les modalités de prise en charge et l'indication d'une chirurgie prophylactique restent encore mal étudiés. Ce travail a évalué le suivi digestif et gynécologique de 24 patientes atteintes de ce syndrome, la perception de leur risque de cancers et l'acceptabilité d'une chirurgie gynécologique prophylactique. Les patientes ont un suivi digestif en adéquation avec les recommandations (21 sur 24 ont des coloscopies au moins tous les 2 ans), l'avis le suivi gynécologique est moins systématique (seules 14 sur 24 ont un suivi). Lors du suivi elles ont le plus souvent une échographie pelvienne mais elles sont moins de 50 % à bénéficier d'une biopsie de l'endomètre avec ou sans hystérocopie. Les patientes évaluent au plus juste leur risque de cancer colorectal dans 47 % des cas mais elles ne sont que 33 % à évaluer justement leur risque de cancer de l'endomètre et 8 % celui du cancer de l'ovaire. Elles seraient 63 % à envisager une chirurgie gynécologique prophylactique si elle leur était proposée mais seulement après la ménopause. Par ailleurs, 83 % des patientes se sont dites satisfaites par les informations reçues sur ce syndrome. Le généticien est parmi les médecins qui a le plus répondu à leurs attentes, tout comme le gastro-entérologue pour 58 % d'entre elles. Mais seulement 37,5 % des patientes se sont dites satisfaites des informations apportées par le gynécologue. Les tendances dégagées dans notre étude mériteraient d'être confirmées par des études à plus grande échelle et nous sommes intéressés par des collaborations pour étendre ce questionnaire à plus de femmes. Il apparaît d'ors et déjà important d'encourager la diffusion des informations concernant les risques de cancer auprès des différents acteurs de santé et d'améliorer les connaissances des patientes de leur prédisposition afin d'améliorer leur prise en charge.

**Mots-clés :** syndrome de Lynch, chirurgie prophylactique, gynécologie.

#### ■P247. RÔLE DU CONSEILLER EN GÉNÉTIQUE DANS LA COORDINATION DU SUIVI ET L'AIDE À LA PRISE EN CHARGE GLOBALE DES PATIENTS À HAUT RISQUE GÉNÉTIQUE

A. Contrain, L. Huiart, F. Eisinger, S. Olschinger, H. Sobol  
Département d'oncologie-génétique, de prévention et de dépistage, Institut Paoli Calmettes, Marseille, France

Contact : contraina@marseille.fnclcc.fr

En 2005, le métier de conseiller en génétique a été créé en France pour pallier au manque de généticien et pour assurer les activités standardisées ne nécessitant pas une expertise médicale. Grâce à sa disponibilité, le conseiller en génétique apporte une aide et un soutien aux patients dans leur démarche en génétique et joue un rôle essentiel dans la relation patients-médecins. En oncogénétique, le conseiller en génétique améliore la prise en charge globale des personnes à haut risque de cancer, notamment en coordonnant leur suivi. En effet, afin d'optimiser l'adhésion des personnes à haut risque de cancer aux recommandations nationales de prise en charge, nous avons établi des cohortes de personnes et mis en place un suivi régulier. Le conseiller en génétique assure une prise de contact régulière avec les patients et la mise à jour des données cliniques. Ceci permet de diminuer les « perdus de vue » et d'assurer une information régulière sur l'évolution des connaissances en oncogénétique. Le conseiller en génétique permet également de gérer et de coordonner la réalisation des examens de dépistage des patients nécessitant une surveillance fréquente et régulière. Ainsi, pour les mutations BRCA1/2, une file active des patients a été créée et le suivi des porteurs a été formalisé et structuré. Cette file active comprend actuellement 318 porteurs, parmi lesquelles 252 femmes sont éligibles à un suivi. Nous avons pu obtenir des dernières nouvelles datant de moins de deux ans pour 91 % d'entre elles (N = 229). Sur ces 252 femmes, 58 ont bénéficié d'une mastectomie bilatérale et n'ont donc pas de surveillance mammaire, 79 ont une surveillance mammaire organisée dans notre centre, 104 ont une surveillance mammaire à l'extérieur de notre centre. Les patientes nous transmettent alors les résultats de leurs bilans de surveillance. Le conseiller en génétique participe également aux nombreuses activités rattachées à l'oncogénétique en aidant à la mise en place de groupe de parole ou de réunion d'information dédiées aux personnes porteuses de mutation ou en gérant le suivi des études de recherche clinique. Au travers de ce travail, nous décrivons les fonctions du conseiller en génétique dans le domaine de l'oncogénétique, et notamment son rôle dans le suivi et la prise en charge globale des patientes BRCA1/2 en soulignant l'intérêt à la fois « clinique » et scientifique d'un tel suivi. Ce travail permet de montrer une autre facette du métier de conseiller en génétique et son extension à des activités variées en fonction du domaine d'application. La formation au métier de conseiller en génétique est très complète et permet à chaque professionnel de s'adapter aux besoins spécifiques de l'équipe dans lequel il travaille.



#### ■P248. CANCER DU SEIN ET DE L'OVAIRE, LES MUTATIONS BRCA1 ET BRCA2 : LA PRISE EN CHARGE PSYCHOLOGIQUE

N. Prodromou (1), P. Ben Soussan (1), H. Sobol (2)  
(1) Département de Psychologie Clinique, Institut Paoli-Calmettes, Marseille, France ; (2) Département d'Oncologie Génétique, Prévention et Dépistage, Institut Paoli-Calmettes, Marseille, France  
Contact : prodromoun@marseille.fnclcc.fr

Cancer du sein et de l'ovaire, les mutations BRCA1 et BRCA2 et la prise en charge psychologique. Généticiens et chercheurs « scrutent » l'origine des maladies « héréditaires » et « transmissibles », mais quels sont les retentissements de ces pratiques, de ces nouveaux savoirs, sur le fonctionnement psychique des consultants, des patients et de leurs proches ? 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 du sein ou de l'ovaire et de les informer sur les modalités de prévention et de dépistage adaptées. Pour celles déjà atteintes il s'agit de savoir si le cancer est « dû ou hasard ou à l'hérédité ». En quoi cette médecine du risque génétique, en cancérologie, encourage-t-elle la collaboration entre « psys » et généticiens, dans le champ de la clinique et tout autant dans la réflexion qu'elle suscite ? Quel est le devenir de l'information génétique ? Qu'est ce que cette information vient « révéler », activer ou réactiver dans l'histoire familiale et personnelle de celui qui la reçoit ? Comment, dès lors, aborder la chirurgie prophylactique ? Autant de questions qui seront abordées ici à partir de notre travail de psychologues associés aux consultations d'oncogénétique.

**Mots-clés :** mutation BRCA1 BRCA2, Information génétique, prise en charge psychologique.

#### ■P249. QUAND PROPOSER UNE ANALYSE CONSTITUTIONNELLE DES GÈNES BRCA1 ET BRCA2 DEVANT UN CAS SPORADIQUE DE CANCER DU SEIN ?

A. Remenieras (1), V. Byrde (2), E. Consolino (2), S. Delalogue (2), G.M. Lenoir (2), B. Bressac-de-Paillerets (1), O. Caron (2)  
(1) Service de Génétique, Institut Gustave-Roussy, Villejuif, France ; (2) Département de Médecine, Institut Gustave-Roussy, Villejuif, France  
Contact : olivier.caron@igr.fr

Introduction : Un cancer du sein survenant à un âge précoce est évocateur d'une prédisposition, a fortiori lorsqu'il existe des antécédents familiaux. Dans le cas particulier des formes sporadiques, les recommandations du groupe d'experts INSERM-FNCLCC de 2004 définissaient l'indication de test génétique pour les femmes présentant un cancer du sein uniquement si celles-ci avaient moins de 30 ans. Nous avons évalué la fréquence des mutations de BRCA1 et BRCA2 dans une population plus âgée, de femmes atteintes avant 40 ans. Méthode : Au cours des 4 dernières années, 76 patientes non sélectionnées ayant présenté un cancer du sein avant 40 ans ont été vues en consultation d'oncogénétique à l'IGR. L'interrogatoire ne retrouvait aucun antécédent familial de cancer du sein ou de l'ovaire. Les gènes BRCA1 et BRCA2 ont été analysés par séquençage direct et MLPA. Résultats : La série se composait de 5 femmes ayant moins de 25 ans (7 %), 13 entre 26 et 30 ans (17 %), 32 entre 31 et 35 ans (42 %) et 26 plus de 35 ans (34 %). Deux femmes étaient porteuses d'un cancer du sein bilatéral et une avait présenté à la fois un cancer du sein et un cancer de l'ovaire. 10 mutations constitutionnelles (13 %) ont été identifiées (7 dans BRCA1 (9 %) et 3 dans BRCA2 (4 %)). Par classe d'âge, on retrouve pour les mutations délétères de BRCA1 et BRCA2 : < 25 ans : 0 % (0/5) – 26-30 ans : 23 % (3/13) – 31-35 ans : 9 % (3/32) – 36-39 ans : 15 % (4/26, dont un cas dans une forme bilatérale) Aucune mutation n'a été identifiée chez la patiente atteinte de cancer du sein et de l'ovaire. Dans 58 cas, le statut des récepteurs hormonaux et de Her2 étaient connus. 12 tumeurs étaient triple-négatives (TN) : 1 dans la classe [26-30 ans], 4 dans la classe [31-35], 7 dans la classe [36-39]. Dans la classe [36-39 ans], parmi les 7 tumeurs TN, 2 concernaient des patientes avec mutation BRCA1 (28 %). Parmi les 19 tumeurs Her2 positives, seules 2 étaient en rapport avec une mutation ; 1 de BRCA1 (carcinome canalaire à inflexion épidermoïde diagnostiqué à 29 ans) et 1 de BRCA2 (carcinome canalaire « triple positif » à 39 ans). Conclusion : Cette étude permet d'objectiver l'intérêt de l'analyse des gènes BRCA chez les femmes atteintes de cancer du sein avant l'âge de 40 ans en dehors de tout contexte familial. En particulier, sur 58 patientes atteintes entre 31 et 39 ans d'un cancer du sein d'apparence sporadique, nous avons identifié 7 mutations délétères de BRCA1 ou BRCA2 (12 %). Le caractère « triple-négatif », associé à l'âge, est en faveur d'une mutation BRCA1. Le statut Her2 positif ne permet pas d'exclure une mutation que ce soit de BRCA1 ou de BRCA2. Notre étude montre que l'âge limite de 30 ans des recommandations nationales de 2004 est probablement trop restrictif ; une confirmation sur une population plus

vaste pourrait ensuite conduire à modifier les recommandations de tests BRCA chez les femmes jeunes.

**Mots-clés :** BRCA1 et BRCA2, Critère d'analyse, cancer sporadique du sein.

#### ■P250. L'EFFET WARBURG EST GÉNÉTIQUEMENT DÉTERMINÉ DANS LES PHÉOCHROMOCYTOMES HÉRÉDITAIRES

J. Favier (1, 2), J.J. Brière (3), N. Burnichon (1, 2), L. Vescovo (4), P.F. Plouin (5), X. Jeunemaitre (1, 2, 6), P. Rustin (3), A.P. Gimenez-Roqueplo (1, 2, 6)  
(1) INSERM, U970, Paris, France ; (2) Université Paris Descartes, Faculté de Médecine, Paris, France ; (3) INSERM, U676, Hôpital Robert-Debré, Paris, France ; (4) Programme Cartes d'Identité des Tumeurs, Ligue Nationale Contre Le Cancer, Paris, France ; (5) Service d'Hypertension artérielle, AP-HP, Hôpital Européen Georges-Pompidou, Paris, France ; (6) Département de Génétique, AP-HP, Hôpital Européen Georges-Pompidou, Paris, France  
Contact : judith.favier@inserm.fr

Le terme d'effet Warburg décrit la particularité qu'ont les cellules cancéreuses de réguler leur respiration aérobie et d'utiliser préférentiellement la glycolyse anaérobie pour produire de l'énergie. Afin de déterminer les mécanismes moléculaires qui déterminent l'effet Warburg, nous avons étudié l'hypoxie, le transport d'électrons mitochondrial, l'angiogenèse et la glycolyse dans les phéochromocytomes induits par des mutations germinales des gènes VHL, RET, NF1 et SDH. Les mutations des gènes SDH et VHL conduisent à la pseudohypoxie, c'est-à-dire à la stabilisation anormale des facteurs de réponse à l'hypoxie, les HIF, même en conditions normoxiques. Nous avons observé une diminution de l'expression et de l'activité des protéines de la chaîne respiratoire mitochondriale, associée à une augmentation de l'angiogenèse dans les tumeurs porteuses de mutations des gènes SDH et VHL, alors que la stimulation de la glycolyse a uniquement été observée dans les tumeurs VHL. En outre, une analyse du transcriptome de 68 phéochromocytomes héréditaires a révélé que l'expression des gènes impliqués dans ces voies métaboliques permet la classification des tumeurs en fonction du gène de prédisposition muté. Nos données suggèrent une association inattendue entre la pseudohypoxie et la perte de p53, qui conduit à un effet Warburg dans les phéochromocytomes liés à VHL.

**Mots-clés :** cancer, métabolisme, transcriptome.

#### ■P251. INTÉRÊT DU CHIEN COMME MODÈLE SPONTANÉ EN CANCÉROLOGIE CHEZ L'HOMME : EXEMPLE DU SARCOME HISTIOCYTAIRE ET DES MÉLANOMES

M. Gillard (1)\*, M. Le Gallo (1)\*, B. Hédan (1), C. De Brito (1), J. Abadie (2), P. Devauchelle (3), E. Cadieu (1), C. Hitte (1), F. Galibert (1), C. André (1)  
(1) Institut de Génétique et Développement, UMR 6061 CNRS/Université de Rennes1, France ; (2) Unité d'Anatomie Pathologique, UMR INRA-ENVN 703, École Nationale Vétérinaire de Nantes, France ; (3) Centre Anticancéreux Vétérinaire, École Nationale Vétérinaire d'Alfort, France \* les 2 auteurs ont également contribué  
Contact : catherine.andre@univ.rennes1.fr

Depuis la domestication du chien, l'homme a sélectionné de nombreux phénotypes pour répondre à des critères très variés : beauté, performances, comportements... Cette sélection artificielle s'est accompagnée de la sélection de variants génétiques spécifiques, fixés dans chacune des races canines. Compte tenu de la structure génétique de la population canine, avec quelques 400 races, correspondant chacune à un isolat génétique, le chien constitue un excellent modèle en cancérologie : de physiologie plus proche de l'homme que la souris, et partageant le même environnement que nous, il développe spontanément de nombreux cancers, homologues aux cancers humains sur les plans cliniques histologiques et thérapeutiques. Ainsi, des cancers rares et sporadiques comme le sarcome histiocytaire chez l'homme sont retrouvés spécifiquement dans certaines races canines et peuvent se transmettre de façon héréditaire et avec des fréquences très élevées. Le chien permet donc plus facilement que chez l'Homme d'identifier des gènes de prédisposition et des altérations somatiques, potentiels marqueurs pronostiques et cibles thérapeutiques. Forts de ces arguments, des analyses génétiques visant à identifier des gènes de prédisposition et des mutations somatiques impliqués dans le sarcome histiocytaire, les mélanomes, gliomes et ostéosarcomes ont été entreprises dans les races canines prédisposées, en collaboration avec les réseaux de clinique humaine. Concernant le sarcome histiocytaire, nous avons collecté 1 000 prélèvements d'ADN de Bouviers Bernois, race fortement prédisposée. L'étude d'une famille de 300 chiens comportant 120 chiens atteints



a permis de proposer un mode de transmission oligogénique. Des études génétiques complémentaires d'analyse de liaison et d'association (puce Affymetrix 50K) ont convergé vers l'identification de trois locus chromosomiques, en cours d'analyse pour rechercher les mutations impliquées. Concernant le mélanome, il touche toutes les races canines, mais certaines avec des facteurs de risque très élevés. Chaque race présente des types de mélanomes (cutané ou muqueux), un degré de malignité et une capacité à métastaser bien spécifiques. Nous avons collecté près de 200 échantillons sanguins et 150 prélèvements tissulaires de plusieurs races prédisposées, dans le but de réaliser des études d'association et de transcriptome. Le séquençage de gènes candidats est aussi en cours chez le chien sur les gènes BRAF, NRAS, CKIT, CDKN2A, PTEN, MC1R et CDK4, fréquemment impliqués dans les formes sporadiques et familiales chez l'homme. Pour les deux cancers, l'analyse des profils d'expression est effectuée sur puces pangénomiques (Agilent 4x44K) à partir des ARN extraits de tissus tumoraux et de tissus sains du même chien. Pour les gliomes et l'ostéosarcome, le travail en est à la phase de collecte des échantillons dans les races prédisposées.

**Mots-clés :** modèle canin, mélanome, histiocytose.

#### ■P252. IMPLICATION DU GÈNE C-KIT DANS LA PRÉDISPOSITION GÉNÉTIQUE AU MÉLANOME

A. Bourillon (1), N. Dumaz (2), J.J. Lacapere (3), V. Descamps (4), C. Lebbe (5), N. Basset-Seguain (5), B. Grandchamp (1), N. Soufir (1)  
(1) *Laboratoire de Biochimie Hormonale et Génétique, Hôpital Bichat Claude-Bernard, APHP ; IFR02, Université Paris 7, Paris, France.* (2) *INSERM U976, Hôpital Saint Louis, Paris, France ; (3) EA3516, Faculté de Médecine Paris VII, Bichat-Claude-Bernard, Paris 7, France ; (4) Service de Dermatologie, Hôpital Bichat-Claude-Bernard, APHP ; Université Paris 7, Paris, France ; (5) Service de Dermatologie, Hôpital Saint-Louis, APHP, Université Paris 7, Paris, France*  
Contact : [agnes.bourillon@bch.aphp.fr](mailto:agnes.bourillon@bch.aphp.fr)

Le récepteur du SCF, C-KIT, est une protéine kinase jouant un rôle majeur dans la différenciation et la migration des mélanocytes. Des mutations germinales activatrices de c-kit prédisposent à la survenue de mastocytoses cutanées et de tumeurs gastro-intestinales indifférenciées (GIST). Des mutations perte de fonction sont responsables du piébaldisme. L'hypothèse de ce travail était de déterminer l'implication de variants rares de ckit dans la prédisposition au mélanome. Nous avons séquencé tous les exons et jonctions intron-exons de c-kit chez 143 patients atteints de mélanomes familiaux et/ou multiples, sans mutation des gènes majeurs (CDKN2A et CDK4), et chez 189 témoins caucasiens. Les variants non synonymes identifiés ont été analysés in silico avec Sift, Polyphen, Panther, SNPs3D et le logiciel Pymol (3D). Les variants silencieux et introniques ont été analysés avec SSF (Splicing Sequences Finder) afin de détecter des modifications d'épissage. Une analyse statistique a été réalisée pour comparer les variants entre les 2 groupes (Test exact de Fisher). Dix nouveaux variants faux sens ont été trouvés chez 5 patients (3,5 %) et 5 témoins (2,5 %) (P value = 0.684). Ils étaient localisés dans les domaines extracellulaire, transmembranaire et kinasique. Les variants non synonymes prédits fonctionnels ont été comparés entre les 2 groupes. Chez les patients atteints de mélanome, tous les variants ont été prédits délétères in silico par au moins 2 sites de prédictions, contre aucun des variants observés dans la population contrôlée. (Test exact de Fisher = 0.01). Ces résultats ont été consolidés par l'étude en 3D avec le logiciel Pymol. Ces résultats préliminaires suggèrent que les variants faux sens de c-kit ont un rôle dans la prédisposition génétique multifactorielle au mélanome. Des études fonctionnelles complémentaires sont en cours, ayant montré que ces variants étaient exprimés dans les mélanocytes et que la voie de signalisation activée par KIT en réponse au SCF pouvait être activée, mais son niveau d'activation pourrait être affecté. Ces variants pourraient générer une perte potentielle de fonction de KIT, causant un déficit dans la différenciation des mélanocytes, promouvant une transformation de ces derniers.

**Mots-clés :** mélanome, ckit, prédisposition génétique.

#### ■P253. STUDY OF GSTM1, GSTT1 POLYMORPHISMS AND CAG MICROSATELLITE REPEAT LENGTH OF THE ANDROGEN RECEPTOR GENE IN PROSTATE CANCER PATIENTS IRANIAN

Z.O. Ashtiani (1), S.M. Hasheminasab (1, 2), M.H. Moddarresi (1)  
(1) *Department of Medical Genetics, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran ; (2) Students' Scientific Research Center, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran*  
Contact : [sm.hashemin@gmail.com](mailto:sm.hashemin@gmail.com)

Androgens that act through androgen receptors (ARs) are required for normal prostate growth and function. ARs are important for development

and progression of prostate cancer. AR gene contains CAG repeats and it has been hypothesized that, shorter alleles of the CAG repeat are associated with an Increased Risk of Prostate Cancer. Ethnic Variation in CAG repeat length may contribute to prostate cancer risks vary in different populations. Genetic polymorphism of metabolic enzymes such as glutathione S-transferases is involved in metabolism of numerous potential prostate carcinogens. The frequencies of homozygous carriers of GSTM1, GSTT1 deletions Significantly vary within ethnic groups and may be contributed to prostate cancer risk. To Evaluate Whether these polymorphisms are associated with an Increased Risk in Iranian prostate cancer patients, DNA from 110 Pathologically-confirmed prostate cancer patients and 96 age-matched BPH patients was extracted and Subjected to Polymerase Chain Reaction (PCR). PCR products were examined by electrophoresis, sequencing. Statistical analysis of results was carried out using t-test and chi2 methods. The mean number of CAG repeat in prostate cancer patients was significantly smaller than BPH groups (19.9 vs. 21.9 P <0.001). Presence of GSTM1 null genotype were significantly higher in cancer and BPH group vs. normal individuals (both pValue <0.001). GSTT1 polymorphism Had not an association with occurrence of cancer and BPH comparing with the normal group. Also with the risk of prostate cancer and BPH associated with GSTM1 positive group was 0,141 (95 % CI : 0.063-0.314) and 0.125 (95 % CI : 0.055-0.285), respectively. Our results showed that CAG repeat polymorphism in AR gene is Significantly Associated with higher prostate cancer risk, suggesting that it may act as a risk to cancer patients change in Iranian population. GSTM1 null genotypes may also be contributed to prostate cancer susceptibility in Iranian patients.

**Mots-clés :** prostate cancer, benign prostatic hyperplasia, Glutathione S-transferase.

#### ■P254. INTÉRÊT DE LA CGH-ARRAY DANS LA DÉTERMINATION DU PROFIL GÉNÉTIQUE DES LIPOSARCOMES

S. Bravo (1), C. Arnould (1), C. Delfour (2), G. Godlewski (3), J.B. Gailard (1), D. Reboul (1), L. Mansour-Hendili (1), J. Chiesa (1)  
(1) *Laboratoire de Cytogénétique, CHU Caremeau, Nîmes, France ; (2) Laboratoire d'Anatomie Pathologique, CHU Caremeau, Nîmes, France ; (3) Faculté de Médecine, Montpellier-Nîmes, France*  
Contact : [sophie.bravo@chu-nimes.fr](mailto:sophie.bravo@chu-nimes.fr)

Les liposarcomes, tumeurs du tissu graisseux, sont les sarcomes les plus fréquents chez l'adulte. Leur localisation préférentielle se situe dans la région rétro péritonéale alors qu'ils ne sont rencontrés que dans 3 à 8 % des cas au niveau de la tête et du cou. On pense cependant que leur fréquence est sous-estimée du fait de leur latence clinique et d'un diagnostic souvent tardif. Le pronostic des liposarcomes et leur évolution sont conditionnés par la qualité de l'exérèse et la variété histologique. La classification OMS reconnaît 5 types : liposarcome bien différencié, dédifférencié, myxoïde, pléiomorphe et mixte. Les formes bien différenciées, majoritaires, sont des tumeurs malignes d'agressivité locale qui surexpriment la protéine MDM2 ; elles regroupent les sous-types lipoma-like, sclérosant, inflammatoire et à cellules fusiformes. En revanche, les formes différenciées pléiomorphes et à cellules rondes ont un potentiel métastatique élevé s'accompagnant d'un pronostic moins favorable. D'un point de vue moléculaire, plusieurs gènes ont été mis en évidence dans le processus de cancérogenèse des sarcomes tels que MDM2 (rôle anti-apoptotique), CDK4 (activateur de la division cellulaire), ASK1 et JUN dont la surexpression entraîne un blocage de l'adipogénèse. Au cours de ce travail, nous avons étudié cinq liposarcomes bien différenciés dont quatre dans la région rétro péritonéale (avec notamment un échantillon prélevé au diagnostic et en récidive) et le dernier issu de la région rétro pharyngée. Ils ont été explorés par la technique de BAC-array dans le but d'établir un profil génétique plus précis des tumeurs étudiées. En complément, la PCR quantitative en temps réel a permis d'évaluer le taux d'amplification de gènes ciblés pouvant être impliqués dans la tumorigénèse. Par cette approche, nous validons l'implication récurrente de la région 12q dont le taux d'amplification est très variable suivant les gènes testés et l'agressivité de la tumeur. Par ailleurs, la région 6q21-q23.3 comprenant les gènes ASK1, TRAF3IP2 et FYN, protagonistes des voies de signalisation impliquant JUN, apparaît amplifiée au cours de la rechute uniquement. Le recours à la quantification relative des gènes d'intérêt complète de façon pertinente les données immunohistochimiques dont l'évaluation de l'expression d'un nombre limité de protéines reste échantillon dépendante. L'approche technique mise en place au cours de ce travail devrait constituer une démarche intéressante dans l'élaboration de la carte d'identité des liposarcomes et permettre d'affiner leur classification pour une meilleure prise en charge des patients.

**Mots-clés :** liposarcome, CGH-ARRAY, profil génétique.

**■P255. MISE EN ÉVIDENCE D'UN NOUVEAU TRANSCRIT DE FUSION IMPLIQUANT EWS DANS LES TUMEURS D'EWING**

S. Ballet (1, 2), F. Chibon (3), H. Duval (4), C. Behar (5), M. Munzer (5), D. Zachar (5), J. Couturier (1, 2), G. Pierron (1, 2), O. Delattre (1, 2)  
(1) *Unité de Génétique Somatique/Cytogénétique, Service d'Oncogénétique, Institut Curie Hôpital, Paris, France*; (2) *Plateforme de Génétique Moléculaire INCa, Institut Curie, Paris, France*; (3) *Service de Génétique Tumorale, Institut Bergonié, Bordeaux, France*; (4) *Département d'Anatomie Pathologique, CHU Pontchaillou, Rennes, France*; (5) *Services d'Oncologie Pédiatrique, d'Hématologie, d'Anatomie Pathologique, CHU Reims, France*

Contact : olivier.delattre@curie.fr

Le sarcome d'Ewing est la 2<sup>de</sup> tumeur primitive de l'os survenant chez l'enfant et le jeune adulte. Il est caractérisé par la présence d'une translocation spécifique récurrente qui implique systématiquement le gène EWS situé en 22q12 et l'un des membres de la famille ETS : FLI-1 dans 85 % des cas ou plus rarement ERG, ETV1, E1AF ou FEV. La mise en évidence par biologie moléculaire de ces transcrits de fusion constitue un outil diagnostique fiable et spécifique. Afin d'optimiser la détection simultanée de l'ensemble des transcrits décrits, une RT-PCR multiplex en temps réel a été mise en place. Depuis 1997, une collection de plus de 1 100 tumeurs adressées pour suspicion de sarcome d'Ewing a ainsi pu être constituée, et chaque translocation spécifique caractérisée. Parfois, alors que le patient présente un tableau clinique et anatomopathologique compatibles avec une tumeur d'Ewing, aucun des réarrangements spécifiques ne peut être mis en évidence par RT-PCR. Ce travail illustre la démarche suivie pour 4 de ces cas, qui ont retenu notre attention. Les conditions expérimentales ne pouvant garantir une détection exhaustive des variants rares non encore décrits (exon cryptique, point de cassure inhabituel), un premier niveau d'analyse vise à vérifier l'intégrité du locus EWSR1. Un éventuel remaniement du gène EWSR1 est alors recherché par FISH. Une fission de la sonde EWSR1 LSI (22q12) est mise en évidence pour tous nos patients avec un profil de fission atypique dans 3 cas sur 4. Cette observation confirme l'existence d'une altération ciblant le locus contenant le gène EWSR1. Cependant, cette approche cytogénétique ne permet pas d'identifier les partenaires impliqués dans ces remaniements chromosomiques. Une analyse globale par CGH-array haute résolution est réalisée et permet d'appréhender l'ensemble des déséquilibres chromosomiques tumoraux et leurs statuts alléliques associés. Une étude plus précise du chromosome 22 confirme le résultat obtenu en FISH révélant un point de cassure dans le gène EWSR1 pour chacun des cas. Un examen approfondi, du profil de chaque tumeur, est mené à la recherche d'un autre évènement génomique récurrent. Un seul locus réarrangé, situé sur le chromosome 20, se distingue de façon claire pour 3 des 4 patients. Ce remaniement cible le seul gène présent dans cette région : NFATc2. Une étude par RT-PCR est réalisée et révèle, dans les 3 cas, la présence d'un transcrit de fusion EWS-NFATc2. Ce réarrangement est également retrouvé au niveau génomique. Bien que rare, cette fusion semble signer les tumeurs d'Ewing au même titre que ETV1, E1AF ou FEV. Le suivi clinique attentif de ces patients permettra d'évaluer leur réponse au traitement et éventuellement d'adapter leur prise en charge. Par ailleurs, une étude plus fondamentale du rôle du transcrit et de la protéine de fusion EWS-NATc2 devrait permettre de mieux comprendre la biologie des tumeurs d'Ewing et à terme d'envisager de nouvelles voies d'investigation thérapeutique.

**Mots-clés** : sarcome Ewing, translocation, diagnostic.

**■P256. ABSENCE DE CORRÉLATION ENTRE LE TYPE MOLÉCULAIRE DU GÈNE DE FUSION COL1A1-PDGFB ET LA FORME HISTOLOGIQUE OU CLINIQUE DU DERMATOFIBROSARCOMA PROTUBERANS**

D. Giaccherio (1, 2, 3), G. Maire (1, 2), P. Nuin (4, 5, 6), F. Berthier (7), N. Ebran (1, 2), A. Carlotti (8), P. Celerier (9), J.M. Coindre (10), E. Esteve (11), S. Fraitag (12), B. Guillot (13), D. Ranchere-Vincent (14), P. Saiag (15), P. Terrier (16), J.P. Lacour (3), F. Pedeutour (1, 2)  
(1) *Laboratoire de génétique des tumeurs solides, CHU de Nice, France*; (2) *CNRS, UMR 6543, Faculté de médecine, Nice, France*; (3) *Service de dermatologie, CHU de Nice, France*; (4) *Département of pathology and molecular medicine, Queen's University, Kingston, ON, Canada*; (5) *NCIC Clinical Trials Group, Kingston, ON, Canada*; (6) *Ontario Cancer Biomarker Network, Toronto, ON, Canada*; (7) *Département d'information médicale, CHU de Nice, France*; (8) *Service d'anatomie pathologique, Hôpital universitaire de Cochin, Paris, France*; (9) *Service de dermatologie, CHR du Mans, France*; (10) *Service d'anatomie pathologique, Institut Bergonié, Bordeaux, France* (11) *Service de dermatologie, CHR d'Orléans, France*; (12) *Service d'anatomie pathologique, Hôpital Necker, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, France*; (13) *Service de*

*Dermatologie, CHU Saint-Eloi, Montpellier, France*; (14) *Service d'anatomie pathologique, Centre Léon-Bérard, Lyon, France*; (15) *Service de dermatologie, Hôpital universitaire Ambroise-Paré, Boulogne, France*; (16) *Service d'anatomie pathologique, Institut Gustave-Roussy, Villejuif, France*

Contact : damiengiaccherio@gmail.com

Le dermatofibrosarcoma protuberans (DFSP) est une tumeur cutanée rare qui accepte de nombreux variants cliniques et histologiques ayant en commun la présence spécifique de la translocation t(17;22) à l'origine du gène de fusion COL1A1-PDGFB. Le gène de fusion COL1A1-PDGFB peut être détecté par hybridation *in situ* avec des sondes fluorescentes (FISH) ou par réaction en chaîne par la polymérase après transcription inverse (RT-PCR). Il est composé d'une portion de COL1A1 de taille très variable, le point de cassure pouvant être situé de l'exon 6 à l'exon 49. À l'inverse, le point de cassure situé sur PDGFB est remarquablement constant, toujours situé dans l'intron 1. Trente cinq nouveaux cas de DFSP adressés à notre laboratoire pour analyse du gène de fusion COL1A1-PDGFB de 2002 à 2006 et dont le point de cassure du gène de fusion COL1A1-PDGFB avait été caractérisé par RT-PCR et séquençage ont été étudiés de façon rétrospective. Nous avons ajouté à cette étude 22 cas de DFSP avec caractérisation par RT-PCR du point de cassure situé dans COL1A1 précédemment publiés par notre équipe. Cent quinze cas de la littérature publiés entre 1997 et 2008 avec suffisamment de données cliniques et moléculaires ont également été inclus. Notre objectif était de mettre en évidence une association statistiquement significative entre un point de cassure donné dans le gène COL1A1 et une forme clinique ou histologique particulière de DFSP. Sur un total de 172 cas, ce qui représente la plus grande série de DFSP rapportée à ce jour, il y avait 83 femmes et 87 hommes d'âge moyen de 33 ans. Dix sept lésions étaient congénitales. La tumeur mesurait en moyenne 4,2 cm de long par 3,6 cm de large et siégeait sur le tronc dans 54 % des cas. Il s'agissait d'une tumeur métastatique dans 1,7 % des cas (n = 3). Sur le plan génétique, 38 exons différents de COL1A1 participaient au gène de fusion COL1A1-PDGFB. Les exons 25, 29, 32, 40, 46 et 47 étaient les plus fréquemment détectés (n ≥ 10). Parmi les 35 nouveaux cas analysés, 4 exons inédits ont été identifiés : les exons 9, 14, 39 et 43. Nous avons montré que, dans cette série, il n'existait pas d'association statistiquement significative (analyse de variance) entre le type moléculaire de la fusion COL1A1-PDGFB et un des paramètres cliniques ou histologiques étudiés. Ainsi, nous concluons que la détection du gène de fusion COL1A1-PDGFB peut être préférentiellement réalisée par analyse FISH en routine diagnostique. En effet, l'analyse par FISH ne détecte pas la localisation précise de la cassure dans COL1A1, mais notre étude montre que cette précision n'est pas indispensable. En revanche, l'analyse par FISH est plus simple, plus rapide et plus adaptée dans ce type de tumeurs que la multiplexe RT-PCR.

**■P257. LA BASE DE DONNÉES FRANÇAISE DES VARIANTS DE BRCA1 ET BRCA2**

S. Caputo (1), L. Benboudjema (1), O. Sinilnikova (2, 3), D. Hamroun (4, 5), C. Beroud (4, 5, 6), R. Lidereau (1) et le Groupe « Génétique et Cancer » (7) incluant A. Remenieras, A. Hardouin, J.P. Peyrat, C. Toulas, F. Coulet, C. Delvincourt, D. Muller, C. Houdayer, N. Uhrhammer, J.M. Rey, C. Delnatte, E. Rouleau, N. Sevenet, M. Bronner, T. Noguchi  
(1) *Centre René-Huguenin, Service d'Oncogénétique, INSERM U735, Saint-Cloud, France*; (2) *Unité Mixte de Génétique Constitutionnelle des Cancers Fréquents, Hospices Civils de Lyon / Centre Léon Bérard, Lyon, France*; (3) *Laboratoire de Génétique Moléculaire, Signalisation et Cancer, UMR5201 CNRS, Université de Lyon, Lyon, France*; (4) *INSERM U827, Montpellier, France*; (5) *CHU Montpellier, Hôpital Arnaud-de-Villeneuve, Laboratoire de Génétique Moléculaire, Montpellier, France*; (6) *Université Montpellier1, UFR Médecine, Montpellier, France*; (7) *Sous-groupe des laboratoires du Groupe Génétique et Cancer (GCC) de la FNCLCC (Institut Gustave Roussy Villejuif, Centre François-Baclesse Caen, Centre Oscar-Lambret Lille, Institut Claudius-Régaud Toulouse, Hôpital La Pitié-Salpêtrière Paris, Institut Jean-Godinot Reims, Centre Paul Strauss Strasbourg, Institut Curie Paris, Centre Jean Perrin Clermont-Ferrand, CHU Arnault-de-Villeneuve Montpellier, Hôpital Nord Nantes, Centre René-Huguenin Saint-Cloud, Institut Bergonié Bordeaux, Centre Alexis-Vautrin et CHU Nancy, Institut Paoli-Calmettes Marseille), France*

Contact : caputo@crh1.org

BRCA1 et BRCA2 sont les deux plus importants gènes associés à la prédisposition de développer un cancer du sein et/ou des ovaires. De ce fait leur étude est primordiale. Nous avons donc développé une base de données nationale française, recensant tous les variants BRCA1-BRCA2 collectés depuis janvier 1995 : UMD-BRCA1/BRCA2. UMD-BRCA1/BRCA2



compte aujourd'hui 3158 variants BRCA1 et 3486 variants BRCA2. Pour UMD-BRCA1, 447 mutations délétères différentes sont retrouvées dans 1732 familles et 434 variants non-classés (UV) différents dans 700 familles. Ces familles peuvent présenter une mutation délétère avec un ou plusieurs UV, ou une mutation délétère ou UV, ou plusieurs UV. Il existe une seule famille avec 2 mutations délétères pour BRCA1. UMD-BRCA2 réunit, quand à elle, 1 120 familles avec 444 mutations délétères différentes et 720 variants non-classés différents dans 1462 familles. Ces mutations sont réparties de la même façon que pour UMD-BRCA1. UMD-BRCA2 présente aussi une seule et unique famille avec 2 mutations délétères BRCA2. UMD-BRCA1/2 présente également 3 familles avec 1 mutation délétère BRCA1 et 1 mutation délétère BRCA2. Mais quand est-il des UVs, ces variants encore non-classés ? Une approche ARN a été développée dans beaucoup de laboratoires et certains variants affectant l'épissage ont pu être classés. Il reste encore de nombreux variants pouvant affecter l'épissage mais aussi la fonction de la protéine. Par exemple, nous avons une délétion pour BRCA2 : c.7795>7797delGAA qui entraîne la perte de Glu2599. Cette mutation est classée délétère suite à des études de linkage. Nous avons positionné Glu2599 (Glu2520 souris) sur la structure tridimensionnelle existante de la région C-terminale de BRCA2 souris [1]. Ce résidu est localisé dans le domaine hélicale et interagit avec plusieurs acides aminés, tous communs entre l'humain et la souris. Cette délétion pourrait donc déstabiliser la structure de ce domaine. Nous abordons maintenant ce problème des variants non-classés par une approche structurale, sur des structures tridimensionnelles déjà résolues.

#### Références

1. Yang, H., et al., BRCA2 function in DNA binding and recombination from a BRCA2-DSS1-ssDNA structure. *Science* 2002 ; 297(5588) : 1837-48.

**Mots-clés :** BRCA1, BRCA2, variant.

#### ■P258. ÉTUDE DU TRANSCRIPTOME DES CELLULES NON TUMORALES DE L'ÉPITHELIUM DE SURFACE DE L'OVAIRE DES FEMMES PORTEUSES D'UNE MUTATION DE BRCA1 OU BRCA2

D. Abd-Rabbo (1), C.N. Abaji (1), G. B. Cardin (1), A. Filali-Mouhim (1), C. Arous (1), L. Portelance (1), S. Cloutier (1), P.N. Tonin (2), D.M. Provencher (1, 3, 4), A.M. Mes-Masson (1, 5), C.M. Maugard (1, 3, 5, 6)  
(1) Institut du cancer de Montréal (ICM)/Centre de recherche du Centre hospitalier de l'Université de Montréal (CRCHUM), Montréal (Québec), Canada ; (2) Departments of Human Genetics and Medicine, McGill University and the Research Institute of the McGill University Health Centre, Montréal (Québec), Canada ; (3) Service de médecine génétique, CHUM, Montréal (Québec), Canada ; (4) Département de gynécologie-oncologique, Université de Montréal, Montréal (Québec), Canada ; (5) Département de médecine, Université de Montréal, Montréal (Québec), Canada ; (6) Laboratoire de diagnostic génétique, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France  
Contact : christinemaugard@gmail.com

BRCA1 et BRCA2 sont des gènes majeurs de prédisposition aux cancers du sein et de l'ovaire. Leur pénétrance incomplète et leur expressivité variable compliquent la prédiction du risque de cancers chez les porteuses d'une mutation de ces gènes. Pour améliorer la prédiction du risque chez les porteuses et établir de nouvelles méthodes de prévention de ces cancers, nous voulions identifier les événements associés à l'hétérozygotie pour une mutation de l'un de ces gènes dans les cellules non tumorales ovariennes de l'épithélium de surface de l'ovaire (NOSE). Nous nous sommes fixés pour objectif d'identifier les profils d'expression différentielle signatures de la présence d'une mutation de BRCA1 ou de BRCA2 dans les cellules NOSEs et d'identifier les régions chromosomiques comportant des gènes corégulés (RCCs) associés à ces mutations. Nous avons étudié le transcriptome de neuf échantillons d'ARN extraits de cultures primaires de NOSEs provenant de quatre donneuses non porteuses de mutation, deux mutées sur BRCA1 et trois sur BRCA2, ainsi que de quatre échantillons d'ARN extraits de cultures primaires de cellules tumorales de l'ovaire (TOVs) provenant de trois donneuses porteuses d'une mutation sur BRCA1 et une sur BRCA2. Nous avons identifié, pour la première fois, les signatures moléculaires associées à la présence d'une mutation de BRCA1 et de BRCA2 dans les cellules NOSEs ainsi que la signature associée à la transformation tumorale des NOSEs en TOVs chez les porteuses d'une mutation de BRCA1. Nous avons mis en évidence des régions chromosomiques co-régulées dans les échantillons des porteuses d'une mutation de BRCA1, localisées dans des régions où avaient été identifiées antérieurement des délétions ou des amplifications dans des tumeurs. Nous avons observé que les 2 allèles (sauvage et muté) de BRCA2 étaient exprimés dans les cellules TOVs provenant de porteuses de la mutation 8765delAG sur BRCA2. Le niveau d'expression des transcrits de BRCA2 et la

contribution du transcrit muté était plus élevé dans les cellules provenant de la tumeur ovarienne la plus agressive. Nos résultats suggèrent que l'hétérozygotie pour une mutation de BRCA2 pourrait suffire à permettre l'initiation de la carcinogenèse ovarienne. Nous avons observé une concordance entre le profil d'expression de certains des gènes différentiellement exprimés et celui de BRCA2 dans les échantillons mutés pour ce gène, nous orientant vers de nouveaux partenaires putatifs de BRCA2. En conclusion, une activité régulatrice de certains gènes et/ou des phénomènes épigénétiques pourraient modifier le transcriptome de BRCA1/2. L'allèle muté de BRCA2 lui-même, par un effet de dosage, pourrait être responsable des différences interindividuelles observées dans les phénotypes cliniques chez les porteurs d'une même mutation.

**Mots-clés :** transcriptome, Cellules non tumorales de l'épithélium de surface, gènes BRCA1, BRCA2.

#### ■P259. MUTATIONS DE BRCA1/2 DANS UNE COHORTE NON SÉLECTIONNÉE DE CANCERS DU SEIN OPÉRÉS. ANALYSE DE SUIVI À 9 ANS

J.P. Fricker (1), D. Muller (1), C. Degermann (1), J. Abecassis (1), D. Weitbruch (2), J.F. Rodier (2)  
(1) Unité Oncogénétique, CLCC P Strauss, Strasbourg, France ; (2) Département de Chirurgie, CLCC P.-Strauss, Strasbourg, France  
Contact : jfricker@strasbourg.fnclcc.fr

Entre octobre 2000 et juin 2003, 488 femmes opérées au CLCC Paul Strauss pour cancer du sein ont répondu à un court questionnaire orienté sur leurs antécédents familiaux. Un cas de cancer du sein survenu chez un 1<sup>er</sup> degré (mère, sœur, ou fille) était rapporté par 15,2 % des femmes, et dans 17 % des cas chez un 2<sup>e</sup> degré (tante, grand-mère). Au total, des antécédents familiaux étaient présents dans 34,8 % des cas. Exprimé en nombre de cas rapportés, un antécédent familial unique de cancer du sein était signalé par 118 femmes (24,2 %), deux antécédents par 39 femmes (8,0 %), trois et plus par 13 femmes (2,6 %). 415 des 488 femmes (85 %) ont accepté de participer à une étude pour évaluer l'incidence de mutations fréquentes dans la population du Nord-Est de la France : 3600del11 et G1710X. La mutation 3600del11 a été détectée 4 fois. Chaque fois que l'histoire familiale et/ou individuelle le justifiait (CSF : 7 familles ; CSOF : 3 familles), un criblage complet de BRCA1/2 a été réalisé : 8 mutations ont été identifiées (1,9 %), incluant 3 des 4 mutations 3600del11 détectées. La mutation 3600del11 est retrouvée chez 1 % des cas. Elle a été détectée une seule fois grâce à la recherche ciblée de mutations récurrentes. Compte tenu de la précocité (34 ans) et du type pathologique « triple négatif », ce cas serait analysé avec les critères actuels. Dans les 3 autres cas, le criblage mutationnel réalisé en raison de l'histoire familiale aurait conduit à leur identification. La recherche systématique de mutations récurrentes à un rendement faible, et ne paraît pas une stratégie efficace dans cette population. Cette cohorte a été actualisée en 2009, avec un recul compris entre 9 et 6 ans (recul médian 7 ans). En raison d'événements carcinologiques nouveaux, une mutation de BRCA1/BRCA2 a été identifiée dans 9 cas additionnels (2,2 %). En données actualisées, une mutation délétère de BRCA1 est identifiée chez 11 femmes/415 (2,7 %), et une mutation délétère de BRCA2 chez 6 femmes (1,4 %), soient dans 4,1 % de cas non sélectionnés. Un variant est identifié dans 1,4 % des cas (BRCA1 : 0,4 % ; BRCA2 : 1,0 %). Cette étude permet d'estimer que les mutations délétères de BRCA1/2 sont impliquées dans 4,1 % des cas au moins de cette cohorte non sélectionnée de femmes opérées pour cancer du sein. Le suivi des personnes a permis, avec un recul médian de 7 ans, d'identifier 9 nouvelles femmes mutées, pour porter le total à 17. Même avec les critères courants en 2009, la plupart des cas incidents ne seraient pas analysés au vu de leur présentation initiale. Cette étude souligne ainsi l'intérêt du suivi et de l'actualisation des données familiales, qui ont permis d'identifier secondairement une majorité des mutations insoupçonnables au moment de la consultation initiale.

**Mots-clés :** cancer du sein, gènes BRCA1/BRCA2, incidence.

#### ■P260. AMÉLIORATION DU TAUX DE DÉTECTION DU PANEL DE MUTATIONS CANADIENNES-FRANÇAISES DE BRCA1 ET BRCA2

S. Cote (1, 2), S. Nolet (1, 3, 4), K. Latour (1), N. Dumas (1), M.C. Binet (1), M. Breguet (1, 2), L. Gaboury (1, 3, 4), P. Hamet (1, 2), N. Larouche (1), G. Proulx (3), D. Provencher (1, 2, 5), J. Richard (1), C. Wilmart (1, 2), C. Maugard (1, 6, 7)  
(1) Service de médecine génétique, Département de médecine du Centre Hospitalier de l'Université de Montréal (CHUM), Canada ; (2) Centre de recherche du CHUM (CRCHUM), Canada ; (3) Département de pathologie du CHUM, Canada ; (4) Département de pathologie et de biologie cellulaire de l'Université de Montréal, Canada ; (5) Service de gynécologie



oncologique, Département d'obstétrique-Gynécologie (CHUM), Canada ; (6) Institut du cancer de Montréal(ICM)/CRCHUM, Canada ; (7) Laboratoire de diagnostic génétique, Hôpitaux universitaires de Strasbourg, France

Contact : stephanie.cote.chum@ssss.gouv.qc.ca

**INTRODUCTION :** L'existence d'un effet fondateur bien caractérisé dans la population canadienne-française (CF) du Québec, a permis l'identification de mutations communes dans certains gènes. Ainsi, dans les gènes de prédisposition héréditaire aux cancers du sein et de l'ovaire, BRCA1 et BRCA2, un panel de mutations CF est utilisé comme stratégie d'analyse moléculaire initiale. **OBJECTIFS :** Évaluer le taux de détection obtenu avec le panel CF de 9 mutations actuellement utilisé dans le laboratoire de diagnostic moléculaire du service de génétique du Centre hospitalier de l'Université de Montréal (CHUM) sur la population CF recrutée en consultation. Déterminer l'amélioration du taux de détection observée en incluant dans ce panel les mutations rapportées dans au moins 2 familles CF distinctes. **MÉTHODES :** Analyse rétrospective des résultats obtenus pour les familles CF testées à la clinique de médecine génique du CHUM. Les cas-index inclus dans notre analyse sont ceux pour lesquels la branche d'hérédité correspondant à la prédisposition est d'origine CF. Ces échantillons ont été testés par séquençage ciblé pour la présence des 9 mutations du panel CF. En l'absence de mutation, un séquençage extensif des gènes BRCA1 et BRCA2 a été effectué, ainsi que la recherche de 5 réarrangements fréquents de BRCA1. **RÉSULTATS :** Dans la période de janvier 2005 à décembre 2008, 408 individus CF ont été testés via le panel de 9 mutations CF (R1443X, 2953del3+C, 3768insA, W321X pour BRCA1 et 8765delAG, E1953X, 3398del5, 2816insA, 6503delTT pour BRCA2). Des 301 cas-index correspondants à nos critères d'inclusion, 69 étaient porteurs d'une mutation. Parmi ces 69 porteurs, 57 portaient une mutation du panel CF (82,6 %). Les mutations des 12 autres porteurs ont été identifiées par séquençage extensif (17,4 %). Cinq de ces mutations (2080insA, 2244insA, 2800delAA pour BRCA1 et 3773delTT, R2336H pour BRCA2) ont été rapportées dans au moins 2 familles CF distinctes. En incluant ces nouvelles mutations dans notre panel CF, notre taux de détection atteindrait 97,1 % (67/69). **CONCLUSION :** Cette étude rétrospective indique que notre panel CF actuel de 9 mutations assure un taux de détection de 82,6 %. En ajoutant 5 nouvelles mutations, ce taux de détection atteindrait 97,1 %. Ces données préliminaires indiquent que l'utilisation du panel CF continue d'être un moyen efficace et économique en tant que stratégie initiale de diagnostic moléculaire et que l'inclusion de 5 nouvelles mutations permettrait d'en augmenter l'efficacité. Ces données sont insuffisantes pour exclure le séquençage extensif des cas-index des familles CF négatives pour ce nouveau panel étendu. Une revue périodique des mutations identifiées par séquençage dans les familles CF s'avère donc importante afin d'en améliorer et valider l'efficacité.

**Mots-clés :** cancer sein-ovaire, BRCA1 et BRCA2, effet fondateur.

#### ■P261. RÔLE DES MICROARNs DANS L'INACTIVATION HÉRÉDITAIRE DU GÈNE BRCA1

A. Garcia (1), L. Barjhoux (1), C. Verny-pierre (1), M. Buisson (1), D. Cox (1), D. Stoppa-lyonnet (2), GEMO, S. Mazoyer (1), O. Sinilnikova (1)

(1) Laboratoire de Génétique Moléculaire, Signalisation et Cancer UMR5201 CNRS, Université Lyon 1, Lyon, France ; (2) Service de génétique oncologie, Institut Curie, Paris, France

Contact : GARCIA@lyon.fnclcc.fr

Le cancer du sein est le cancer le plus fréquent chez la femme. Plus de 49 000 nouveaux cas par an sont diagnostiqués en France, dont 5 à 10 % chez des patientes ayant des antécédents familiaux. Un des gènes majeurs de prédisposition est le gène BRCA1. Les porteuses de mutations germinales, en majorité des mutations tronquantes, ont un risque compris entre 35 et 87 % de développer un cancer du sein, et un risque compris entre 26 et 63 % de développer un cancer de l'ovaire. Les mutations BRCA1 somatiques sont très rares, mais ce gène est sous-exprimé dans une fraction importante de tumeurs mammaires sporadiques. Afin d'identifier de nouveaux mécanismes pouvant expliquer cette sous-expression, nous nous intéressons aux microARNs (miRs). Par une approche bioinformatique, nous avons identifié plusieurs miRs susceptibles de se fixer sur la 3'UTR de BRCA1, dont miR-146a et miR-146b-5p. Nous avons montrés que ces miRs se fixent spécifiquement sur la 3'UTR de BRCA1 grâce à un système de gène rapporteur luciférase, et que leur expression diminue l'expression endogène de BRCA1. À l'inverse, l'inhibition de l'expression de miR-146a/b-5p induit une augmentation de l'expression de BRCA1. Ainsi, nos résultats montrent que l'expression du gène BRCA1 est régulée par des miRs. Tout en poursuivant ce travail par une analyse de tumeurs mammaires sporadiques, nous nous sommes demandé si des miRs pourraient être impliqués dans la prédisposition au cancer du sein. Nous nous sommes

tout d'abord intéressés à un SNP de fréquence élevée identifié dans le gène codant pour miR-146a. Il a été montré sur une petite série que le génotype pour ce SNP influençait l'âge de diagnostic des patientes atteintes de cancer du sein ou de l'ovaire familial. Afin de confirmer l'effet de ce variant, nous avons génotypé 1 166 et 560 porteuses de mutations BRCA1 ou BRCA2 respectivement, dans le cadre de l'étude GEMO (Genetic Modifiers of Cancer Risk in BRCA1/2 Mutation Carriers). Cependant, nous n'avons pas trouvé que ce SNP avait un effet sur le risque tumoral. Par ailleurs, nous avons analysé si la présence de mutations germinales dans la 3'UTR de BRCA1 pourrait conduire à l'apparition de nouveaux sites de fixation pour des microARNs exprimés dans les tissus mammaires et/ou ovariens ou au renforcement de sites déjà présents et ainsi diminuer l'expression de BRCA1. Nous avons analysé cette région chez plus de 600 patientes appartenant à des familles de risque élevé, de risque intermédiaire ou faible. Nous avons trouvé que la 3'UTR de BRCA1 (1,4 kb) est étonnamment conservée, puisque seulement trois variants rares ont été identifiés. Ces variants ne semblent pas modifier de site de fixation de microARNs d'après une analyse bioinformatique. Nous avons ainsi montré que bien que l'expression du gène BRCA1 semble régulée par des microARNs, ceux-ci ne jouent visiblement pas un rôle important dans l'inactivation héréditaire de ce gène.

**Mots-clés :** BRCA1, microARN, cancer du sein.

#### ■P262. CGH-ARRAY DÉDIÉE EN DIAGNOSTIC DE ROUTINE POUR LA DÉTECTION DES GRANDS RÉARRANGEMENTS DES GÈNES BRCA1 ET BRCA2 SUR UNE SÉRIE DE 377 CAS INDEX DE FAMILLES PRÉDISPOSÉES AUX CANCERS DU SEIN ET DE L'OVAIRE

E. Rouleau (1), A. Briau (1), V. Chabaud (2), S. Tozlu-Kara (1), B. Jesson (2), C. Andrieu (1), V. Sylvain-Vidal (2), V. Vidal (2), L. Demange (3), C. Nogués (3), I. Bièche (1), R. Lidereau (1)

(1) Laboratoire d'Oncogénétique, Centre René Huguenin, France ; (2) IMAXIO Division Diagnostique, Biopôle, Saint-Beauzire, France ; (3) Consultation d'Oncogénétique, Centre René-Huguenin, France

Contact : rouleau@crh1.org

BRCA1 (OMIM 113705) et BRCA2 (OMIM 600185) sont les seuls gènes de prédispositions majeures aux cancers du sein et de l'ovaire. Sur 100 familles avec une histoire évocatrice de prédisposition, seules 10 à 20 auront une mutation délétère. Puisque ces gènes restent les principaux candidats, il est nécessaire de rechercher d'autres mécanismes moléculaires les impliquant pour expliquer cette prédisposition familiale. Plusieurs laboratoires ont mis en évidence l'intérêt de l'utilisation des puces CGH-array comme outil de caractérisation des grands réarrangements. À ce jour, aucune étude n'a encore été réalisée pour évaluer l'intérêt des puces dédiées en routine pour la détection des réarrangements. Cette approche, 10 à 20 fois plus coûteuse que les techniques MLPA ou QMPSPF, pourrait néanmoins apporter des informations complémentaires et permettre de mettre en évidence de nouveaux réarrangements moléculaires mal explorés (régions promotrices, régulatrices, introniques, au centre des grands exons comme l'exon 11). Nous proposons d'appréhender l'intérêt d'une puce CGH-array dédiée BRCA1/BRCA2 dans une étude rétrospective de 377 cas index testés négatifs pour BRCA1 et BRCA2 en mutation ponctuelle et grand réarrangement. Les patients ont été sélectionnés selon les critères habituels des consultations d'oncogénétique avec un consentement pour réaliser cette analyse. Les échantillons ont été partagés entre les deux plateformes. Neuf contrôles positifs ont été sélectionnés avec un grand réarrangement sur BRCA1 ou BRCA2. Les contrôles positifs et 5 échantillons communs ont été hybridés sur les deux sites. La puce utilisée comportait 2 810 oligonucléotides pour BRCA1, 2427 pour BRCA2 répartis sur le gène et à au moins 100kb dans les régions flanquantes. Aucun nouveau grand réarrangement impliquant un exon n'a été identifié sur les 377 cas index sélectionnés. Tous les réarrangements contrôles ont été détectés par les deux plateformes avec une taille de 510 pb à 36 kb. Deux événements ont été identifiés en 5' du gène pour deux cas index et en 3' du gène pour un cas index. Les bornes de ces trois réarrangements ont été caractérisées par qPCR et PCR. Leur impact respectif sur la transcription est en cours d'étude. Aucun faux positif n'a été mis en évidence. Au final, nous avons pu montrer l'application et la faisabilité en routine clinique de la CGH-array dédiée au gène BRCA1 et BRCA2 sur une grande série de patients. Dans cette série, les contrôles positifs et les réarrangements observés représentaient respectivement 2 % et 0,7 % des échantillons. Étant donné qu'il est recherché des événements moléculaires rares, des études complémentaires pourraient être proposées avec un plus grand nombre de patients ou des critères de sélection plus stringents.

**Mots-clés :** CGH-array, BRCA1, BRCA2.



### ■P263. LE VARIANT FAUX-SENS BRCA1 C.5434 C>G INDUIT UN DÉFAUT MAJEUR D'ÉPISSAGE EN ALTÉRANT DES ÉLÉMENTS DE RÉGULATION DANS L'EXON 23

P. Gaildrat (1), S. Krieger (2), J.C. Thery (1), A. Killian (1), T. Frébourg (1, 3), A. Hardouin (2), A. Martins (1), M. Tosi (1)

(1) *Inserm U614, Faculté de Médecine, Institut Hospitalo-Universitaire, Université de Rouen, Cancéropôle Nord-Ouest, Université de Rouen, France*; (2) *Laboratoire de Biologie Clinique et Oncologique, Centre François Baclesse, Caen, Cancéropôle Nord-Ouest, France*; (3) *Département de Génétique, Centre Hospitalo-universitaire de Rouen, France*  
Contact : [mario.tosi@univ-rouen.fr](mailto:mario.tosi@univ-rouen.fr)

De nombreux variants de signification inconnue (VSI) sont identifiés au niveau des gènes de prédisposition au cancer. L'interprétation des variants dits faux-sens, en tant que polymorphismes neutres ou mutations causales, est particulièrement problématique puisque ces variations exoniques peuvent, soit affecter la fonction même de la protéine du fait du changement d'acide aminé, soit altérer, en amont, le processus d'épissage de l'ARN, en modifiant des séquences régulatrices de l'épissage dites « Exonic Splicing Enhancer » (ESE) ou « Exonic Splicing Silencer » (ESS). À ce jour, dans le gène de prédisposition au cancer du sein et de l'ovaire, BRCA1, des mutations exoniques affectant ces éléments de régulation ont été décrites seulement dans l'exon 18. Nous avons étudié un variant considéré initialement comme faux-sens dans l'exon 23 de BRCA1 c.5434C>G (p.Pro1812Ala), identifié chez une patiente atteinte d'un cancer de l'ovaire. Il avait été initialement suggéré que cette variation pourrait interférer avec l'activité de la protéine BRCA1, étant donné sa localisation dans le domaine fonctionnel BRCT (BRCA1 carboxyl terminal). Cependant, il a été montré que ce variant BRCA1 p.Pro1812Ala conserve son activité de transactivation transcriptionnelle. Par conséquent, ces données divergentes ne permettent pas de statuer sur la nature pathogène de ce variant et nous ont conduits à examiner l'effet de cette variation sur l'épissage. L'analyse de l'ARN de la patiente et un test fonctionnel d'épissage *ex vivo* utilisant un minigène ont révélé que ce variant induit un défaut majeur d'épissage, avec un saut complet de l'exon 23. La mutation BRCA1 c.5434C>G est localisée au centre de cet exon, à distance des sites canoniques d'épissage. Un second test fonctionnel de type minigène, permettant de détecter des sites exoniques de régulation de l'épissage, a montré que le segment c.5420-5449 de l'exon 23 du gène BRCA1 comprend des séquences présentant des propriétés stimulatrices de l'épissage de type « Enhancer ». Ces propriétés sont abolies par la mutation c.5434C>G, ce qui démontre que le changement nucléotidique modifie un ou des éléments de régulation de l'épissage. Ces résultats présentent un intérêt direct pour le diagnostic moléculaire puisqu'ils permettent d'établir la nature délétère du variant BRCA1 c.5434C>G, de proposer un conseil génétique basé sur l'analyse moléculaire à tous les patients porteurs de la mutation et de caractériser une séquence de type ESE dans l'exon 23 du gène BRCA1. Cette étude montre que les tests fonctionnels d'épissage permettent de démontrer que certaines variations considérées faux-sens sont en fait des mutations d'épissage.

**Mots-clés :** BRCA1, épissage, variant faux-sens.

### ■P264. EXPLORATION DE LA RÉGION 3'UTR DU GÈNE BRCA1 CHEZ 70 CAS INDEX DE FAMILLES SÉLECTIONNÉES DE CANCER DU SEIN ET/OU OVAIRE NON MUTÉS BRCA

S. Lheureux (1, 2, 3), A. Legros (2), B. Lambert (3), C. Denoyelle (3), S. Krieger (2), D. Vaur (2), L. Poulain (3), P. Berthet (4), A. Hardouin (2)

(1) *Unité de recherche clinique, CLCC François Baclesse, Caen, France*; (2) *Laboratoire de biologie clinique et oncologique, CLCC François-Baclesse, Caen, France*; (3) *Unité « Biologie et Thérapies Innovantes des Cancéropôles Localement Agressifs » du Groupe Régional d'Etudes sur le Cancer (GRECAN), EA 1772 de l'Université de Caen, France*; (4) *Consultation d'oncogénétique, CLCC François Baclesse, Caen, France*  
Contact : [s.lheureux@baclesse.fr](mailto:s.lheureux@baclesse.fr)

Deux gènes suppresseurs de tumeur BRCA1 et BRCA2 de transmission autosomale dominante sont connus pour être impliqués dans la prédisposition héréditaire au cancer du sein et/ou de l'ovaire. À l'heure actuelle, une mutation délétère dans l'un de ces deux gènes n'est mise en évidence que dans 14 % des cas index adressés par les consultations d'oncogénétique (Rapport InCA 2008). Ainsi le rendu génétique reste négatif dans environ 85 % des cas. Les techniques actuelles n'explorent généralement que la séquence codante, ignorant les parties non traduites de ces deux gènes. Des petits ARN non codants, appelés miRNA, ont été récemment décrits comme régulant négativement l'expression génique au niveau post transcriptionnel en se fixant principalement au niveau de la région 3'UTR de l'ARN messager. Une mutation dans cette région peut alors créer une

séquence permettant la fixation d'un autre miRNA diminuant ainsi l'expression du gène. L'objectif de cette étude est donc d'étudier la séquence 3'UTR du gène BRCA1, afin de rechercher d'éventuelles mutations pouvant être impliquées dans la prédisposition héréditaire au cancer du sein et/ou de l'ovaire. Une étude a été menée chez des patientes cas index non informatives après criblage des gènes BRCA, atteintes d'un cancer du sein ou de l'ovaire avant 50 ans. Chaque patiente a également été sélectionnée par son histoire familiale, sur au moins deux générations, avec au moins 3 cancers du sein apparentés au premier degré dont un avant 40 ans, ou un cancer de l'ovaire lié au premier degré à un cancer du sein survenu avant 40 ans. Au total 70 proposantes ont été retenues pour l'analyse. La région 3'UTR du gène BRCA1 a été explorée par séquençage à l'aide de 4 couples d'amorces chevauchantes. Trois polymorphismes ont été retrouvés dont deux (c.\*421G>T et c.\*1287C>T) chez 25 cas index (35,7 %) et un (c.\*1332G>A) chez deux cas index (2,9 %). Les polymorphismes c.\*421G>T et c.\*1287C>T sont en complet déséquilibre de liaison avec l'haplotype majeur déjà identifié dans cette population (c.548-58delT; c.2311T>C; c.2612C>T; c.3113A>G; c.3548A>G; c.4308T>C; c.4837A>G, c.5152+66G>A). Deux variants jamais décrits ont été mis en évidence : c.\*750A>G et c.\*1286C>A. Le variant c.\*750A>G a été détecté chez deux patientes dont l'une présente également le c.\*1286C>A. La présence de 2 mutations délétères en trans dans le gène BRCA1 n'ayant jamais été décrite, ces deux variants c.\*750A>G et c.\*1286C>A ont été recherchés respectivement par HRM et par séquençage dans une population contrôle de 210 femmes mutées BRCA1. Le variant c.\*750A>G a été mis en évidence dans 3 cas mais le variant c.\*1286C>A n'a pas été retrouvé sur les 210 allèles sauvages. Pour déterminer l'impact de ces deux variants sur l'expression du gène BRCA1, plusieurs lignées cellulaires seront transfectées à l'aide de constructions plasmidiques dans lesquelles les régions 3'UTR de ces différents variants auront été clonées en aval du gène rapporteur luciférase.

**Mots-clés :** BRCA1, 3' UTR, miRNA.

### ■P265. CARACTÉRISATION D'UNE NOUVELLE DÉLÉTION INCLUANT LE GÈNE NBR2 ET LES 22 PREMIERS EXONS DU GÈNE BRCA1 DANS UNE FAMILLE DE LA MARTINIQUE

O. Béra (1), A. Rousselin (2), E. Rouleau (3), J.J. Baumann (2), A. Charpentier (1), S. Krieger (2), D. Vaur (2), A. Hardouin (2)

(1) *Unité d'oncogénétique, CHU de Fort de France, Martinique, France*; (2) *Laboratoire de Biologie clinique et Oncologique, CRLCC François-Baclesse, Caen, France*; (3) *Laboratoire d'oncogénétique, INSERM 0017, CRLCC René-Huguenin, Saint-Cloud, France*  
Contact : [odile.bera@chu-fortdefrance.fr](mailto:odile.bera@chu-fortdefrance.fr)

La Martinique, département Français d'Amérique située à 7 000 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, la population d'origine caucasienne constituant une minorité. Depuis janvier 2006, plus de 500 consultations d'oncogénétique ont été réalisées sur l'île dont 65 % pour recherche d'une prédisposition au cancer du sein et/ou de l'ovaire. Des collaborations étroites existent, en particulier avec le laboratoire de Génétique Moléculaire du CHU de Rouen et avec le laboratoire de Biologie Clinique et Oncologique du Centre François Baclesse de Caen. Ce dernier réalise l'analyse des gènes BRCA pour les patients reçus en consultation d'oncogénétique à la Martinique ou de façon délocalisée en Guyane Française. Le cas index, fille d'une mère Martiniquaise et d'un père originaire de l'Ardèche, a développé successivement un cancer lobulaire du sein gauche à 47 ans, un cancer intra-canalair du sein droit à 50 ans puis un fibrosarcome de la cuisse à 52 ans. Dans la branche paternelle, sa grand-mère, son unique tante ainsi qu'une de ses 2 cousines germaines, ont également développé une tumeur mammaire. Le père est décédé à 69 ans, apparemment indemne de toute pathologie cancéreuse. Aucun cancer n'a été décrit dans la branche maternelle. Le criblage des gènes BRCA1 et BRCA2 a été effectué par DHPLC sur ADN génomique extrait à partir du sang, suivi d'une étude systématique des réarrangements de grande taille. Les techniques MLPA (Multiplex Ligation PCR Amplification) et QMPSF (Quantitative Multiplex PCR of short Fluorescent fragments) ont mis en évidence une délétion à l'état hétérozygote, du gène NBR2 (Next to BRCA1 gene 2) et d'une grande partie du gène BRCA1 ayant emporté des exons 1 à 22. Une étude a été réalisée sur une puce CGH dédiée BRCA1/2, et a révélé une délétion comprise entre 75 et 85 kb encore jamais décrite dans la littérature. Le bornage précis de cette délétion est en cours de réalisation. Nous avons pu mettre en évidence l'existence d'une nouvelle mutation qui s'avère être également le premier réarrangement génomique de grande taille du gène

BRCA1 rapporté par la consultation de Fort de France en Martinique alors qu'il s'agit vraisemblablement d'une mutation d'origine ardéchoise.

**Mots-clés :** BRCA1, NBR2, réarrangement génomique de grande taille (RGT).

#### ■P266. RÉSULTATS PRÉLIMINAIRES DU CRIBLAGE DU GÈNE *BRCA1* DANS UNE POPULATION FÉMININE ALGÉRIENNE

A. Chikouche (1), M. Ait Abdallah (2), H. Boumaza (2), K. Sbahi (2), Y. Oukaci (2), L. Griene (1)

(1) *Laboratoire d'Hormonologie, Centre Pierre-et-Marie-Curie, Alger, Algérie*; (2) *Laboratoire de Biochimie, Centre Pierre-et-Marie-Curie, Alger, Algérie*

Contact : [chikouchea@hotmail.fr](mailto:chikouchea@hotmail.fr)

Le cancer du sein est la première cause de mortalité par cancer chez la femme dans les pays développés. Ces cancers sont en majorité sporadiques ; on estime cependant que 5 à 10 % des cancers du sein ont une origine génétique, liée principalement à des altérations constitutionnelles des gènes *BRCA1* et *BRCA2*. En Algérie, le nombre croissant de nouveaux cas de cancer du sein par an (4 000 cas en moyenne) et l'endogamie élevée, nous a incité à développer l'analyse moléculaire des gènes de prédisposition *BRCA1* et *BRCA2*, afin de proposer un diagnostic génétique aux femmes ayant une histoire familiale de cancer du sein et/ou de l'ovaire. Les objectifs de notre travail sont : 1/ d'évaluer les performances d'une technique de criblage par la méthode de détection des variants du gène *BRCA1* en utilisant la méthode dHPLC (denaturing high performance liquid chromatography) en condition dénaturante, 2/ de connaître le profil des polymorphismes SNP de *BRCA1*, présents dans notre population. Notre étude a été réalisée sur l'ADN génomique extraits à partir d'échantillons d'ADN connus et séquencés, pour servir de référence et apprécier la sensibilité de cette technique. Tous les polymorphismes et variants hétérozygotes identifiés par séquençage ont été détectés par dHPLC, sous forme de profils d'élution particuliers. Le séquençage des ADN de notre série nous a également permis de caractériser les polymorphismes SNP de *BRCA1* présents dans notre population, ainsi que leur fréquence d'hétérozygotie. Les variants Arg841Trp et Met1008Ile, décrits dans les bases de données avec une fréquence inférieure à 1 %, ont été retrouvés dans notre série avec une fréquence respectivement de 7,2 et 3,8 %. Nous n'avons pas retrouvé, pour les 05 cas de cancers familiaux de variations de séquences de *BRCA1*, connues pour être responsables de la prédisposition au cancer du sein. Notre étude se poursuit par le criblage de *BRCA2*.

**Mots-clés :** BRCA1/BRCA2, dHPLC, cancer familial.

#### ■P267. IDENTIFICATION D'UNE NÉOMUTATION DANS LE GÈNE *BRCA2*

F. Airaud (1), D. Leroux (1), V. Guibert (1), S. Bezieau (1), P. Gesta (2), C. Delnatte (1, 3)

(1) *Laboratoire de Génétique Moléculaire, Service de Génétique Médicale, CHU Nantes, Institut de Biologie, Nantes, France*; (2) *Oncologie Génétique Poitou-Charentes, Pôle Oncologie, CH Georges Renon, Niort, France*; (3) *Oncogénétique, Service d'Oncologie Médicale, Centre René Gauducheau, Nantes Saint Herblain, France*

Contact : [fabrice.airaud@chu-nantes.fr](mailto:fabrice.airaud@chu-nantes.fr)

Dans le cadre des prédispositions familiales aux cancers du sein et de l'ovaire, le laboratoire d'oncogénétique du CHU de Nantes est amené à rechercher des mutations dans les gènes *BRCA1* et *BRCA2* chez plus de 500 cas index par an. Dans la quasi-totalité des cas, les mutations identifiées chez les cas index apparaissent héritées de l'un des deux parents. Dans la littérature, les mutations *de novo* dans les gènes *BRCA1* et *BRCA2* ont été rapportées respectivement une et trois fois (Hansen *et al.*, 2008). Nous avons cependant récemment identifié la mutation c.6082\_6086del-GAAGA (p.Glu2028LysfsX19) dans l'exon 11 du gène *BRCA2*, chez une patiente ayant un antécédent personnel de cancer du sein bilatéral aux âges de 40 ans et 48 ans et dont la fille a développé un cancer du sein à l'âge de 30 ans. Nous n'avons pas retrouvé cette mutation ni chez son père ni chez sa mère. Après confirmation des résultats et de la paternité, nous avons conclu à une néomutation. Une mosaïque chez un des parents a été partiellement écartée par la recherche de la mutation sur deux types de tissus (sang périphérique et cellules buccales). Afin de rechercher l'origine parentale du chromosome porteur de la mutation ainsi qu'une explication mécanistique moléculaire, nous avons réalisé une étude d'haplotype à l'aide de marqueurs microsatellites et de SNPs. Cette étude a permis de

mettre en évidence une recombinaison chez la proposante ou chez sa sœur mais doit être élargie à d'autres membres de la famille pour permettre de répondre en totalité à ces questions.

**Mots-clés :** BRCA2, néomutation, cancer du sein.

#### ■P268. RECHERCHE DE LA MUTATION C.516\_517INSALU DANS L'EXON 3 DU GÈNE *BRCA2* DANS LA POPULATION DE L'OUEST DE LA FRANCE

D. Leroux (1), E. Arnaud (1), F. Airaud (1), V. Guibert (1), P. Gesta (2), O. Ingster (3), A. Lortholary (4), M.E. Morin-Meschin (5), I. Mortemousque (6), P. Parent (7), S. Bezieau (1), C. Delnatte (1, 8)

(1) *Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHU Nantes, France*; (2) *Oncologie Génétique Poitou-Charentes, CH Georges-Renon, Niort, France*; (3) *Service de Génétique, CHU Angers, France*; (4) *Oncologie Médicale, Centre Catherine-de-Sienne, Nantes, France*; (5) *Service de Gastroentérologie, Centre Paul Papin, Angers, France*; (6) *Service de Génétique, CHU Tours, France*; (7) *Service de Pédiatrie et de Génétique Médicale, CHU Brest, France*; (8) *Oncogénétique, CLCC, Nantes, France*  
Contact : [capucine.delnatte@chu-nantes.fr](mailto:capucine.delnatte@chu-nantes.fr)

L'insertion d'une séquence Alu en position c.516\_517 de l'exon 3 du gène *BRCA2* a été décrite pour la première fois chez une femme d'origine Portugaise par Teugels *et al.* en 2005. Cette patiente avait développé un cancer du sein à l'âge de 46 ans, dans un contexte familial évocateur de l'existence d'une prédisposition héréditaire au cancer du sein et de l'ovaire. En 2007, Machado *et al.* identifient cette mutation dans 8 % de leurs familles prédisposées. L'étude haplotypique conclue qu'il s'agit d'une mutation fondatrice d'origine Portugaise. En 2008, Peixoto *et al.* démontrent que l'insertion de la séquence Alu entraîne une exclusion complète de l'exon 3 du gène *BRCA2*. Même si différents arguments plaident pour le caractère délétère de cette mutation, celui-ci n'a pas été encore formellement démontré. Cette mutation n'est pas identifiable par les techniques utilisées en routine pour l'étude du gène *BRCA2* (dHPLC, HRM, séquençage, QMPSF, MLPA). En dehors de la population Portugaise, la présence éventuelle de cette insertion dans d'autres populations, en particulier celles pour lesquelles une immigration Portugaise a existé, n'est pas connue. Dans l'Ouest de la France et selon le rapport 2004 de l'INSEE (Atlas des populations immigrées), la population Portugaise représente la seconde population immigrée dans les Pays de la Loire et en Bretagne. L'objectif de notre travail a été de rechercher cette insertion chez 340 cas index présentant une histoire personnelle +/- familiale évocatrice d'une prédisposition génétique au cancer du sein. Ces cas index ont été recrutés à partir des consultations d'oncogénétique de l'Ouest de la France. Chez ces derniers une étude des gènes *BRCA1* et *BRCA2* a été réalisée par notre approche de routine (dHPLC, HRM, séquençage, MLPA) et aucune mutation délétère n'a été identifiée. Afin de rechercher la présence de l'insertion de la séquence Alu, nous avons mis au point une PCR allèle spécifique multiplex. Un témoin positif, transmis par le Dr Vaz, a été utilisé. L'insertion de la séquence Alu n'a été retrouvée chez aucun des cas index étudiés. Dans la population issue des consultations d'oncogénétique de l'Ouest de la France, cette mutation ne semble donc pas représenter un événement mutationnel fréquent. Cette étude nous conduit à rechercher uniquement cette insertion lorsque nous avons connaissance de l'origine portugaise des patients.

**Mots-clés :** BRCA2, mutation, séquence Alu.

#### ■P269. IDENTIFICATION D'UNE NOUVELLE MUTATION AFFECTANT LE DOMAINE KINASE DE CHEK2 DANS UNE FAMILLE DU SUD-OUEST DE LA FRANCE PRÉSENTANT UNE PRÉDISPOSITION HÉRÉDITAIRE AU CANCER DU SEIN/OVAIRE

P. Escudie (1), S. Monteil-Onteniente (1), L. Gladieff (2), V. Feillel (2), R. Guimbaud (2, 3, 4, 5), G. Favre (1, 4, 5), C. Toulas (1, 5)

(1) *Institut Claudius Regaud, Laboratoire d'Oncogénétique, Toulouse, France*; (2) *Institut Claudius-Regaud, Département d'Oncologie Médicale, Toulouse, France*; (3) *CHU Toulouse, Pôle Digestif, Toulouse, France*; (4) *Université Toulouse III Paul-Sabatier, UPS, Toulouse, France*; (5) *INSERM, U563, Toulouse, Centre de Physiopathologie de Toulouse Purpan, France*

Contact : [toulas.christine@claudiusregaud.fr](mailto:toulas.christine@claudiusregaud.fr)

Objectifs : Environ 5 % des cancers du sein et/ou de l'ovaire ont une origine génétique. Les mutations des deux gènes principaux *BRCA1* et *BRCA2* sont responsables de la majorité de ces cancers à composante héréditaires. À côté de ces gènes à forte pénétrance, le risque accru de cancer du sein a également été relié à des anomalies sur d'autres gènes de faible pénétrance, comme la mutation c.1100DelC de *CHEK2*. Afin de



compléter le screening pour nos patientes présentant un fort risque de cancer du sein/ovaire, nous avons recherché la présence de cette mutation dans une population de 392 cas index originaires du Sud-Ouest, vues en consultation d'oncogénétique, pour lesquelles aucune mutation des gènes BRCA ou de grand réarrangements du gène BRCA1 n'ont été identifiés (BRCA-). Résultats : La mutation c.1100DelC sur CHEK2 a été identifiée chez une seule patiente de cette population qui a été atteinte d'un carcinome lobulaire invasif à 45 ans. Cette fréquence de mutation (0,25 %) est identique à celles précédemment retrouvée dans des populations issues du sud de l'Europe. Ce screening nous a permis de mettre en évidence une autre mutation localisée dans le domaine kinase de CHEK2 chez une patiente qui a présenté un cancer du sein inflammatoire, RH+, grade 2 à l'âge de 42 ans. Cette mutation, c.1140-1141DelTC génère un décalage de phase avec l'apparition d'un codon stop en position 393 (p.L380FsX393), tronquant le domaine kinase de CHEK2 et inactivant donc probablement l'activité kinase de CHEK2. Conclusion : Cette étude nous a permis de révéler la présence de mutations tronquant l'activité kinase de CHEK2 chez 2 cas index au sein d'une population de 392 cas index BRCA-. Nos résultats suggèrent donc fortement que l'analyse du rôle de CHEK2 dans le risque de cancer du sein/ovaire devrait être menée en recherchant non plus uniquement la présence de la mutation c.1100DelC, mais de toutes les mutations affectant le domaine kinase de CHEK2.

**Mots-clés :** cancer du sein, CHEK2 c.1100DelC, nouvelle mutation tronquant le domaine kinase.

#### ■P270. LES CANCERS DU SEIN SURVENANT DANS LE CADRE D'UNE MALADIE DE COWDEN PRÉSENTENT FRÉQUEMMENT UN PROFIL MOLÉCULAIRE APOCRINE

G. Banneau (1), M. Guedj (2), G. Mac Grogan (1, 3), I. De Mascarel (3), V. Velasco (3), R. Schiappa (2), F. Petel (2), V. Bonadona (4), A. David (5), S. Fert-Ferrer (6), B. Gilbert (7), O. Ingster (8), F. Caux (9), A. De Reynies (2), R. Iggo (1), N. Sevenet (1, 10), F. Bonnet (1, 10), Michel Longy (1, 10)

(1) INSERM U916-VINCO, Institut Bergonié, Université Victor-Segalen-Bordeaux 2, Bordeaux, France ; (2) Programme « Cartes d'Identités des Tumeurs » (CIT) – Ligue Nationale Contre Le Cancer, Paris, France ; (3) Département de Pathologie, Institut Bergonié, Bordeaux, France ; (4) Unité d'Oncologie Génétique, Centre Léon-Bérard, Lyon, France ; (5) Service de Génétique Clinique, Pôle mère-enfant, CHU, Nantes, France ; (6) Service de Génétique, centre hospitalier, Chambéry, France ; (7) Service de Génétique Médicale, CHU, Poitiers, France ; (8) Service de Génétique Médicale, CHU, Angers, France ; (9) Service de Dermatologie, Hôpital Avicenne, Bobigny, France ; (10) Unité de Génétique Constitutionnelle, Institut Bergonié, Bordeaux, France  
Contact : longy@bergonie.org

Le cancer du sein est la principale complication de la maladie de Cowden, un syndrome héréditaire prédisposant à divers types de tumeurs et causé par une mutation germinale du gène suppresseur de tumeur PTEN. Afin de caractériser ce type de tumeurs mammaires, nous avons réalisé une étude transcriptomique portant sur une série de 74 cancers du sein familiaux, dont 3 survenus dans le cadre d'une maladie de Cowden. L'analyse non-supervisée des transcriptomes obtenus aboutit à une « clusterisation » qui reproduit la classification de Sorlie des cancers du sein, à l'exception d'un groupe de 5 tumeurs incluant les 3 tumeurs sur maladie de Cowden. La signature transcriptomique spécifique de ces 5 tumeurs montre une grande concordance avec une signature précédemment publiée, caractéristique d'un sous-type moléculaire appelé carcinome moléculaire apocrine et soupçonné d'être lié à une augmentation de la signalisation androgénique. Une étude histologique et immuno-histochimique réalisée par la suite sur 13 cas supplémentaires de cancers du sein survenus dans le cadre d'une maladie de Cowden montre une forte corrélation entre ces tumeurs et des caractéristiques apocriques telles que la surexpression de GGT1, un marqueur spécifique des carcinomes apocriques du sein.

**Mots-clés :** PTEN, Cowden, apocrine.

#### ■P271. EMMA, UNE NOUVELLE TECHNIQUE HAUT-DÉBIT DE DÉTECTION SIMULTANÉE DE MUTATIONS PONCTUELLES ET DE RÉARRANGEMENTS DE GRANDE TAILLE : APPLICATION À BRCA1 ET BRCA2

V. Caux-Moncoutier (1), C. Houdayer (1, 3), L. Castera (1), C. Tirapo (1), D. Michaux (1), M.A. Remon (1), J.L. Viovy (2), D. Stoppa-Lyonnet (1, 3)

(1) Service de Génétique Oncologique, Institut Curie, Paris, France ; (2) Laboratoire de Physicochimie-Curie, UMR/CNRS, Institut Curie, Paris, France ; (3) Université Paris Descartes, France  
Contact : virginie.moncoutier@curie.net

Afin de répondre à l'élargissement des critères de recherche de mutations des gènes BRCA1 et BRCA2, nous avons développé, en collaboration avec le laboratoire de Physicochimie de l'Institut Curie, une nouvelle technique de détection haut-débit de mutations, appelée EMMA pour Enhanced Mismatch Mutation Analysis®. Cette nouvelle méthode est basée sur la séparation des fragments d'ADN par électrophorèse capillaire grâce à un polymère innovant incluant des nucléosides. En effet, cette matrice permet d'accroître les différences de mobilité électrophorétique entre les homoduplex et les hétéroduplex, les nucléosides majorant ces différences par leur interaction avec la bulle de mésappariement des hétéroduplex. En conditions de PCR semi-quantitatives, EMMA est capable de détecter simultanément les mutations ponctuelles et les réarrangements de grande taille en une seule migration. Aujourd'hui cette technique est commercialisée par la société Fluigent, qui propose un jeu d'amorces optimisé pour le criblage des mutations BRCA1 et BRCA2. L'ensemble des séquences codantes et des jonctions intron-exon de ces 2 gènes (soit 81 fragments de 250 à 550 pb) sont amplifiés en 24 multiplex avec des conditions de PCR uniques. Un amplicon contrôle pour l'analyse des réarrangements de grande taille est intégré dans chaque PCR. L'électrophorèse est réalisée sur un ABI 3100 en condition unique. Les données sont analysées grâce à un logiciel dédié (Emmalys). Pour valider la méthode, nous avons analysé en aveugle une série de 402 patients en EMMA et DHPLC, pour la recherche de mutations BRCA1 et BRCA2. Nous avons détecté 133 variants en EMMA contre 132 en DHPLC, polymorphismes exclus, montrant une sensibilité équivalente des 2 techniques. La grande reproductibilité et la spécificité de cette méthode nous a incité à interpréter les polymorphismes selon leur profil. Afin de valider cette attitude, 1200 profils variants interprétés comme polymorphismes ont été séquencés. Pour tous les cas nous avons confirmé la présence du polymorphisme seul, sans autre variation. L'ensemble de ces résultats nous a permis de valider l'EMMA en routine diagnostique. L'étude des gènes BRCA1 et BRCA2 est réalisée par séries de 30 patients. EMMA nous permet un débit de criblage d'une série en 1 semaine, par un technicien. EMMA nous a permis de tripler notre débit d'analyse en passant d'une DHPLC (Wave 3500HT) à un ABI 3100 (16 capillaires), pour un personnel constant. La grande force de cette technique est sa simplicité d'utilisation (conditions de PCR et d'analyse uniques) pour le criblage des gènes BRCA. Contrairement à la DHPLC ou à la HRM, la prise en compte des domaines de fusion des séquences explorées n'est pas nécessaire. Enfin elle permet la détection simultanée des mutations ponctuelles et des réarrangements de grande taille. EMMA apparaît donc une bonne solution pour les laboratoires voulant augmenter leur débit d'analyse par une technique simple, avec des coûts maîtrisés.

**Mots-clés :** BRCA, détection de mutations, haut-débit.

#### ■P272. QPCR-HRM-SONDES FROIDES : UNE TECHNIQUE DE PRÉCRIBLAGE 3 EN 1 POUR UNE ANALYSE EXHAUSTIVE DES GÈNES BRCA1 ET BRCA2

A. Minière (1), M. Eyries (1), F. Soubrier (1, 2), F. Coulet (1, 2)

(1) Laboratoire d'Oncogénétique et d'Angiogénétique Moléculaire, Groupe hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France ; (2) Université Pierre-et-Marie-Curie UPMC, Paris, France

Contact : florence.coulet

Le précriblage des gènes BRCA1 et BRCA2 par la technique de qPCR-HRM permet la détection des mutations ponctuelles et des réarrangements de grande taille. Cependant à cause des nombreux polymorphismes (single nucleotide polymorphism SNP) présents dans la séquence codante des gènes BRCA1 et BRCA2, environ 15 % des amplicons restent à séquencer après qPCR-HRM, afin de s'assurer des génotypes prédits par l'analyse de fusion haute résolution (HRM) et de l'absence d'une mutation masquée par un polymorphisme. Pour diminuer la charge de séquençage, nous avons mis au point une méthode de génotypage de 5 SNPs fréquents par sondes froides : c.1067A>G ; c.2311T>C ; c.3548A>G sur le gène BRCA1 ; c.1-26G>A et c.7242A>G sur le gène BRCA2. En complément de la qPCR-HRM, une PCR asymétrique est effectuée sur le LightCycler 480, pour chacun des 5 SNPs, en présence du marqueur fluorescent saturant (Resolight dye) et d'un excès d'une des amorces. Un oligonucléotide correspondant au génotype muté, complémentaire du brin produit en excès et bloqué en 3' par un phosphate, est utilisé comme sonde. Après l'amplification, les échantillons sont dénaturés et soumis à un cycle de fusion favorisant la formation des hétéroduplex. Le génotypage est obtenu grâce à l'analyse Melt curve genotyping du logiciel LightCycler® 480 software 1.5 par l'évaluation de la fusion des duplex sonde-cible de post PCR. Nous avons testé les sondes en utilisant les génotypes hétérozygotes, homozygotes et sauvages ainsi que des variants distincts du SNP et présents sur le même amplicon. Cette analyse a permis d'identifier des profils différents pour chacun des génotypes, et de distinguer 7 variants des SNPs ; par



exemple la mutation c.2415\_2416del sur le gène BRCA1 qui était confondue avec le SNP c.2311C>T lors de l'analyse primaire HRM. Nous avons pu distinguer le variant c.2312T>C associé à ce SNP touchant le nucléotide suivant. Le profil de fusion du variant c.1-11C>T, situé dans la sonde, se différencie également du SNP c.1-26G>A. Puis, nous avons réalisé des tests en aveugle sur 92 patients précédemment génotypés en HRM puis séquençage, et confronté le résultat des génotypes. Grâce au génotypage par sondes froides nous avons identifié tous les hétérozygotes, ainsi que tous les homozygotes. Ceux-ci n'étaient pas toujours mis en évidence par l'analyse primaire HRM. Nous avons démontré que l'utilisation des sondes froides est réalisable sur le LightCycler 480 et permet de diminuer le nombre de séquences après la technique de précriblage qPCR-HRM, restreignant les coûts et le temps de manipulation. La qPCR-HRM-sondes froides présente l'avantage de ne nécessiter aucune manipulation de post-PCR et de pouvoir coupler la recherche de mutation ponctuelle, de grand réarrangement et le génotypage exact des SNPs. L'utilisation des sondes froides permet de distinguer avec fiabilité les polymorphismes de tout autre variant présent sur le même amplicon, en association ou indépendamment.

**Mots-clés :** BRCA1, high resolution melting, sonde froide.

**■P273. EMMA : NOUVELLE APPROCHE DE CRIBLAGE DES MUTATIONS ET DES GRANDS RÉARRANGEMENTS ; APPLICATION AUX GÈNES DE PRÉDISPOSITION AU CANCER DU SEIN/OVAIRE BRCA1 ET BRCA2**

I. Schultz, C. Degermann, J.P. Fricker, J. Abecassis, D. Muller  
Unité d'oncogénétique, CRLCC P. Strauss, Strasbourg, France  
Contact : dmuller@strasbourg.fnclcc.fr

Les mutations constitutionnelles affectant les gènes BRCA1 ou BRCA2 constituent une prédisposition au cancer du sein et/ou des ovaires. Les tests de prédisposition génétique au cancer sont proposés aux femmes présentant une probabilité d'être porteuse a priori, supérieure à 10 %. Cette probabilité est d'autant plus élevée que la patiente est jeune à l'âge du diagnostic et l'histoire familiale chargée en nombre de cancers. Les mutations sont réparties sur l'ensemble du gène, et l'analyse nécessite le criblage de la séquence codante complète. Une quinzaine de laboratoires référents en France effectuent ces tests diagnostiques selon la stratégie du séquençage direct ou du criblage par DHPLC (Chromatographie liquide haute définition, en condition dénaturante) suivi de séquençage des variants détectés. L'augmentation du nombre de demandes d'analyses (doublée en 2 ans) et les impératifs économiques nécessitent une remise en cause de la procédure dans le cadre d'un diagnostic effectué en routine. La technique EMMA, Enhanced Mismatch Mutation Analysis (Société Fluidigent, France) représente l'une de ces alternatives, alliant simplicité, rapidité et coût moindre. La procédure EMMA consiste en PCRs multiplexes fluorescentes (9 PCR pour 29 fragments pour BRCA1, 15 PCR pour 49 fragments pour BRCA2) et séparation d'hétéroduplexes par électrophorèse multi-capillaires en milieu non dénaturant. Un logiciel d'analyse dédié (Emmalys) permet une visualisation conviviale des profils. Nous rapportons les résultats de la validation de cette technique au regard : (a) de l'analyse de 144 cas index préalablement analysés par la technique de référence du laboratoire (pré-criblage DHPLC et/ou séquençage direct), (b) passage de tous les variants (>300) détectés au laboratoire depuis 2000 permettant d'évaluer la sensibilité de la méthode supérieure à 97 %. D'autre part, l'analyse de réarrangements de grande taille détectés au laboratoire par MLPA et/ou QMPSF montre que cette technique est parfaitement adaptée à une détection simultanée des altérations touchant un seul nucléotide ou plusieurs exons. Cette méthode simple et rapide permet l'analyse complète des gènes BRCA1 et BRCA2 pour 25 patients en 15 jours (hors séquençage de contrôle) et s'avère une technique de choix, de sensibilité au moins égale à celle de la DHPLC. Plusieurs séries de patients sont analysées en aveugle et les résultats obtenus seront rapportés.

**Mots-clés :** prédisposition au cancer, BRCA1, mutation.

**■P274. MISE AU POINT ET EXPÉRIMENTATIONS DE LA TECHNIQUE HRM (HIGH RESOLUTION MELTING) SUR ROTOR-GÈNE À PARTIR DE 3 GÈNES DIFFÉRENTS : VHL, MEN1 ET NF1**

S. Lefebvre, C. Tellini, J.P. Klein, F. Touret, M. Marrocco, S. Pinson, S. Giraud, A. Calender  
Laboratoire de génétique moléculaire et médicale, Hôpital Édouard-Herriot, Lyon, France  
Contact : sylvain.lefebvre@chu-lyon.fr

La recherche de mutations ponctuelles et de petite taille est principalement réalisée par le séquençage direct. Pour diminuer le nombre de séquences

réalisées, une méthode de criblage telle que la technique HRM (High Resolution Melting curve) peut être utilisée au préalable. Cette technique est basée sur la mise en évidence de différences dans les courbes de fusion entre les hétéroduplexes et les homoduplexes. La courbe de fusion de l'ADN double brin en ADN simple brin obtenue par dénaturation est mesurée à l'aide d'un fluorophore saturant (LC-Green+) dans un appareil de PCR en temps réel (RotorGene). Ensuite, l'analyse des résultats se fait par comparaison des profils obtenus avec un profil d'ADN connu non muté (= témoin négatif). Seuls les profils différents sont alors séquençés. La technique HRM a été évaluée dans notre laboratoire par l'analyse de 38 exons répartis sur 3 gènes différents : MEN1, VHL et NF1. Cette évaluation a été réalisée en trois étapes : – Détermination des conditions d'amplification et d'analyse HRM à partir de 16 témoins négatifs. – Validation de ces conditions par les passages de témoins négatifs (1 341 amplicons analysés) et d'ADN possédant un variant connu (322 variants différents testés). – Confirmation de cette technique par une étude à l'aveugle de 207 patients déjà séquençés : 96 pour le gène VHL et 111 pour le gène MEN1. La validation de cette technique par l'analyse de 1 663 profils HRM de témoins connus met en évidence 315 variants sur les 322 testés : 7 variants sont donc rendus comme négatifs alors qu'ils sont positifs (= faux négatifs) ; 1166 analyses sont bien négatives en HRM et en séquence tandis que 175 ADN considérés comme positifs en HRM sont négatifs en séquences (= faux positifs). Ainsi, nous obtenons une sensibilité et une spécificité pour cette technique de 0,98 et 0,87 respectivement. Les 1638 analyses HRM réalisées pour tester les 207 patients et confirmer cette technique mettent en évidence 29 variants délétères sur 30 détectés par séquençage direct (1 faux négatif obtenu sur le gène MEN1). Cela permet la détermination pour nos séries de patients des valeurs prédictives négatives suivantes : 0,99 pour MEN1 et 1,00 pour VHL. La mise au point de la PCR a été délicate car l'ajout du fluorophore déstabilise la fixation des amorces. L'analyse HRM en elle-même nécessite une certaine expérimentation de l'opérateur mais reste rapide et économique par rapport au séquençage. Des optimisations sont encore nécessaires pour comprendre l'origine des 8 faux négatifs observés et des essais avec de nouveaux amplicons plus courts ou plus centrés sur le variant sont envisagés. Nos résultats montrent cependant l'efficacité de la technique HRM et prouvent que cette technique de criblage rapide et économique peut être utilisée en routine pour le diagnostic génétique.

**Mots-clés :** High Resolution Melting, méthode de Screening, VHL, MEN1, NF1.

**■P275. DÉTECTION DES MUTATIONS EN MOSAÏQUE PAR ENHANCED MISMATCH MUTATION ANALYSIS® (EMMA)**

D. Michaux (1), C. Dehainault (1), L. Castera (1), D. Stoppa-Lyonnet (1, 2), M. Gauthier-Villars (1), C. Houdayer (1, 2)  
(1) Service de Génétique Oncologique, Institut Curie, Paris, France ; (2) Université Paris-Descartes, France  
Contact : dorothee.michaux@curie.net

Depuis 2008, le laboratoire de Génétique de l'Institut Curie est équipé d'une nouvelle technique de détection des mutations appelée EMMA (Enhanced Mismatch Mutation Analysis®, Fluidigent), désormais utilisée en routine diagnostique pour le criblage des gènes BRCA1 et BRCA2 de prédisposition au cancer du sein et de l'ovaire. Cette méthode est basée sur l'analyse d'hétéroduplexes en électrophorèse capillaire à l'aide d'un polymère innovant, et permet de détecter simultanément les mutations ponctuelles et les réarrangements de grande taille. Nous avons décidé d'élargir l'application de l'EMMA à l'analyse du gène RB1 dont les mutations constitutionnelles sont responsables de la prédisposition au rétinoblastome. Le rétinoblastome est une pathologie avec un taux élevé de néomatations et les patients atteints peuvent ainsi être porteurs d'une mutation en mosaïque. Aucune étude de détection des mutations en mosaïque n'avait été réalisée en EMMA. C'est pourquoi nous voulions nous assurer que cette technique présente une sensibilité à la détection des mutations en mosaïque au moins équivalente à la DHPLC (Wave 3500HT, Transgenomic), actuellement utilisée en routine diagnostique pour RB1. Un panel de variants représentant l'ensemble des transitions et transversions possibles a été constitué. Pour chaque cas nous avons réalisé une gamme de dilution s'étendant d'un ratio 1/2 (mutation à l'état hétérozygote) à 1/50 afin de définir la sensibilité de la technique en faisant varier le ratio entre l'allèle muté et l'allèle sauvage. En parallèle, nous avons sélectionné un panel de 6 patients portant une mutation en mosaïque sur RB1, préalablement détectée en DHPLC. Les PCR ont été réalisées avec un Taq classique (ThermoPrime Plus DNA Polymerase, Thermo Electron) et avec le kit QIAGEN multiplex PCR, puis ont été révélées par électrophorèse capillaire sur un ABI 3100 (Applied Biosystems). Les données ont ensuite été analysées avec le logiciel dédié, Emmalys (Kenium), et ont été interprétées



par comparaison à des profils de témoins normaux. L'ensemble des profils variants a été détecté jusqu'à une dilution de 1/8, et certains jusqu'à une dilution de 1/16. Les 6 mutations en mosaïque ont été mises en évidence. Ces résultats montrent que l'EMMA est capable de détecter les mutations en mosaïque avec une sensibilité au moins égale à la DHPLC, et nous autorisent à débiter la mise au point du criblage diagnostique de RB1 en EMMA. Ce travail préliminaire permet aussi d'envisager une application pour la recherche des mutations somatiques.

**Mots-clés :** mutation, mosaïque, rétinoblastome.

#### ■P276. ANALYSE DES GÈNES *BRCA1* ET *BRCA2* EN PYROSÉQUENÇAGE ROCHE-454 : COMPARAISON AVEC LE TECHNIQUE DE SANGER

N. Uhrhammer, Y. Bidet, L. Lafarge, Y.J. Bignon

Laboratoire d'Oncologie Moléculaire, Centre Jean Perrin, France

Contact : nancy.uhrhammer@cjp.fr

L'analyse moléculaire des gènes *BRCA1* et *BRCA2* est de plus en plus demandée pour le conseil génétique des personnes à risque de cancer du sein et/ou de l'ovaire. De nouvelles technologies sont actuellement développées afin de rendre cette analyse plus abordable en augmentant le débit d'analyse et réduisant les coûts. Parmi elles, le pyroséquençage développé par 454 et mis en œuvre sur le GS-FLX de Roche permet le séquençage de produits PCR à moindre coût. Afin de mener à bien une analyse simultanée des deux gènes *BRCA*, 40 amplicons pour *BRCA1* et 44 pour *BRCA2*, couvrant toute la séquence codante ainsi que les sites d'épissage, ont été produits et mélangés pour chaque échantillon. Le traitement de ces « bibliothèques » a été réalisé selon les indications de Roche. Une couverture théorique moyenne de 133X par amplicon était attendue. Les sujets présentent un risque héréditaire de cancer du sein ou de l'ovaire validé par une consultation oncogénétique. L'ADN a été extrait à partir de sang de manière standard. L'étude a porté à la fois sur des échantillons connus et sur des sujets pour lesquels l'analyse Sanger n'a été menée qu'*a posteriori*. 4 runs de 16 échantillons nous ont permis de valider la séquence de 82 à 92 % des amplicons du gène *BRCA1*. Deux amplicons n'ont jamais été validés du fait d'imprécisions de lecture sur des homopolymères apparaissant systématiquement mutés. Cinq mutations délétères ont été confirmées en Sanger. Pour les 48 échantillons dont l'analyse en Sanger est complète, 234 variations ont été observées en pyroséquence contre 239 en Sanger. Les différences étaient dues soit à la non-notation de polymorphismes à l'analyse Sanger, soit au nombre -ou au %- de lectures inférieurs au seuil fixé pour leur détection. Les paramètres pour la validation d'une analyse ont donc été modifiés à un minimum de 40 lectures et de 20 % des lectures portant le variant. Pour le gène *BRCA2*, environ 1/4 des séquences n'a pas pu être validé à cause d'amplicons trop longs. En effet leurs extrémités, lues dans un seul sens, peuvent difficilement être conclues. De plus, quatre amplicons ont été invalidés du fait d'imprécisions de lecture systématiques sur des homopolymères. Malgré l'analyse partielle de ce gène, huit mutations délétères ont été confirmées en Sanger. Le taux de désaccord des polymorphismes observés en pyroséquence vs Sanger était similaire à *BRCA1*. Nous avons retrouvé une très bonne correspondance entre les résultats des deux méthodes de séquençage. Dans notre configuration actuelle, avec 16 échantillons de 84 amplicons par run, le coût et le temps nécessaire pour les deux méthodes sont comparables. La disponibilité fin 2009 de la chimie GS-Titanium pour l'analyse d'amplicons permettra un allongement des séquences exploitables, une augmentation du nombre total de lectures, et offrira la possibilité de multiplexer les échantillons. Ces améliorations devraient lever l'essentiel des obstacles observés tout en diminuant le coût de réalisation.

**Mots-clés :** *BRCA*, séquençage haut débit.

#### ■P277. IMPACT DU NOUVEAU SÉQUENCEUR CE-IVD 3500XL DX GENETIC ANALYSER DANS LA RECHERCHE DE RÉARRANGEMENTS DE GRANDE TAILLE DE *BRCA2*

T. Noguchi (1), V. Bourdon (1), L. Demange (4), H. Dreyfus (5), F. Eisinger (1), L. Faivre (7), M. Frenay (2), P. Gesta (3), L. Huiart (1), S. Olschwang (1), X. Tchiknavorian (8), H. Zattara (6), R. Sauvan (1), H. Sobol (1, 9)

(1) Département d'Oncologie Génétique, de Prévention et Dépistage, IPC, Marseille, France

(2) Centre Antoine-Lacassagne, Nice, France ; (3) CHG Niort, France ;

(4) Polyclinique de Courlancy, Reims, France ; (5) Institut Ste Catherine, Avignon, France ; (6) Département de Génétique, Hôpital de la Timone, Marseille, France ; (7) Hôpital d'Enfants, CHU de Dijon, France ; (8) Hôpital Font Pré, Toulon, France ; (9) Université d'Aix Marseille-II, Marseille, France

Contact : noguchit@marseille.fnclcc.fr

Dans le cadre du réseau régional oncogénétique PACA (HerMION), le laboratoire de l'Institut Paoli-Calmettes réalise principalement les analyses des gènes prédisposant aux cancers du sein et de l'ovaire et ceux associés aux tumeurs digestives pour toutes les consultations d'oncogénétique de la région. Des réarrangements complexes ont été décrits pour de nombreux gènes de prédisposition. Nous avons un intérêt tout particulier pour le gène *BRCA2*, car les trois premiers cas de RGT identifiés en France, l'avaient été dans le cadre de notre réseau. Cependant, l'exploration de ces altérations n'est pas possible avec les approches standards, et plusieurs techniques et stratégies ont été développées à cet effet. Dans notre expérience, les RGT de *BRCA2* semblent beaucoup plus rares que ceux de *BRCA1* (Casili *et al.*, J. Med Genet, 2006 Sep ;43(9):e49). Avec pour objectif d'améliorer la sensibilité, nous avons réalisé des analyses comparatives de recherche de RGT de *BRCA2* sur deux plateformes différentes : 3130xL Genetic Analyser et 3500xL Dx Genetic Analyser, selon la technique QMPSF. Nous avons été le premier laboratoire français à pouvoir tester avant sa commercialisation le 3500xL Dx Genetic Analyser. Il s'agit de la dernière évolution d'un séquenceur capillaire (24 capillaires) de la société Applied Biosystems-Life Technology. L'appareil est labellisé CE-IVD et se différencie de ses prédécesseurs par le conditionnement de ses consommables en cassette avec des codes-barres et une capacité accrue du contrôle qualité, de la validation d'expériences et de la traçabilité. Au total, 177 échantillons ont été analysés. La réaction de QMPSF a été réalisée comme décrite précédemment (Casili *et al.*, J. Med Genet, 2006 Sep ; 43(9) : e49). Le marqueur utilisé est GS600 LIZ Size Standard (ABI). Les mêmes plaques d'échantillons ont été chargées et analysées sur les deux plateformes successivement en changeant uniquement les supports de plaque et les « septa » et en respectant les conditions standards de chaque appareil : 16 capillaires de 36 cm et le POP6 pour 3130xL, 24 capillaires de 50 cm et le POP7 pour 3500xL Dx. Les résultats d'analyse et les particularités du 3500xL Dx, ainsi qu'un aperçu concernant la transition du 3130 vers le 3500 seront discutés. Ces éléments pourraient avoir un impact important dans le cadre de l'évolution de l'organisation générale de nos laboratoires d'Oncogénétique, en ces périodes d'Accréditation ISO 15189 et de réforme de la biologie.

**Mots-clés :** CE-IVD, QMPSF, *BRCA2*.

#### ■P278. ÉVALUATION PAR LE TEST MINIGÈNE DES PRÉDICTIONS INFORMATIQUES DES MUTATIONS D'ÉPISSAGE DES GÈNES *BRCA1* ET *BRCA2*

J.C. Thery (1, 2), S. Krieger (2, 3), F. Revillon (2, 4), P. Gaildrat (1, 2), A. Killian (1, 2), A. Rousselin (3), P. Berthet (2, 5), A. Chevrier (6), T. Frebourg (1, 2, 6), A. Martins (1), M. Tosi (1, 2), A. Hardouin (2, 3)

(1) Inserm U614, Faculté de Médecine, Institut Hospitalo-Universitaire, Université de Rouen, France ; (2) Cancéropôle Nord-Ouest, France ; (3) Laboratoire de Biologie Clinique et Oncologique, Centre François-Baclesse, Caen, France ; (4) Laboratoire d'Oncologie Moléculaire, Centre Oscar-Lambret, Lille, France ; (5) Consultation d'Oncogénétique, Centre François-Baclesse, Caen, France ; (6) Service de Génétique, CHU de Rouen, France

Contact : mario.tosi@univ-rouen.fr

Considérant l'importance de reclasser certains variants de signification inconnue (VSI) des gènes *BRCA1* et *BRCA2*, il est essentiel de définir la stratégie diagnostique la plus appropriée en intégrant prédiction informatique, tests d'épissage *ex vivo* basés sur des minigènes et analyse de l'ARNm des patientes. Dans ce contexte nous avons déterminé la pertinence des différents algorithmes développés (GenSplicer, MaxEntScan, Splice Site Finder, NNsplice, Human Splicing Finder, NetGene 2, ESE-Finder et Rescue-ESE) en confrontant les prédictions aux analyses biologiques. Nous avons dans un premier temps analysé 53 VSI de *BRCA1* ou *BRCA2* dans le test *ex vivo* d'épissage. Douze de ces VSI induisaient une anomalie de l'épissage, 5 ayant un effet fort (défini comme la perte totale ou supérieure à 50 % de l'expression du transcrit normal dans le test minigène) et 7 un effet faible. Trois de ces effets forts ont été confirmés par l'étude de l'ARNm des patientes et les VSI correspondants ont donc été reclassés en mutation d'épissage, l'ARN étant indisponible pour les 2 autres. Sur les 53 VSI, 24 ont par ailleurs pu être analysés au niveau de l'ARNm des patientes. Les résultats du test minigène ont été confirmés dans 18 cas et les 6 VSI discordants concernaient des effets faibles sur l'épissage. Concernant les prédictions bioinformatiques, nous avons défini les critères suivants : variations de score des sites d'épissage supérieures à 10 % prédites par au moins 2 algorithmes, création de nouveau site d'épissage, activation de sites cryptiques et altérations des motifs ESE/ESS dans les exons courts ou caractérisés sur le plan fonctionnel. Nous avons ainsi identifié 15 VSI répondant à ces critères sur les 53 analysés. Pour 8 de ces VSI prédits comme altérant l'épissage selon nos critères, nous avons

observé une altération de l'épissage dans le test minigène (sensibilité 67 %). Dans le groupe des 38 VSI ne répondant pas à ces critères, seuls 4 avaient un effet sur l'épissage dans le test minigène (Spécificité 83 %). Cette confrontation des prédictions informatiques et des résultats du test d'épissage *ex vivo* permet ainsi de proposer des critères bioinformatiques offrant une sensibilité et une spécificité adaptées pour établir les priorités d'analyses des VSI dans des tests fonctionnels.

**Mots-clés :** BRCA1/2, test minigène d'épissage, prédictions informatiques.

**■P279. INTÉRÊT DE LA CGH ARRAY HAUTE RÉOLUTION UTILISANT LES PUCES À FAÇON ENRICHIES SUR DES RÉGIONS CIBLÉES POUR LA DÉTECTION DE CNVs DE PETITE TAILLE DANS LES FORMES HÉRÉDITAIRES DE CANCER : APPLICATION AU SYNDROME DE LI-FRAUMENI**

J.M. Flaman (1), G. Bougeard (1), T. Frebourg (1, 2)

(1) *Inserm U614, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Institut Hospitalo-Universitaire, Université de Rouen, France ; (2) Service de Génétique, CHU de Rouen, France*

Contact : [jean-michel.flaman@univ-rouen.fr](mailto:jean-michel.flaman@univ-rouen.fr)

Le syndrome de Li-Fraumeni (LFS) représente l'une des formes mendéliennes de cancer les plus graves, compte-tenu du large spectre tumoral (sarcomes, tumeurs cérébrales, corticosurrénales, cancers du sein préménopausiques...) et de la précocité de survenue des tumeurs. Ce syndrome résulte d'altérations constitutionnelles du gène suppresseur de tumeur TP53. Cependant ces altérations de TP53 ne sont retrouvées que dans 29 % des familles répondant aux critères dits de Chompret élaborés par le groupe français d'étude sur le LFS, critères validés aujourd'hui sur le plan international. Afin d'améliorer la compréhension des bases physiopathologiques du LFS et d'optimiser son diagnostic moléculaire, nous avons initié la recherche de CNVs (Copy Number Variations) dans les familles françaises évocatrices de LFS, sans mutation détectable de TP53. Dans ce but, nous avons développé une approche originale de CGH array enrichie utilisant la puissance de puces à ADN à façon pour détecter des CNVs de petite taille intra- ou intergéniques non détectables avec les lames Agilent catalogues. Cette puce comprend notamment 4 000 sondes réparties sur une région de 400 kb englobant le locus TP53, 20 000 sondes ciblant des gènes de la voie p53 et 150 000 sondes couvrant le reste du génome. Cette approche a été validée par la détection rapide de remaniements délétères intragéniques de TP53, initialement mis en évidence par QMPSF dans 5 familles atteintes de LFS, altérations qui n'auraient pas été détectables par des lames catalogues Agilent 4 x 180K. D'autre part, l'excellente résolution de ces puces à façon nous a permis une cartographie très précise de ces remaniements. Ces travaux montrent que les puces à façon enrichies sur des régions ciblées permettent à la fois d'assurer une résolution suffisante pour détecter et cartographier de petits CNVs délétères dans les gènes connus de prédisposition aux cancers ou dans des gènes candidats et une analyse pangénomique de bonne résolution.

**Mots-clés :** CGH array, Li-Fraumeni, CNV.

**■P280. CRIBLAGE DES MUTATIONS DE L'EXON 2 DU GÈNE KRAS ET DE LA MUTATION V600E DU GÈNE BRAF PAR ANALYSE DES COURBES DE FUSION HAUTE RÉOLUTION**

F. Coulet (1, 2), I. Boyer (1), F. Soubrier (1, 2)

(1) *Laboratoire d'Oncogénétique et d'Angiogénétique Moléculaire, Groupe hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France ; (2) Université Pierre-et-Marie-Curie UPMC, Paris, France*

Contact : [florence.coulet@psl.aphp.fr](mailto:florence.coulet@psl.aphp.fr)

La voie EGFR est devenue une cible thérapeutique dans le traitement des cancers en particulier colorectaux. L'EGF se fixe sur le récepteur à l'EGF (EGFR), récepteur de type « tyrosine kinase ». La fixation du ligand à son récepteur entraîne alors une phosphorylation du récepteur et une cascade d'événements transductionnels en faveur de la prolifération tumorale impliquant notamment la protéine RAS. La protéine K-ras fonctionne en alternant d'un état actif lorsque la protéine est liée au GTP à un état inactif lorsqu'elle est liée au GDP. Les mutations somatiques du gène KRAS en empêchant le retour à la forme inactivée de la protéine K-ras entraînent une activation constitutive de la voie EGFR et sont des marqueurs de résistance aux anticorps monoclonaux anti-EGFR tels que cetuximab (Erbix<sup>®</sup>) ou panitumumab (Vectibix<sup>®</sup>). Les mutations ponctuelles qui peuvent être dépistées sont, dans plus de 90 % des cas, situées sur l'exon 2 du gène KRAS au niveau des codons 12 et 13. La présence d'une mutation sur le codon 600 du gène BRAF (V600E) est également un marqueur de résistance à ces traitements. L'ADN tumoral est extrait à partir de coupes en paraffine de tissu sur lequel le pourcentage de cellules tumorales a été estimé à un minimum de 50 %. Nous rapportons l'analyse de 173 génotypes KRAS et de 40 génotypes BRAF, par

courbe de fusion haute résolution (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 (Resolight dye) 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) et montré une limite de détection de la technique correspondant à 5 % d'allèles mutants. Lorsque le profil de fusion est anormal, nous poursuivons par du séquençage pour caractériser la mutation. Nous avons identifié 57 mutations sur le gène KRAS (27 mutations G12A, 12 mutations G12V, 4 mutations G12A, 4 mutations G12C, 4 mutations G12S et 6 mutations G13D). Aucune autre mutation n'a été mise en évidence sur l'exon 2 du gène KRAS. L'ensemble de ces mutations a été identifié sur une majorité de tissus coliques, sur 4 biopsies, sur 8 métastases hépatiques et sur 8 tissus d'origine rectale. Une seule mutation V600E du gène BRAF a été identifiée sur les 40 tumeurs testées. L'analyse des mutations de l'exon 2 de KRAS et de la mutation V600E du gène BRAF par fusion haute résolution est une méthode ne nécessitant aucune manipulation de post-PCR. C'est une méthode rapide, sensible, automatisable et peu coûteuse qui répond aux exigences de fiabilité et de rapidité de la médecine individualisée ayant pour but d'optimiser le traitement de chaque patient.

**Mots-clés :** KRAS, BRAF, HRM.

**■P281. CARACTÉRISATION DES MUTATIONS DU PROTO-ONCOGÈNE RET DANS LE CANCER MÉDULLAIRE DE LA THYROÏDE EN ALGÉRIE**

A. Chikouche (1), M. Ait Abdallah (2), M. Boudissa (3), H. Boumaza (2), K. Sbahi (2), Y. Oukaci (2), L. Griene (1)

(1) *Laboratoire d'Hormonologie, Centre Pierre-et-Marie-Curie, Alger, Algérie ; (2) Laboratoire de Biochimie, Centre Pierre-et-Marie-Curie, Alger, Algérie ; (3) Service d'Endocrinologie, Centre Pierre-et-Marie-Curie, Alger, Algérie*

Contact : [chikouchea@hotmail.fr](mailto:chikouchea@hotmail.fr)

Les Néoplasies Endocriniennes Multiples de type 2 (ou NEM2) sont des affections héréditaires rares, transmises selon le mode autosomique dominant ; elles sont liées aux mutations du proto-oncogène RET. Ces mutations prédisposent au développement des NEM2, affections qui peuvent s'exprimer phénotypiquement en 1/ NEM2A, forme la plus courante (65 % des cas), qui correspond à la présence d'un carcinome médullaire de la thyroïde (CMT) associé à un phéochromocytome et/ou une hyperparathyroïdie, en 2/ NEM2B, forme plus agressive et plus rare (5 %), qui correspond à un CMT, associé dans 50 % des cas à un phéochromocytome et/ou à des anomalies musculo-squelettiques dans 15 à 20 % des cas, ou en 3/ un CMT isolé (CMTF), dans 30 % des cas. Le diagnostic de NEM2 repose sur la mise en évidence de mutations du gène RET, au niveau des exons 8, 10, 11, 13, 14, 15 et 16, qui sont les plus fréquemment atteints et qu'il convient d'explorer en première intention. L'identification d'une mutation chez un cas index permet 1/ de confirmer le diagnostic clinico-biologique de NEM2 et 2/ de lui assurer une surveillance adaptée, 3/ de dépister de manière très précoce, chez les apparentés, ceux qui portent l'anomalie génétique familiale et qui devraient bénéficier d'une surveillance étroite, avant toute manifestation clinique et biologique et d'une thyroïdectomie prophylactique. Notre étude a concerné 82 sujets : 6 témoins et 76 CMT. Dans notre série, les CMT se répartissent en 57 CMT sporadiques et 19 CMT familiaux, qui se subdivisent en 10 NEM2A, 01 NEM2B et 08 CMTF. 9 mutations différentes, décrites dans la littérature, ont été retrouvées chez 18/19 patients de nos CMT familiaux. Aucune mutation connue n'a été retrouvée dans 01 cas de NEM2A, lequel présente la variation de séquence C515S, qui pour de nombreux auteurs représente un variant sans liaison avec les NEM2. L'étude familiale a permis de retrouver ce variant chez deux apparentés cliniquement sains. Cette étude génétique a permis d'identifier chez les apparentés (35 cas) de certains cas index, appartenant à 8 familles différentes, 14 porteurs de la mutation familiale, dont 4 ont pu bénéficier d'une thyroïdectomie prophylactique.

**Mots-clés :** NEM2, CMT, RET.

**■P282. APPEL À PROJET : CANCER DE L'ENFANT ET MALADIES DU DÉVELOPPEMENT : DE NOUVEAUX SYNDROMES À CARACTÉRISER**

F. Bourdeau (1), C. Crétole (2), P. Landais (3), J. Amiel (4, 5), L. de Pontual (4), I. Janoueix (1), G. Schleiernmacher (1, 6), S. Lyonnet (4, 5), D. Stoppa-Lyonnet (7), M. Gauthier-Villars (7), O. Delattre (1), S. Sarnacki (2, 8)

(1) *INSERM U830, Centre de recherche, Institut Curie, Paris, France ; (2) Centre de références des malformations anorectales, Hôpital Necker,*

Paris, France ; (3) Service d'informatique biomédicale et biostatistiques, Hôpital Necker, Paris, France ; (4) INSERM UMR\_S 781, Hôpital Necker, Paris, France ; (5) Département de génétique, Hôpital Necker, Paris, France ; (6) Département de pédiatrie, Institut Curie, Paris, France ; (7) Département d'oncogénétique, Institut Curie, Paris, France ; (8) Service de chirurgie Infantile, Hôpital Necker, Paris, France

Contact : franck.bourdeaut@curie.fr

Appel à projets : Cancers pédiatriques et anomalies du développement : de nouveaux syndromes à caractériser. Les causes génétiques des cancers de l'enfant restent peu connues. Des syndromes malformatifs augmentant le risque de cancer ont permis historiquement d'identifier des gènes de prédisposition (délétion 13q et RB1, WAGR et WT1...). Les malformations et maladies du développement sont plus fréquentes dans la population d'enfants atteints de cancer que dans la population générale, suggérant qu'une cause génétique unique puisse occasionnellement expliquer l'ensemble du phénotype. Les cancers syndromiques sont néanmoins peu recensés, et les associations fortuites peu distinguées des associations significatives. Notre projet consiste à recenser rétrospectivement et prospectivement auprès des oncologues pédiatres de la SFCE toutes les observations de cancers pédiatriques syndromiques. Ces cas seront recensés sur la base de données CEMARA, en y précisant les échantillons biologiques disponibles. Une consultation de génétique sera fortement recommandée et un consentement pour étude de l'ADN obtenu. Les échantillons biologiques constitutionnels et tumoraux conservés feront l'objet d'études spécifiques, orientées par des associations syndromiques découvertes comme récurrentes ou par des associations semblant hautement significatives. Cette étude coopérative est impulsée par des équipes d'oncopédiatres, chirurgiens de l'enfant, biologistes et généticiens de l'Institut Curie et de l'hôpital Necker. Le projet biologique a vocation à s'étendre à toute équipe de recherche impliquée dans les thématiques « oncogénétique » et/ou « maladie du développement ». Le projet se construira autour d'un consortium scientifique réunissant les équipes ainsi identifiées.

**Mots-clés** : cancer, malformation, pédiatrie.

## Génétique des populations, évolution

### ■P283. ÉTUDE DE LA PSEUDODÉFICIENCE EN ARYLSULFATASE À (PD-ASA) DANS LA POPULATION TUNISIENNE : GRADIENT GÉOGRAPHIQUE NORD-SUD

I. Dorboz (1, 2), N. Ben-Halim (3), R. Kefi (3), E. Eymard-Pierre (2, 4), S. Chakroun (3), S. Ben-Fadhel (3), S. Abdelhak (3), N. MILADI (1), O. Boespflug-Tanguy (2, 5)

(1) Maladies Neurologiques de l'Enfant, Faculté de Médecine de Tunis, Tunisie ; (2) INSERM UMR 931 CNRS 6647, Université de Clermont, GREd, Clermont-Ferrand, France ; (3) Exploration Moléculaire de Maladies Orphelines d'Origine Génétique, Institut Pasteur de Tunis, Tunisie ; (4) CHU de Clermont-Ferrand, Génétique Médicale et Cytogénétique Médicale, Clermont-Ferrand, France ; (5) Service de Neuropédiatrie, Robert-Debré, Paris, France

Contact : dorboz@yahoo.fr

L'Arylsulfatase A (ASA) est une enzyme de dégradation des sulfatides dont le déficit est responsable de la leucodystrophie métachromatique (LDM), maladie récessive autosomique caractérisée par une accumulation des sulfatides. Le niveau élevé des sulfatides dans les oligodendrocytes a comme conséquence une destruction progressive de la myéline. Un certain nombre de sujets en bonne santé peuvent présenter une activité arylsulfatase A très faible mais pas de LDM on parle de pseudodéficiency en arylsulfatase (PD-ASA). Deux mutations sont responsables de la majorité des allèles de la PD. La mutation N350S au niveau de l'exon 6 et la mutation (1524+95A->G) qui touche le site de la polyadénylation. La fréquence de ces deux allèles est de 7 à 15 % dans la plupart des populations, la fréquence la plus élevée (22,7 %) étant retrouvée chez les Yéménites. Dans le présent travail, nous avons déterminé les fréquences alléliques et haplotypiques de la pseudodéficiency dans la population tunisienne à partir de 129 individus non apparentés de différentes régions de la Tunisie : 57 du Nord, 53 du Sud et 19 du centre. Dans la population tunisienne, la fréquence de la PD-ASA (18,7 %) est plus élevée que dans les pays européens, proche de celle retrouvée au Yémen. Des variations notables de répartition géographique ont été constatées, montrant un gradient Nord-Sud (25 % au Nord et 9 % au Sud). Ces résultats confirment des études suggérant que les rencontres et les échanges entre les populations locales et migrantes n'ont donc pas été les mêmes au Nord et au Sud de la Tunisie. La comparaison avec d'autres populations, devrait permettre de

comprendre comment cette diversité a pu se mettre en place en rapport avec les divers mouvements de populations.

**Mots-clés** : arylsulfatase A, population, pseudodéficiency

### ■P284. DIFFÉRENTES ORIGINES ET HISTOIRES NATURELLES DE LA MUTATION G2019S DU GÈNE LRRK2 ASSOCIÉE À LA MALADIE DE PARKINSON

S. Lesage (1, 2), E. Patin (3), C. Condroyer (1, 2), AL. Leutenegger (4, 5), E. Lohmann (1, 2), N. Giladi (6, 7), A. Bar-Shira (8), S. Belarbi (9), N. Hecham (9), P. Pollak (10), A.M. Ouvrard-Hernandez (10), S. Bardien (11), J. Carr (11), T. Benhassine (12), H. Tomiyama (13), C. Pirkevi (14), T. Hamadouche (15), C. Cazeneuve (16), N. Basak (14), N. Hattori (13), A. Dürr (1, 2, 16), M. Tazir (9), A. Orr-Urtreger (7, 8), L. Quitana-Murci (3), A. Brice (1, 2, 16) et le groupe PDG

(1) INSERM, UMR\_S975 (anciennement UMR\_S679), Paris, France ; (2) Université Pierre-et-Marie-Curie Paris6, UMR\_S975 CRicm, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France ; (3) Institut Pasteur, Human Evolutionary Genetics, CNRS URA3012, Paris, France ; (4) INSERM U535, Villejuif, France ; (5) Université Paris-Sud, IFR69, UMR\_S535, Villejuif, France ; (6) Movement Disorders Unit Parkinson Center Department of Neurology, Tel Aviv Sourasky, Medical Center, Tel Aviv, Israel ; (7) The Sackler Faculty of Medicine, Tel Aviv University, Tel Aviv, Israel ; (8) Genetic Institute, Tel-Aviv Sourasky Medical Center, Tel-Aviv, Israel ; (9) Service de Neurologie, CHU Mustapha, Alger, Algérie ; (10) Service de Neurologie, CHU de Grenoble, Grenoble, France ; (11) Division of Neurology, University of Stellenbosch, Cape Town, South Africa ; (12) Laboratoire de biologie moléculaire, Université de Bab Ezzouar, Alger, Algérie ; (13) Department of Neurology, Juntendo University School of Medicine, Tokyo, Japan ; (14) Bogaziçi University, Molecular Biology and Genetics Department, Neurodegeneration Research Laboratory, Istanbul, Turkey ; (15) Laboratoire de biologie moléculaire, Université M'hamed Bougara, Boumerdes, Algérie ; (16) AP-HP, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Département de Génétique et Cytogénétique, Paris, France

Contact : alexis.brice@upmc.fr

INTRODUCTION : Des mutations dans le gène LRRK2 pour Leucine-Rich-Repeat Kinase 2 ont été identifiées dans des formes autosomiques dominantes de la maladie de Parkinson (MP) et chez des cas isolés. Parmi elles, la mutation G2019S est la plus commune, avec une fréquence qui varie selon l'origine géographique et ethnique : cette mutation est très rare en Asie (<0,1 % au Japon), représente ~ 2 % en Europe et augmente considérablement chez les Juifs Ashkénazes (~15 %) et en Afrique du Nord (~40 %). Des études antérieures ont montré que les patients porteurs de G2019S, dans ces différentes populations, partageaient au moins 3 haplotypes communs. BUT DU TRAVAIL : Déterminer les histoires naturelles de la mutation G2019S du gène LRRK2 dans un groupe multi-ethnique de patients atteints de MP. PATIENTS ET MÉTHODES : Nous avons génotypé 74 marqueurs (20 STR pour Short Tandem Repeat et 54 SNP pour Single Nucleotide Polymorphism), s'étendant sur une région génomique de 16 Mb chez 191 individus provenant de 126 familles avec G2019S (121 hétérozygotes and 5 homozygotes). Parmi elles, 67 sont d'origine nord-africaine, 18 d'Europe, 37 d'origine juive, une famille japonaise, une autre turque et deux autres d'origine mixte. Les haplotypes sont reconstruits par le programme Phase v.2.1.1. L'âge de la mutation G2019S est estimé par 2 méthodes de maximum de vraisemblance. Les réseaux haplotypiques chez les porteurs et les non-porteurs sont déterminés par le programme Network v.4.5. RÉSULTATS : -Nous avons identifié 3 haplotypes différents : Haplotype 1 partagé par 95 % des porteurs de G2019S, Haplotype 2, initialement identifié chez 3 familles américaines d'origine européenne, est également retrouvé chez 2 familles françaises et Haplotype 3, spécifique de la population japonaise, est partagé par une famille turque. - Les analyses de réseaux haplotypiques montrent que Haplotype 1 et Haplotypes 2 et 3 sont placés à chaque extrémité du réseau, suggérant que la mutation G2019S est apparue indépendamment, au cours d'au moins 2 événements mutationnels chez l'Homme. - La distribution de la diversité intrallélique dans les différentes populations étudiées portant le plus commun Haplotype 1, conjointement à l'estimation de l'âge de G2019S, dans ces populations, suggèrent que cet événement mutationnel est apparu au Moyen-Orient, il y a à peu près 4000 ans. CONCLUSION : En utilisant un groupe multi-ethnique de patients atteints de MP, nous avons montré que la mutation G2019S dans le gène LRRK2, associée à MP est apparue indépendamment chez l'Homme, au cours d'au moins 2 événements mutationnels. L'un des événements le plus fréquent est apparu au Moyen-Orient, il y a à peu près 4 000 ans.

**Mots-clés** : mutation G2019S du gène LRRK2, maladie de parkinson, haplotype.



**■P285. ESTIMATION DE LA PRÉVALENCE AU MAROC DE LA POLYPOSE ADÉNOMATEUSE DUE À TROIS MUTATIONS RÉCURRENTES DU GÈNE MYH : LA Y165C, LA G382D ET LA C.1186\_1187INSGG**

F.Z. Laarabi (1), I. Cherkaoui-Jaouad (1), A. Benazzouz (2), D. Squalli (2), A. Sefiani (1, 3)

(1) Département de génétique médicale, Institut National d'Hygiène, Rabat, Maroc ; (2) Génome Biotechnologie, Casablanca, Maroc ; (3) Centre de Génétique Humaine, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Université Mohamed V, Rabat, Maroc  
Contact : fz\_laarabi@yahoo.fr

Introduction : La polypose adénomateuse liée au gène MYH (MAP) est une nouvelle prédisposition génétique au cancer colique. Elle se caractérise par une polypose plus atténuée que celle liée au gène APC et par son mode de transmission autosomique récessif. Les patients atteints de MAP sont porteurs de mutations bialléliques du gène MYH impliqué dans le système de réparation de l'ADN par excision de base, et développent une polypose colique et parfois duodénale avec un risque élevé de développer un cancer colorectal. Les mutations les plus fréquemment décrites dans la population caucasienne sont la Y165C et la G382D qui représentent à elles seules 90 % des mutations alors que la mutation c.1186\_1187insGG a été rapportée chez deux patients maghrébins. L'objectif de notre travail est d'estimer, par des méthodes d'épidémiologie moléculaire, la prévalence de la MAP liée à ces trois mutations dans la population marocaine. Méthodes : Nous avons calculé la fréquence des hétérozygotes pour ces trois mutations par des techniques de PCR en temps réel pour les mutations Y165C et G382D et par génotypage ou analyse de la taille des fragments pour la mutation c.1186\_1187insGG. L'ADN de 400 individus sains consentants et pris au hasard, a été analysé pour les mutations G382D et Y165C. La mutation 1186\_1187insGG a été recherchée chez 250 personnes. Résultats : Parmi 400 personnes analysées, nous avons identifié une personne hétérozygote pour la mutation Y165C et trois porteurs de la mutation G382D à l'état hétérozygote. La mutation 1186\_1187insGG a été trouvée, à l'état hétérozygote chez une personne parmi 250 analysées. Ces chiffres nous ont permis d'estimer, dans la population marocaine sous l'hypothèse d'équilibre de Hardy-Weinberg, la prévalence de la MAP due uniquement à ces trois mutations à 1/20 000. Conclusion : Nous montrons par ce travail que la population marocaine est à risque pour la MAP. Nous projetons d'étendre cette étude préliminaire à d'autres mutations et d'estimer la prévalence réelle de ce type de cancer, par la détermination de la fréquence relative de ces trois mutations chez les patients marocains atteint de forme typique de la MAP. En parallèle avec ces études épidémiologiques, la mise en place dans notre laboratoire du diagnostic moléculaire de la MAP, nous permet aujourd'hui une meilleure prise en charge des patients et de leur prodiguer ainsi qu'à leurs apparentés un conseil génétique adapté.

**Mots-clés :** épidémiologie, prévalence, gène MYH.

**■P286. FUNCTIONAL CHARACTERIZATION OF SINGLE NUCLEOTIDE POLYMORPHISMS WITHIN THE HUMAN TOLL-LIKE RECEPTOR 2 SUBFAMILY**

M. Ben-Ali (1), L.B. Barreiro (2), H. Quach (1), J. Ragimbeau (3), S. Pellegrini (3), L. Quintana-Murci (1)

(1) Institut Pasteur, Human Evolutionary Genetics, CNRS, URA3012, Paris, France ; (2) Department of Human Genetics, University of Chicago, Chicago, IL, USA ; (3) Institut Pasteur, Cytokine Signaling Unit, CNRS, URA1961, Paris, France  
Contact : mbenali@pasteur.fr

Innate immunity is the first line of host defense against invading pathogens. Toll-like receptors (TLRs) constitute an essential component of the innate immune system that initiates cellular inflammatory responses following infection of the host. In humans, there are 10 functional TLR members, which each recognize a vast range of pathogen-associated molecular patterns. Using an evolutionary approach, we previously observed a general reduction of non-synonymous diversity in the human TLR family, suggesting that these receptors have been targeted by strong purifying selection. TLR1 and TLR6 are unique in that they need to form heterodimers with TLR2 in order to discriminate different microbial products and therefore increase the repertoire of agonists for TLR2, which includes a wide variety of acylated cell-wall components, such as bacterial lipoprotein. In a resequencing effort of three members of TLR2 subfamily (TLR1, 2 and 6) in a multi-ethnic panel of populations, we detected several non-synonymous polymorphisms that, for the most part, are population-specific and present at very-low population frequencies (< 5 %). The rare variant/common disease hypothesis postulates that genetic susceptibility to multifactorial diseases is due to the summation of the effect of a series of low-frequency variants of different genes, each conferring a moderate, but readily detectable, increase in relative risk. Under this hypothesis, it is expected that some of the low-frequency variants observed at the

TLR2 subfamily present altered function. In this view, we hypothesized that non-synonymous polymorphisms maintained at low-frequencies and predicted to be probably or possibly damaging using the Polyphen algorithm would be defective in signal transduction. To test this hypothesis, we generated the corresponding TLR1 and TLR6 non-synonymous variants by site-directed mutagenesis. TLR1 and TLR6 constructs were then co-transfected with a human TLR2 expression vector and a NF- $\kappa$ B possibly damaging and maintained at a frequency < 5 %, four TLR1 and two TLR6 variants were impaired in their ability to induce NF- $\kappa$ B activation, with respect to the ancestral forms. Interestingly, all the variants with impaired NF- $\kappa$ B activation are only present in a heterozygote state which suggests that they are deleterious. Taken together, these preliminary results suggest that non-synonymous mutations observed at low population frequencies are most likely to have deleterious effects (they are not lethal but weakly deleterious) and participate therefore in the complex susceptibility to infection at the population level. We are now extending this study to the rest of the members of the TLR family.

**■P287. EVALUATION OF SELECTIVE PRESSURES TARGETING THE HUMAN TIR-DOMAIN-CONTAINING ADAPTORS**

S. Fornarino (1), L. Barreiro (1, 2), J. Manry (1), E. Patin (1, 3), G. Laval (1), L. Quintana-Murci (1)

(1) Institut Pasteur, UP Génétique Evolutive Humaine CNRS, URA3012, Paris, France ; (2) Department of Human Genetics, University of Chicago, USA ; (3) INSERM U550, Necker School of Medicine, Paris, France  
Contact : fornarin@pasteur.fr

Proteins involved in the TLR-signalling pathway trigger the innate-immunity response after initial PAMPs detection by the various TLRs. Because of this general front-line role in early immunity, these molecules provide with a good model to evaluate the weight of pathogens pressures in driving the evolutionary dynamics of host genomes. Characterization of sequence variation at the ten TLRs has already shown that these genes have been differently targeted by natural selection in humans. Indeed, the use of the evolutionary approach has proven to be powerful in delineating the biological relevance/redundancy of immunity genes to infections in the natural setting. The present study focused on the five TIR-domain-containing adaptors : MyD88, MAL, TRIF, TRAM, and SARM. The adaptors signal downstream to the TLRs, leading to the activation of transcriptional factors such as NF- $\kappa$ B and members of the IRF family. Sequence variation for each gene was evaluated in 183 healthy individuals originating from Africa, Asia, and Europe, by means of classical population genetics tools. Distinct deviations from the standard neutral-model of evolution were found.

The patterns identified at the coding-region well mirrored the nature of the host-pathogen interactions mediated by the adaptors. Protein conservation was a widespread feature, but different degrees of selective constraints were found across different genes. The universal-adaptor MyD88 and the bridging-adaptor MAL displayed the two extreme situations: the MK-PRF test revealed the strongest signatures of purifying selection within the former and the best evidence of weak negative selection within the latter. The patterns of variability observed at TRIF were compatible with both purifying and weak negative selection, a duality that may be explained by a regime of mild purifying selection. SARM exhibited values of diversity consistent with weak negative selection. Current analyses failed to find definitive evidence of selection on TRAM. The observation that MyD88 and TRIF are both under purifying selection suggests that the deepest impairing in innate-immunity responses is due to alterations in adaptors at the top of the transduction pathways. However, the fact that the protein-coding regions of the adaptors are under selective constraint within humans (i.e., the protein must not be altered qualitatively) does not preclude that these can evolve adaptively, as attested by allele-frequency-spectra and linkage-disequilibrium analyses. Indeed, the type and magnitude of adaptive selection vary temporally and spatially across loci and populations, going from ancient and worldwide selective-sweeps to episodes of more recent and local positive selection. The scenario here proposed is the most appropriate and relevant to the evolution of a well-defined category of genes that fulfils a delicate role: delivering potentially-lethal pro-inflammatory signals.

**■P288. ÉTUDE DE LA VARIABILITÉ DE L'ADN MITOCHONDRIAL DES POPULATIONS ANCIENNES DE L'AFRIQUE DU NORD**

R. Kefi-Ben Atig (1), E. Beraud-Colomb (2)

(1) Exploration Moléculaire des Maladies Orphelines d'origine Génétique, Institut Pasteur de Tunis, Tunisie ; (2) INSERM U600-FRE2059 CNRS, Hôpital Sainte Marguerite, Marseille, France  
Contact : rym.kefi@pasteur.rns.tn

Les études anthropologiques et génétiques ont révélé la complexité du peuplement de l'Afrique du Nord. Outre la présence d'un substrat autochtone, encore détectable chez les populations actuelles, l'Afrique du Nord



a connu depuis le Paléolithique, des apports multiples de groupes humains de diverses origines. À l'épipaléolithique (20 000-10 000 ans BP), le littoral de l'Afrique du Nord était occupé par les Hommes de type Mechta El Arbi, auteurs de l'industrie ibéromaurisienne. Les origines des Hommes de Mechta El Arbi est un sujet de débats pluridisciplinaires. Dans le but de contribuer à la résolution de l'énigme des ibéromaurisiens, nous avons analysé la diversité de l'ADN mitochondrial des populations du site épipaléolithique de Taforalt (Maroc-13 000 ans BP) et d'Afalou (Algérie-11 000-15 000 ans), que nous avons comparé à celle de populations actuelles méditerranéennes. Pour cela, nous avons amplifié et séquencé, dans un premier temps, la région de contrôle de l'ADN mitochondrial d'une trentaine d'individus de la population de Taforalt et de 9 individus de la population d'Afalou. Dans un deuxième temps, nous avons construit des arbres phylogénétiques reliant la population de Taforalt avec les populations actuelles nord africaines, européennes et du Proche Orient. Nos résultats ont montré l'absence d'une composante subsaharienne dans la structure génétique des populations de Taforalt et d'Afalou. L'hypothèse d'une origine sub-soudanaise de ces populations est rejetée. Nos résultats ont permis également de mettre en évidence une continuité génétique en Afrique du Nord et l'existence, depuis l'épipaléolithique, de flux génétiques entre la rive Nord et la rive Sud de la méditerranée.

**Mots-clés :** ADN ancien, ADN mitochondrial, Afrique du Nord.

**■NP289. CAT (CONSTRASTING AFFECTED SIB-PAIRS AND TRIOS), A NEW METHOD TO DISTINGUISH BETWEEN PARENT-OF-ORIGIN EFFECT AND MATING TYPE SELECTION**  
A.S. Jannot (1, 2), J. Amiel (2, 4), A. Pelet (2, 4), S. Lyonnet (2, 4), F. Clerget-Darpoux (1, 3) and the International Hirschsprung Disease Consortium

(1) INSERM, U535, Villejuif, France ; (2) INSERM, U781, Paris, France ; (3) Université Paris Sud, Faculté de médecine, Paris, France ; (4) Université Paris Descartes, Faculté de médecine, Paris, France  
Contact : anne-sophie.jannot@inserm.fr

Parent-of-origin effect is defined by the fact that the probability of being affected depends on the parental genotypes. It gathers different phenomena such as imprinting, spermatid fitness or maternal genotype effect. When a mutation is more often transmitted by the mother than by the father or inversely, one usually suspects a parent-of-origin effect. But, parental mating type selection can also induce such a transmission distortion. Parental mating type selection results from a sex-ratio combined with a lower reproducing rate of affected individuals compared with healthy one. Parental mating type selection might then be common for many diseases. We propose a method, Constrasting Affected sib-pairs and Trios (CAT), that uses the different selection scheme between case-parent triads and affected sib-pairs, to test the hypothesis that selection mating type explains the whole transmission distortion. A 80 % power can be achieved for reasonable sample sizes. We illustrate our findings using the International Hirschsprung Disease Consortium data. RET is the major HSCR locus and a parent-of-origin effect for mutations on RET gene has been suspected. Both the strong sex-ratio in favour of females combined with a poor prognosis have led to challenge a parent-of-origin effect. We show that mating type selection cannot explain on its own the observed transmission distortion for RET gene mutations.

**Mots-clés :** parent-of-origin effect, selection bias, HSCR.

**■NP290. COMPARATIVE PATTERNS OF POSITIVE SELECTION BETWEEN HUMAN AND 5 MAMMALIAN GENOMES**

A. Vaysse (1, 2), F. Galibert (1, 2), C. André (1, 2), C. Hitte (1, 2)  
(1) Université de Rennes 1, IFR 140, Institut de Génétique et Développement de Rennes, France ; (2) CNRS, UMR6061, Rennes, France  
Contact : hitte@univ-rennes1.fr

The high degree of conservation among protein-coding genes between human and other mammals causes an evolutionary paradox. Indeed, as highly conserved genes are largely involved in similar biological functions, did genetic changes that occurred in this orthologous gene set in human (i) lead to advantageous adaptive changes or (ii) lead to genetic variants that are associated with inherited diseases ? An elegant hypothesis is that part of genetic adaptive changes is driven by positive selection, the process by which new advantageous genetic variants sweep a population. To assess the impact of positive selection in human and if positive selection favored advantageous allelic variants or in contrast correlated to known Mendelian disorders, we examined the pattern of positive selection in 10,340 strict orthologous genes among eutherian mammals. We first explored positive selection using 4 species, human, mouse, cow and dog as they have similar divergence time (80-89 My) in the phylogenetic tree. Using a stringent branch-site codon substitution model, we identified more than 2,800 genes

with a robust signature of positive selection (Bonferroni corrected P-value < 0.05). In human and mouse branches, we found a much lower number of genes that have experienced positive selection (290, 193) in comparison to cow and dog branches (828, 1496). Our results showed that positive selected genes (PSG) are significantly branch-specific, only 3 % were common between primate and rodent branches. In this phylogenetic context, however, primate PSG do not necessarily reflect recent positive selection. Therefore we further examined the pattern of positive selection using the chimpanzee genome to explore positive selection that acted on hominids for some 7 My. We identified 69 PSG in the hominid branch in comparison to 202 in the branch leading to chimp. In this phylogenetic context, PSG were also found to be branch-specific with only 8 % identified in both human and chimp branches and 13 % were identified in both cow and dog branches. Functional analysis preliminary results, based on the gene ontology databases, showed that neither human nor chimp PSG were found enriched in particular GO categories with  $p < 0.001$ . Analysis of protein molecular interaction and reaction networks, using the KEGG database, showed that only 19 % of networks were affected by positive selection in the human branch as compared to 72 % in the dog branch. Interestingly, we showed that human PSG were uncorrelated to Mendelian disorders using OMIM database ( $p > 0.05$ ), while PSG identified in the dog branch showed significant association to OMIM terms ( $p < 0.05$ ). These results showed that positive selection acted independently among branches, suggested that adaptive changes driven by positive selection in human is not correlated to known diseases and finally pointed to the dog as a good model for studying human Mendelian disorders.

**Mots-clés :** positive selection, human diseases, evolution.

**■NP291. ESTIMATIONS DE LA CONSANGUINITÉ GÉNOMIQUE CHEZ LES INDIVIDUS NON APPARENTÉS DU PANEL DE LA DIVERSITÉ DES POPULATIONS HGDP-CEPH**

M. Sahbatou (1), A.L. Leutenegger (2, 3), H.M. Cann (1), E. Génin (2, 3)  
(1) Fondation Jean Dausset – CEPH, Paris, France ; (2) Inserm, U946, Paris, France ; (3) UMR-S 946, Univ Paris-Diderot, Paris, France  
Contact : mourad.sahbatou@ceph.fr

Nous présentons les premiers résultats sur la présence de consanguinité dans le panel du HGDP-CEPH. Les coefficients de consanguinité ont été estimés pour 940 personnes non apparentées venant de 52 populations du monde (Li *et al.*, Science, 319 : 1100-4, 2008) et génotypées sur 642 914 SNP autosomiques (Illumina650Y). Les coefficients de consanguinité ont été estimés à partir de l'information génomique de ces individus grâce au logiciel FEstim (Leutenegger *et al.*, AJHG, 73 : 516-23, 2003). C'est une méthode du maximum de vraisemblance qui utilise une chaîne de Markov cachée pour modéliser les dépendances le long du génome entre génotypes observés des marqueurs et le statut, non observé, d'homozygotie par descendance. Cette estimation nécessite une carte des marqueurs sans déséquilibre de liaison (LD) ; ce qui n'est pas le cas pour les cartes de fortes densités de SNP. Nous avons développé une procédure pour générer de multiples sous-cartes sans LD et combiner leurs informations. 75 % de la carte originale peut être représentée au moyen de 1000 sous-cartes. Nous avons trouvé que le niveau de consanguinité était le plus élevé dans les Amériques, au Moyen-Orient et en Asie Central du Sud. Dans certaines populations de ces régions, ils atteignent des valeurs supérieures à 0,1 (semblable à ce qui est attendu chez les doubles cousins germains ou lors des mariages entre oncle et nièce). Les niveaux les plus bas de consanguinité sont trouvés en Europe, en Asie de l'Est et en Afrique sub-saharienne. Pour les pygmées Mbuti et les San, les résultats ne sont pas toujours cohérents entre les différentes sous-cartes. Cela est peut être lié au fait que ces populations sont connues pour avoir des fréquences alléliques différentes des autres populations sub-sahariennes. En effet, les estimations des coefficients de consanguinité dépendent de la fréquence des allèles, et en raison de la taille limitée des échantillons de population, ces fréquences ont été estimées à l'échelle régionale. Une analyse de la sensibilité aux fréquences des allèles de ces populations est en cours.

**Mots-clés :** consanguinité, IBD, chaîne de Markov cachée.

**■NP292. ÉTUDE DE LA CONSANGUINITÉ AU MAROC À TRAVERS LA CONSULTATION DE GÉNÉTIQUE**

I. Cherkaoui Jaouad (1), S. Chafai Elalaoui (1), A. Sbiti (1), F. Elkerch (1), L. Belmahi (1), A. Sefiani (1, 2)  
(1) Département de Génétique Médicale, Institut National d'Hygiène, Rabat, Maroc ; (2) Centre de génomique humaine, Université Mohamed V Souissi, Rabat, Maroc  
Contact : imane\_cj@yahoo.fr

Introduction : Les mariages consanguins sont reconnus comme une pratique sociale courante dans les populations arabo-musulmanes. Cette

pratique est considérée comme un facteur accroissant l'incidence de maladies autosomiques récessives, les malformations congénitales, la morbidité et la mortalité. L'objectif de notre étude est d'évaluer le taux de consanguinité chez des familles avec enfants atteints de maladies autosomiques récessives et de comparer ce résultat aux taux moyen de consanguinité dans la population marocaine. Méthodes : L'étude a été réalisée au Département de Génétique Médicale à Rabat et a porté sur 176 familles avec maladies autosomiques récessives diagnostiquées et confirmées par des investigations cliniques, radiologiques, enzymatiques ou moléculaires. Le taux de consanguinité a été également étudié chez 852 familles qui ont eu des enfants avec trisomie 21 confirmée par caryotype. Ces familles ont été choisies puisque (i) aucune association n'est reconnue entre la trisomie 21 et la consanguinité, (ii) ces patients sont issus de différentes régions du Maroc et (iii) la trisomie 21 concerne toutes les couches sociales. Résultats : Parmi 176 familles avec maladies autosomiques récessives, la consanguinité représente 59,09 %. Nous avons estimé le taux de consanguinité au Maroc à 15,25 % avec coefficient moyen de consanguinité de 0,0065. Conclusion : Ces résultats placent le Maroc parmi les pays à taux élevé de consanguinité. Cette étude pourra définir les risques liés à la consanguinité, ce qui impose la mise en place de stratégies éducatives pour le public et les professionnels de santé. Dans le but de diminuer l'impact de la consanguinité sur la morbidité et la mortalité.

**Mots-clés :** Maladies autosomiques récessives, consanguinité, santé

#### ■P293. LE MARIAGE CONSANGUIN DANS LA RÉGION DE SOUSS MASSA DARAA AU MAROC

L. Sbiï, H. Hami, D. Benali, A. Mokhtari, A. Soulaymani  
*Laboratoire de Génétique et Biométrie Département de Biologie, Faculté des Sciences, Université Ibn Tofail, Kenitra, Maroc*  
Contact : sbii\_l@yahoo.fr

La consanguinité est une survivance d'anciennes civilisations qui persiste jusqu'à nos jours. Elle constitue une déviation au régime panmixtique et témoigne de l'évolution du patrimoine génétique d'une population. Pour déterminer le niveau de cette pratique matrimoniale dans la région de Souss Massa Daraa au sud du Maroc, une étude prospective a été menée en 2005-2007 auprès de 194 familles échantillonnées au hasard dans la région étudiée. D'après les résultats que nous avons obtenus, le taux de consanguinité est de 14,4 % chez la génération des couples étudiés. La génération des parents des maris et celle des parents des femmes donnent respectivement des fréquences de 7,2 % et 14,9 % de consanguinité. Le caractère coutumier de ces mariages est illustré par le fait que certains types d'unions entre cousins sont préférés à d'autres. Les unions entre cousins germains par exemple représentent les fréquences les plus élevées.

**Mots-clés :** consanguinité, patrimoine génétique, Maroc.

## Génome humain

#### ■P294. ÉTUDE DU RETENTISSEMENT DE VARIANTES INTRONIQUES SUR L'ÉPISSAGE DE GÈNES CODANT POUR DES RÉCEPTEURS DE LA VOIE BMP RESPONSABLES DE VASCULO-PATHIES HÉRÉDITAIRES

Y. Lahely (1), M. Eyries (1), F. Coulet (1), M.F. Carette (2), B. Girerd (3), M. Humbert (3), D. Montani (3), F. Chabot (4), F. Soubrier (1)  
(1) *Laboratoire d'Oncogénétique et d'Angiogénétique Moléculaire, Groupe hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France* ; (2) *Centre de Compétence pour la Maladie de Rendu-Osler en Ile de France* ; (3) *Service de Radiologie, Hôpital Tenon, Paris, France* ; (4) *INSERM U999, Service de Pneumologie et Réanimation Respiratoire, Hôpital Antoine-Béclère, Clamart, France* ; (4) *Service des Maladies respiratoires et réanimation respiratoire. Hôpitaux de Brabois. CHU de Nancy, France*  
Contact : melanie.eyries@psl.aphp.fr

L'épissage est le processus complexe par lequel les cellules eucaryotes produisent un ARN messager (ARNm) mature à partir d'un pré-ARNm. Les anomalies d'épissage représentent 10 % des mutations rapportées dans la Human Gene Mutation Database, alors que seules les mutations affectant les sites donneurs et accepteurs d'épissage sont comptabilisées. La mise en évidence des anomalies d'épissage est donc incontournable en diagnostic. L'hypertension artérielle pulmonaire et la maladie de Rendu-Osler ou télangiectasie hémorragique héréditaire sont deux maladies vasculaires héréditaires associées à des mutations affectant des gènes impliqués dans la voie de signalisation du TGF- $\beta$ . Des mutations sur le gène BMPR2 sont retrouvées dans plus de 70 % des formes familiales et 10 à 30 % des formes sporadiques d'HTAP idiopathique. Des mutations sur les gènes ACVRL1 et Endogline sont retrouvées chez 88 % des patients présentant les signes cliniques de la

maladie de Rendu-Osler. Nous avons étudié par PCR sur l'ADN complémentaire (ADNc), le retentissement sur l'épissage de trois variants de signification inconnue sur les gènes BMPR2 et ACVRL1. L'extraction d'ARN a été réalisée à partir de sang total prélevé sur tubes PAXgene Blood RNA. Deux variants introniques rares, distants d'1 seul base, ont été identifiés sur ADN, dans l'intron 9 du gène BMPR2 : le variant c.1277-9A>G et le variant c.1277-8A>G. Les prédictions in silico montrent que chacun de ces variants entraîne la création de sites cryptiques accepteurs d'épissage dans l'intron 9. Le séquençage des exons 9, 10 et 11 de l'ADNc de BMPR2 des patients porteurs des variants c.1277-8A>G et c.1277-9A>G a mis en évidence une insertion respectivement des 7 et 8 derniers nucléotides de l'intron 9 dans la séquence codante de BMPR2, ce qui entraîne un décalage du cadre de lecture et l'apparition d'un codon stop précoce au niveau de la protéine. Les prédictions in silico du variant c.625+10G>A, identifié dans l'intron 5 du gène ACVRL1, indiquent que ce variant ne crée pas de site cryptique d'épissage. En revanche, il est prédit que ce variant supprime plusieurs ESE (Exonic Splicing Enhancer), des séquences consensus de régions régulatrices favorisant l'épissage. Le séquençage des exons 5, 6 et 7 de l'ADNc d'ACVRL1 a mis en évidence un saut complet de l'exon 5 chez ce patient avec décalage du cadre de lecture. Ces résultats illustrent l'intérêt de réaliser des analyses sur ARNm afin d'identifier le caractère délétère des variants introniques de signification inconnue et ainsi de compléter le diagnostic moléculaire. Devant les nouveaux mécanismes de régulation de l'expression régulièrement découverts, ces études sur ARNm seront amenées à s'étendre pour étudier l'impact de variants sur d'autres types de mécanismes que celui de l'épissage, comme par exemple la méthylation ou encore l'étude fonctionnelle des régions promotrices.

**Mots-clés :** épissage, hypertension artérielle pulmonaire, télangiectasie hémorragique héréditaire.

#### ■P295. DETERMINING THE CARRIER FREQUENCY OF P.F508DEL IN THE CFTR GENE IN IRAN

S.S. Banihosseini (1, 2), R. Kalhor (3), H. Nezari (4), A. Khodadad (1, 2), E. Elahi (4)  
(1) *Students' Scientific Research Center, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran* ; (2) *Children's Hospital Medical Center, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran* ; (3) *Molecular and Computational Biology, University of Southern California, Los Angeles, CA* ; (4) *Faculty of Biology, University College of Science, University of Tehran, Iran*

Contact : setareh.banihosseini@gmail.com

Cystic fibrosis is the most common life-threatening autosomal recessive disease in many Caucasian populations. Approximately one in 2,500 newborns in populations of European ancestry are affected, wherein the average carrier frequency is 1:25. The disease is caused by mutations in the CFTR gene. More than 1400 mutations have been reported in the CFTR gene ; among p.F508del with the allele is the most frequent worldwide. The geographical distribution of the p.F508del shows a decreasing frequency from the Northwest to the Southeast of Europe. The observed frequency of approximately 18 % in Iran, which is located to the Southeast of Turkey, is in agreement with this gradient. However, high impact of CF were predicted in Turkey and Iran, based on data of frequency of individuals carrying homozygous mutations and extent of inbreeding in those populations. The low incidence commonly believed to be associated with this non-European population is likely to be due to under-diagnosis relatively. Specifically the carrier frequency in Iran was estimated to be 1:40, similar to that of European populations. We have now experimentally determined the frequency of p.F508del carriers among Iranians in 1200 who were randomly selected from 5 regions of North, South, West, East and center of Iran. Based on the number of carriers identified individuals in 1,200 and the latest observation that this allele accounts for 18 % of the CFTR mutated alleles of the Iranian population, the frequency of carriers of CFTR mutations was calculated to be 0.011. This figure corresponds to 1:45, more than the carrier frequency previously estimated. The carrier frequency in Iran is similar to experimentally determined estimate of 1:40, of European populations. However, since homozygous carriers of p.F508del usually die in early age, the acquired frequency might not represent the true frequency of the mutation. Therefore, blood samples were collected as well from the umbilical cord of 1000 newborns in the same geographical regions to determine the true frequency amongst those populations as well as in Iran in general. The analysis of these data is still ongoing. Subsequent to finding the prevalence of the mutation in 1200 individuals, we are performing SNP and haplotype analysis using the method PRASE and a homemade microarray chip. The results will be analyzed using bioinformatic methods.

**Mots-clés :** carrier frequency, CFTR, p.F508del.



## ■P296. RECHERCHE DE MUTATIONS CAUSANT LES MYOPATHIES CENTRONUCLÉAIRES PAR SÉQUENÇAGE HAUT DÉBIT

N. Vasli (1), J. Boehm (1), F. Plewniak (1), N. Haumesser (1), V. Biancalana (2), J.L. Mandel (1, 2), J. Laporte (1)

(1) IGBMC, U964, Illkirch, France ; (2) Laboratoire de diagnostic génétique, Faculté de Médecine, Strasbourg, France

Contact : jocelyn@igbmc.fr

For rare monogenic disorders, identification of the mutated gene is the compulsory first step towards molecular diagnosis, creation of animal models, and characterization of the pathological mechanisms, and is a prerequisite for most therapeutic approaches. Apart from a few diseases where the defective protein could be guessed from metabolic studies (eg. mutation in an enzyme synthesizing the missing metabolite), most disease genes are identified through a laborious positional cloning strategy requiring extensive informative families. Although such approach was successful, it cannot be applied to rare disorders without informative families that now represent the usual case. We aim to use "sequence capture and high throughput sequencing" with different strategies to screen thousands of candidate genes and alternatively the whole genome to find the gene(s) that are mutated in myopathies. We focus on centronuclear myopathies (CNM), a group of rare muscle diseases typically presenting an abnormal positioning of nuclei in muscle fibers. We have previously been implicated in the identification of the three genes known to be associated to CNM. Mutations in the MTM1 gene encoding a phosphoinositides phosphatase lead to the severe neonatal myotubular myopathy. Mutations in BIN1 (encoding Amphiphysin 2) and DN2 (Dynamin 2) induce autosomal recessive and dominant forms respectively. A number of patients were not found to carry mutations in the known genes despite classical CNM features. It is conceivable that other genes are implicated in the development of the disease, and this is backed up by our preliminary linkage analysis data. In our project we aim to detect premature stop codon mutation, deletion and point mutations through the use of expression chips for detecting the genes with reduce level of expression, deletion/CGH chip to detect large deletions, and sequence capture followed by high throughput sequencing, respectively. For each of these strategies, we will use different number of patients and controls. We will apply several consecutive bioinformatics filters to discard any variation that is not linked to the disease, and will sequence the best candidate genes through Sanger method in additional patients from our large panel of CNM patients. Finally, we aim to investigate the functional impact of the identified sequence variation(s) by biochemical analysis and cell-based assays. This approach, if successful, could be applied to any rare (and frequent) genetic disorders, both for molecular diagnosis and novel gene identification.

**Mots-clés :** high throughput sequencing, centronuclear myopathies (CNM).

## Maladies complexes

### ■P297. IDENTIFICATION DE POLYMORPHISMES DU GÈNE *KCNQ5* ASSOCIÉS À LA FONCTION VENTILATOIRE PAR UNE STRATÉGIE MULTI-MARQUEURS EN DEUX ÉTAPES

E. Bouzigon (1), H. Aschard (1), H. Tharrault (1), M.H. Dizier (1), R. Matran (2), F. Kauffmann (3), M. Lathrop (4), F. Demeis (1)

(1) Inserm U946, Paris, France ; (2) Univ Lille Nord de France, Lille, France ; (3) Inserm U780, Villejuif, France ; (4) CEA-CNG, Evry, France  
Contact : emmanuelle.bouzigon@inserm.fr

Un précédent criblage du génome réalisé dans les familles de l'étude EGEA (Études des facteurs Génétiques et Environnementaux de l'Asthme) par analyses de liaison génétique, a mis en évidence une liaison entre une mesure de la fonction ventilatoire (VEMS : Volume Expiratoire Maximum Seconde) et la région 6q14. Le signal de liaison détecté était plus significatif chez les germains âgés de plus de 16 ans. Nous avons exploré plus finement cette région en génotypant 399 SNPs (couvrant 30Mb) dans 203 familles (337 germains adultes). Pour réduire le problème des tests multiples, nous avons utilisé une approche en deux étapes basée sur deux méthodes multi-marqueurs : 1) Local Score et 2) FBAT multi-marqueurs (FBAT-M). Cette stratégie a permis la détection de groupes de marqueurs adjacents présentant une agrégation de scores statistiques élevés tout en prenant en compte le déséquilibre de liaison entre marqueurs. Nous avons identifié cinq marqueurs associés au VEMS (p-values allant de 0,005 à 0,0008) et qui restaient significatifs après correction de Bonferroni. Le groupe de marqueurs le plus significatif était localisé dans le gène *KCNQ5* et incluait 11 SNPs dont quatre étaient fortement associés au VEMS (p ≤

0,0007). Ces associations ont été répliquées chez 267 témoins adultes d'EGEA (p-values entre 0,03 et 0,002 pour quatre SNPs). La combinaison des p-values obtenues dans nos deux échantillons par le test de probabilité combinée de Fisher, renforçait l'évidence d'association entre le VEMS et trois SNPs (p-values combinées allant de 6x10<sup>-4</sup> à 5x10<sup>-5</sup>). Le gène *KCNQ5* est exprimé dans l'épithélium bronchique et est un déterminant du liquide de surface des voies respiratoires. Il représente donc un gène candidat intéressant de la régulation de la fonction ventilatoire. Financé par le Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche, AFSSET, ANR-CEBS, GABRIEL

**Mots-clés :** VEMS, association familiale, multi-marqueurs.

### ■P298. RECHERCHE DE RÉGIONS GÉNOMIQUES ET DE GÈNES CANDIDATS IMPLIQUÉS DANS L'AUTISME

C. Nava (1), C. Depienne (1), B. Keren (2), D. Périssé (3), J. Xavier (3), C. Laurent (3), A. Afenjar (4), A. Jacquette (4), S. Whalen (4), W. Carpentier (5), D. Cohen (3), D. Héron (4), A. Brice (1)

(1) CRICM, Inserm UMR\_S 975, Hôpital de La Pitié-Salpêtrière, Paris, France ; (2) Département de Génétique et Cytogénétique, Unité Fonctionnelle de Cytogénétique, Hôpital de La Pitié-Salpêtrière, Paris, France ; (3) Service de Psychiatrie de l'enfant et de l'adolescent, Hôpital de La Pitié-Salpêtrière, Paris, France ; (4) Département de Génétique et Cytogénétique, Unité Fonctionnelle de Génétique Clinique, Hôpital de La Pitié-Salpêtrière, Paris, France ; (5) Plate-forme post-génomique P3S, Faculté de médecine Pierre-et-Marie-Curie, Site Pitié-Salpêtrière, Paris, France  
Contact : caro.na@wanadoo.fr

**Introduction :** L'autisme est un trouble neurodéveloppemental précoce altérant la communication, les interactions sociales et les comportements. En dépit de l'évidence d'une forte composante génétique, l'anomalie génétique en cause n'est réellement identifiée que dans 10 % des cas actuellement. Les études récentes ont identifié des microréarrangements génomiques (ou CNV pour Copy Number Variant) *de novo* chez 5 à 10 % des patients autistes contre 1 % dans la population générale. **Objectifs et méthodes :** L'objectif de cette étude était double : 1) identifier des microremaniements génomiques chez 40 patients atteints d'autisme et de retard mental à l'aide de puces à ADN de haute densité de type SNP et identifier des régions homozygotes chez les patients ayant des parents apparentés dans l'hypothèse d'une pathologie autosomique récessive ; 2) utiliser les résultats de ces deux approches afin de proposer des gènes candidats. **Résultats :** Nous avons identifié une triplication 15q11-q12 et une délétion 9pter chez deux patients (un garçon et une fille). Nous avons également identifié 12 CNV différents chez 9 patients dont la signification reste inconnue ; ces CNV n'étaient pas référencés comme polymorphisme dans les bases de données et contenaient au moins un gène. Dans 7 cas (6 patients), il s'agissait d'un CNV hérité d'un parent asymptomatique, suggérant qu'il n'est pas responsable à lui seul des troubles autistiques. L'étude des parents est en cours pour les 5 autres CNV. D'autre part, l'étude d'une famille consanguine où 2 frères étaient autistes a permis d'identifier 4 régions homozygotes, en 6p21.32, 6q27, 8p21 et 15q13, présentes uniquement chez les atteints. Nous avons étudié 8 gènes candidats situés dans ces régions (GABRG3, CHRNA7, APBA2 et GREM1 en 15q13 et ELP3, PNMA2, CLU et DPYSL2 en 8p21). Cependant aucune mutation délétère n'a été identifiée. En conclusion, cette étude nous a permis d'identifier la cause de l'autisme chez 2 patients sur 40 (5 %) et de proposer de nouveaux gènes candidats à travers 2 approches : la recherche de microremaniements génomiques et l'étude des régions d'homozygoties chez les patients ayant des parents apparentés. L'interprétation des CNV reste néanmoins délicate, et le rôle des CNV référencés comme polymorphisme dans les bases de données ou n'impliquant pas de gènes mais pouvant toucher des séquences régulatrices ne peut pas être exclu. Une des suites de ce projet sera d'analyser systématiquement des trios (enfant + parents) afin de caractériser en priorité toutes les anomalies survenues *de novo*, plus vraisemblablement causales.

**Mots-clés :** autisme, copy number variant, homozygotie.

### ■P299. RENDEMENT ÉTIOLOGIQUE DANS UNE POPULATION D'ENFANTS AUTISTES ISSUS D'UNE BASE GÉOGRAPHIQUE

F. Devillard (1), V. Guinchat (2), B. Aoussine (3), M.A. Nguyen-Morel (4), F. Amblard (1), V. Satre (1), F. Prieur (5), R. Touraine (5), P.S. Jouk (1), C. Betancur (6)

(1) Département de Génétique, Hôpital Couple-Enfant, CHU de Grenoble, France ; (2) Psychiatrie de l'enfant et de l'adolescent, G.H. Pitié-Salpêtrière, Paris, France ; (3) Centre Alpin de Diagnostic Précoce de l'Autisme CADIPA, CH St Egrève, France ; (4) Département de Pédiatrie, Hôpital Couple-Enfant, CHU de Grenoble, France ; (5) Service de Génétique



*Clinique, Chromosomique et Moléculaire, CHU de St Étienne, France ; (6) INSERM U952, Université Pierre-et-Marie-Curie, Paris, France*

Contact : fdevillard@chu-grenoble.fr

Entre 2002 et 2005 nous avons étudié des patients nés entre 1985 et 1998 dans une maternité de la région Rhône-Alpes, résidant en Savoie, Haute-Savoie ou Isère et présentant un diagnostic de trouble du spectre de l'autisme. Au total 182 enfants provenant de 179 familles ont été inclus avec un diagnostic d'autisme selon les critères du DSM-IV et présentant tous un ADI-R (Autism Diagnostic Interview- Revised) positif. Tous les patients ont passé une CARS (Childhood Autism Rating Scale) permettant d'évaluer le degré de sévérité du syndrome autistique. Le sexe ratio est de 4:1 (147 M/35 F). 85 % présentent un retard mental. Le bilan étiologique a consisté en une évaluation par un neuropédiatre, une évaluation des photographies par un staff de généticiens, un caryotype sanguin avec recherche des microremaniements par FISH des régions 15q11-q13, 22q11 et 22q13 et éventuellement des régions subtélomériques en présence d'une dysmorphie ou de malformations associées, une recherche d'X fragile, un bilan métabolique, une IRM et un EEG. Ce premier bilan étiologique a été complété par une recherche de microdélétions/microduplications impliquées dans le retard mental ainsi qu'une étude des régions subtélomériques par MLPA pour tous les enfants et une étude du gène MECP2 chez les filles avec retard mental. Les résultats des analyses génétiques ont montré : • 16 anomalies chromosomiques ou génomiques dépistées sur le caryotype ou par MLPA (8,7 %). Elles consistent en 4 anomalies gonosomiques et 5 remaniements autosomiques dépistés sur le caryotype, 4 anomalies génomiques dépistées par FISH (Angelman, Prader-Willi, Di George, Wolf-Hirschhorn) et 3 anomalies génomiques dépistées par MLPA (duplication 17p11.2, délétion 17q21.31, duplication Xq28). • 7 diagnostics de syndrome X Fragile (3,8 %) • 4 diagnostics de syndromes géniques (2 %) confirmés par biologie moléculaire (syndrome de Cohen, syndrome de Nance-Horan et deux syndromes de Rett). Au total un diagnostic a été identifié dans 26 familles/179 soit dans 14,5 %. Les résultats de cette étude confirment le nombre important de maladies génétiques rares associées à l'autisme, incluant des maladies monogéniques, des anomalies chromosomiques, des microdélétions et microduplications. Des délétions et duplications ont pu être détectées chez des patients sans un phénotype spécifique grâce au screening systématique par MLPA. Tous les patients avec un trouble du spectre de l'autisme devraient donc bénéficier d'un bilan étiologique afin d'identifier les causes génétiques connues.

**Mots-clés :** autisme, étiologie, génétique.

### ■P300. WHOLE GENOME ANALYSES OF DYSLEXIA AND SPECIFIC LANGUAGE IMPAIRMENT

G. Huguet (1), N. Lemièrre (1), R. Toro (1), C. Bogliotti (3), S. Ianuzzi (6), Y. Chaix (6), C. Billard (4), C.L. Gerard (5), J.F. Demonet (6), J. Ziegler (7), I. Soares-Boucaud (8), S. Valdois (9), F. Ramus (3), T. Bourgeron (1, 2), F. Fauchereau (1, 2)

(1) *Laboratoire de Génétique Humaine et Fonctions Cognitives, Institut Pasteur, Paris, France ; (2) Université Paris Diderot Paris 7, Paris, France ; (3) Laboratoire de Sciences Cognitives et Psycholinguistique (EHESS/CNRS/DEC-ENS), Paris, France ; (4) Hôpital du Kremlin-Bicêtre, France ; (5) Hôpital Robert-Debré, Paris, France ; (6) CHU Purpan, Toulouse, France ; (7) Hôpital La Timone, Marseille, France ; (8) Hôpital Edouard-Herriot, Lyon, France ; (9) CHU Grenoble, Grenoble, France*

Contact : fabienf@pasteur.fr

Developmental dyslexia is defined as a specific and significant impairment in the development of reading skills that is not solely accounted for by mental age, visual acuity problems, or inadequate schooling. Specific language disorder is a developmental disorder in which the child's ability to use expressive spoken language and/or understanding of language is below the appropriate level for its mental age. Our aim is to better understand the contribution of genes to the development of these two language impairments. Previously, linkage and association studies have allowed the identification of 9 loci in dyslexia and the proposition of candidate genes, such as KIAA0319, TTRAP, DCDC2, and DYX1C1. The identification of genes involved in dysphasia is still restricted to FOXP2. Our strategy has been to use high-throughput genotyping of cohorts of controls and patients. The collaboration of several centres in France allowed the recruitment of 171 dyslexic patients, 45 patients with dysphasia, 407 siblings and parents, and 92 non-affected controls. For each of them, DNA was studied using Illumina 660K Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs) arrays. These arrays allow both the genotyping of SNPs and the identification of Copy Number Variations. After genotyping, we will conduct association studies between genotyped SNPs and Copy Number Variations, and language impairments, in order to find new candidate genes.

**Mots-clés :** language, disorder, arrays.

### ■P301. TACKLING THE GENETIC DIVERSITY OF AUTISM SPECTRUM DISORDERS

M. Konyukh (1), C. Leblond (1), R. Delorme (2), R. Toro (1), C. Gillberg (3), M. Leboyer (4), T. Bourgeron (1)

(1) *Institut Pasteur, Université Paris 7, CNRS URA 2182, Paris, France ; (2) Hôpital Robert Debré, Paris, France ; (3) Department of Child and Adolescent Psychiatry, Göteborg University, Göteborg, Sweden ; (4) INSERM U513, Faculté de Médecine, Université Paris XII, Créteil, France*  
Contact : thomasb@pasteur.fr

Autism spectrum disorders (ASD) can be diagnosed by the age of 3 years based on alterations of three behavioral domains: social deficits, impaired language and communication skills, and stereotyped and repetitive behaviors. Beyond this seemingly unifying definition, lies an extreme degree of clinical heterogeneity, ranging from severe impairments to mild personality traits. Hence autism is not a single disease entity, but rather a complex phenotype encompassing either multiple "autistic disorders", or a continuum of autistic-like traits and behaviors, which includes autistic disorder, pervasive development disorder not otherwise specified and Asperger syndrome. Only in approximately 10 % of the affected individuals, autism is associated to a known genetic disorder, such as chromosomal rearrangement, fragile X syndrome, tuberous sclerosis, and neurofibromatosis. Most of the time the etiology of the disorder remains unknown, and in all cases no efficient therapy can be proposed to the families. Using the Illumina platforms of the Centre National de Génotypage (CNG) and the newly implemented platform at the Pasteur Institute, we have already genotyped 400 patients with ASD. The Human1M Bead-Chip specifically targets genes, tag SNPs, CNVs, and other high-value genomic regions, offering the most comprehensive genotyping available on a single microarray. The data generated by this high-throughput analysis is then used to perform whole genome linkage/association analyses and to detect copy number variants (CNVs) in the patients. The genotyping was performed in two phases. In the first phase, only the probands were genotyped. In the second phase the relatives of a subgroup of patients with compelling CNVs were genotyped. To better analyze the CNV, we also developed a genome viewer named SnipPeep that will be demonstrated during the presentation. Using this approach we could confirm the implication of the NRXN-NLGN-SHANK synaptic pathway in ASD. Furthermore, we could identify new susceptibility genes for ASD. Taken together, these results illustrate the genetic heterogeneity of ASD, but also shed light on common pathways altered in subgroups of patients with ASD.

**Mots-clés :** autism, SNP, CNV.

### ■P302. ÉTUDE GENESIS : DEUX ANS D'INCLUSION !

S. Eon-Marchais (1), M. Marcou (1), L. Toulemonde (1), M.G. Dondon (1), J. Beauvallet (1), F. Toribio (1), L. Barjhoux (2), C. Vemy (2), E. Cavaciuti (1), V. Bonadona (3), H. Sobol (4), C. Noguès (5), O. Caron (6), P. Berthet (7), C. Bonaïti (8), M.C. Babron (8), O. Sinilnikova (2), N. Andrieu (1), D. Stoppa-Lyonnet (9) pour GENESIS – groupe « Génétique et Cancer »

(1) *Inserm U900, Mines ParisTech, Institut Curie, Paris, France ; (2) Unité Mixte de Génétique Constitutionnelle des Cancers Fréquents, Hospices Civils de Lyon, UMR5201 CNRS, Centre Léon-Bérard, Lyon, France ; (3) UMR CNRS 5558, Centre Léon Bérard, Lyon, France ; (4) Département d'Oncologie Génétique de Prévention et Dépistage, Inserm EMI 9939, Institut Paoli-Calmettes, Marseille, France ; (5) Laboratoire d'Oncogénétique, Centre René-Huguenin, Saint-Cloud, France ; (6) Consultation d'Oncogénétique, Département de Médecine, Institut Gustave-Roussy, Villejuif, France ; (7) Service d'Oncologie Génétique, Centre François-Baclesse, Caen, France ; (8) Inserm U535, Hôpital Paul Brousse, Villejuif, France ; (9) Inserm U830, Université Paris Descartes, Service de Génétique Oncologique, Institut Curie, Paris, France*  
Contact : severine.eonmarchais@curie.net

Contexte et Objectifs- Le cancer du sein (CS) est une pathologie qui concerne environ 10 % des femmes. Deux gènes, BRCA1 et BRCA2, ont été identifiés (Miki *et al.* 1994, Wooster *et al.* 1995) ; leurs mutations sont impliquées dans environ 5 % des CS et seulement 15 à 20 % des cas familiaux testés. 80 % des cas familiaux restent inexpliqués. L'étude GENESIS a été mise en place pour identifier de nouveaux gènes de prédisposition et évaluer leur rôle dans l'apparition d'un CS ainsi que celui de facteurs non génétiques qui pourraient modifier leur effet. Ceci permettrait une meilleure prise en charge des femmes à risque. Nous proposons de présenter l'état d'avancement et un descriptif intermédiaire de GENESIS. Données et Méthodes- GENESIS combine une étude de liaison génétique non paramétrique chez des paires de sœurs atteintes de CS, 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). L'effectif attendu est 1 000 paires de sœurs et



4 000 témoins. Les diverses étapes du protocole sont coordonnées par le Centre Coordonnateur\* et le Centre de Ressources Biologiques#. Les cas index sont invités par les consultants en génétique du Groupe Génétique et Cancer de la Fédération Nationale des Centres de Lutte Contre le Cancer. Le recueil de caractéristiques phénotypiques des cas (densité mammaire, caractéristiques tumorales etc.) permettra de définir des endophénotypes et de diminuer ainsi l'hétérogénéité génétique au sein de la population d'étude. Des données épidémiologiques (facteurs gynéco-obstétriques, traitements hormonaux, habitudes tabagiques actives et passives, expositions aux radiations etc.) et des échantillons sanguins sont collectés. La densité mammaire est calculée avec le logiciel « Cumulus » après numérisation des mammographies précédant le diagnostic de CS ou des dernières mammographies pour les témoins indemnes. État d'avancement – En septembre 2009, 1022 cas index, 541 sœurs atteintes, 385 sœurs indemnes et 922 amies ont accepté de participer et ont reçu un dossier d'inclusion. 75 % ont renvoyé leur questionnaire, 78 % ont fait leur prélèvement sanguin, 70 % ont fourni des mammographies qui ont pu être numérisées. Perspectives- Un peu plus de la moitié des cas index inclus ont une sœur atteinte qui participe à l'étude. 1 820 cas index doivent donc être inclus pour atteindre l'objectif des 1 000 paires de sœurs atteintes. La dynamique d'inclusion des cas index doit s'accélérer, en particulier par l'invitation des cas « prospectifs », lors de la remise de leur résultat BRCA1/2 négatif. Le protocole de l'étude GENEGO portant sur les caractéristiques tumorales de GENESIS est en cours d'élaboration. Des études intermédiaires sur des gènes ou pathways « candidats » seront bientôt proposées. Remerciements – GENESIS est soutenue par la Ligue Nationale Contre le Cancer depuis 2006 et par l'Institut National du Cancer depuis 2008.

**Mots-clés :** cancer du sein, gènes de prédisposition, interaction gène-environnement.

### ■P303. CANCER DU POUMON ET GÈNES DE REPARATION DE L'ADN : ASSOCIATION SIGNIFICATIVE AVEC MSH5 ET INTERACTION POTENTIELLE ENTRE LE TABAC ET RAD54B

R. Kazma (1, 2), E. Génin (2, 3), V. Gaborieau (4), M.C. Babron (2, 3), P. Brennan (4), R.J. Hung (5), H. Krokan (6), A. Metspalu (7), J.K. Field (8), M. Lathrop (9, 10), A. Sarasin (10), S. Benhamou (2, 3, 11) et le consortium ILCCO

(1) Univ Paris-Sud, Faculté de Médecine, Le Kremlin Bicêtre, France ; (2) Inserm UMR-S946, Fondation Jean Dausset – CEPH, Paris, France ; (3) Univ Paris-Diderot, Paris, France ; (4) International Agency for Research on Cancer (IARC), Lyon, France ; (5) University of California at Berkeley, Berkeley, California, USA ; (6) Norwegian University of Science and Technology, Trondheim, Norway ; (7) Institute of Molecular and Cell Biology, University of Tartu, Tartu, Estonia ; (8) University of Liverpool Cancer Research Center, Liverpool, United Kingdom ; (9) Centre National de Génotypage, Commissariat à l'Énergie Atomique, Évry, France ; (10) Fondation Jean Dausset – CEPH, Paris, France ; (11) CNRS FRE2939, Institut Gustave-Roussy, Villejuif, France  
Contact : remi.kazma@inserm.fr

Le cancer du poumon est la première cause de décès par cancer dans le monde. Bien que le tabac soit le principal facteur de risque de cancer du poumon, des facteurs génétiques contribuent probablement au développement de ce cancer. En particulier, des polymorphismes sur des gènes de réparation de l'ADN sont de bons candidats de par leur rôle fondamental dans la réparation des lésions induites par les carcinogènes du tabac. En outre, ces polymorphismes pourraient moduler l'effet du tabac sur le risque de cancer du poumon par des interactions gène-environnement. Afin d'évaluer le rôle de 1 823 substitutions nucléotidiques (Single Nucleotide Polymorphisms : SNPs) dans ou à proximité de 233 gènes de réparation de l'ADN, ainsi que leurs interactions avec l'exposition au tabac, nous avons regroupé les données individuelles de 6 études d'association pangénomiques récentes comportant au total 3 416 cas de cancer du poumon et 4 374 témoins. Nous avons mis en évidence une augmentation significative du risque de cancer du poumon associé au SNP rs3131379 du gène MSH5 ( $P = 3,57 \times 10^{-5}$ ) avec un odds ratio (OR) de 1,30 (Intervalle de Confiance (IC) à 95 % : 1,15-1,47) en supposant un modèle co-dominant. Par ailleurs, l'effet de ce SNP varie significativement selon le type histologique ( $P = 9,1 \times 10^{-3}$ ) : le risque est plus élevé pour les cancers épidermoïdes (OR = 1,52, IC 95 % : 1,28-1,80) que pour les adénocarcinomes (OR = 1,04, IC 95 % : 0,84-1,30) ou les autres types histologiques (OR = 1,31, IC 95 % : 1,09-1,57). Les analyses d'interaction avec le tabac ont mis en évidence des différences de risque de cancer du poumon pour le polymorphisme rs293096 du gène RAD54B ; le test d'interaction n'était cependant pas significatif après correction pour les tests multiples ( $P = 2,31 \times 10^{-4}$ ) avec un coefficient d'interaction estimé de 1,54 (IC 95 % : 0,78-2,95). Comparé au génotype de référence T/T, le risque de cancer du poumon est de 0,79 (IC 95 % : 0,59-1,05) pour le génotype T/C et de 0,43 (IC 95 % :

0,25-0,73) pour le génotype C/C chez les non-fumeurs et de 1,10 (IC 95 % : 0,98-1,25) et 1,13 (IC 95 % : 0,94-1,36) respectivement chez les fumeurs. Nos résultats confirment une association précédemment rapportée avec le variant rs3131379 du gène MSH5 et des estimations de risque similaires. Ce gène code pour un membre de la famille de protéines MutS impliquées dans la réparation des mésappariements ainsi que dans les processus de recombinaison mitotique et méiotique. RAD54B est une ATPase ADN-dépendante également impliquée dans la réparation homologue mitotique et méiotique. Des mutations homozygotes de ce gène ont été décrites en association avec différents cancers. En conclusion, nos résultats suggèrent un rôle de la réparation de l'ADN par recombinaison dans la susceptibilité individuelle au cancer du poumon.

**Mots-clés :** cancer du poumon, gène candidat, interaction gène-environnement.

### ■P304. RECHERCHE DES GÈNES IMPLIQUÉS DANS LE PROLAPSUS VALVULAIRE MITRAL SUR LE LOCUS DU CHROMOSOME 16

M. Perrocheau-Garard (1), D. Molière (2), A. Hagège (3), X. Jeunemaitre (1, 2)

(1) INSERM U970, PARCC, Paris, France ; (2) Service de Génétique, Hôpital Européen Georges-Pompidou, Paris, France ; (3) Service de Cardiologie, Hôpital Européen Georges-Pompidou, Paris, France  
Contact : xavier.jeunemaitre@inserm.fr

Le prolapsus valvulaire mitral idiopathique (MMVP), encore appelé maladie de Barlow, est une pathologie cardiaque fréquente caractérisée par une dégénérescence myxoïde des feuillets valvulaires mitraux qui conduit au prolapsus de la valve. La plupart des PVM sont sporadiques mais il existe des formes familiales de la maladie. Quatre loci ont été identifiés à ce jour. Parmi eux, le locus MMVP1 localisé sur le chromosome 16p11-12, a été identifié à partir de 2 familles françaises (Disse *et al.* Am J Hum Genet 1999). Ce locus relativement large (15 cm) comprend 185 gènes mais aucun gène responsable n'a été identifié à ce jour. L'objectif de ce travail est de tester des gènes candidats positionnels pertinents. Six gènes candidats ont été testés par séquençage direct des régions codantes et des bornes intron-exon. Pour chaque gène, 2 patients atteints et 2 patients non atteints issus des 2 familles liées au locus MMVP1 ont été testés, ainsi que 46 cas-index de familles plus limitées et non-informatives. Trois gènes (Nomo1, Nomo2 et Nomo3) ont été sélectionnés. Ils appartiennent à la famille des modulateurs Nodal qui interagissent avec des protéines de la famille des TGF- $\beta$ , connues pour jouer un rôle important dans la formation des valves cardiaques et dans la régulation de l'expression des gènes du collagène et de la matrice extracellulaire. Les gènes Nomo1, Nomo2 et Nomo3, localisés respectivement en 16p13.11, 16p12.3 et 16p13.11, s'étendent sur approximativement 63 kb et contiennent chacun 30 exons. Aucune mutation n'a été identifiée dans la région codante de ces gènes. Seuls ont été retrouvés des polymorphismes connus et des variants rares non codants. Nous avons également analysé 3 membres de la famille des heparan sulfate sulfotransférase (HS3ST1, HS3ST2 et HS3ST4) qui régulent la synthèse des protéoglycanes à heparan sulfate. Les gènes HS3ST2 et HS3ST4 sont localisés en 16p12 et s'étendent approximativement sur 123 kb. Chacun est composé de 2 exons séparés par un large intron. Pour ces 3 gènes, l'analyse génétique est également négative et aucune mutation pathogénique n'a été identifiée. Cette étude illustre la difficulté pour identifier le gène causal dans une maladie lorsque l'intervalle de liaison est large en raison du grand nombre de gènes à analyser. L'extension de familles liées au chromosome 16p ainsi que l'analyse de nouvelles familles informatives sont requises pour affiner l'intervalle de liaison MMVP1.

**Mots-clés :** prolapsus valvulaire mitral, gènes candidats, séquençage.

### ■P305. DYSFONCTIONNEMENT DU SYSTÈME IMMUNITAIRE DANS LES MALADIES INFLAMMATOIRES CHRONIQUES DE L'INTESTIN

R. Marrakchi, A. Benammar Elgaaeid  
Laboratoire de Génétique, Immunologie et Pathologies Humaines, Faculté des Sciences de Tunis, Université EIManar, Tunisie  
Contact : raja.triki@laposte.net

Les maladies inflammatoires sont causées par des dérèglements du système immunitaire dans lesquels des réponses excessives sont provoquées par certains lymphocytes effectrices et les médiateurs qu'ils sécrètent. La maladie de Crohn (MC) et la recto-colite hémorragique (RCH), sont deux affections distinctes pour lesquelles les stratégies thérapeutiques sont différentes. Le gène NOD2/CARD15 a été identifié comme un gène susceptible de MC. Les rôles de NOD2/CARD15 dans la reconnaissance des

bactéries par le macrophage et dans la régulation de NF- $\kappa$ B et des cytokines font de ce gène un acteur clef de la réponse immunitaire naturelle. L'activation par NOD2 du facteur transcriptionnel NF- $\kappa$ B est suivie de la pénétration de ce dernier dans le noyau de la cellule, ce qui entraîne l'expression de nombreux gènes dont ceux des cytokines inflammatoires, qui sont responsables de l'inflammation. Notre travail consiste à étudier le polymorphisme du promoteur d'IL-10 à la position -627 et -1117 chez les maladies ayant la maladie de Crohn et les malades ayant la RCH ; cette étude est complétée par une comparaison entre les groupes de malades porteurs et non porteurs de la mutation 3020insC de CARD15. Nos résultats ont permis de mieux définir les bases immunologiques et génétiques de la susceptibilité des MICI, et aboutir ainsi à une meilleure compréhension des mécanismes de la MC à travers de l'étude de ses marqueurs moléculaires et immunitaires les plus puissants NOD2/CARD15 et ASCA et l'expression de IL-10.

**Mots-clés :** NOD2/CARD15, MICI, IL-10.

**■P306. ANALYSE DU GÈNE *BTNL2* (BUTYROPHYLLIN-LIKE2) DANS UNE LARGE COHORTE DE FAMILLES FRANÇAISES PRÉDISPOSÉES À LA SARCOÏDOSE**

A. Calender (1, 2), R. Lamy (1), M.H. Castaldi (3), M. Gourin (4), G. Devouassoux (3), D. Valeyre, (5), P. Roy (6), S. Lebecque (7), Y. Pacheco (3)

(1) Service de Génétique, Hôpital Édouard Herriot, CHU de Lyon, France ; (2) CNRS UMR 5201, Université Claude-Bernard Lyon 1, France ; (3) CHU de Lyon, Service de Pneumologie Lyon Sud, France ; (4) HC Forum, Grenoble, France ; (5) Service de Pneumologie et Médecine Interne, Hôpital Avicenne, Bobigny, France ; (6) Service de Biostatistiques et CNRS UMR 5558, CHU de Lyon, France ; (7) CNRS UMR 5201, Immunologie et Oncogénèse, Université Claude Bernard Lyon 1, France

Contact : alain.calender@chu-lyon.fr

La sarcoïdose ou maladie de Besnier-Boeck-Schauman est une pathologie inflammatoire systémique commune, de fréquence mal définie, caractérisée par une lymphogranulomatose essentiellement pulmonaire, mais pouvant affecter l'ensemble des organes, œil, peau, cœur, reins, glandes salivaires, foie, rate et tout système riche en ganglions lymphatiques. Même si elle considérée comme bénigne, la sarcoïdose évolue en insuffisance respiratoire sévère dans 20 % des cas, conditionnant le pronostic vital. Cette affection est le plus souvent de présentation a priori sporadique, et dans 5 % des cas familiale sur un mode apparent autosomique dominant. Le caractère multifactoriel est démontré sur la base d'études épidémiologiques, la prévalence variant en fonction de l'ethnie, de l'âge, de facteurs infectieux ou d'exposition toxique (beryllium) mais aussi héréditaires. Dans les formes familiales, plusieurs gènes de prédisposition, d'influence probablement modérée, ont été mis en évidence ces dernières années. Parmi eux, le gène *BTNL-2* (butyrophyllin-like 2) code une protéine de la superfamille des immunoglobulines, à localisation membranaire, avec possibilité de clivage d'un facteur soluble, dont la fonction principale semble la régulation négative de la réponse des cellules T à la présentation de l'antigène par les cellules dendritiques. *BTNL-2* est proche par cette fonction de CD86. Un SNP (Single Nucleotide Polymorphism) référencé rs2076530 avait été préalablement identifié comme une probable mutation causale des formes familiales, cette substitution en position -1 d'un site donneur dans l'intron 5 du gène, induisant l'activation d'un site cryptique d'épissage 4 paires de base en amont dans l'exon 5, et de ce fait une délétion de type frameshift et une troncation de la protéine codée par l'ARN muté. La forme mutée de *BTNL-2* (forme S) pourrait générer une libération constitutionnelle du facteur soluble et en conséquence une dérégulation de la présentation de l'antigène, et au final la réponse inflammatoire. Afin d'étudier la causalité de cette anomalie génétique dans la prédisposition génétique, nous avons collecté dans le cadre d'un projet collaboratif national (PHRC) une large série de familles présentant 2 cas ou plus de sarcoïdose liés au premier degré et évalué le risque relatif (RR) associé à la présence du SNP pathogène rs2076530. L'étude porte sur 236 patients sarcoïdosi-ques, dont près de 120 associés à une forme familiale, 116 cas a priori sporadiques et en comparaison à 172 témoins. Nos données suggèrent que le risque relatif associé à cette mutation est faible (RR < 1,5) mais significatif, mais surtout que la présence d'un génotype homozygote muté pour le SNP rs2076530 est fréquemment retrouvée dans les familles avec plus de 2 cas, suggérant la possibilité d'un effet soit ancestral, soit de consanguinité ancienne dans certaines familles et ethnies spécifiques. L'intérêt clinique de l'analyse de *BTNL2* est discuté sur la base de ces résultats.

**Mots-clés :** gène candidat, multigénique, maladies multifactorielles.

**■P307. APPORT DE LA BIOPSIE MUSCULAIRE AU DIAGNOSTIC DES MALADIES MITOCHONDRIALES**

L.A. Vincent (1), M. Louha (1), S. Filaut (1), I. Lemiere (1), P. Laforêt (2), N. Romero (3), A. Lombès (4), B. Hainque (1), C. Jardel (1, 4)  
(1) APHP, Biochimie métabolique, centre de génétique moléculaire et chromosomique, GH Pitié-Salpêtrière, Paris, France ; (2) APHP, Centre de Référence de pathologie neuromusculaire Paris-Est, GH Pitié-Salpêtrière, Paris, France ; (3) Laboratoire de pathologie musculaire Risler, Institut de Myologie, GH Pitié-Salpêtrière, Paris, France ; (4) INSERM, UMRs 975, Hôpital de la Salpêtrière, Paris, France  
Contact : claude.jardel@psl.aphp.fr

Les maladies mitochondriales constituent un ensemble très hétérogène de pathologies dû à un dysfonctionnement de la chaîne respiratoire, dont le diagnostic est difficile. Évoqué devant la présentation clinique et l'augmentation du lactate (sang et/ou LCR), la démarche diagnostique au laboratoire repose sur l'examen anatomopathologique de la biopsie musculaire, puis sur la mesure des activités de la chaîne respiratoire (ASCR) et/ou l'étude par génétique moléculaire de l'ADN mitochondrial (ADNmit) ou de gènes nucléaires impliqués dans cette maladie. L'objet de ce travail rétrospectif est de comparer l'apport de ces différentes investigations dans le cheminement diagnostique. Matériel et méthodes : nous avons analysé les résultats obtenus sur les 1 962 biopsies musculaires de patients de 0 à 88 ans, adressés au laboratoire du groupe hospitalier pitié salpêtrière pour suspicion de maladie mitochondriale, entre 1992 et 2007. Les analyses réalisées étaient la morphologie musculaire (n = 1201), ASCR (n = 1221, la recherche de délétion de l'ADNmit par Southern Blot ou PCR longue (n = 1029), la recherche de mutations ponctuelles de l'ADNmit par DGGE ou séquençage (n = 527), le screening par séquençage de gènes nucléaires impliqués dans la maintenance de l'ADNmit (POLG, DGUOK, TK2, surf1). Résultats : 507 patients présentaient des anomalies mitochondriales caractéristiques (Ragged Red Fibers, fibres COX-) ; elles étaient accompagnées de diminution isolée ou combinée des ASCR dans environ 50 % des cas ; 61 patients (16 %) sur 372 analysés présentaient une délétion de l'ADNmit tandis que 69 patients (24 %) sur 290 étudiés présentaient une mutation pathogène de l'ADNmit ; parmi les patients présentant des anomalies modérées (n = 313) ou ayant une morphologie normale (n = 276) une anomalie de l'ADNmit n'était trouvée que chez 20 patients (5 délétions et 15 mutations ponctuelles). Au total le diagnostic moléculaire a pu être posé pour 304 patients, soit 15 % des patients adressés pour suspicion de maladies mitochondriales ; le rendement diagnostique est amélioré dans le groupe des patients avec déficit isolé ou combiné de la chaîne respiratoire (24 %) ou avec une morphologie musculaire évocatrice (40 %). Conclusion : ce travail illustre la difficulté du diagnostic biologique des maladies mitochondriales et met en évidence la nécessité de disposer d'une biopsie musculaire dont l'analyse permet de considérablement améliorer le rendement du diagnostic génétique en particulier chez l'adulte.

**Mots-clés :** diagnostic, mitochondrie, biopsie musculaire.

**■P308. SEARCHING FOR GENETIC VARIANTS INVOLVED IN THE PROGRESSION OF CEREBRAL DEMYELINATION IN X-LINKED ADRENOLEUKODYSTROPHY (ALD): A WAY TO IMPROVE HEMATOPOIETIC STEM-CELL TRANSPLANTATION**

M. Barbier (1), O. Ahouansou (1), M. Asheuer (1), I. Dijkstra (2), R. Ofman (2), C. Trainor (3), S. Kemp (2), P. Aubourg (1)  
(1) UMR745, Faculty of Pharmacological and Biological Sciences, University Paris-Descartes, Paris, France ; (2) Academic Medical Center, University of Amsterdam, The Netherlands ; (3) Laboratory of Molecular Biology, NIDDK, National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA.  
Contact : mathieu.barbier@inserm.fr

ALD is a severe neurodegenerative disease, characterized by a progressive demyelination within the central and peripheral nervous system, adrenal insufficiency (Addison's disease) and accumulation of very-long-chain fatty acids (VLCFA) in plasma, fibroblasts and tissues. Sixty-five percent of patients with ALD develop lethal cerebral demyelination (or cerebral ALD) that can however be arrested by allogeneic hematopoietic stem-cell transplantation (HSCT), provided the procedure is performed at an early stage of the disease. The narrow therapeutic window during which HSCT has beneficial effects in ALD patients and the lack of biomarkers to predict disease evolution have hampered the indication of HSCT in patients with more advanced stage of cerebral ALD. Any additional therapy allowing to slow down the progression of cerebral demyelination at time of HSCT would be in addition valuable. ALD is a X-linked disease resulting from mutations in the *ABCD1* gene. In male, ALD is fully penetrant after 45 years of age, but there is no correlation between the disease evolution and *ABCD1* mutations. Since not all patients with ALD develop cerebral demyelination, this prompted us to search for gene variants that could play



a role in the progression/onset of cerebral demyelination. Among them, ELOVL1, coding for an elongase involved in the synthesis of VLCFA, appears to be a promising gene. We genotyped ELOVL1 polymorphisms in controls and patients with AMN (adult ALD patients who do not develop cerebral demyelination) or cerebral ALD. We detected a polymorphism in the ELOVL1 promoter associated with a significant risk to develop cerebral ALD ( $P = 0.017$ ,  $OR = 2,092$ ). Studies are underway to demonstrate the functional role of this variant in the synthesis of VLCFA. The identification of this polymorphism could help to identify which ALD patients are the most at risk to aggravate cerebral demyelination at time of HSCT and pave the way to develop pharmacological approaches to decrease synthesis of VLCFA within the brain in order to slow down cerebral demyelination after HSCT.

**Mots-clés :** adrenoleucodystrophie, génétique.

**■P309. GÈNES MODIFICATEURS ET HÉMOCHROMATOSE LIÉE AU GÈNE HFE : INFLUENCE DE VARIANTES RARES SITUÉS DANS LA RÉGION PROMOTRICE DU GÈNE CODANT L'HEPCIDINE (HAMP) SUR L'EXPRESSION PHÉNOTYPIQUE DU GÉNOTYPE P.C282Y/P.C282Y**

G. Le Gac (1), C. Ka (1), I. Gourlaouen (1), B. Hérault (2), B. Martin (3), V. Scotet (1), C. Férec (1)

(1) *Inserm U613, Établissement Français du Sang, Laboratoire de Génétique Moléculaire et d'Histocompatibilité du CHU, Université de Bretagne Occidentale, Brest, France*; (2) *Établissement Français du Sang, Tours, France*; (3) *Établissement Français du Sang, Niort, France*  
Contact : gerald.legac@univ-brest.fr

Introduction : Il est aujourd'hui parfaitement admis que la pénétrance du génotype HFE p.C282Y/p.C282Y est incomplète. Cette constatation prévaut sur une définition clinique de l'hémochromatose, mais elle est également valable si on considère des marqueurs biologiques. L'identification de gènes modificateurs a fait l'objet de nombreuses études. Pour l'essentiel, ces études ont été basées sur l'analyse de variants fréquents situés dans des gènes susceptibles d'influencer directement la surcharge en fer ou de produire un effet synergique sur la constitution d'une fibrose hépatique. Des effets significatifs ont été révélés par plusieurs équipes, mais ces effets n'ont que très rarement été répliqués. Dans cette étude, nous rapportons l'influence de deux variations rares sur l'expression phénotypique du génotype p.C282Y/p.C282Y. Ces variations sont localisées dans la partie promotrice du gène HAMP. L'une est localisée au niveau du point +1 de transcription (c.-72 C>T), l'autre se situe à l'intérieur d'une séquence de 6 pb qui joue un rôle fondamental dans la régulation de la synthèse hépatique d'hepcidine en fonction des quantités de fer présentes dans l'organisme (c.-153 C>T). Cette régulation s'articule autour d'une voie de signalisation cellulaire de type BMP/Smad qui implique l'hémojuvénine et la protéine circulante BMP6. Résultats : Phénotypes observés Les variations c.-72 C>T et c.-153 C>T ont été identifiées à l'état hétérozygote chez deux femmes, âgées respectivement de 49 et 47 ans. Au moment du diagnostic, ces deux femmes présentaient des phénotypes comparables : coefficient de saturation de la transferrine supérieur à 90 % (92 vs 99) et ferritine sérique supérieure à 1 200 µg/L (1 282 vs 1 234). L'existence d'une surcharge en fer importante avait été confirmée par l'évaluation de la quantité de fer soustraite par phlébotomie (3,6g dans les deux cas). Une comparaison avec les données observées chez des femmes homozygotes pour la mutation p.C282Y et appartenant à la même classe d'âges (45-50 ans ; n = 35), permettait de compléter nos observations et de qualifier les phénotypes observés de sévères. Tests fonctionnels : Nous avons estimé l'activité promotrice du gène HAMP en clonant la séquence de type sauvage et les séquences mutées dans le vecteur pGL3. Des mesures de l'activité luciférase ont permis d'établir que la variation c.-72 C>T provoque une réduction significative de l'activité basale du promoteur (baisse de 35 %), alors que la variation -153 C>T modifie l'activité basale du promoteur (baisse de 60 %) tout en le rendant insensible à une stimulation par l'hémojuvénine et/ou BMP6. Conclusion : Il existe une cohérence entre les résultats des tests fonctionnels, la localisation des variants et les données de la littérature. De fait, notre étude confirme l'intérêt d'une recherche de variants rares dans le contexte de phénotypes extrêmes et incite à une étude plus approfondie des gènes impliqués dans la régulation de la synthèse hépatique d'hepcidine.

**Mots-clés :** hémochromatose, pénétrance, gènes modificateurs.

**■P310. APOE EPSILON4 INCREASES THE RISK OF BULBAR-ONSET AMYOTROPHIC LATERAL SCLEROSIS IN MEN**

J. Praline (1, 2), P. Vouret'h (1, 3), H. Blasco (1, 3), M.A. Garrigue (3), P.H. Gordon (4), W. Camu (5), P. Corcia (1, 2), C.R. Andres (1, 3) and The French ALS Study Group (6)

(1) *UMR INSERM U930, Université François-Rabelais, Tours, France*; (2) *Centre SLA, Service de Neurologie et Neurophysiologie Clinique, CHRU de Tours, France*; (3) *Laboratoire de Biochimie et de Biologie Moléculaire, Hôpital Bretonneau, CHRU Tours, France*; (4) *Northern Navajo Medical Center, Shiprock, New Mexico, USA*; (5) *Centre SLA, Hôpital Gui-de-Chauliac, CHU Montpellier, France*; (6) *French ALS study group* : F. Dubas and G. Nicolas (Angers), L. Rumbach (Besançon), P. Clavelou, N. Guy (Clermont-Ferrand), G. Besson (Grenoble), A. Destée and V. Brunaud-Danel (Lille), P. Couratier (Limoges), E. Broussole, C. Vial and N. Vandenberghe (Lyon), W. Camu and N. Pageot (Montpellier), M. Debouverie (Nancy), C. Desnuelle (Nice), A. Lagueny, G. Lemasson and E. Salort (Bordeaux), V. Meininger, F. Salachas, P.-F. Pradat, M. Dib, G. Bruneteau and N. Leforestier (Paris), J. Pouget, D. Lardiller and A. Verschuren (Marseille), F. Viader and L. Carluher (Caen), C. Tranchant, A. Echaniz-Laguna (Strasbourg), J.-C. Antoine and J.P. Camdesanche (Saint-Etienne), M.-C. Arne-Bes and P. Cintas (Toulouse), P. Corcia and J. Praline (Tours), France  
Contact : helene.blasco@univ-tours.fr

Objective. We examined the APOE alleles in a large cohort of patients with sporadic amyotrophic lateral sclerosis (SALS) to determine whether APOE is a susceptibility or modifying factor for SALS. Methods. Clinical data and blood samples were obtained from 1,546 patients with SALS and 955 controls. The APOE polymorphisms were determined and analysed by univariate and multivariate statistics, taking into account gender, site and age-at-onset. Results. We did not observe differences in genotypes or allele frequencies of the APOE gene between SALS and control groups. Patients with bulbar-onset were more likely to be women (odds ratio (OR) = 2.17 ; CI 95 % : 1.74-2.72), and to be older (OR = 3.47 comparing the oldest group to the youngest ; CI 95 % : 2.58-4.67). There was a significant difference in the distribution of APOE epsilon4 carriers between patients with limb and bulbar-onset (OR = 1.39 bulbar versus limb-onset ; CI 95 % : 1.08-1.80), which was due to differences among male patients (OR = 1.78 ; CI 95 % : 1.25-2.53). Interpretation. The APOE epsilon4 allele is a risk factor for bulbar-onset ALS among men. We propose that men are normally protected by androgens against bulbar-onset and that the epsilon4 allele inhibits this protection, perhaps by interfering with the androgen pathway. Furthermore, the general epidemiology of bulbar onset ALS is compatible with this "androgen protection" hypothesis. APOE genotype needs to be considered during randomization in clinical trials and men carrying the APOE epsilon4 allele could benefit from specific therapeutic approaches.

**Mots-clés :** APOE, amyotrophic lateral sclerosis.

**■P311. RÔLE DU GÈNE WFS1 DANS L'ASSOCIATION DIABÈTE DE TYPE 2 ET SURDITÉ NEUROSENSORIELLE DANS LA POPULATION FRANÇAISE**

S. Ait el mkadem (1, 2), S. Bannwarth (1, 2), R. Attaoua (3), F. Grigorescu (3), B. Viallettes (4), S. Mutz (1), B. Chafino (1), V. Paquis-Flucklinger (1, 2) (1) *Laboratoire de Génétique Moléculaire, département de Génétique Médicale, Hôpital de l'Archet 2, Nice, France*; (2) *FRE 3086 CNRS/UNSA, Faculté de Médecine, Université de Nice Sophia-Antipolis, France*; (3) *Laboratoire d'Endocrinologie Moléculaire (UMR 204), IURC, Université de Montpellier 1, Montpellier, France*; (4) *Département d'Endocrinologie-Nutrition, Hôpital La Timone, Université de la Méditerranée, Marseille, France*  
Contact : samirasaadi03@yahoo.fr

WFS1 est un gène impliqué dans le syndrome de Wolfram (MIM606201). Ce syndrome, de transmission autosomique récessive, associe un diabète de type 1, une atrophie optique et des manifestations telles que une surdité, un diabète insipide et des signes neurologiques. Des mutations de WFS1 ont été également décrites dans des surdités familiales non syndromiques. Récemment, des études pangénomiques ont montré une association entre des variants de ce gène et le diabète de type 2 (DT2). Notre objectif a été d'explorer WFS1 dans l'association DT2 et surdité neurosensorielle par cartographie dense des SNP. L'étude cas-témoins d'association a été réalisée sur une population de DT2 (n = 101), recrutée aux CHU de Marseille et Nice. Ce diabète, apparu après l'âge de 15 ans, est associé à une surdité neurosensorielle. Les diabètes de type 1 ou liés à une mutation de l'ADN mitochondrial ont été exclus. La population témoin est représentée par des sujets (n = 140), recrutés de manière randomisée dans la population générale du sud de la France et appariés pour l'âge (~ 60 ans). La cartographie dense des SNP a concerné une région génomique continue comprenant l'exon 8 (2,6 kb), qui contient la majorité des mutations déjà décrites dans le syndrome de Wolfram et les surdités non syndromiques, et la région 3'UTR. La détection des SNP a été suivie par la reconstruction des haplotypes (programme PHASE) et l'association génétique a été testée par le



test chi2 et régression logistique. Le criblage des 8 exons du gène (séquençage) chez 35 cas et 40 contrôles nous a permis de déterminer les sites variables (plus de 30) et les blocs de déséquilibre de liaison (DL). 20 SNP apparaissent communs aux patients et aux témoins avec des fréquences (MAF) de 0,014 à 0,423. Une série de 14 SNP dans l'exon 8 et la région 3'UTR à des fréquences  $\geq 10\%$  se sont montrés dans un bloc de très fort DL qui a été choisi pour l'analyse des haplotypes. Le SNP rs1801212 (c.997A>G, p.I333V) a été associé à la maladie, notamment par la forme homozygote GG (9 % chez les contrôles vs 2 % chez les patients). Ce rôle protecteur se révèle en régression logistique comme diminuant le risque de  $\sim 5$  fois ( $P < 0,036$ , OR 0,213 95 %CI [0,046-0,98]). Le SNP rs1046319 (c.\*91C>T) dans la région 3'UTR, en très fort DL avec le SNP rs1801212, a montré la même tendance par le génotype CC. Afin de tester le rôle des différentes combinaisons des SNP, nous avons construit les haplotypes formés par 9 SNP et montré qu'un haplotype est 17 fois plus fréquent chez les patients et fortement associé à la maladie ( $P < 0,0005$ , OR 14,5, 95 %CI [1,85-114,7]). Cet haplotype contient notamment les allèles A et T des SNP cités ci-dessus, ainsi que l'allèle G du SNP rs1046320 dans la région 3'UTR. Ces données montrent la supériorité de l'analyse des haplotypes par rapport aux SNP individuels et démontrent pour la première fois l'implication du gène WFS1 dans l'association diabète de type 2 et surdité neurosensorielle, dans la population française.

**Mots-clés :** WFS1, SNP-Haplotypes, diabète de type 2-Surdité

### ■P312. SÉQUENÇAGE DES 9 GÈNES USHER CONNUS DANS UNE LARGE COHORTE DE PATIENTS : DIVERGENCE GÉNOTYPE/PHÉNOTYPE ET CAS DE DIGÉNISME

C. Bonnet (1, 2), M. Grati (1, 2), F. Denoyelle (3), M. Parodi (4), M. Niasme-Grare (4), D. Zelenika (5), M. Delépine (5), C. Koval (4), D. Feldmann (4), L. Jonard (1, 4), D. Weil (2), B. Delobel (6), C. Vincent (7), H. Dollfus (8), M.M. Eliot (9), A. David (10), C. Calais (11), J. Vigneron (12), B. Montaut (13), D. Bonneau (14), J. Dubin (15), C. Chauvin (16), A. Duvillard (17), C. Francannet (18), T. Mom (19), D. Lacombe (20), F. Duriez (21), V. Drouin-Garraud (22), M.F. Thuillier-Obstoy (23), R. Couderc (4), J. Weissenbach (24), C. Petit (2), S. Marlin (1)

(1) Unité de Génétique Médicale, Unité INSERM U587, Hôpital d'Enfants Armand-Trousseau, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris (AP-HP), Paris, France ; (2) Unité de Génétique des Déficits Sensoriels, Unité INSERM U587, Université Pierre-et-Marie-Curie, Institut Pasteur, Paris, France ; (3) Service d'ORL et de Chirurgie Cervico-faciale, Unité INSERM U587, Hôpital d'Enfants Armand-Trousseau, AP-HP, Université Paris VI, Paris, France ; (4) Service de Biochimie et de Biologie Moléculaire, Unité INSERM U587, Hôpital d'Enfants Armand-Trousseau, AP-HP, Paris, France ; (5) CEA, Centre National de Génotypage, Evry, France ; (6) Centre de Génétique, Hôpital St-Antoine, Lille, France ; (7) Service d'ORL, Hôpital St-Antoine, Lille, France ; (8) Service de Génétique médicale, Hôpital de Haute-pierre, Strasbourg, France ; (9) Service d'ORL, Hôpital de Haute-pierre, Strasbourg, France ; (10) Service de Génétique, Hôtel Dieu, Nantes, France ; (11) Service d'ORL, CHU Hôtel-Dieu, Nantes, France ; (12) Maternité Régionale Adolphe-Pinard, Nancy, France ; (13) Service d'ORL, Maternité Régionale Adolphe-Pinard, Nancy, France ; (14) Centre de Référence des Maladies Neurogénétiques, Centre Hospitalier Universitaire d'Angers, France ; (15) Service d'ORL, Centre Hospitalier Universitaire d'Angers, France ; (16) Unité de Génétique Médicale, Hôpital, Dijon, France ; (17) Service d'ORL, Hôpital, Dijon, France ; (18) Génétique Médicale, Hôtel-Dieu, Clermont-Ferrand, France ; (19) Service d'ORL, Hôtel-Dieu, Clermont-Ferrand, France ; (20) Centre de Génétique, Hôpital Pellegrin, Bordeaux, France ; (21) Service d'ORL, Hôpital Pellegrin, Bordeaux, France ; (22) Unité de Génétique Clinique, Hôpital Charles-Nicolle, Rouen, France ; (23) Service ORL Pédiatrique, Hôpital Charles-Nicolle, Rouen, France ; (24) CEA, DSV, IG, Genoscope, CNRS-UMR 8030, UEVE, Université d'Évry, Évry, France  
Contact : [crystal.bonnet@orange.fr](mailto:crystal.bonnet@orange.fr)

Introduction : Le syndrome de Usher associe rétinopathie pigmentaire et surdité neurosensorielle généralement congénitale avec atteinte vestibulaire variable. De transmission autosomique récessive, il est génétiquement et cliniquement hétérogène. MYO7A, USH1C, CDH23, PCDH15 et SANS sont impliqués dans le syndrome de Usher de type I ; USH2A, VLGRI et WHRN dans le Usher de type II et USH3A dans le Usher de type III. Par ailleurs, il est vraisemblable, que dans certains cas, un phénomène de digénisme soit à l'origine d'un syndrome de Usher. Méthodes : Afin de rechercher des cas de digénisme, nous avons entrepris un séquençage systématique des exons codants ainsi que des sites d'épissage de chacun des neuf gènes Usher. Cette étude porte sur 59 patients dont 29 USH1, 22 USH2 et 8 USH3. Résultats : Nous avons trouvé des mutations chez 50 patients. 48 nouvelles mutations, prédites comme pathogènes sont rapportées dans

cette étude. Parmi les patients USH1, 55 % portent au moins une mutation dans MYO7A. En combinant les patients USH2 et USH3, 53 % ont au moins une mutation dans USH2A, tandis que VLGRI est impliqué dans 20 % des cas. Nous avons également pu observer une divergence entre génotype/phénotype pour les patients diagnostiqués USH3. En effet, six d'entre eux possèdent des mutations dans USH2A. Deux cas de digénisme probable sont rapportés chez deux patients USH1 (MYO7A+SANS ; PCDH15 + SANS). Conclusion : L'exploration des neuf gènes Usher actuellement connus est donc indispensable pour obtenir un meilleur diagnostic et mettre en évidence de possible cas de digénisme.

**Mots-clés :** Usher, digénisme.

### ■P313. MUTATION DE LBR ET ANOMALIES NUCLÉAIRES FIBROBLASTE-SPÉCIFIQUES CHEZ UNE PATIENTE SCLÉRODERMIQUE

C. Gaudy-Marqueste (1), P. Roll (2, 3), V. Esteves-Vieira (2), I. Agouti (2), F. Angelis (2), P. Cau (2, 3), P.J. Weiller (4), J.J. Grob (1), N. Lévy (2, 3), A. De Sandre-Giovannoli (2, 3)

(1) Service de Dermatologie, Hôpital Ste Marguerite, Marseille, France ; (2) Département de Génétique Médicale et Biologie Cellulaire, Hôpital la Timone Enfants, Marseille, France ; (3) INSERM UMR\_S910, Faculté de Médecine, Marseille, France ; (4) Service de Médecine Interne, Hôpital la Timone, Marseille, France.

Contact : [annachiara.desandre@ap-hm.fr](mailto:annachiara.desandre@ap-hm.fr)

Les laminopathies constituent un groupe hétérogène de pathologies secondaires à mutations des Lamines, protéines nucléaires ubiquitaires, et de certains de leurs partenaires moléculaires. L'existence de similitudes cliniques entre la sclérodémie systémique et certaines laminopathies systémiques, i.e. la Progeria de Hutchinson-Gilford, nous a conduits à rechercher des mutations des Lamines A/C et de certains partenaires moléculaires chez une patiente atteinte de sclérodémie systémique cutanée limitée (classification de Leroy). Une variation non décrite à l'état hétérozygote (c.1114C>T ; p.R372C), a été observée chez la patiente dans l'exon 9 du gène LBR, codant une protéine intégrale de la membrane nucléaire interne, le Recepteur des Lamines de type B. Des mutations de ce gène sont responsables de l'anomalie de Pelger-Huet, un trait hématologique dominant sans anomalie fonctionnelle, et de la dysplasie de Greenberg, une chondrodystrophie récessive létale in utero. Cette variation n'a pas été retrouvée dans 400 chromosomes contrôles ni chez 27 autres patients sclérodémiens. L'analyse de la lobulation des polynucléaires neutrophiles a exclu une anomalie de Pelger-Huet chez la patiente. Les analyses bioinformatiques effectuées ensuite ont montré que l'Arginine 372 est très conservée au cours de l'évolution et prédisait un impact potentiel de la mutation sur la structure secondaire de la protéine. L'expression de LBR et de plusieurs de ses partenaires moléculaires, analysée par western blot sur les cellules lymphoblastoïdes de la patiente était sans particularité. Au contraire, les mêmes analyses réalisées sur une lignée de fibroblastes montraient une diminution importante de l'expression de LBR, des Lamines A/C et de LMNB2 ainsi qu'une abolition de l'expression de LMNB1 et HP1alpha. En parallèle, les analyses immunocytochimiques retrouvaient des anomalies de ces mêmes protéines dans les fibroblastes mais pas dans les cellules lymphoblastoïdes. La réduction d'expression importante observée pour LBR et plusieurs de ses partenaires moléculaires, dont les interactions multiples et étroites au sein des enveloppes nucléaires ont été largement documentées, suggère que la mutation pourrait avoir des effets délétères dominants négatifs au sein des noyaux cellulaires, de manière tissu-spécifique. Une modification de la structure tridimensionnelle de LBR pourrait déstabiliser d'autres protéines de l'enveloppe nucléaire et perturber l'interaction avec la chromatine périphérique ou des partenaires moléculaires tissu-spécifiques. En particulier, une perturbation de la voie de signalisation du TGF-beta pourrait être supposée, étant donné que les Lamines A/C participent à la modulation de l'effet du TGF-beta sur la production de collagène. Certaines mutations du gène LBR pourraient donc représenter une cause rare de Sclérodémie Systémique et l'exploration de cohortes plus larges de patients apparaît dans ce contexte utile et indiquée.

**Mots-clés :** sclérodémie systémique, LBR, laminopathie.

### ■P314. ASSOCIATION STUDY OF PSORIASIS IN TUNISIAN MULTIPLEX FAMILIES

M. Ammar (1), C. Bouchlaka-Souissi (1), I. Zarea, N. Doss (3), C. Helms (4), R. Dhauoui (3), A. Ben Osman (2), A. Ben Ammar-El Gaied (1), M. Mokni (2), A. Bowcock (4)

(1) Laboratoire de Génétique, Immunologie et Pathologie Humaine, Département de Biologie, Faculté des Sciences de Tunis, Tunisie ; (2) Service de Dermatologie, Hôpital La Rabta de Tunis, Tunisie ; (3) Service



de Dermatologie, Hôpital Militaire de Tunis, Tunisie ; (4) Washington University, Saint Louis, USA

Contact : ■■■■

**Background** – Psoriasis is a relapsing chronic inflammatory skin disease affecting all racial groups with a peak prevalence of 3% in northern European, Scandinavian Caucasians. This prevalence is also reached in the Tunisian population. Epidemiologic studies have implicated a genetic component to psoriasis. In the last 12 years multiple genome wide linkage analyses have identified putative susceptibility loci on several chromosomes, with a major locus in the CMH region.

Recently, a genome-wide association study of psoriasis and psoriasis arthritis using a panel of SNPs was performed on 274 US cases and 223 controls, revealing novel associations with genes of the immune system and cartilage homeostasis. Forty nine single nucleotide polymorphisms (SNPs), with their risk alleles, have been identified on different regions across the genome.

**Objectives** – In order to investigate the genetic predisposition of psoriasis in Tunisian population, a family based association study was carried out on 7 Tunisian multiplex psoriatic families (37 patients and 57 healthy) using a set of these reported 98 SNPs showing strong associations with psoriasis. We also performed a SNPs interaction test using the epistatic test implemented in PLINK software.

**Methods** – Genotyping of all individuals was performed with the sequenom Mass Array system. For statistical analyses we used FBAT, TDT and epistatic tests implemented in PLINK software.

**Results** – The most significant p value of association ( $p = 0.009$ ), were obtained with a SNP in chromosome 3 within the IL17RD gene. Other significant p values were obtained with SNPs localized on chromosome 13 within the COG6 gene and chromosome 6 within the HLA class I region of the MHC (PSORS1 locus). Some of the associated haplotypes were overtransmitted to affected individuals.

**Conclusion** – Our results showed significant association of Tunisian families with loci within chromosome 3, 6 and 13. Our result is consistent with our previously analyses. Furthermore, two other regions were of interest including the chromosomes 12 and 20 which should be more investigated in our population in order to identify new genes implicated in the pathogenesis.

**Mots-clés** : psoriasis, FBAT, TDT.

#### ■P315. RECHERCHE D'UNE ASSOCIATION GÉNÉTIQUE ENTRE LE GÈNE *PADI4* ET LA SUSCEPTIBILITÉ À LA POLYARTHRITE RHUMATOÏDE DANS LA POPULATION TUNISIENNE

M. Ben Hamad (1), S. Marzouk (2), G. Chabchoub (1), Z. Bahloul (2), F. Fakhfakh (1), H. Ayadi (1), A. Maalej (1)

(1) *Laboratoire de Génétique Moléculaire Humaine, Faculté de Médecine, Sfax, Tunisie* ; (2) *Service de Médecine Interne, CHU Hédi Chaker, Sfax, Tunisie*

Contact : myriam\_bh@yahoo.fr

La polyarthrite rhumatoïde (PR) est une des causes les plus communes des maladies auto-immunes systémiques. Elle affecte 0,5 à 1 % de la population. Elle est caractérisée par une inflammation chronique du tissu synovial et la formation d'un pannus qui est capable de détruire le cartilage adjacent et l'os. Dans cette étude cas/contrôle, nous avons recherché une éventuelle association entre le gène peptidylarginine déiminase 4 (*PADI4*) et la susceptibilité à la PR dans la population tunisienne. Ce gène catalyse la conversion des résidus arginine, basiques, en résidus citrulline, neutres dans les peptides. Suite à cette modification post traductionnelle le système immunitaire va réagir en produisant des auto-anticorps anti-peptides citrullinés (anti-CCP) très spécifiques de la PR. Deux polymorphismes du gène *PADI4* : *PADI4\_92* (G/C) et *PADI4\_96* (C/T) ont été analysés dans une série de 142 malades et 155 témoins d'origine tunisienne. Le génotypage des deux polymorphismes a été effectué par la technique de PCR-RFLP. La comparaison des fréquences alléliques et génotypiques entre les malades et les témoins a été effectuée par le test  $\chi^2$  et le test du risque relatif du génotype. L'analyse statistique n'a pas montré de différences significatives ( $p > 0,05$ ) chez les malades par rapport aux témoins pour les polymorphismes étudiés. Cependant, la stratification de nos patients selon leurs données cliniques et immunologiques a montré une légère association allélique pour le polymorphisme *PADI4\_96* chez les patients qui possèdent le facteur rhumatoïde (FR) ( $p = 0,0477$ ). Toutefois, aucune différence significative n'a été détectée pour les sous groupes de patients qui présentent les anti-CCP, des érosions, des nodules, une autre maladie auto-immune associée, l'allèle de susceptibilité HLA-DRB1\*04 ainsi que HLA-DRB1\*10. En conclusion, nos résultats plaident en faveur d'une

association génétique du polymorphisme *PADI4\_96* et la PR dans le sous-groupe de patients séropositifs pour le facteur rhumatoïde (FR+).

**Mots-clés** : polyarthrite rhumatoïde, étude d'association, peptidylarginine déiminase 4.

#### ■P316. LINKAGE STUDY OF THE NEWLY PROPOSED RHEUMATOID ARTHRITIS (RA) SUSCEPTIBILITY GENES *REL* AND *BLK* IN THE WESTERN EUROPEAN POPULATION

H. Mbarek (1), C. Pierlot (1), M.L. Tadjeddine (1), P. Migliorini (2), A. Balsa (3), R. Westhovens (4), B. Pilar (5), H. Alvers (6), D. Pascuale-Salcedo (3), S. Bombardieri (2), J. Dequeker (4), T.R. Radstake (5), P.V. Riel (5), L.V. De putte (5), Thomas Bardin (7), B. Prum (8), E. Petit-Teixiera (1), F. Cornélis (1, 7, 10) for ECEAF (9)

(1) *GenHotel-EA3886- Laboratoire de Recherche Européen pour la Polyarthrite Rhumatoïde, Member of AutoCure European Consortium, University Evry Val d'Essonne-Paris7, Evry-Genopole, France* ; (2) *Pisa University, Italy* ; (3) *La Paz Hospital, Madrid, Spain* ; (4) *KUL Leuven University, Belgium* ; (5) *Nijmegen University, The Netherlands* ; (6) *Porto San Joao Hospital, Porto, Portugal* ; (7) *Fédération de Rhumatologie, Pôle de l'Appareil Locomoteur, Lariboisière Hospital, Paris, France* ; (8) *Laboratoire Statistique et Génome, Université d'Evry Val d'Essonne, Evry, France* ; (9) *European Consortium on Rheumatoid Arthritis Families* ; (10) *Unité de Génétique Clinique, Pôle des Laboratoires Médicaux-Imagerie-Pharmacie, Lariboisière Hospital, Paris, France*  
Contact : meriem@polyarthrite.net

**Background** : RA is the most frequent human multifactorial auto-immune disease. To date, four RA genetic factors have been definitively confirmed by linkage and association : HLA-DRB1, PTPN22, C5-TRAF1, and TNFAIP3. Recently, two novel RA genetic risk factors were proposed in a genome-wide association study, involving allelic polymorphisms at *REL* locus (2p16.1) encoding c-REL, a transcription factor from the *Rel/NFKB* family and at *BLK* locus (8p21.1) encoding B lymphoid tyrosine kinase. **Objectives** : We aimed at testing for RA linkage *REL* and *BLK* loci in the Western European Caucasian population. **Methods** : A DNA set for 419 trio Caucasian families (one RA case and both parents) from Western Europe (France, Italy, Belgium, Spain, the Netherlands and Portugal) was available for this study. Three single nucleotide polymorphisms (SNP), rs13031237 and rs13017599 for *REL*, together with rs2736340 for *BLK*, were genotyped using KASPar chemistry (www.kbioscience.co.uk). Statistical analyses were performed using the transmission disequilibrium test (TDT) for linkage as well as the comparison of allelic frequencies (AFBAC) and the genotype relative risk (GRR) for association. Analyses were planned for subgroups of families according to patients rheumatoid factor (RF+/-) and anti-citrullinated peptide antibodies (ACPA+/-) status. Given the initial study, we had a 70 % power to reach statistical significance ( $P < 0.05$ ) with 419 trio families for each SNP. **Results** : We observed for *REL* rs13031237 and rs13017599, which were in near total linkage disequilibrium, a trend for RA linkage only in the ACPA- subgroup (TDT 67 % and 68 % of transmission,  $P = 0.011$  and  $0.0052$ , respectively) with a significant association for the T and A allele of rs13031237 and rs13017599, respectively (AFBAC RA index cases 0.47 vs 0.31 in controls and 0.43 vs 0.26,  $P = 0.0099$  and  $0.0041$ , respectively). For *BLK* rs2736340, the results showed RA linkage only in the RF- subgroup (TDT 61 % of transmission,  $P = 0.044$ ) with a significant association for the T allele (AFBAC RA index cases 0.27 vs 0.19,  $P = 0.0099$  and  $0.042$ ). After multitest correction, the results remained significant for *REL*. **Conclusions** : These results in the Western European population showed the first linkage evidence for the *REL* locus in ACPA- RA and a linkage trend for the *BLK* locus in RF- RA. Further work is required to establish *BLK* locus in RA. *REL* locus could be considered as a new RA genetic factor, stimulating investigations for this *Rel/NFKB* family member to understand RA genetic susceptibility.

**Mots-clés** : *REL*, *BLK*, rheumatoid arthritis.

#### ■P317. LINKAGE PROOF FOR THE 6Q23 LOCUS, THE NEW RHEUMATOID ARTHRITIS SUSCEPTIBILITY GENETIC FACTOR

H. Mbarek (1), V.H. Teixeira (1, 11), P. Dieudé (1, 12), C. Pierlot (1), M.L. Tadjeddine (1), P. Migliorini (4), A. Balsa (5), R. Westhovens (6), P. Barrera (7), H. Alvesi (8), C. Vaz (8), M. Fernandes (8), D. Pascuale-Salcedo (5), S. Bombardieri (4), J. Dequeker (6), T.R. Radstake (7), P.V. Riel (7), L.V. De putte (7), A. Lopes-Vaz (8), B. Prum (10), T. Bardin (9), E. Petit-Teixiera (1), F. Cornélis (1, 2, 3, 9, 5, 13)

(1) *GenHotel-EA 3886, University Evry-Paris 7 Medical School, Member of the AutoCure European Consortium, CP5727, Evry-Genopole, France* ; (2) *Fédération de Rhumatologie, Pôle de l'Appareil Locomoteur, Lariboisière Hospital, AP-HP, Paris, France* ; (3) *Unité de Génétique Clinique, Pôle des Laboratoires, Paris, France Médicaux-Imagerie-Pharmacie,*

Lariboisière Hospital, AP-HP, Paris, France ; (4) Pisa University, Pisa, Italy ; (5) La Paz Hospital, Madrid, Spain ; (6) KUL Leuven University, Leuven, Belgium ; (7) Nijmegen University, Nijmegen, The Netherlands ; (8) Porto San Joao Hospital, Porto, Portugal ; (9) Adult Genetics Unit, Centre Hospitalier Sud Francilien, Evry-Corbeil, Corbeil-Essonnes, France ; (10) Laboratoire Statistique et Génome università d'Evry Val d'Essonne, France ; (11) Faculty of Medicine, University of Coimbra, Coimbra, Portugal ; (12) Université Diderot-Paris7, Bichat-Claude-Bernard Hospital, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Paris, France ; (13) European Consortium on Rheumatoid Arthritis Families  
Contact : meriem@polyarthrite.net

Rheumatoid arthritis (RA) is the most frequent multifactorial human autoimmune disease. Recently, to the three RA loci definitively confirmed by linkage and association, HLA-DRB1, PTPN22 and C5-TRAF1, the 6q23-TNFAIP3 locus was added as a new RA locus, following multiple independent associations studies. However, the linkage proof is still awaited. Objective. The aim of our study was to provide the RA linkage proof for the 6q23 locus. Methods. 420 trio families were genotyped for 11 SNPs throughout the 6q23-TNFAIP3 region. The linkage and association analysis for each SNPs and haplotypes were performed using the Transmission Disequilibrium Test (TDT), the comparison of allelic frequencies (AFBAC) and the genotype haplotype relative risk. Stratification using autoantibodies status was planned, as the association was described predominantly in the sub-group of auto-antibody + RA patients. Results. The TDT haplotype analysis provided the linkage proof for the haplotype C-A-T of rs10499194, rs6920220 and rs5029937 ( $P = 0.00057$ ). We observed also evidence for association using AFBAC ( $P = 0.0093$ ) and the genotype haplotype relative risk, showing a significant increase of C-A-T containing haplotypes in patients compared to virtual controls ( $P = 0.0081$ ). Stratification analysis showed a stronger RA linkage and association in the auto-antibody rheumatoid factor + patient's subgroup. The obvious candidate gene TNFAIP3 lies outside of the associated haplotype. Conclusions. This study provides the first linkage proof confirming definitely the 6q23 locus as a new RA susceptibility factor. Further investigations should now define precisely the boundaries of the associated haplotype to guide the search for the underlying pathophysiological mechanism.

**Mots-clés :** rheumatoid Arthritis, 6q23 gene region, linkage, multifactorial diseases.

### ■P318. IDENTIFICATION D'IRF5 COMME NOUVEAU FACTEUR GÉNÉTIQUE DE SUSCEPTIBILITÉ DE LA POLYARTHRITE RHUMATOÏDE : ARGUMENTS DE LIAISON ET D'ASSOCIATION

K. Dawidowicz-Pachy (1, 3), Y. Allanore (2), C. Pierlot (3), V.H. Teixeira (3), E. Petit-Teixeira (3), F. Cornélis (3), P. Dieudé (1, 3) for ECRAF (4) (1) Service de Rhumatologie, Hôpital Bichat Claude-Bernard, AP-HP, Université Diderot-Paris 7 Paris, France ; (2) Service de Rhumatologie A, Hôpital Cochin, AP-HP, Université Descartes, Paris, France ; (3) Gen-Hotel-EA 3886, Université d'Évry, CP5727, Évry-Genopole, France ; (4) European Consortium on Rheumatoid Arthritis Families  
Contact : meriem@polyarthrite.net

Rationnel. De récentes études du transcriptome ont mis en évidence une « signature de l'interferon de type I (IFN I) » dans les monocytes du sang périphérique, dans les glandes salivaires accessoires et dans le tissu cutané au cours du lupus érythémateux disséminé (LED), du syndrome de Sjögren (SS), de certaines polyarthrites rhumatoïdes (PR), ou encore de la sclérodermie systémique (ScS), soulignant l'importance de la voie IFN I dans la physiopathologie des connectivites. Les Interferon Regulatory Factors (IRFs), tel qu'IRF5, sont des facteurs de transcription impliqués dans la régulation de l'expression des IFNs de type I. À ce jour, plusieurs polymorphismes fonctionnels d'IRF5 ont été suggérés comme facteurs de susceptibilité de plusieurs pathologies auto-immunes, incluant le LED, le SS la ScS ou encore la PR. Aucun argument de liaison génétique n'a encore été rapporté dans la PR. Objectif. Le but de ce travail était d'établir l'argument de liaison entre IRF5 et la PR. Patients et Méthodes. 1014 individus d'origine Européenne Caucasienne issus de 338 familles trio (un patient atteint de PR et ses 2 parents) ont été génotypés pour les single nucleotide polymorphisms (SNPs) rs3757385, rs2004640 and rs10954213 d'IRF5. L'information de liaison génétique a été obtenue par la transmission (T) observée au Transmission Disequilibrium Test (TDT). Résultats. L'analyse par marqueur a montré une liaison génétique pour les 3 SNPs d'IRF5 testés. Au sein des 8 haplotypes générés pas les 3 SNPs, l'argument de liaison entre IRF5 et la PR concernait 2 haplotypes particuliers : un haplotype IRF5 (C-T-A) de susceptibilité « S » ( $T = 62,2\%$ ,  $P = 2,9 \times 10^{-4}$ ) et un haplotype (A-G-G) protecteur « P » ( $T = 38,7\%$ ,  $P = 1,86 \times 10^{-3}$ ). La liaison était significativement plus importante dans le sous groupe non-érosif (PR sans destruction articulaire), ce pour les 2 haplotypes d'IRF5 « S » et « P » :  $T = 82,2\%$ ,  $P = 1,34 \times 10^{-5}$  et  $T = 19,4\%$ ,  $P = 2,46 \times 10^{-4}$ . La liaison d'IRF5

avec la PR n'était pas influencée par d'autres données phénotypiques cliniques, immunologiques ou génétique (notamment statut PTPN22, HLA-DRB1). Les génotypes haplotypiques homozygotes IRF5 SS et PP étaient associés avec la PR, positivement et négativement, respectivement :  $P = 0,0026$ ,  $OR = 1,88$ ,  $95\%CI [1,24-2,84]$ ,  $P = 0,006$ ,  $OR = 0,71$ ,  $95\%CI [0,55-0,91]$ . Ces résultats nous permettent une approche individuelle pratique, prenant un compte un statut simplifié de génotypes haplotypiques d'IRF5 : IRF5 SS, PP et XX (X correspondant aux haplotypes non-S et non-P). Conclusion. Ce travail apporte l'argument de liaison génétique permettant, avec l'association observée, cohérente avec la littérature, l'identification formelle d'IRF5 en tant que facteur de susceptibilité de la PR. Ces résultats illustrent la notion d'un fond génétique partagé par différentes maladies auto-immunes. De nouvelles études sur des cohortes de suivis de patients atteints de PR permettront de préciser l'influence du génotype d'IRF5 sur l'expression de la PR.

**Mots-clés :** IRF5, rheumatoid arthritis, linkage.

### ■P319. ASSOCIATION ENTRE DES POLYMORPHISMES DU GÈNE GDF5 ET LA LUXATION CONGÉNITALE DE HANCHE DANS UNE POPULATION CAUCASIENNE

K. Rouault (1, 2), V. Scotet (1), S. Autret (1, 3), F. Gaucher (4), F. Dubrana (5), D. Tanguy (6), C. Yaacoub El Rassi (7), B. Fenoll (8), C. Férec (1, 2, 3, 9)

(1) Inserm U613 « Génétique moléculaire et génétique épidémiologique », Brest, France ; (2) Université de Brest, Faculté de Médecine et des Sciences de la Santé, Brest, France ; (3) CHU Brest, Hôpital Morvan, Laboratoire de génétique moléculaire, Brest, France ; (4) Hôtel Dieu, Service de chirurgie orthopédique, Pont L'Abbé, France ; (5) CHU Brest, Hôpital La Cavale Blanche, Service de chirurgie orthopédique, Brest, France ; (6) Centre de Perharidy, Service de médecine physique et de réadaptation, Roscoff, France ; (7) CH Quimper, Service de chirurgie orthopédique, Quimper, France ; (8) CHU Brest, Hôpital Morvan, Service de chirurgie pédiatrique, Brest, France ; (9) Établissement Français du Sang – Bretagne, Brest, France

Contact : karen.rouault@univ-brest.fr

Introduction : La luxation congénitale de hanche (LCH), qui affecte entre 2 et 10 nouveau-nés sur 1 000, est une des anomalies congénitales du squelette les plus fréquentes dans les populations d'origine caucasienne. Cette maladie résulte d'une anomalie de positionnement de la tête fémorale dans la cavité acétabulaire, ce qui induit une dislocation partielle voire complète de la hanche. La LCH se constitue in utero, à la faveur de facteurs mécaniques, liés aux conditions de grossesse et d'accouchement et de facteurs génétiques. Si la composante mécanique semble prédominante, l'étiologie de la pathologie suggère également l'existence d'un déterminisme génétique de la maladie. De ce fait, la LCH est aujourd'hui considérée comme une maladie complexe dans laquelle un ou plusieurs gènes doivent être impliqués. La LCH a fait l'objet d'un nombre important de publications sur les aspects difficiles de son dépistage et de son traitement mais les gènes responsables n'ont, à ce jour, pas été identifiés. Récemment, un polymorphisme fonctionnel (rs143383) de la région 5'-UTR du gène GDF5 (Growth/Differentiation Factor 5) – précédemment associé à l'ostéoartrrose – a été associé à la LCH dans une population chinoise. Le but de notre étude était de déterminer si le gène GDF5, connu pour être impliqué dans la morphogénèse des os et des cartilages, était également associé à la LCH chez les Caucasiens. Méthode : Nous avons génotypé un ensemble de tagSNPs (rs224334, rs143384 et rs143383) chez 239 patients luxés et 239 témoins, tous originaires du Finistère, département où la LCH est fréquente. Nous avons ensuite testé l'association par une approche marqueur par marqueur et une approche haplotypique. Résultats : L'association la plus significative a été observée avec le marqueur rs143384. L'allèle T de ce SNP était surreprésenté chez les cas (65,9 % vs. 55,9 %,  $p = 0,002$ ) et le meilleur modèle génétique testé était le modèle additif ( $OR = 1,51$ ,  $IC \text{ à } 95\% : [1,16 ; 1,95]$ ,  $p = 0,002$ ). La significativité de l'association était augmentée dans le sous-groupe de patients présentant une luxation de hanche ( $OR = 1,78$ ,  $IC \text{ à } 95\% : [1,32 ; 2,40]$ ,  $p = 0,0001$ ). Concernant le marqueur rs143383, l'association demeurait significative après correction pour tests multiples uniquement dans ce dernier groupe de patients. L'haplotype regroupant les allèles de susceptibilité de ces SNPs était également plus fréquent chez les cas ( $OR = 1,53$ ,  $IC \text{ à } 95\% : [1,18 ; 1,98]$ ,  $p = 0,002$ ). Conclusion : Cette étude rapporte, pour la première fois, l'association entre des polymorphismes du gène GDF5 et la LCH au sein d'une population caucasienne, et révèle un autre polymorphisme d'intérêt, ce qui nécessite des analyses complémentaires. La diminution de l'expression de GDF5 pourrait conduire à une anomalie de développement des ligaments et de la capsule de la hanche, et pourrait ainsi contribuer à la pathogénèse de la LCH.

**Mots-clés :** luxation congénitale de hanche, étude d'association, gènes candidats.

### ■P320. GRANDE HÉTÉROGÉNÉITÉ GÉNÉTIQUE ET NOUVEAU LOCUS POUR LA SCOLIOSE IDIOPATHIQUE

P. Edery (1, 2), P. Margaritte-Jeannin (3), B. Biot (4), A. Labalme (1), J.-C. Bernard (4), J. Chastang (1), B. Kassai (5), F. Clerget-Darpoux (3)  
 (1) Hospices Civils de Lyon, Service de Cytogénétique Constitutionnelle, Bron, France ; (2) Université Lyon1, France ; (3) Unité d'Épidémiologie Génétique, INSERM U 535, Villejuif, France ; (4) Centre de Réadaptation Fonctionnelle des Massues, Lyon, France ; (5) Hospices Civils de Lyon, Centre d'Investigation Clinique (CIC), Bron, France  
 Contact : patrick.edery@chu-lyon.fr

La scoliose idiopathique est une pathologie de la statique rachidienne dont les causes sont inconnues à ce jour, caractérisée par une déviation de la colonne dans le plan frontal (angle de Cobb) d'au moins 10° et par une rotation vertébrale. La prévalence de cette affection est de 1,5-3 % dans la population générale. Ses conséquences fonctionnelles, esthétiques et sociales sont parfois majeures. Un petit nombre d'analyses de liaison génétique suggère la présence de quelques localisations possibles sur le génome, mais aucune n'a été répliquée de façon convaincante à ce jour. De plus, un polymorphisme du gène CHD7, impliqué dans le syndrome CHARGE, a été considéré comme prédisposant à la scoliose idiopathique. Toutefois, aucun gène causal n'a été clairement identifié à ce jour. L'étude présentée ici repose sur l'hypothèse de l'existence, à côté du vaste groupe des formes multifactorielles de scoliose idiopathique, d'un groupe restreint de formes « monogéniques » dans lesquelles la maladie est héritée selon un mode dominant. Nous avons donc collecté des familles multiplex de scoliose idiopathique grâce au recrutement du Centre de Réadaptation des Massues, Lyon, France, parmi lesquelles nous avons sélectionné 6 grandes familles multiplex compatibles avec une hérédité dominante. Le critère d'inclusion de la scoliose idiopathique était un angle de Cobb supérieur à 15°, pour limiter le risque de phénotopies (prévalence des scolioses supérieures à 15° de l'ordre de 1 %). Nous avons ensuite effectué un tour du génome avec un panel de 1 000 marqueurs répartis tous les 3,7 cM en moyenne (deCODE genetics®) dans ces 6 familles, après une étude d'informativité. Dans seulement une de ces grandes familles, la coségrégation de la maladie et des marqueurs est compatible avec la transmission d'une mutation dominante (partage d'un même haplotype par tous les malades et transmetteurs obligatoires). Pour cette famille, cette parfaite coségrégation est observée en deux régions du génome (5q13-q14 et 3q11-q13) avec un lod score de 2.70. La probabilité d'avoir obtenu ces deux pics en absence de liaison est <5 % indiquant que le gène muté est situé à une de ces localisations. Dans deux autres grandes familles, nous n'avons trouvé aucune région du génome compatible avec une liaison génétique, suggérant soit une hétéro-généité génétique intrafamiliale soit la présence de phénotopies dans ces familles. De plus, dans chacune des 6 familles étudiées ici, nous avons exclu une compatibilité de liaison avec les autres régions impliquées à ce jour dans la scoliose idiopathique : 19p13.3, 17p11.2, 9q34, 17q25, 18q et 8q (gène CHD7), suggérant des résultats faux positifs ou une importante hétérogénéité génétique.

**Mots-clés** : scoliose idiopathique, maladie multifactorielle, formes monogéniques dominantes.

### ■P321. GENERISK : UN LOGICIEL D'ESTIMATION DES RISQUES POUR DES MALADIES GÉNÉTIQUES À PARTIR DE DONNÉES FAMILIALES

B. Bonaïti (1, 2), C. Bonaïti-Pellié (2, 3)  
 (1) INRA-GABI, Jouy-en-Josas, France ; (2) INSERM, U535, Villejuif, France  
 Contact : catherine.bonaïti@inserm.fr

Dans les maladies génétiques à âge de début variable ou dans les formes héréditaires de maladies communes comme le cancer, la prise en charge des personnes porteuses d'une mutation nécessite d'avoir une estimation précise des risques cumulés en fonction de l'âge (fonction de pénétrance), en particulier pour définir des stratégies de prévention. Ces personnes étant le plus souvent diagnostiquées dans des familles recensées sur des critères complexes, et en particulier sur la présence de plusieurs personnes atteintes, les échantillons d'individus porteurs dont on dispose sont bien entendu biaisés. Il est donc crucial, pour obtenir des estimations fiables, de corriger pour ce biais de recensement. Cette correction peut être effectuée grâce à des méthodes basées sur le maximum de vraisemblance. La GRL (genotype restricted likelihood) a été développée dans le cas où les critères sont essentiellement familiaux (Carayol et Bonaïti-Pellié, 2004). Son principe est de maximiser, pour chaque famille, la probabilité des génotypes observés conditionnellement aux phénotypes de tous les membres de cette famille, et au génotype de l'individu index (premier individu testé dans la famille) dont le génotype est toujours muté. Cette méthode s'applique

préférentiellement aux formes héréditaires de maladies communes. La PEL (Proband's phenotype exclusion likelihood) a été développée dans le cas où les familles ont été recensées indépendamment de l'histoire familiale et s'applique essentiellement aux maladies héréditaires à âge de début variable (Alarcon et Bonaïti-Pellié, 2009). Le logiciel GENERISK permet l'utilisation de ces deux méthodes. La GRL et la PEL ont été généralisées de manière à prendre en compte un éventuel effet de l'origine parentale de la mutation et un effet pléiotropique de cette mutation, c'est-à-dire la possibilité de plusieurs maladies différentes (par exemple des tumeurs de localisations diverses) chez les individus porteurs. Nous présentons les principes des méthodes, leurs applications possibles et les précautions à prendre dans l'utilisation du logiciel. Une illustration de GENERISK sur l'estimation du risque de différentes tumeurs dans le syndrome Lynch/HNPCC sera présentée par Valérie Bonadona au cours de ces Assises. 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 : 109-17. Alarcon F, Bourgain C, Gauthier-Villars M, Planté-Bordeneuve V, Stoppa-Lyonnet D, Bonaïti-Pellié C. PEL : An unbiased method for estimating age dependent genetic disease risk from pedigree data unselected for family history. *Genet Epidemiol* 2009 ; 33 : 379-85.

**Mots-clés** : estimation, risque, prédisposition.

## Maladies monogéniques – de la clinique aux gènes

### ■P322. ÉTUDE MOLÉCULAIRE DE 10 FAMILLES NORD-AFRICAINES DE DÉFICIT EN CLASSE II DU SYSTÈME HLA

R. M'rad (1, 3), F. Mellouli (2), M. Trabelsi (1, 3), I. Chelly (1), H. Jilani (1), L. Euch (1), M. Chaabouni (1, 3), I. Ouertani (1), M. Bejaoui (2), F. Maazoul (1), H. Chaabouni (1, 3)

(1) Service des maladies congénitales et héréditaires, EPS Charles Nicolle, Tunis, Tunisie ; (2) Centre de greffe de Moelle, Bab Saadoun, Tunis, Tunisie ; (3) Laboratoire de génétique humaine, Faculté de Médecine de Tunis, Tunis, Tunisie  
 Contact : rmmrad@yahoo.com

Le défaut d'expression des molécules HLA de classe II (MCHII) est responsable d'un déficit immunitaire combiné et sévère appelé « syndrome des lymphocytes nus ». C'est une génopathie, rare au cours de laquelle les infections notamment digestives et pulmonaires apparaissent tôt dans la vie. Sur le plan biologique il est caractérisé par une absence de la réponse cellulaire et humorale à une stimulation antigénique exogène. Sur le plan moléculaire, il est secondaire à un défaut d'expression d'un des quatre facteurs majeurs de la régulation transcriptionnelle de l'expression du MCHII : CIITA, RFXANK, RFX5, et RFXAP. Le gène RFXANK code pour une sous unité du complexe RFX impliquée dans la régulation transcriptionnelle du système MCHII. Une délétion de 26 pb (752delG-25) a été décrite avec une fréquence élevée. Un effet fondateur de cette mutation dans la population nord africaine a été mis en évidence. Dans ce travail, nous rapportons l'étude moléculaire de 8 familles Tunisiennes et 2 autres Libyennes chez qui le diagnostic de déficit en MHC class II est fortement suspect. Le cas index n'était pas disponible chez 2/10 familles. Chez les 8 familles où le cas index est disponible, la délétion (752delG-25) du gène RFXANK a été retrouvée à l'état homozygote chez le malade et hétérozygote chez ces parents dans 5/8 cas. Chez les deux familles où le cas index est décédé, 752delG-25 est retrouvée à l'état hétérozygote chez les deux parents. Cette étude montre qu'au moins 75 % des patients tunisiens sont porteurs de cette anomalie. Ces résultats confirment l'effet fondateur décrit dans la population nord africaine et permettent de proposer un conseil génétique et un diagnostic anténatal fiable dans les familles à risque.

**Mots-clés** : RFXANK, Afrique du nord, déficit immunitaire.

### ■P323. ANALYSIS OF TAZ (TAFAZZIN) AND LDB3 (LIM DOMAIN-BINDING3/CYPHER/ZASP) GENES IN LEFT VENTRICULAR NON COMPACTON

E. Villard (1), G. Habib (2), E. Donal (3), J.C. Eicher (4), C. Pascal (5), R. Isnard (1), G. Dilanian (1), M. Komajda (1), P. Charron (1)

(1) AP-HM – Hôpital La Pitié-Salpêtrière, Paris, France ; (2) AP-HM – Hôpital de la Timone, Marseille, France ; (3) CHU de Rennes – Hôpital de Pontchaillou, Rennes, France ; (4) Centre Hospitalier Universitaire de Dijon, Dijon, France ; (5) CHU de Nantes – Hôpital Guillaume et René Laennec, Nantes, France  
 Contact : philippe.charron@psl.aphp.fr



Background: Left ventricular non compaction (LVNC) is a recently identified cardiomyopathy, characterized by an excessively prominent trabecular meshwork and deep intertrabecular recesses. Some genes have been described as responsible for LVNC, including TAZ and LDB3, but the precise prevalence of these genes and the impact of mutation screening in clinical practice are poorly understood. Objective: To assess the prevalence of mutations in TAZ (tafazzin, Xq28) and LDB3 (LIM domain-binding3/Cypher/ZASP, 10q23.2) genes in a large cohort of patients with LVNC, whatever the familial context. Methods : DNA was extracted from a population of 59 consecutive patients with a definitive diagnosis of LVNC (Echo core lab), from the French registry of LVNC. Direct sequencing of exons and intron-exon boundaries was performed with ABI Prism 3100 Genetic Analyzer (Applied Biosystems). The suspected mutations were tested in a control population (>240 chromosomes); segregation within the families were analysed when available; evolutive conservation among various animal species were analysed by appropriate software. Results : We identified two new missense mutations in the TAZ gene (Phe128Ser and Met155Val) in two index male patients. No mutation was observed in the LDB3 gene, but two new genetic polymorphisms. The prevalence of TAZ mutations was 3% (2/59) and 0% for LDB3. Conclusion: Mutations in TAZ gene were not unfrequent in LVNC whereas no mutation was observed in LDB3 gene. These findings may have impact for LVNC mutation screening strategy in clinical practice, and also for genetic counselling as TAZ mutations are associated with X-linked inheritance.

**Mots-clés :** cardiomyopathie, mutation.

**■P324. SYNDROME DE BARTH : NOUVELLES MUTATIONS DU GÈNE TAZ ET VALIDATION DES CRITÈRES DIAGNOSTIQUES**  
V. Koubi (1), A. Chabli (1), M. Jambou (1), N. Brahim (1), R. Tourraine (2), J.L. Stephan (2), G. Viot (3), S. Lyonnet (1), P. De Lonlay (1), M. Willem (1), J. Steffann (1), J.P. Bonnefont (1), A. Munnich (1), A. Rötig (1), A.S. Lebre (1)

(1) Université Paris Descartes, Hôpital Necker-Enfants Malades et Inserm U781, Départements de Génétique, des Maladies Métaboliques et de Biochimie B, Paris, France ; (2) Université de Saint Étienne, Hôpital Nord, CHU Saint-Étienne, Services de génétique et de pédiatrie, Saint-Étienne, France ; (3) Université Paris Descartes, Hôpital Cochin, Département de Génétique, Paris, France

Contact : valeriekoubi@yahoo.fr

Objectifs : Le syndrome de Barth (BTHS, MIM 302060) est une pathologie récessive liée à l’X, caractérisée par l’association d’une cardiomyopathie précoce, une myopathie des muscles squelettiques, un retard de croissance et d’une neutropénie cyclique. Depuis l’identification du gène TAZ (NM\_000116, Xq28) dans le BTHS (en 1996), plus de 40 mutations ont été décrites (HGMD). Le gène TAZ code pour la protéine tafazzine, qui, lorsqu’elle est mutée engendre des anomalies mitochondriales via une altération dans le remodelage des cardiolipines et des phosphatidylglycerol membranaires. Les anomalies des cardiolipines sont mises en évidence par dosage en chromatographie liquide haute performance couplée à la spectrométrie de masse (hPLC-MS). Chez les patients BTHS, il existe une diminution des cardiolipines (CL), une augmentation des monolysocardiolipines (MLCL) et une élévation spécifique du ratio MLCL/CL. La recherche de mutation du gène TAZ est alors effectuée par séquençage direct des 11 exons. À ce jour, aucune corrélation phénotype-génotype n’a pu être clairement établie et il existe de grandes variations phénotypiques inter et intra-familiales. Méthodes : Nous avons collecté des échantillons tissulaires (peau, cœur, foie) de 50 patients de sexe masculin avec suspicion de syndrome de Barth afin de réaliser une analyse biochimique des cardiolipines par hPLC-MS. Résultats : Parmi les 50 patients étudiés, 8 ont été confirmés comme porteurs d’un syndrome de Barth. La comparaison des tableaux clinico-biologiques chez ces malades nous a permis de mettre en évidence la constante association d’une cardiomyopathie dilatée, d’une neutropénie cyclique et d’une anomalie du profil des cardiolipines chez des garçons âgés de moins de 6 mois. Le retard de croissance, l’hypotonie, l’atrophie musculaire, les difficultés alimentaires et les infections répétées sont fréquents. Le séquençage du gène TAZ a mis en évidence 8 mutations distinctes pour chacun des patients : 4 substitutions (exons 3,4,8), 1 substitution-insertion (exon 2), 1 insertion (exon 9) et 2 délétions de plusieurs exons. Parmi celles-ci, 2 mutations ont déjà été rapportées dans la littérature mais aucune des délétions retrouvées n’a été décrite à ce jour. Au total, nous avons donc mis en évidence 6 nouvelles mutations dans le gène TAZ responsables d’un syndrome de Barth. En conclusion, l’association chez un nourrisson de sexe masculin d’une cardiomyopathie dilatée et d’une neutropénie cyclique doit faire suspecter un syndrome de Barth. Une anomalie du profil des cardiolipines doit être recherchée sur une biopsie de peau. L’élévation du ratio MLCL/CL orientera les études moléculaires vers le séquençage du gène TAZ

et l’identification d’une mutation permettra de proposer aux patients un conseil génétique ainsi qu’un éventuel diagnostic anténatal.

**Mots-clés :** syndrome de Barth, cardiomyopathie, gène TAZ.

**■P325. GÈNES DU DESMOSOME ET DYSPLASIE VENTRICULAIRE DROITE ARYTHMOGÈNE : SPECTRE DES MUTATIONS ET IMPLICATIONS CLINIQUES**

V. Fressart (1), G. Duthoit (2), E. Donal (3), V. Probst (4), J.C. Deharo (5), P. Chevalier (6), D. Klug (7), O. Dubourg (8), E. Delacretaz (9), P. Cosnay (10), P. Scanu (11), D. Keller (12), F. Hidden-Lucet (2), C. Coirault (13), Y. Lecarpentier (13), B. Hainque (1), F. Simon (1), V. Bessirard (14), J.L. Hébert (13), G. Fontaine (2), R. Frank (2), P. Charron (14)

(1) Service de Biochimie Métabolique, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France ; (2) Département de Cardiologie, Hôpital Pitié-Salpêtrière Paris, France ; (3) Service de Cardiologie, Hôpital Pontchaillou, Rennes, France ; (4) Service de Cardiologie, Hôpital Laennec, Nantes, France ; (5) Service de Cardiologie, Hôpital La Timone, Marseille, France ; (6) Service de Cardiologie, Hôpital Est, Lyon, France ; (7) Service de Cardiologie, Hôpital Cardiologique, Lille, France ; (8) Université de Versailles – Saint Quentin, Hôpital Ambroise Paré, Boulogne, France ; (9) Service de Cardiologie, Hôpital de l’Île, Berne, Suisse ; (10) Service de Cardiologie, CHU Tours, Tours, France ; (11) Service de Cardiologie, Hôpital Cote de Nacre, Caen, France ; (12) Service de Cardiologie, Hôpital universitaire de Bâle, Bâle, Suisse ; (13) Service d’Explorations Fonctionnelles Cardiorespiratoires, Hôpital de Bicêtre, Paris, France ; (14) Département de Génétique, AP-HP, UPMC Université Paris 6, Paris, France

Contact : vero.fressart@psl.aphp.fr

Introduction : La dysplasie ventriculaire droite arythmogène (DVDA) est une cardiomyopathie héréditaire (prévalence 1/2000 environ) responsable de mort subite, en particulier chez des sujets jeunes et volontiers sportifs. Cinq gènes codant des protéines du desmosome ont été impliqués dans la genèse de cette pathologie : JUP, DSP, PKP2, DSG2 et DSC2. Nous avons réalisé l’analyse systématique de ces cinq gènes chez des patients atteints de DVDA avérée afin de connaître la fréquence de mutation des différents gènes testés et d’évaluer l’impact potentiel du génotype sur le phénotype. Matériels et Résultats : L’analyse a été réalisée par séquençage direct de ces 5 gènes chez 135 probands indépendants répondant aux critères de l’International Task Force for ARVD/C (arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy). Nous avons identifié chez 62 patients (46 %), 41 différentes mutations causales dont 29 nouvelles mutations. De plus, des variants dits de signification inconnue (VSI) ont été objectivés chez 9 autres patients (7 %). Les mutations causales sont distribuées comme suit : 31 % dans PKP2, 10 % dans DSG2, 4,5 % dans DSP, 1,5 % dans DSC2 et 0 % dans JUP. Des mutations privées ont été retrouvées dans 39 % des cas mutés (24 des patients mutés sur 62). La présence d’une mutation était liée significativement à l’âge du proband, à la présence de potentiels tardifs, au caractère symptomatique du patient, à l’atteinte ventriculaire gauche, à l’atteinte diffuse du ventricule droit, mais pas au contexte familial. Les mutations dans DSG2 étaient associées à une diminution de la Fraction d’Éjection (FE) du ventricule gauche (VG) : 50 % des patients porteurs de mutation DSG2 avaient une FEVG diminuée contre 33 % des patients porteurs de mutation DSP et seulement 10 % des patients porteurs de mutation PKP2 (p = 0,008). Enfin, la présence de deux mutations, objectivée chez 4 % des patients (8 % en tenant compte des VSI) était associée à un risque supérieur de survenue de mort subite : 40 % chez les porteurs de deux mutations (N = 5) contre 5 % chez les porteurs d’une seule mutation identifiée (N = 57) (p = 0,047). Conclusions : Il s’agit de la première analyse exhaustive des cinq gènes codant les protéines du desmosome impliqués dans la DVDA. Nos résultats suggèrent la possibilité d’utiliser le test génétique comme une aide au diagnostic de cette maladie, avec la perspective d’une aide au diagnostic des cas douteux. La découverte d’une mutation dans DSG2 ou d’une double mutation semble être associée respectivement à un risque évolutif accru vers l’insuffisance cardiaque ou la survenue de mort subite et revêtait donc un caractère pronostique.

**Mots-clés :** dysplasie ventriculaire droite arythmogène, desmosome, Plakophiline2, Desmocolline2, Desmogléine2, Plako.

**■P326. À PROPOS DE DEUX VARIANTES R148W ET R176W DE KCNH2 : MUTATIONS RESPONSABLES DE SYNDROME DE QT LONG OU POLYMORPHISMES RARES**

V. Fressart (1, 2), C. Ormand (1), I. Magnin Poull (3), F. Rousselet (4), J.M. Lupoglazoff (2, 5, 6), B. Hainque (1, 2), P. Charron (2, 5, 7), M. Berthet (2), P. Guicheney (2), I. Denjoy (2, 5, 8)

(1) Service de Biochimie Métabolique, Hôpital Pitié-Salpêtrière (AP-HP), Paris, France ; (2) INSERM U956, Hôpital Pitié-Salpêtrière (AP-HP), Paris, France ; (3) Service de Cardiologie, CHU-Nancy, Nancy, France ;

(4) Département de Génétique, CHU-Nancy, Nancy, France ; (5) Centre de Référence pour les Maladies Cardiaques Héritaires, Paris, France ; (6) Service de Cardiologie Infantile, Hôpital Robert-Debré, Paris, France ; (7) Département de Génétique, Hôpital Pitié-Salpêtrière (AP-HP), Paris, France ; (8) Service de Cardiologie, Hôpital Lariboisière (APHP), Paris, France

Contact : [vero.fressart@psl.aphp.fr](mailto:vero.fressart@psl.aphp.fr)

Le syndrome du QT long congénital (QTL) se caractérise à l'électrocardiogramme (ECG) de surface par un allongement de l'intervalle QT associé à un risque de troubles du rythme ventriculaire graves. Le syndrome du QTL est cliniquement hétérogène : QTc allongé isolé, bradycardie sinusale, lipothymies, syncope et 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. Le syndrome du QTL congénital se caractérise par une grande hétérogénéité génétique, plus de 10 gènes sont impliqués dans ce syndrome. Parmi eux, le gène *KCNH2* codant un canal potassique, est le siège de 40 à 50 % des mutations causales de QTL. En l'absence d'études électrophysiologiques, il est difficile de déterminer si certains nouveaux variants faux sens sont des mutations ou des polymorphismes. Ils sont alors classés comme variant de signification inconnu (VSI). Ce travail a pour but de montrer les limites des démarches classiques permettant d'évaluer le caractère causal de variants. Deux variants, p.Arg148 Trp, c.422C>T et p.Arg176 Trp, c.526C>T ont été identifiés dans le gène *KCNH2*, chez 4 et 2 familles, en l'absence d'autres mutations dans les gènes fréquemment mutés dans le syndrome du QTL. Ils sont localisés dans le domaine extracellulaire entre les segments I et II de la protéine. L'analyse du variant par logiciels de prédictions, l'étude de la ségrégation familiale (recrutement des apparentés, évaluation de leur atteinte clinique, confrontation phénotype génotype) la recherche du variant chez des contrôles sont des aides précieuses à la décision. Le plus souvent, l'analyse de tous ces critères permet de conclure quant au caractère pathogène du variant. Cependant, dans certains cas, la difficulté persiste et le choix entre polymorphisme rare ou mutation ne peut être fait. Les deux variants décrits ont aussi bien des caractéristiques de polymorphisme que de mutation d'après les logiciels de prédiction. L'analyse de la ségrégation familiale ne permet pas davantage de trancher sur la nature causale du variant car la durée de l'intervalle QTc varie de normale à clairement prolongée chez les porteurs. Enfin, l'absence des deux variants chez 100 contrôles permet de les éliminer en tant que polymorphisme fréquent, mais pas de trancher entre polymorphisme rare et mutation. Les procédures habituelles permettant la validation d'un variant comme polymorphisme ou mutation peuvent être insuffisantes. Les résultats suggèrent que ce pourrait être des variants rares à faible effet associés à une autre mutation non encore identifiée chez les sujets les plus atteints des familles. L'analyse fonctionnelle de ces deux variants après expression *in vitro* serait d'une aide appréciable pour statuer sur leur caractère causal.

**Mots-clés :** syndrome de QT long, *KCNH2*.

#### ■P327. EXPLORATION MOLÉCULAIRE D'UNE COHORTE DE 100 PATIENTS FRANÇAIS PORTEURS DE CARDIOMYOPATHIE DILATÉE

G. Millat (1), H. Crehalet (1), V. Chanavat (1), S. Julia (2), P. Bouvagnet (3), R. Rousson (1)

(1) Laboratoire de Cardiogénétique Moléculaire, Centre de Biologie et Pathologie EST, Bron, France ; (2) Service de Génétique Médicale, Hôpital Purpan, CHU Toulouse, Toulouse, France ; (3) Service de Cardiologie C, Hôpital Cardiovasculaire et Pneumologie L-Pradel, Bron, France

Contact : [gilles.millat@chu-lyon.fr](mailto:gilles.millat@chu-lyon.fr)

La cardiomyopathie dilatée (CMD) est une maladie du muscle cardiaque, caractérisée par une dilatation ventriculaire et une altération de la fonction systolique. Les patients présentent une insuffisance cardiaque, une arythmie et un risque de mort prématurée. La prévalence de la cardiomyopathie dilatée est de 1/2 500 individus. La cardiomyopathie dilatée familiale représenterait entre 20 à 40 % des cardiomyopathies dilatées. Cette forme familiale est principalement due à des mutations des gènes codant des protéines du cytosquelette et du sarcomère des myocytes cardiaques. À ce jour, plus de 25 gènes morbides sont impliqués dans cette pathologie. Les différentes études rapportées à ce jour suggèrent que les gènes les plus fréquemment mutés sont les gènes *MYH7*, *LMNA* et *TNNT2*. Une exploration moléculaire de ces gènes a donc été initiée à partir de l'ADN génomique de 100 patients français présentant une cardiomyopathie dilatée. Après amplification des exons et des jonctions exons-introns de chacun de ces 3 gènes, les amplicons ont été analysés soit par DHPLC/séquençage (gènes *MYH7* et *TNNT2*), soit par HRM/séquençage (gène

*LMNA*). Cette étude a permis d'identifier une mutation dans 16 familles CMD (16 %). Parmi les 15 mutations identifiées, 8 sont nouvelles et 7 ont été précédemment rapportées dans la littérature. Aucune de ces mutations n'a été identifiée après analyse de 200 chromosomes témoins. Plus de la moitié des mutations ont été localisées dans le gène *LMNA* qui représente donc le gène le plus fréquemment muté (9 % des patients CMD) au sein de notre cohorte. Les mutations *LMNA* sont 5 mutations faux-sens (p.Leu92Phe ; p.Glu161Lys ; p.Ala287fs ; p.Glu317Lys ; p.Arg377His et p.Gly523Arg), une insertion de 24 pb (p.ins128\_129insRVTLISSR), une insertion de 1 pb (p.Ala287fs) et une mutation d'épissage (IVS7+1 G>A). Les 7 autres mutations identifiées sont 4 mutations *TNNT2* (4,9 % des patients CMD), et 3 mutations faux-sens *MYH7* (3,9 % des patients CMD). Les mutants faux-sens *MYH7* (p.Val1044Ala ; p.1101-1104 delGSQL ; p.Ala1263Glu) sont localisés au sein de la partie tige de la protéine *MYH7*. Les fréquences obtenues sont similaires à celles rapportées dans la littérature. Au vu du grand nombre de gènes morbides impliqués, il est probable qu'une étude moléculaire plus exhaustive (gènes *MYPN*, *MYBPC3*, *TNN3*, *ANKRD1*, *RBM20*...) aurait permis de déceler une anomalie moléculaire chez un plus grand nombre de patients. L'identification soit de nouvelles mutations dans des gènes connus soit de nouveaux gènes morbides est cruciale pour mieux définir les corrélations phénotype/génotype et ainsi mieux appréhender la physiopathologie de cette maladie. Cette identification est également nécessaire pour améliorer la prise en charge en thérapeutique des malades et permettre la mise en place d'un conseil génétique adapté pour les différents apparentés.

#### ■P328. UNE MUTATION DU GÈNE *KCNQ1* RESPONSABLE DU SYNDROME DU QT LONG ET DE FIBRILLATION ATRIALE FAMILIALE

S. Duchatelet (1), D.C. Bartos (2), D. Klug (3), J.M. Lupoglazoff (1, 4, 5), I. Denjoy (1, 5, 6), M. Berthet (1), V. Fressart (1, 7), B.P. Delisle (2), P. Guicheney (1)

(1) Inserm U956, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France ; (2) University of Kentucky, Lexington, KY, USA ; (3) Service de cardiologie A, Hôpital cardiologique, Lille, France ; (4) Service de cardiologie Infantile, Hôpital Robert Debré, Paris, France ; (5) Centre de Référence pour les Maladies Cardiaques Héritaires, Paris, France ; (6) Service de cardiologie, Hôpital Lariboisière, Paris, France ; (7) Service de Biochimie Métabolique, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France

Contact : [pascale.guicheney@upmc.fr](mailto:pascale.guicheney@upmc.fr)

Le syndrome du QT long congénital (SQTL) est une maladie cardiaque héréditaire rare qui se caractérise par un allongement de la durée de l'intervalle QT sur l'électrocardiogramme et un risque de syncope et de mort subite, le plus souvent de transmission autosomique dominante. De nombreuses mutations ont été identifiées dans le gène *KCNQ1* codant une sous-unité du canal potassique voltage-dépendant à l'origine du courant sortant repolarisant IKS. La plupart d'entre elles sont responsables du SQTL et sont associées à une réduction du courant potassique sortant IKS. Quelques rares mutations associées à une activation d'IKS sont à l'origine du syndrome du QT court ou de fibrillation atriale familiale (FA). Nous avons identifié la mutation p.Arg231Cys dans *KCNQ1* dans 6 familles, 5 d'entre elles présentaient des formes sévères de syndrome du QT long (QTc>500 ms). Dans la 6ème famille, 4 des 5 porteurs de la mutation, présentaient une FA ayant débuté entre les âges de 15 et 33 ans, associée ou non à un allongement modeste de l'intervalle QT. Nous avons exclu dans cette famille la présence d'une autre mutation dans la plupart des gènes décrits comme responsables de FA (*KCNQ1*, *KCNH2*, *SCN5A*, *KCNE2*, *KCNE3*, *KCNE5*, *KCNA5*, *KCNJ2*, *NPPA*, *GJA5*). L'analyse fonctionnelle de la mutation p.Arg231Cys, après expression hétérologue, a montré un comportement inhabituel du canal muté. En effet, une diminution du courant potassique est observée pour des potentiels de membrane positifs, et une augmentation du courant potassique aux potentiels négatifs. Ces résultats ne permettent pas d'expliquer les différents phénotypes observés dans ces familles. Cette variabilité phénotypique suggère l'implication d'autres facteurs génétiques dans l'expression clinique de la maladie. Nous avons recherché l'ensemble des SNPs décrits comme ayant un effet protecteur ou à risque sur la FA d'après les études de gènes candidats et les analyses d'association génome-entier. Nous avons sélectionné 12 polymorphismes dans 10 gènes (*KCNH2*, *KCNE1*, *KCNE4*, *KCNE5*, *SCN5A*, *GJA5*, *SLN*, *IL10*, *PITX2*, *ZFHX3*) et nous les avons génotypés dans ces 6 familles. La plupart des SNPs étudiés sont retrouvés dans les familles SQTL et la famille FA. Dans la famille FA, l'allèle T protecteur du SNP (rs17003955, c.97C>T, p.Pro33Ser) du gène *KCNE5* n'est présent que chez le porteur de la mutation p.Arg231Cys n'ayant pas développé de FA. *KCNE5* code une sous-unité régulatrice de *KCNQ1* qui pourrait donc moduler les conséquences fonctionnelles de la mutation de *KCNQ1*. Des études fonctionnelles vont être réalisées afin de déterminer l'effet de la

sous-unité codée par KCNE5 et de ce polymorphisme sur les conséquences fonctionnelles de la mutation p.Arg231Cys. Néanmoins, d'autres patients dans les familles SQTL sont porteurs de l'allèle C du SNP rs17003955 comme ceux qui présentent une FA ; ceci suggère que d'autres facteurs génétiques non encore identifiés contribuent à la variabilité phénotypique associée à cette mutation.

**Mots-clés :** syndrome du QT long, fibrillation atriale, KCNQ1.

**■P329. SPORADIC ARRHYTHMOGENIC RIGHT VENTRICULAR CARDIOMYOPATHY DUE TO A DE NOVO MUTATION**

E. Gandjbakhch (1, 2), V. Fressart (3), G. Bertaux (4), L. Faivre (5), F. Simon (3), R. Frank (1), G. Fontaine (1), E. Villard (2), C. Coirault (6), B. Hainque (3, 6), P. Charron (1, 2, 7)

(1) Département de Cardiologie, Hôpital Pitié-Salpêtrière, AP-HP, Paris, France ; (2) INSERM, UMR-S956, AP-HP, UPMC Université Paris 6, Paris, France ; (3) Service de Biochimie, Unité de Cardiogénétique et Myogénétique, Hôpital Pitié-Salpêtrière, AP-HP, Paris, France ; (4) Centre de Cardiologie, Centre Hospitalier Universitaire, Dijon, France ; (5) Centre de Génétique, Centre Hospitalier Universitaire, Dijon, France ; (6) INSERM U582, Hôpital Pitié-Salpêtrière, AP-HP, Paris, France ; (7) Département de Génétique, Hôpital Pitié-Salpêtrière, AP-HP, Paris, France

Contact : estelle.gandjbakhch@upmc.fr

We report the case of a 41-year-old man with a diagnosis of sporadic arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy (ARVC). The electrocardiogram displayed extensive T waves inversion in precordial leads. The 24-hour ECG monitoring documented more than 500 polymorphic ventricular ectopies. Signal-averaged ECG with 40 Hz filter showed late potentials. The echocardiogram showed right ventricular (RV) abnormalities with global mild RV dilatation, wall motion abnormalities localised in the inferior wall and the apex, and excessive trabeculations, while left ventricle appeared normal. RV abnormalities were confirmed by cardiac noncontrast cine-MRI. The electrophysiological study easily induced reproducible fast ventricular tachycardia with two different left-bundle-branch block morphologies. The genetic screening of the four desmosomal genes plakophilin-2, desmoplakin, desmoglein-2, desmocollin-2 (that have been shown to be involved in ARVC) identified the heterozygous missense mutation R49H in the desmoglein-2 gene. This mutation is located in the highly conserved cleavage motif RKK/RR that is recognised by pro-protein convertases and is thus predicted to prevent efficient pro-desmoglein-2 maturation. The mutation was absent in both parents, and we demonstrated that it was a *de novo* mutation. To the best of our knowledge, this is the first description of a *de novo* mutation in ARVC. Appearance of a *de novo* mutation in the desmoglein-2 gene (that is an essential component of desmosome that mediates cell-to-cell adhesion) provides compelling genetic evidence for the involvement of this gene in ARVC. The recognition of *de novo* mutations has important implications, including for clinical practice, since individuals with sporadic ARVC caused by a *de novo* mutation can transmit the disease gene to 50% of their offspring. This suggests that the benefit of molecular genetics can be extended to sporadic ARVC, and may improve genetic counselling.

**Mots-clés :** cardiomyopathie, ARVC, genetics

**■P330. KATP CHANNELS AND EARLY REPOLARIZATION SYNDROME**

S. Chatel (1), M. Haïssaguerre (2), F. Sacher (2), R. Weerasooriya (2), V. Probst (1, 3), G. Loussouarn (1), M. Horlitz (5), R. Liersch (5), E. Schulze-Bahr (6), A. Wilde (7), S. Kääh (8), J. Koster (4), Y. Rudy (4), F. Kyndt (1), H. Le Marec (1, 3), J.J. Schott (1)

(1) INSERM UMR915, CNRS ERL3147 l'institut du thorax, Nantes, France ; (2) Université de Bordeaux, Hôpital Haut-Lévêque, Bordeaux-Mérignac, France ; (3) Service de Cardiologie, l'institut du Thorax, CHU de Nantes, Nantes ; (4) Washington University School of Medicine, St. Louis, Missouri, USA ; (5) Klinikum Wuppertal, Germany ; (6) Department of Cardiology and Angiology, Hospital of the University of Münster, Münster, Germany ; (7) Academic Medical Centre, Amsterdam, The Netherlands ; (8) Medizinische Klinik und Poliklinik I Marchioninistraße, Munich, Germany

Contact : stephanie.chatel@nantes.inserm.fr

Early repolarization is a common electrocardiographic finding that is generally considered to be benign and affects 1 to 5% individuals. Potential arrhythmogenicity has been suggested, but so far clinical evidence was lacking. A recent case-control study reveals that early repolarization is more frequent in case subjects with idiopathic ventricular fibrillation than in control subjects (31% vs. 5%, P<0.001). Sixteen percent of cases subjects

with idiopathic ventricular fibrillation have a family history of sudden cardiac arrest which suggests the presence of genetic defects. Early repolarization could involve a transmural repolarization gradient across the ventricular wall, caused by an anomaly of epicardium action potential. This anomaly can be due to an increase of current IKATP. ATP-sensitive potassium channel (KATP) are heteromers composed of inwardly rectifying K<sup>+</sup> subunits Kir6.0 (Kir6.1 encoded by KCNJ8 or Kir6.2 encoded by KCNJ11) and sulphonylurea receptors SUR (SUR1 encoded by ABCC8 or SUR2 encoded by ABCC9). A candidate gene approach by direct sequencing was performed in a cohort of 96 patients. We first describe a variant in KCNJ8 (c.1265C>T p.S422L) in a young female presenting with multiple episodes of idiopathic ventricular fibrillation associated with very dramatic changes in repolarization pattern. In a second step, we sequenced other cardiac KATP channel subunits and identified 5 rare variants in ABCC9 in 5 probands: 4 missense variants and a nucleotide substitution in a splice-site. Enrollment of these patient's family and functional analysis are in progress. Several physiopathological hypothesis (membrane trafficking increased, ATP sensitivity decreased...) are going to be tested in order to investigate the electrophysiological consequences and establish a pathogenetic link between phenotype and genotype. The identification of 6 patients among 96 (6.25%) with a variant in different KATP channel subunits reinforces the implication of ATP-sensitive channels in early repolarization syndrome.

**Mots-clés :** syndrome de repolarisation précoce, canaux Katp, approche gène candidat.

**■P331. ÉTUDE GÉNÉTIQUE DES FORMES PÉDIATRIQUES DU SYNDROME DE WOLFF PARKINSON WHITE : ÉVIDENCE D'UNE HÉTÉROGÉNÉITÉ GÉNÉTIQUE DANS LA POPULATION TUNISIENNE**

S. Noura (1), F. Ouarda (2), C. Charfeddine (1), I. Arfa (1), H. Ouragini (1), F. Abid (2), S. Abdelhak (1)

(1) Unité de Recherche UR04/SP03 « Exploration Moléculaire des Maladies Orphelines d'Origine Génétique », Institut Pasteur de Tunis, Tunisie ; (2) Service de cardiologie pédiatrique de l'Hôpital de la Rabta, Tunis, Tunisie

Contact : nouira\_sonia@yahoo.fr

The Wolff Parkinson White (WPW, MIM 194200) est une anomalie congénitale rare avec une prévalence estimée à 1/1 000. Cette maladie est caractérisée par l'existence d'une voie de conduction supplémentaire entre oreillette et ventricule (Faisceau de Kent) se traduisant sur le plan électrophysiologique par une pré-excitation ventriculaire et une tachycardie. Le WPW peut se présenter sous une forme isolée ou associée à une cardiomyopathie héréditaire (CMH). Ces deux formes cliniques sont transmises suivant le mode autosomique dominant. Des mutations dans le gène PRKAG2 localisé dans la région chromosomique 7q36 seraient responsables des formes familiales de WPW. Ce gène code pour la sous unité gamma 2 de la protéine kinase AMP dépendante qui joue un rôle majeur dans le maintien de l'équilibre cellulaire du rapport AMP/ATP par la régulation des enzymes qui déterminent le flux d'énergie dans la cellule. L'implication des gènes PRKAG2 et NKX2-5 a été étudiée chez 3 familles tunisiennes présentant 11 individus atteints du WPW. L'investigation clinique montre une large variabilité phénotypique. L'analyse mutationnelle par séquençage direct montre qu'à l'exception de deux polymorphismes, aucune mutation n'a été identifiée dans les parties codantes des gènes PRKAG2 et NKX2-5 chez les familles étudiées. Ces résultats sont en faveur d'une hétérogénéité clinique et génétique du WPW dans la population Tunisienne. Associée à la présence d'individu non pénétrant et l'influence de facteurs environnementaux et épigénétiques, cette hétérogénéité complique l'étude des cardiopathies héréditaires.

**Mots-clés :** Wolff Parkinson White, PRKAG2, analyse génétique.

**■P332. DÉFICIENCE EN GDP-MANNOSE : GLCNAC2-PP-DOLICHOL MANNOSYLTRANSFÉRASE (ALG1, CDG1K) : 8 NOUVEAUX PATIENTS ET 10 NOUVELLES MUTATIONS**

T. Dupré (1, 2, 5), S. Vuillaumier-Barrot (1, 2, 5), I. Chantret (2, 5), H. Sadou Yayé (1), C. Le Bizec (1), A. Afejar (6), C. Altuzarra (7), C. Barnérias (8), L. Burglen (9), P. De Lonlay (3, 4), F. Feillet (10), S. Napuri (11), G. Matthijs (12), S.E.H. Moore (2, 5), N. Seta (1, 3)

(1) AP-HP, Hôpital Bichat-Claude Bernard, Biochimie Métabolique et Cellulaire, Paris France ; (2) INSERM U773 CRB3, Paris France ; (3) Université Paris-Descartes, Paris, France ; (4) AP-HP, Hôpital Necker-Enfants Malades, Département de Pédiatrie, Paris, France ; (5) Université Denis-Diderot, Paris 7, Paris, France ; (6) AP-HP, Service de Neuropédiatrie et Pathologie du Développement, Hôpital Armand-Trousseau, Paris, France ; (7) Service de Pédiatrie, Hôpital Saint Jacques, Besançon,



France ; (8) AP-HP, Service de Neuropédiatrie, and Centre de Référence des Maladies Neuromusculaires, Hôpital Necker-Enfants-malades, Paris, France ; (9) AP-HP, Service de Génétique, Génétique Clinique-Neurogénétiq, Hôpital A.-Trousseau, Paris, France ; (10) Centre de Référence des Maladies Héritaires du Métabolisme, CHU Brabois Enfant, Vandœuvre-lès-Nancy, France ; (11) Explorations Fonctionnelles Neurologiques Hôpital Sud-Rennes, Rennes, France ; (12) Center for Human Genetics, University of Leuven, Belgique  
Contact : sandrine.vuillaumier@bch.aphp.fr

Les « Congenital Disorders of glycosylation » de type I (CDG I), constituent un groupe de pathologies héréditaires transmises sur un mode autosomique récessif. Ils sont liées à des défauts d'une des étapes précoces de la synthèse de la partie glycanique des N-glycoprotéines. Les CDG Ik sont dus à une carence en GDP-mannose : GlcNAc2-PP-dolichol mannosyltransferase (MT-1, gène ALG1). À ce jour, seuls quatre patients, avec des présentations cliniques sévères, ont été décrits. Nous présentons ici les données génétiques, biochimiques et cliniques de 8 nouveaux cas de CDG lié à MT-1 : 5 cas français et 3 cas du réseau européen Euroglycanet La biosynthèse des oligosaccharides lipides (OSL) a été explorée dans des fibroblastes de biopsie de peau en culture et l'activité mannosyltransferase MT-1 a été dosée dans les microsomes préparés à partir de ces cellules. Le gène ALG1 (codant pour MT-1) a été séquencé à la fois sur ADN génomique et ADNc. Les fibroblastes en culture issus d'une biopsie de peau des 5 patients français ont été marqués par de la glucosamine tritiée. Ils ont présenté des accumulations de GlcNAc2-PP-dolichol, le deuxième intermédiaire dans la biosynthèse de OSL indiquant un possible déficit de MT-1. Les activités des mannosyltransferases MT-1, MT-2 et MT-3, permettant l'ajout respectivement des 3 premiers résidus mannosyl de l'OSL ont été mesurées. Seule l'activité MT-1 a été trouvée déficitaire. Le séquençage du gène ALG1 chez les 8 patients a révélé 12 mutations différentes : 2 mutations connues pour être causales : c.773C>T (Ser258Leu) et c.450C>G (p.Ser150Arg) et 10 mutations qui n'ont pas été décrites précédemment dont 6 faux sens (c.434G>A (p.Gly145Asp), c.397C>A (p.Pro133Thr), c.826C>T (p.Arg276Trp), c.1129A>G (Met377Val), c.1145T>A (p.Met382Lys), c.1312C>T (p.Arg438Trp) et 4 mutations d'épissage [c.740G>T, c.740 +5G>A (p.Ala211\_Arg247del), c.961+1G>C, c.1263G>A (p.Cys396X)]. Les nouvelles mutations faux sens sont données comme pathogènes par les logiciels de prédiction phénotypique. Les présentations cliniques sont sévères avec des dysmorphies, une atteinte du SNC et des troubles oculaires fréquents. Ces nouvelles données modifient radicalement la fréquence relative des CDG I dans notre cohorte de patients CDG diagnostiqués en France. En effet, jusqu'à présent, le CDG Ik décrit dans la littérature seulement pour 4 patients dans le monde devient dans notre série le deuxième sous type de CDG I le plus fréquent après le CDG Ia (déficit en phosphomanomutase), à égalité avec le CDG Ib (déficit en phosphomannose isomérase). Notre stratégie diagnostic s'en trouve donc modifiée.

**Mots-clés :** CDG Ik, ALG1, mannosyltransferase.

### ■P333. A NEW INBORN ERROR OF GLYCOSYLATION DUE TO DPM2 DEFICIENCY

W. Vleugels (1, 2), V. Race (1), R. Bammens (1), L. Keldermans (1), R. Barone (3, 4), F. Foulquier (2), G. Matthijs (1)  
(1) Center for Human Genetics, Leuven, Belgium ; (2) Unité de Glycobiologie Structurale et Fonctionnelle UMR/CNRS 8576, IFR147, Lille, France ; (3) Department of Neuroscience – University of Catania, Catania, Italy ; (4) Centre for Inherited Metabolic Diseases – Department of Pediatrics – University of Catania, Catania, Italy  
Contact : valerie.race@uz.kuleuven.ac.be

Congenital disorders of glycosylation (CDG) are a group of complex metabolic diseases. Since its first clinical description in 1980, about 40 different types have been identified. Most CDG are due to defects in the N-glycosylation pathway, the other ones affect the O-glycosylation pathway and a few types present with a combined N- and O-glycosylation deficiency. We report here a patient with severe developmental delay, epilepsy and dysmorphic features, with a defect in the early steps on the N-glycosylation process according to the transferrin isoelectric focusing (type I). Analysis of the lipid-linked oligosaccharides (LLO) showed an accumulation of the dol-PP-GlcNAc2-Man5 structure. This pattern is compatible with a defect in the DPM1, ALG3 or MPDU1 genes, in which mutations have previously been described; however, no mutations were detected in those genes in this patient. We decided to further analyze DPM2 and SAC1 genes. The patient was found to be compound heterozygote for 2 mutations in the DPM2 gene: a splice mutation (c.4-1G>C) and a point mutation (c.68A>G, p.Y23C). Hence, this patient presents with a novel type of CDG. The human dolichol-phosphate-mannose (DPM) synthase is a heterotrimeric complex composed of DPM1,

DPM2 and DPM3. Until now, only mutations in DPM1 (the catalytic subunit) and more recently in DPM3 have been described. DPM2 is a hydrophobic protein of 84 amino acids, whose function is still not clear. It is reported in the literature that DPM2 could be involved in the regulation of the DPM synthase complex but also in the regulation of the glycosylphosphatidylinositol-N-acetylglucosaminyltransferase. Further investigation of the effect of the DPM2 mutations by complementation analysis using Lec15 null hamster DPM2-deficient cells is ongoing.

**Mots-clés :** glycosylation, dolichol cycle, dysmorphies.

### ■P334. ÉVALUATION PILOTE DU DIAGNOSTIC MOLÉCULAIRE DE LA MUCOVISCIDOSE VIA LE KIT XTAG® CYSTIC FIBROSIS 71 KIT V2 DE LUMINEX

X. Pepermans (1), T. Leal (1), M. Philippe (1)  
Centre de Génétique Humaine, Cliniques Universitaires, Saint-Luc, Bruxelles, Belgique  
Contact : Xavier.Pepermans@uclouvain.be

Introduction La mucoviscidose (MIM219700) est la plus courante des maladies récessives graves dans la population caucasienne. Elle est causée par des mutations du gène CFTR (Cystic Fibrosis Transmembrane conductance Regulator), localisé en 7q31.2. Ce gène produit une protéine de 1 480 acides aminés exprimée dans plusieurs tissus et glandes exocrines. L'expression phénotypique de la maladie est complexe et variable. Ses manifestations cliniques sont multiples et incluent des infections récurrentes sino-pulmonaires, une insuffisance pancréatique exocrine, de l'infertilité masculine, ainsi qu'une teneur élevée d'électrolytes dans la sueur. À ce jour, plus de 1 500 différentes mutations ont été décrites (<http://www.genet.sickkids.on.ca/>). Objectif L'objectif de cette étude est de comparer l'efficacité du diagnostic moléculaire de la mucoviscidose en dépistage en routine. Ainsi, afin de détecter les mutations et polymorphismes du CFTR, nous avons eu recours à deux méthodes différentes. La méthode xTAG® Cystic Fibrosis 71 Kit v2 (Luminex, Canada) a été comparée à celle de INNO-LiPA CFTR17+Tn Update combinée à INNO-LiPA CFTR19 kit (Innogenetics, Belgium), utilisée dans cette étude comme méthode de référence. La méthode Luminex détecte 71 mutations délétères et 6 polymorphismes tandis que la méthode INNO-LiPA détecte 36 mutations et 3 polymorphismes. Méthodes Lors d'une première étape de validation, 30 échantillons d'ADN positifs par la méthode INNO-LiPA ont été analysés par le kit Luminex. Lors d'une deuxième étape, nous avons examiné des échantillons d'ADN provenant de différentes matrices biologiques (10 de chaque type) : sang total sur EDTA ; villosités choriales ou liquide amniotique, et sang total sur carte de Guthrie. L'ADN du sang total a été extrait par la méthode saline, ceux provenant de prélèvements fœtaux et de cartes de Guthrie ont été extraits par phenol-chloroforme. Chaque échantillon a été analysé en triplicat par 3 opérateurs différents à 3 jours différents. Finalement, 55 échantillons sans anomalie ont été comparés par les deux méthodes. Si une substitution a été détectée avec la méthode Luminex, mais pas avec la méthode INNO-LiPA, le séquençage exonique par BDT3.1/3130xl (Appliedbiosystems) a été réalisé pour confirmation. Résultats Dans toutes les étapes de validation et pour tous les échantillons d'ADN testés, les mêmes résultats pour chaque mutation ont été obtenus par les deux méthodes. La reproductibilité de la nouvelle méthode est identique à celle de la méthode de référence. Aucune différence significative inter-opérateur n'a été observée. Les 3 polymorphismes identifiés par la méthode Luminex (F508C, I507V et I506) ont été confirmés par séquençage exonique du CFTR. Conclusions Le kit xTAG® Cystic Fibrosis 71 Kit v2 de Luminex est robuste et permet la détection d'un plus large nombre de mutations CFTR. Cette technologie peut être appliquée comme méthode de dépistage en routine au laboratoire.

**Mots-clés :** mucoviscidose, Luminex, dépistage.

### ■P335. INCLUSION D'UN EXON CRYPTIQUE DU GÈNE CFTR DANS UNE FORME ATYPIQUE DE MUCOVISCIDOSE

C. Costa (1, 2), V. Prulière Escabasse (3), L. Bassinet (4), L. Golmard (2), C. Gameiro (1), A. De Becdelièvre (1, 2), A. Aissat (2), M. Goossens (1, 2), E. Girodon-Boulandet (1, 2)  
(1) Laboratoire de Génétique, APHP CHU H Mondor, Creteil, France ; (2) Génétique INSERM U955 équipe 11, Université paris XII, Creteil, France ; (3) ORL, APHP CHU H Mondor, Creteil, France ; (4) Pneumologie-CRCM CHIC Créteil, France  
Contact : catherine.costa@hmn.aphp.fr

La mucoviscidose est la plus fréquente des maladies autosomiques récessives chez les caucasiens. Plus de 1600 mutations du gène CFTR sont actuellement décrites comme responsables de formes classiques de mucoviscidose ainsi que de formes atypiques. La plupart des mutations sont



situées dans les régions codantes du gène, incluant les sites consensus d'épissage, tandis que de rares mutations au milieu d'introns sont décrites, telles 3849+10kbC>T et 1811+1.6kbA>G. Cependant un certain nombre d'allèles restent encore non identifiés, rendant le conseil génétique difficile, particulièrement lorsque le diagnostic est incertain. Nous décrivons ici le cas d'une femme de 25 ans présentant comme seul signe une bronchectasie disséminée, sans atteinte pancréatique, et un test de la sueur limite. Seule la mutation F508del à l'état hétérozygote ayant été identifiée après l'étude des 27 exons du gène et la recherche de grands réarrangements, nous avons réalisé une étude de l'ARNm extrait à partir des cellules épithéliales nasales. Un ARN de plus grande taille correspondant à une inclusion de 97 pb entre les exons 6b et 7 a été mis en évidence. Cette inclusion correspond à une partie de la séquence de l'intron 6b, déletée de 4 pb (GAAT), et qui est flanquée des séquences consensus d'épissage. Un codon stop apparaît au sein de cette séquence. L'analyse génomique de l'intron 6b de la patiente montre la seule présence de cette délétion, c.1002-1112\_1115delGAAT. Des études in silico (ESEfinder, Human Splicing Finder HSF) prédisent que ce motif (GAAT) pourrait être considéré comme un site silencieux d'épissage (ISS) et pourrait servir de matrice pour une hnRNP A1 ribonucléoprotéine. Cet élément cis intronique (GAAT) aiderait le spliceosome à ignorer les pseudo-exons et pourrait agir en tant que site de liaison pour des protéines dont le rôle serait de promouvoir l'exclusion d'exons. Ainsi la suppression de ce site aurait pour conséquence l'inclusion d'un pseudo-exon. Le taux de transcrite anormal est estimé à 20%. Il persisterait donc un ARNm CFTR résiduel qui pourrait expliquer la forme modérée de mucoviscidose observée chez la patiente.

**Mots-clés :** mucoviscidose, ARN, pseudo-exon.

### ■P336. UTILISATION DE LA PCR EN TEMPS REEL POUR LA VALIDATION DE LA MLPA DANS LA RECHERCHE DE GRANDS RÉARRANGEMENTS GÉNIQUES

O. Theisen (1), J. Leclerc (1), C.M. Dhaenens (1), E. Girodon (2), G. Lalau (1)

(1) *Laboratoire de Toxicologie et Génomathies, Centre de Biologie Pathologie, CHRU de Lille, Lille, France ; (2) Service de Biochimie-Génétique, Hôpital Henri Mondor, Créteil, France*

Contact : j-leclerc@chru-lille.fr

Les anomalies génétiques identifiées dans les maladies monogéniques sont principalement des mutations ponctuelles. Les grands réarrangements, délétions ou duplications pouvant toucher un exon, plusieurs exons ou le gène entier, représentent un pourcentage faible mais non négligeable des anomalies identifiées. Ils ne pouvaient initialement être suspectés que par la transmission uniparentale de marqueurs polymorphes intragéniques ou par l'absence d'amplification de produits de PCR. L'apparition ces dernières années de la technique MLPA (Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification) a permis la recherche de ces réarrangements de façon simple et adaptée au diagnostic moléculaire au laboratoire. Quoique très fiable, cette technique peut cependant révéler de faux positifs. En effet, la présence d'un polymorphisme de l'ADN cible au niveau du site d'hybridation des sondes de MLPA, peut entraîner une absence d'amplification et la détection erronée d'une délétion. C'est pourquoi il peut être utile de disposer d'une technique permettant de confirmer les réarrangements identifiés en MLPA. Notre étude a donc consisté à valider l'utilisation de la quantification génique par PCR en temps réel en tant que technique de confirmation pour la recherche de réarrangements de deux gènes étudiés dans notre laboratoire, CFTR et NF2. Les grands réarrangements représentent 1 à 6% des mutations du gène CFTR et sont associés à des phénotypes sévères de mucoviscidose. Concernant le gène NF2, ils sont associés à des formes cliniques modérées de Neurofibromatose de type 2 et représentent près de 15% des mutations. Nous avons ainsi analysé par PCR en temps réel des patients pour lesquels une délétion, partielle ou complète, avait été préalablement identifiée par MLPA. Les résultats obtenus par MLPA ont tous été confirmés par PCR en temps réel, validant ainsi l'utilisation de cette technique comme méthode de confirmation de la MLPA. Par ailleurs, la PCR en temps réel apparaît être un bon outil de recherche en première intention de délétions plus fréquemment retrouvées dans certaines populations, comme la CFTRdele2-3 chez les patients slaves, ou de délétions pour lesquelles un déséquilibre de liaison avec une mutation ponctuelle a été décrit, comme la CFTRdele2-9 associée à la p.Leu997Phe. En conclusion, la PCR quantitative en temps réel semble être une méthode efficace, rapide et simple d'utilisation pour la validation des résultats obtenus par MLPA et pour la recherche ciblée de certaines délétions.

**Mots-clés :** PCR en temps réel, grands réarrangements, gène CFTR.

### ■P337. CONTRIBUTION À UNE MEILLEURE CONNAISSANCE DE LA PATHOGÉNÉCITÉ DE LA MUTATION I148T DU GÈNE CFTR RECHERCHÉE LORS DU DÉPISTAGE NÉONATAL DE LA MUCOVISCIDOSE

M.P. Reboul (1), M.A. Delrue (1), C. Zordan (1), M.H. Dealbert (1), S. Labatut (1), B. Arweiler (1, 2), D. Lacombe (1, 2), F. Morice-Picard (1), A. Iron (1, 2)

(1) *Service de Génétique Médicale, Groupe Hospitalier Pellegrin, CHU de Bordeaux, France ; (2) Laboratoire de Génétique Humaine, Université Victor Segalen-Bordeaux 2, France*

Contact : marie-pierre.reboul@chu-bordeaux.fr

La stratégie de dépistage néonatal de la mucoviscidose choisie en France combine le dosage de la trypsine immunoréactive chez tous les nouveaux-nés avec une recherche de 30 mutations fréquentes chez une sélection d'entre eux, avant la pose éventuelle du diagnostic par dosage du chlorure sudoral. Cette procédure conduit inévitablement à l'identification – non recherchée – d'une part de porteurs sains hétérozygotes pour la maladie et d'autre part de nouveaux-nés porteurs de formes modérées (ou frontalières) de la maladie, peu ou pas symptomatiques au moment du diagnostic et dont le pronostic est difficile à établir. Ces deux points constituent les difficultés essentielles du programme de dépistage néonatal et soulèvent la question du choix des mutations recherchées et d'une stratégie de dépistage sans biologie moléculaire. Il est donc maintenant nécessaire de réévaluer certaines mutations à rechercher lors de la première analyse de biologie moléculaire à J3. De plus cette réévaluation est importante pour le conseil génétique dans sa responsabilité quant à la prise en considération de ces mutations problématiques pour le diagnostic prénatal qui peut déboucher sur une demande d'interruption médicale de grossesse. Une des mutations actuellement recherchées lors du dépistage néonatal en France et pour lesquelles il est difficile d'établir précisément une relation génotype/phénotype est le faux sens I148T situé dans l'exon 4 du gène CFTR au niveau de la première boucle intracellulaire de la protéine CFTR. La mutation I148T a été décrite pour la première fois en 1994 en France comme mutation CF. Par la suite, d'autres observations ont été rapportées par différents auteurs, surtout dans des familles du sud de l'Italie chez lesquelles I148T semblait plutôt être associée à des formes cliniques sévères de la mucoviscidose, justifiant de ce fait sa présence dans le panel des mutations étudiées en 1<sup>re</sup> intention dans les procédures de dépistage néonatal. Par la suite, les analyses exhaustives du gène CFTR chez la plupart des patients mucoviscidosiques porteurs de I148T ont montré son association en cis avec la mutation 3199del6 (ou 3195del6) de l'exon 17a, faisant beaucoup plus vraisemblablement de l'allèle complexe [I148T;3199del6] l'anomalie génique causale de mucoviscidose et remettant ainsi en question l'allèle I148T sans 3199del6 comme mutation CF. Nous rapportons l'observation d'une femme de 36 ans porteuse du génotype [I148T]+[I148T;3199del6]. Son test sudoral est négatif et elle ne présente pas de symptomatologie pulmonaire. Cette observation peut contribuer à une meilleure connaissance de la pathogénéicité de cette mutation et s'avérer utile dans le difficile débat sur le maintien ou non de certaines mutations dans le panel des mutations recherchées en première intention lors du dépistage néonatal de la mucoviscidose.

**Mots-clés :** mucoviscidose, dépistage néonatal, mutation I148T.

### ■P338. ÉTUDE DES GRANDS RÉARRANGEMENTS DANS LE GÈNE CFTR PAR LA TECHNIQUE SQF-PCR

S. Hadj Fredj (1), M. Desgeorges (2), M. Boudeya (1), A. Bibi (1), R. Belhadji (1), M. Claustres (2), S. Fattoum (1), T. Messaoud (1)

(1) *Laboratoire de biochimie, Hôpital d'enfants de Tunis, Tunisie ; (2) Laboratoire de génétique moléculaire, Institut universitaire de recherche clinique de Montpellier, France ; (3) Centre de transfusion sanguine de Brest, France*

Contact : taieb.messaoud@rns.tn

Depuis l'identification du gène CFTR en 1989, plus de 1 700 mutations ont été identifiées chez les patients mucoviscidosiques. Toutefois, le pourcentage des allèles non identifiés est assez important dans la plupart des populations étudiées. La présence des grands réarrangements génomiques dans ce gène pourrait expliquer ce pourcentage assez élevé puisqu'ils échappent à la plupart des techniques de détection des mutations ponctuelles. C'est pourquoi, nous nous sommes intéressés pour la première fois à la recherche des grands réarrangements génomiques chez des patients tunisiens atteints de mucoviscidose chez qui au moins une mutation mucoviscidosique reste non identifiée. Ce travail a été effectué par la technique de PCR semi-quantitative fluorescente : SQF-PCR (Semi Quantitative Fluorescent PCR Assay). C'est une méthode semi-quantitative basée sur une PCR multiplexe de fragments fluorescents. L'amorce sens de chaque couple est marquée par le fluorophore 6-FAM. Elle permet ainsi,



de façon rapide, de mettre en évidence des réarrangements de grande taille. Cette étude nous a permis d'identifier deux grandes délétions : la première est une grande délétion complexe déjà décrite (del 3-10,14b-16), allant de l'exon 3 à l'exon 10 et de l'exon 14b à l'exon 16, identifiée à l'état hétérozygote en association avec la mutation G542X localisée dans l'exon 11. La seconde est une nouvelle grande délétion, décrite pour la première fois de part le monde (del 3), identifiée à l'état hétérozygote ; elle touche l'exon 3 et une partie des introns 2 et 3. La détermination des points de jonction est en cours afin de déterminer la taille approximative de cette délétion. Cette recherche montre bien l'implication des grands réarrangements dans la distribution des mutations mucoviscidiques dans notre population. Elle permet ainsi de diminuer nettement le pourcentage des mutations non identifiées, d'affiner le conseil génétique et d'améliorer la spécificité du diagnostic prénatal de mucoviscidose. À l'issue de cette étude, la famille présentant la délétion complexe del 3-10, 14b-16 a bénéficié d'un diagnostic prénatal.

**Mots-clés :** mucoviscidose, SQF-PCR, grands réarrangements.

### ■P339. ÉTUDE DES REMANIEMENTS GÉNOMIQUES AU LOCUS CFTR

S. Quémener (1, 2, 3), J.M. Chen (1, 3, 4), N. Chuzhanova (5), C. Bénech (1, 4), P. Stenson (6), K. Giteau (1, 2), M.P. Audrézet (1, 2), D.N. Cooper (6), C. Férec (1, 2, 3, 4)

(1) Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale (INSERM), Brest, France ; (2) Centre Hospitalier Universitaire (CHU) Morvan, Brest, France ; (3) Université de Bretagne Occidentale (UBO), Brest, France ; (4) Établissement Français du Sang (EFS) Bretagne, Brest, France ; (5) University of Central Lancashire, Preston, United Kingdom ; (6) Institute of Medical Genetics, Cardiff, United Kingdom  
Contact : sylvia.quemener@chu-brest.fr

Depuis la découverte du gène CFTR il y a 20 ans, plus de 1 600 mutations pathologiques sont répertoriées. Cependant, aujourd'hui, très peu d'anomalies du nombre de copie (CNV, Copy Number variation) du gène CFTR ont été mises en évidence. Une vingtaine de délétions a été rapportée grâce à des techniques semi quantitatives de PCR, représentant 1 à 3 % des anomalies causales de la mucoviscidose. Il est toutefois difficile de détecter des gains de copies avec les techniques actuelles. Afin de rechercher de nouveaux micro- ou macro-réarrangements du gène CFTR entier, nous avons créé une puce CGH (Comparative Genomic Hybridization) dédiée à l'analyse du gène CFTR pour rechercher d'éventuels CNVs. Cette technologie permet d'observer à la fois des délétions, des duplications, ainsi que des anomalies dans les régions introniques et 5', 3' du gène. En effet, notre puce Agilent est constituée de 15 000 oligonucléotides couvrant les 189 kb du gène CFTR et s'étendant 2 Mb en amont et 700 kb en aval du gène. Elle contient 10 000 oligonucléotides dans notre zone d'intérêt avec une sonde tous les 95 pb au locus CFTR et une sonde tous les 250 kb dans les régions 5' et 3' flanquantes. Quatre milles oligonucléotides ont aussi été désignés sur chaque autosome et sur les chromosomes sexuels afin de normaliser les résultats de puce. Nous avons sélectionné une population de 162 patients atteints de mucoviscidose, originaires de différents pays : France, Espagne, États-Unis, Australie, République Tchèque, Irlande, Belgique, Ukraine, Turquie, Algérie, Tunisie. Pour chacun d'entre eux, le génotype est incomplet ce qui signifie qu'un allèle (ou les 2) n'a pas de mutation identifiée. Ceci correspond à 223 chromosomes analysés par CGH dédiée. Les résultats ont d'une part, validé la technique de CGH sur 16 délétions déjà connues dans le laboratoire et, d'autre part, mis en évidence 2 délétions ainsi que 5 duplications non observées par les techniques traditionnelles de PCR. Dans cette population analysée, nous avons évalué le ratio délétion : duplication à 3:1. Ce résultat est en accord avec différentes études de CNVs dans la population générale. Cette technique de CGH dédiée est complémentaire aux techniques actuelles de criblage du gène CFTR grâce à l'analyse des grands réarrangements, des régions introniques ainsi que 5' et 3'. Elle permet une observation rapide et sensible des CNVs permettant une analyse fine des points des cassures des anomalies afin de caractériser plus facilement les points de jonction.

**Mots-clés :** CFTR, CGH-array.

### ■P340. ÉTUDE DU GÈNE CFTR CHEZ 27 PATIENTS ALGÉRIENS

F. Cabet (1), K. Radoui (2), D. Boggio (3), G. Bellon (3), Y. Morel (1)  
(1) Laboratoire d'Endocrinologie Moléculaire et Maladies Rares, Centre de Biologie et de Pathologie Est, CHU Lyon, Bron, France ; (2) Service de Pneumo-Allergologie, Canastel, CHU Oran, Algérie ; (3) Service de Pneumologie, Hôpital-Mère Enfant, CHU Lyon, Bron, France  
Contact : faiza.cabet@chu-lyon.fr

La fréquence des mutations du gène CFTR n'est pas connue en Afrique du Nord et en particulier en Algérie. Très peu d'études ont été rapportées

dans la littérature car pendant longtemps on a considéré la mucoviscidose comme une pathologie exceptionnelle dans cette région. Depuis le clonage du gène CFTR en 1989, plus de 1 500 variations de séquence ont été répertoriées par le Consortium « Cystic Fibrosis genetic Analysis consortium ». Plusieurs études montrent, pour certaines mutations, de grandes variations de fréquence entre les populations d'origines ethniques différentes. Par exemple, la fréquence de la F508del varie selon un gradient Nord-Sud (100 % au nord du Danemark et 24 % en Turquie). Chez 27 enfants algériens non apparentés atteints de mucoviscidose, nous avons identifié 19 mutations différentes, certaines avec une fréquence significativement différente de celle habituellement décrite. Ainsi, la mutation 711+1G>T rarement observée dans les autres populations (1,3 % en Italie du sud et 0,1 % aux USA) est la mutation la plus fréquente (19 %) après la F508del (20 %). Trois autres mutations ont une fréquence inhabituellement élevée par rapport à d'autres séries : 9,5 % pour Q290X et 5,6 % pour 1898+3A>G et 3272-26A>G (pour cette dernière, la fréquence n'est que de 0,3 % en Europe). Les autres mutations identifiées sont : N1303K, G542X, 2183AA>G, L227R, 3120+1G>A, H199R, E1104X, S549R, G551D, 2789+5G>A, A455E, S997F, K1165X, 4472delT. Cette étude confirme le spectre mutationnel spécifique de la mucoviscidose en Algérie avec néanmoins des fréquences différentes de celles publiées par Loumi en 2008. Ces résultats démontrent l'intérêt d'inclure ces mutations parmi les plus fréquentes à rechercher chez les conjoints d'hétérozygotes dans ces populations en vue d'un conseil génétique approprié.

**Mots-clés :** CFTR, mutations, Algérie.

### ■P341. IMPLICATION DU GÈNE CFTR DANS LA SURVENUE DE L'AGÉNÉSIE BILATÉRALE DES CANAUX DÉFÉRENTS (ABCD)

S. Hadj Fredj, M. Boudaya, S. Oueslati, A. Bibi, R. Belhadj, T. Messaoud  
Laboratoire de Biochimie, Hôpital d'enfants de Tunis, Tunisie  
Contact : taieb.messaoud@rms.tn

L'agénésie bilatérale des canaux déférents (ABCD) est une affection congénitale représentant 1 à 2 % des causes d'infertilité masculine et 9 à 25 % des azoospermies obstructives. Récemment, différentes études moléculaires ont permis de montrer que des mutations mucoviscidiques, pouvaient rendre compte des bases génétiques de cette forme de stérilité et que certains polymorphismes localisés dans le gène CFTR pouvaient fortement être associés à l'agénésie bilatérale des canaux déférents. Le nombre important de stérilité masculine par agénésie bilatérale des canaux déférents observés dans notre pays nous a poussé à orienter notre étude sur la recherche des mutations et des polymorphismes mucoviscidiques (TGmTn, V201M et M470V) impliqués dans cette affection dans notre population. À cet effet, nous avons étudié une population de sexe masculin dont l'âge varie entre 33 ans et 44 ans chez qui le diagnostic d'agénésie bilatérale des canaux déférents a été confirmé. Cette étude a été menée par la combinaison de différentes techniques de biologie moléculaire telles que la chromatographie liquide à haute performance en milieu dénaturant (DHPLC), l'électrophorèse sur gel en gradient dénaturant (DGGE) et le séquençage automatique. Notre travail a porté tout d'abord sur la recherche des mutations du gène CFTR chez ces patients agénésiques en explorant 9 exons du gène CFTR. Cette étude nous a permis d'identifier 5 différentes mutations : R74W, F508del, G542X, W1282X et D1270N. Le second volet de notre travail a porté sur l'étude de trois polymorphismes : TGmTn, V201M et M470V situés respectivement dans l'intron 8 et dans les exons 6a et 10. Le variant 5T a été identifié chez trois de nos malades agénésiques ; pour les trois cas observés, le variant 5T est associé avec la répétition (TG)<sub>12</sub> ce qui suggère son application au niveau de la modulation de l'épissage de l'exon 9. À l'issue de la recherche des polymorphismes V201M et M470V, nous avons pu identifier 2 malades portant le variant V201M à l'état hétérozygote et 7 malades portant le polymorphisme M470V. Dans la présente étude, on a pu montrer d'une part que les variants 5T, V201M et M470V sont plus fréquents chez les hommes atteints d'une agénésie bilatérale des canaux déférents par rapport à la population générale et que des mutations responsables de mucoviscidose sont identifiées chez ces patients agénésiques ce qui permet sans ambiguïté de confirmer l'implication des mutations et des polymorphismes mucoviscidiques dans la survenue de cette forme de stérilité masculine. L'étude moléculaire du gène CFTR sert à connaître et comprendre les bases génétiques de cette pathologie et à imposer un conseil génétique jugé nécessaire pour les couples qui veulent avoir recours à une procréation médicalement assistée par injection intracytoplasmique des spermatozoïdes pour éviter tout risque d'agénésie bilatérale des canaux déférents ou encore tout risque de mucoviscidose jusqu'au jour où tous les facteurs déterminants de cette pathologie seront totalement élucidés.

**Mots-clés :** mucoviscidose, mutations, ABCD.

**■P342. MISE EN ÉVIDENCE DE MUTATIONS DU GÈNE CFTR CHEZ DES PATIENTS CONSULTANT POUR HYPOFERTILITÉ AVEC CANAUX DÉFÉRENTS PRÉSENTS À L'EXAMEN CLINIQUE**

O. Theissen (1), J. Leclerc (1), J.M. Rigot (2), F. Marcelli (2), V. Mitchell (3), J.J. Lafitte (4), A. Moerman (5), G. Lalau (1)

(1) Laboratoire de Toxicologie et Gépatothés, Centre de Biologie Pathologie, CHRU de Lille, Lille, France ; (2) Service d'Andrologie, Hôpital Calmette, CHRU de Lille, Lille, France ; (3) Laboratoire de Spermiologie, Hôpital Calmette, CHRU de Lille, Lille, France ; (4) Service de Pneumologie et Oncologie Thoracique, Hôpital Calmette, CHRU de Lille, Lille, France ; (5) Service de Génétique Clinique, Hôpital Jeanne-de-Flandre, CHRU de Lille, Lille, France  
Contact : j-leclerc@chru-lille.fr

L'agénésie bilatérale des canaux déférents (ABCD) est responsable d'une azoospermie dite obstructive et représente 1 à 3 % des causes de stérilité masculine. Cette pathologie fait partie des affections associées aux variations du gène CFTR. Selon la littérature, 78 à 92 % des sujets atteints d'ABCD sont porteurs d'au moins une mutation du gène CFTR. 127 patients consultant pour hypofertilité dans notre Centre présentaient une hypovolémie spermatique, une azoo- ou une oligospermie et un taux de fructose séminale abaissé. Une altération du gène CFTR était identifiée sur 85 % des allèles étudiés ; 92 % des patients présentaient au moins une mutation. Parmi les mutations identifiées, 40 % sont des mutations « CF-causing » (p.F508del : 33 %) et 60 % des variations pouvant être considérées « CFTR-related disorders associated » (allèle IVS8-T5 : 23 %) ou « unproven or uncertain clinical relevance ». Parmi les hétérozygotes composites ou supposés tels en l'absence d'étude familiale, 1 % est porteur de 2 mutations sévères (homozygote p.F508del), 69 % sont porteurs d'1 mutation sévère et d'1 mutation modérée, 30 % sont porteurs de 2 mutations modérées ou d'effet délétère incertain. L'examen clinique retrouvait une absence ou une anomalie des canaux déférents à la palpation chez 113 d'entre eux. Chez 14 patients, les deux canaux déférents étaient accessibles à la palpation ; ils présentaient un spermogramme évocateur (hypovolémie, azoospermie (10 patients) ou oligospermie (4 patients), fructose séminale abaissé) ; 9 étaient porteurs de 2 variations du gène CFTR et les 5 autres d'1 seule. L'examen clinique ne constatait aucune anomalie génitale chez 10 d'entre eux (71 %) et mettait en évidence une dilatation des épидидymes chez les 4 autres (29 %) ; l'échographie génito-urinaire était strictement normale pour 11 sujets (79 %) et montrait une absence des vésicules séminales dans 1 cas. 10 patients avaient bénéficié d'un test de la sueur, pathologique chez 6 d'entre eux (60 %), des valeurs de chlorures normales étaient constatées chez les 3 patients oligospermiques testés. 2 patients qui ne présentaient pas d'anomalie clinique et échographique et avaient un spermogramme moins altéré (oligospermie et fructose légèrement diminué) étaient hétérozygotes composites pour 2 variations d'effet délétère au plus très modéré. Des altérations du gène CFTR sont rencontrées chez des patients dont les déférents sont présents mais qui présentent un spermogramme évocateur ; d'autre part, le fait que certains patients aient pu procréer de façon naturelle quelques années auparavant laisse suggérer une aggravation progressive, comme pour les autres atteintes de la mucoviscidose, de l'atteinte génitale au cours du temps.

**Mots-clés :** infertilité masculine, gène CFTR, agénésie des canaux déférents.

**■P343. IDENTIFICATION D'ANOMALIES STRUCTURALES DES CELLULES CILIÉES DE L'ÉPITHELIUM NASAL SANS TRADUCTION CLINIQUE CHEZ LES PATIENTS ATTEINTS D'AMAUROSE CONGÉNITALE DE LEBER PORTEURS DE MUTATIONS DU GÈNE CEP290**

J.M. Rozet (1), J. Kaplan (1), J.F. Papon (2), A. Coste (2), B. Louis (3), E. Escudier (3), I. Perrault (1)

(1) INSERM U781 & Université Paris-Descartes, CHU Necker, Paris, France ; (2) Service ORL, CHU Henri-Mondor, Créteil, France ; (3) INSERM U 841 & Université Pierre-et-Marie-Curie, CHU Henri Mondor, Créteil, France  
Contact : jean-michel.rozet@inserm.fr

Contrairement aux altérations du gène CEP290 à l'origine des syndromes de Joubert et de Senior-Loken, celles qui ont été identifiées chez les patients atteints d'amaurose congénitale de Leber (ACL) semblent n'avoir aucune traduction pathologique en dehors de la rétine. Toutefois, la localisation de CEP290 au niveau du cil connecteur des photorécepteurs, son interaction avec RPGR et plus généralement son rôle dans la fonction ciliaire, nous a incités à rechercher d'autres manifestations cliniques chez les patients atteints d'ACL. Cela a déjà été illustré pour les altérations du gène RPGR, à l'origine de 15 % des rétinoopathies pigmentaires, pouvant toucher

la fonction des cellules de l'oreille interne, des muqueuses respiratoires, des spermatozoïdes et certainement d'autres cellules ainsi qu'en témoignent les cas d'hypoacousie, d'infections répétées des voies respiratoires, de stérilité et même de dyskinésie ciliaires rapportés chez les patients porteurs de mutations de ce gène. Sept patients (âges compris entre 8 et 40 ans ; âge moyen 17,5 ans) appartenant à 6 familles ont accepté la réalisation d'un audiogramme, d'un test d'olfaction et d'un examen endoscopique de la muqueuse nasale avec prélèvement de cellules en vue de l'étude de la cinétique du battement ciliaire par vidéomicroscopie à haute vitesse et de celle de l'ultrastructure ciliaire. Parmi les sept patients, 1/7 est homozygote pour la mutation intronique c.2991+1655A>G, 1/7 est hétérozygote composite pour cette mutation et une mutation non sens et les 5 autres sont homozygotes ou hétérozygotes composites pour des mutations non-sens ou des mutations touchant les sites consensus d'épissage. L'interrogatoire sur d'éventuels antécédents ORL a montré que 6/7 de ces patients souffraient en permanence d'une congestion muqueuse nasale, parfois associée à une obstruction nasale chronique (3/6), 4/7 avaient des antécédents d'otites à répétition, 3/7 des antécédents de bronchites répétées, 2/7 de rhinopharyngites et de sinusites, 2/7 avaient une hypoacousie discrète de transmission et enfin 1/7 (40 ans) était stérile par azoo-asthénospermie. Quelque soit leur génotype, les patients se sont révélés porteurs d'anomalies ciliaires. Chez les 7 patients les cils étaient courts et rigides ; chez 3/7 patients le nombre de cellules battantes était significativement diminué ; chez 2/7 patients, incluant l'homozygote pour la mutation intronique, la fréquence du battement ciliaire était très diminuée ; chez tous les patients, il a été noté des anomalies fréquentes de l'ultrastructure ciliaire : absence de microtubules centraux, absence de bras de dyneine et même déceliation chez un patient. Ces constatations démontrent qu'en dépit de l'absence de pathologies extraoculaires, les mutations du gène CEP290, y compris la mutation intronique, s'expriment au-delà de la rétine, apportant un argument à l'entrée de quelques sous-types génétiques d'amaurose de Leber dans la grande famille des ciliopathies.

**Mots-clés :** amaurose congénitale de Leber, mutations CEP290, ciliopathie.

**■P344. INTÉRÊT DE L'ÉTUDE MOLÉCULAIRE DES GÈNES BBS DEVANT LA DÉCOUVERTE D'UN HYDROMÉTROCOLPOS ASSOCIÉ À UNE POLYDACTYLIE EN ANTÉNATAL ÉVOQUANT UN SYNDROME DE MCKUSICK-KAUFMAN – BARDET-BIEDL**

E. Schaefer (1), M. Durand (1), C. Stœtzl (2), B. Doray (1), B. Viville (3), S. Hellé (2), J.M. Danse (2), C. Hamel (4), P. Bitoun (5), A. Goldenberg (6), S. Finck (7), L. Faivre (8), S. Sigaudy (9), M. Holder (10), M.C. Vincent (11), V. Marion (2), D. Bonneau (12), A. Verloes (13), I. Nisand (3), J.L. Mandel (14), H. Dollfus (1, 2)  
(1) Service de Génétique Médicale : centre de référence anomalies du développement Grand-Est et centre de référence affections génétiques ophtalmologiques (CARGO), Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France ; (2) Laboratoire de Génétique Médicale EA 3949, Équipe Avenir-Inserm, Faculté de Médecine de Strasbourg, Université Louis-Pasteur, Strasbourg, France ; (3) Service de Gynécologie Obstétrique, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France ; (4) Service d'ophtalmologie, CHU Hôpital Gui-de-Chauliac, Montpellier, France ; (5) Consultation de génétique ophtalmologique, Hôpital Jean-Verdier, Bondy, France ; (6) Unité de génétique clinique, CHU Hôpital Charles-Nicolle, Rouen, France ; (7) Service de pédiatrie, CHR, Haguenau, France ; (8) Centre de génétique médicale, CHU Hôpital d'Enfants, Dijon, France ; (9) Département de génétique médicale – Unité de génétique clinique, Hôpital des enfants de la Timone, Marseille, France ; (10) Service de génétique clinique Guy Fontaine, CHRU de Lille – Hôpital Jeanne-de-Flandre, Lille, France ; (11) Laboratoire de diagnostic génétique, CHU, Strasbourg, France ; (12) Service de génétique, CHU, Angers, France ; (13) Département de génétique, APHP-CHU Robert-Debré, Paris, France ; (14) Collège de France, Paris, France  
Contact : helene.dollfus@chru-strasbourg.fr

L'hydrométhrocolpos est une malformation rare définie par l'accumulation de sécrétions dans le vagin ou l'utérus secondaire à une obstruction vaginale congénitale (atrésie ou imperforation) et responsable d'une masse kystique pelvienne. Selon son expression clinique, le diagnostic peut être plus ou moins précoce. Dans la période anténatale, il se manifeste par une masse liquidienne abdominale de taille variable qui peut engendrer, dans les formes extrêmes, à la naissance, une insuffisance rénale terminale d'origine mécanique ou une insuffisance respiratoire par hypoplasie pulmonaire et entraîner le décès. La découverte d'un hydrométhrocolpos en prénatal doit faire rechercher des signes associés évoquant un syndrome malformatif à type de malformations génitales ou extra-génitales. La malformation la plus fréquemment retrouvée est la polydactylie, qui doit alors faire



suspecter 2 principaux syndromes : le syndrome de McKusick-Kaufmann (MKKS) et le syndrome de Bardet-Biedl (BBS). Dans ces deux syndromes, l'hydrométroncolpos et la polydactylie peuvent être les seuls signes présents à l'échographie et c'est le bilan post-natal à la recherche d'autres malformations ou l'évolution clinique qui permettra de les distinguer. En effet, la présence de malformations cardiaques ou gastrointestinales est plus fréquente dans MKKS et les anomalies rénales primitives se retrouvent presque exclusivement dans BBS. D'autre part, les patients atteints du BBS peuvent développer dans l'enfance une obésité, une rétinopathie pigmentaire, un retard mental et une insuffisance rénale progressive. Le pronostic de ces syndromes étant différents, il est important de pouvoir poser un diagnostic et précoce pour le conseil génétique et la prise en charge de ces patients. À ce jour, 14 gènes sont identifiés dans le syndrome de Bardet-Biedl (BBS1 à BBS14) alors qu'un seul gène (MKKS-BBS6) a été décrit comme impliqué dans le syndrome de McKusick-Kaufmann. Au vu de la difficulté à distinguer ces deux syndromes en période néonatale, nous avons repris rétrospectivement la cohorte de 350 familles BBS de notre laboratoire et nous avons identifié 7 patients pour lesquels le diagnostic de MKKS avait été évoqué à la naissance et chez qui des mutations dans divers gènes BBS (BBS2, BBS6, BBS8, BBS10 et BBS12) ont été trouvées, posant le diagnostic final de BBS. Nous développerons l'histoire familiale, le phénotype et le génotype de ces patients. Enfin, à partir de cette étude, nous montrerons l'importance de l'étude moléculaire des gènes BBS en cas d'hydrométroncolpos associé à une polydactylie en période anté ou néonatale pour le diagnostic, le pronostic et le conseil génétique.

**Mots-clés :** syndrome de McKusick-Kaufmann, syndrome de Bardet-Biedl, diagnostic moléculaire.

#### ■P345. BASES MOLÉCULAIRES D'UNE FORME SYNDROMIQUE DE CILIOPATHIE ASSOCIANT DYSKINÉSIE CILIAIRE PRIMITIVE ET SYNDROME DE USHER

M. Legendre (1, 2), P. Duquesnoy (2), H. Tenreiro (1), L. Vincensini (2), A. Deschildre (3), A. Delattre (4), D. Escalier (2), E. Escudier (1, 2), S. Amselem (1, 2)

(1) *Service de Génétique et d'Embryologie médicales, APHP, Hôpital Trousseau, Paris, France*; (2) *Inserm U933, Hôpital Trousseau, Paris, France*; (3) *Service de Pneumologie pédiatrique, Hôpital Jeanne-de-Flandres, Lille, France*; (4) *Service d'ORL, Hôpital Roger-Salengro, Lille, France*

Contact : [serge.amselem@trs.aphp.fr](mailto:serge.amselem@trs.aphp.fr)

Les cils sont présents à la surface de nombreuses cellules. Ces organelles, de structure apparentée au flagelle du spermatozoïde, peuvent être classés selon l'organisation des microtubules de leur cytosquelette appelé axonème : cils mobiles comme ceux des cellules épithéliales respiratoires, cils primaires comme ceux des cellules nodales embryonnaires, et structures apparentées comme le cil connecteur des photorécepteurs et le kinocilium des cellules de l'oreille interne. En pathologie moléculaire, des mutations de plusieurs gènes ont été identifiées à l'origine de ciliopathies. Ainsi, 10 gènes sont impliqués dans les dyskinésies ciliaires primitives (DCP) (prévalence 1/15000), maladie respiratoire résultant d'un défaut de mobilisation du mucus par dysfonctionnement des cils respiratoires, associée à une infertilité masculine et dans environ 50 % des cas à un situs *inversus*. Plus rarement, les DCP sont syndromiques, associées notamment à une rétinopathie pigmentaire ; cette forme particulière s'explique par des anomalies de RPGR impliqué dans le transport de protéines le long des axonèmes des cils et des photorécepteurs. Par ailleurs, dans les syndromes de Usher (prévalence 1/30000) caractérisés par une atteinte sensorielle (rétinopathie pigmentaire et surdité de perception) sans atteinte respiratoire, plusieurs gènes ont également été identifiés. Nous rapportons ici les bases moléculaires d'un syndrome complexe associant, chez deux frères consanguins, une DCP avec absence des bras de dynéine externes et un syndrome de Usher de type I, faisant suspecter un défaut génétique touchant une protéine commune à différents types d'axonèmes. L'analyse moléculaire (ADN et ARN) a mis en évidence une délétion homozygote des exons 3 et 4 de DNAI2 (p.Ala62GlyfsX115), qui résulte très probablement d'une recombinaison illégitime entre deux séquences Alu situées dans les introns 2 et 4. DNAI2 étant connu pour son implication dans les DCP non syndromiques, ces données nous ont incités à rechercher chez ces 2 frères un second gène pouvant rendre compte du syndrome de Usher. L'analyse de USH1G, localisé à 650 kb de DNAI2 au sein d'une région commune d'homozygotie, a mis évidence une mutation non sens homozygote (p.Lys218X), qui générerait une protéine tronquée du domaine SAM d'interaction avec l'harmonine. Les anomalies moléculaires des deux gènes, non décrites à ce jour, ont été retrouvées à l'état hétérozygote chez les parents asymptomatiques des cas index. Alors que l'expression syndromique de plusieurs ciliopathies s'explique aisément par les fonctions pléiotropes de certaines

protéines ciliaires, cette observation illustre la survenue de deux ciliopathies rares secondaires à des mutations homozygotes de deux gènes distincts étroitement liés.

**Mots-clés :** dyskinésie ciliaire primitive, syndrome de Usher, DNAI2, USH1G.

#### ■P346. IDENTIFICATION DE 39 NOUVELLES MUTATIONS DANS LE SYNDROME DE BARDET-BIEDL : LA DIFFICULTÉ DES MUTATIONS PRIVÉES DANS LE DIAGNOSTIC D'UNE MALADIE HÉTÉROGÈNE

J. Muller (1, 2), C. Stoetzel (3), M.C. Vincent (1), V. Laurier (3), J.M. Danse (3), S. Hellé (3), V. Marion (3), V. Bennouna-Greene (3), S. Vicair (2), A. Megarbane (4), J. Kaplan (5), V. Drouin-Garraud (6), M. Hamdani (7), S. Sigaudy (8), C. Francannet (9), J. Roume (10), P. Bitoun (11), A. Goldenberg (6), N. Phillip (12), S. Odent (13), J. Green (14), M. Cossée (1), E.E. Davis (15), N. Katsanis (15), D. Bonneau (16), A. Verloes (17), J.L. Mandel (1, 2, 18), H. Dollfus (3)

(1) *Laboratoire de Diagnostic Génétique, CHU Strasbourg Nouvel Hôpital Civil, Strasbourg, France*; (2) *IGBMC (Institut de Génétique et de Biologie Moléculaire et Cellulaire), CNRS/INSERM/Université de Strasbourg, Illkirch, France*; (3) *Laboratoire de Génétique Médicale EA3949, Équipe AVENIR-Inserm, Université de Strasbourg, Faculté de Médecine, Strasbourg, France*; (4) *Unité de Génétique Médicale, Université Saint Joseph Faculté de Médecine, Beirut, Liban*; (5) *Laboratoire de Génétique Médicale, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France*; (6) *Unité de Génétique Clinique, Hôpital Charles Nicolle, Rouen, France*; (7) *Hôpital 20 Août 1953, Casablanca, Maroc*; (8) *Service de Génétique Médicale, CHU de la Timone, Marseille, France*; (9) *Service de Génétique, Centre Hospitalier Universitaire de Clermont-Ferrand, France*; (10) *Service de Génétique Médicale, CHI Poissy-St-Germain, Poissy, France*; (11) *Service de pédiatrie, Hôpital Jean-Verdier, Bondy, France*; (12) *Hôpital de la Timone enfants, Service de Pédiatrie et de Génétique Médicale, Marseille, France*; (13) *Unité de Génétique Médicale, CHU Hôpital Sud, Rennes, France*; (14) *Department of Genetics, Memorial University of Newfoundland St John's, Canada*; (15) *McKusick-Nathans Institute of Genetic Medicine, Johns Hopkins University School of Medicine, Baltimore, Maryland, États-Unis*; (16) *Service de Génétique, CHU, Angers, France*; (17) *Unité de Génétique Clinique, Hôpital Robert Debré, Paris, France*; (18) *Chaire de Génétique Humaine, Collège de France, Illkirch, France*

Contact : [jean.muller@igbmc.fr](mailto:jean.muller@igbmc.fr)

Le syndrome de Bardet-Biedl (SBB) (OMIM 209900) est une maladie autosomique récessive de la classe des ciliopathies, définie par un ensemble de signes cliniques incluant : rétinopathie pigmentaire précoce, obésité, polydactylie, hypogonadisme, déficit cognitif variable et anomalies rénales. BBS est caractérisé par une hétérogénéité génétique importante avec 14 gènes identifiés à ce jour. Ces gènes sont retrouvés mutés dans environ 75 % des familles atteintes. Les gènes BBS1 et BBS10 sont les plus souvent impliqués chez les patients atteints : 20 % de fréquence respective pour chacun de ces 2 gènes, 8 % pour BBS12, moins de 5 % pour les autres gènes BBS (BBS11, BBS13 et BBS14 ont été identifiés dans 1 seule famille).

Dans cette étude, nous avons analysé les 12 premiers gènes BBS dans une cohorte de 185 familles de patients en combinant des stratégies d'analyse variées : techniques de pré-screening (SSCP, dHPLC...), de séquençage direct et en particulier pour les familles consanguines des puces SNP pour la détection de régions chromosomiques candidates par cartographie homozygote. Nous avons ainsi pu identifier au moins une mutation dans 146 familles (78,9 %). Les 39 familles sans mutation (21,1 %) font l'objet d'études plus approfondies incluant la recherche de mutations par délétion, la recherche de mutations dans les promoteurs ou encore l'identification de nouveaux gènes BBS. Au total 96 mutations ont pu être recensées dans 11 gènes BBS, dont 39 sont des nouvelles mutations jamais décrites à ce jour. Ce résultat confirme le niveau élevé de mutations privées dans le syndrome de Bardet-Biedl.

La forte hétérogénéité génétique (plus de 200 exons à séquencer), et la nature privée des mutations ponctuelles identifiées rendent difficile l'identification des anomalies moléculaires chez les patients atteints de BBS au sein d'un laboratoire de diagnostic génétique, qui ne dispose pas des outils haut débit adaptés à cette complexité. Cela retarde la prise en charge des familles sur le plan du conseil génétique. Il est à noter que nous n'avons pas pu détecter de mutation dans le gène BBS11. Ce gène a été rattaché au syndrome par l'identification d'une seule mutation faux sens dans une unique famille BBS. Par contre plusieurs autres mutations du gène BBS11 ont été associées à un phénotype très différent : la myopathie des ceintures autosomique récessive de type 2H (LGMD2H).

**Mots-clés :** syndrome de Bardet-Biedl, mutation, diagnostic.



### ■P347. SYNDROME DE BARDET BIEDL : STRATÉGIE DIAGNOSTIQUE POUR LES FAMILLES CONSANGUINES

M.C. Vincent (1, 2), N. Dondaine (1), C. Stoetzel (2), C. Thibeault (3), F. Pleniak (3), M. Antin (1), A.S. Jaeger (1), S. Samimi(1), E. Scherrer (1), V. Kremer (1), J. Amiel (4), C. Antignac (4), B. Leheup (5), J. Roume (6), B. Isodor (7), F. Giulano (8), C. Vilain (9), M. Holder (10), H. Dollfus (2, 11), J.L. Mandel (1, 3)

(1) *Laboratoire de Diagnostic Génétique, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, France*; (2) *Laboratoire de Génétique Médicale, EA3949, Faculté de Médecine, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, France*; (3) *IGBMC (CNRS/INSERM/ULP), Illkirch, France*; (4) *Département de Génétique, Groupe hospitalier universitaire Necker Enfants malades, Paris, France*; (5) *Service de Médecine Infantile et Génétique Clinique, Centre Hospitalier Universitaire Nancy Bradois, France*; (6) *Unité de Génétique Clinique, Service de Cytogénétique et Biologie de la Reproduction, CHI Poissy, Saint-Germain en Laye, France*; (7) *Unité de Génétique Clinique, Centre hospitalier Universitaire de Nantes, France*; (8) *Unité de Génétique Clinique, Centre Universitaire de Nice, France*; (9) *Service de Génétique Médicale, Université Libre de Bruxelles, Belgique*; (10) *Service de Génétique Médicale, Centre Hospitalier Régional Universitaire Lille, France*; (11) *Service de Génétique Médicale, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, France*  
Contact : marie-claire.vincent@chru-strasbourg.fr

Le syndrome de Bardet Biedl (BBS [MIM209900]) associe une rétinopathie pigmentaire, une obésité, une polydactylie, des malformations rénales et génitales et des troubles cognitifs. Son incidence est de 1/150000 individus dans la population nord européenne, mais peut être beaucoup plus élevée dans les populations à forte consanguinité. Ce syndrome, majoritairement autosomique récessif, est génétiquement hétérogène : 14 gènes publiés à ce jour (BBS1\_BBS14) représentant plus de 200 exons à étudier. Nous rapportons l'étude de 12 cas (6 sporadiques et 6 familiaux) de sujets appartenant à une famille consanguine BBS par puce de génotypage SNP (Affymétrie 10K ou 50K). Cette étape préliminaire permet de cibler la recherche de mutations sur un ou un petit nombre de gènes BBS candidats pour un séquençage direct ou pour une étude par l'association pré-screening HRM et séquençage du variant détecté. Cette stratégie de réduction et ciblage du (des) gène(s) BBS à analyser a limité la recherche de mutations sur 1 à 4 gènes BBS maximum pour un patient donné. Nous avons obtenu un taux de détection de mutation positive de 75 %, équivalent à celui rapporté par les études exhaustives des 12 premiers gènes dans les familles BBS publiées. Cet outil diagnostique a permis pour 5 familles l'identification de mutations privées dans des gènes BBS de faible fréquence (BBS2, BBS5, BBS6 et BBS7) qui ne font pas partie des 3 gènes étudiés en première intention (BBS1, BBS10 et BBS12 de fréquence respective 25 %, 20 % et 10 %). Cette stratégie rapide, efficace et peu coûteuse permet d'offrir une optimisation du conseil génétique aux familles BBS consanguines.

**Mots-clés :** Bardet biedl, famille consanguine, puce SNP.

### ■P348. DESCRIPTION D'UNE DISOMIE UNIPARENTALE DU CHROMOSOME 12 RESPONSABLE D'UNE MALADIE DE WILLEBRAND DE TYPE 3

P. Boisseau (1), M. Fouassier (2), M. Giraud (1), O. Pichon (3), C. Thomas (1), P. Talarmin (1), C. Ternisien (2), M. Trossaert (2), S. Bezieau (1)  
(1) *Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHU Hôtel-Dieu, Nantes, France*; (2) *Centre Régional de Traitement de l'Hémophilie, Laboratoire d'Hématologie, CHU Hôtel-Dieu, Nantes, France*; (3) *Laboratoire de Cytogénétique, CHU Hôtel-Dieu, Nantes, France*  
Contact : pierre.boisseau@chu-nantes.fr

La maladie de Willebrand (VWD) est une maladie hémorragique héréditaire de sévérité variable, due à des anomalies qualitatives ou quantitatives du facteur Willebrand (VWF). La VWD de type 3 est la forme la plus sévère de cette pathologie. Elle est caractérisée par un déficit quantitatif total en facteur Willebrand et sa présentation clinique se traduit par des manifestations hémorragiques graves. C'est une maladie autosomique récessive rare dont le gène responsable se situe en 12p13.3. Les parents de ces patients sont considérés comme transmetteurs mais ne présentent pas systématiquement les phénotypes clinique ou biologique de la maladie. Nous présentons ici une patiente de 5 ans adressée au Centre de Traitement des Hémophiles de Nantes pour un saignement gingival prolongé. Les résultats biologiques montraient un taux de FVIII :C à 1 % (norm > 50 %) et pour le VWF : un dosage d'activité du cofacteur à la ristocétine (VWF :Rco) inférieur à 5 % (norm > 50 %), un dosage antigénique (VWF :Ag) inférieur à 1 % (norm > 50 %). L'analyse moléculaire du gène du VWF a montré une délétion homozygote de 11 pb dans l'exon 20 qui confirme le diagnostic de maladie de Willebrand de type 3 chez cette

enfant. Le père présente un phénotype biologique et clinique strictement normal et n'est pas porteur de la délétion alors que la mère présente la délétion à l'état hétérozygote avec un phénotype clinique normal et un phénotype biologique discrètement inférieur à la normale : VWF :Rco égal à 55 % et VWF:Ag à 47 %. L'analyse de la famille à l'aide de 8 marqueurs génétiques polymorphes de la région a montré une unique contribution maternelle du chromosome 12 chez la patiente et par PCR quantitative, la présence de deux allèles chez cette enfant. Ces résultats vont dans le sens d'une homozygotie de cette délétion par isodisomie maternelle de cette région du chromosome 12. Les disomies parentales sont des anomalies génétiques bien connues dans certaines pathologies soumises à l'empreinte parentale mais aussi plus épisodiquement dans des maladies récessives, cependant aucune description de disomie du chromosome 12 n'avait jusqu'alors été mise en cause dans la maladie de Willebrand.

**Mots-clés :** maladie de Willebrand de type 3, disomie uniparentale, délétion.

### ■P349. LA PREMIÈRE MUTATION DE GNRH1 À L'ORIGINE D'UNE FORME FAMILIALE D'HYPAGONADISME HYPAGONADOTROPE AVEC OLFACCTION NORMALE

J. Bouligand (1, 2)\*, C. Ghervan (4)\*, J.A. Tello (5), S. Brailly-Tabard (1, 2), S. Salenave (3), P. Chanson (2, 3), M. Lombès (2), R.P. Millar (5), A. Guiochon-Mantel (1, 2)\*\*, J. Young (2, 3)\*\*

(1) *Laboratoire de Génétique Moléculaire, Pharmacogénétique et Hormonologie, CHU de Bicêtre (AP-HP), Le Kremlin Bicêtre, France*; (2) *Université Paris-Sud, Faculté de Médecine Paris-Sud, INSERM U693, Le Kremlin Bicêtre, France*; (3) *Service d'Endocrinologie et des Maladies de la Reproduction et Centre de Référence des Maladies Endocriniennes Rares de la Croissance, CHU de Bicêtre (AP-HP), Le Kremlin Bicêtre, France*; (4) *Endocrinology Department, University of Medicine and Pharmacy Iuliu Hatieganu, Cluj Napoca 40349, Romania*; (5) *Medical Research Council Human Reproductive Sciences Unit, The Queen's Medical Research Institute, Edinburgh, United Kingdom*

\* contributions équivalentes. \*\* contributions équivalentes de ces deux séniors

Contact : anne.mantel@bct.aphp.fr

Les hypogonadismes hypogonadotropiques isolés congénitaux normosmiques (HHC) sont liés à un déficit de sécrétion de la GnRH hypothalamique ou à une absence de réceptivité à ce neuropeptide au niveau hypophysaire. Ils peuvent être associés à des mutations du récepteur de la GnRH (RGNRH), du récepteur de Kiss-1 (GPR54), de la neurokinine B (TAC3) ou de son récepteur (TACR3). Nous avons recherché des mutations du gène GNRH1, codant le prépro-GnRH, chez 200 patients atteints d'HHC ne présentant pas de mutation de RGNRH ni de GPR54. Dans une famille, nous avons identifié chez un frère et sa sœur atteints d'une forme sévère d'HHC une mutation de GNRH1 (c.18-19 insA) à l'état homozygote. Les parents non atteints, ainsi qu'une sœur non atteinte, sont porteurs hétérozygotes de cette mutation. Cette mutation entraîne un décalage du cadre de lecture à partir du 7<sup>e</sup> acide aminé du signal peptide et la formation d'un peptide aberrant, ne contenant ni la séquence du décapeptide GnRH ni du GAP (GnRH associated peptide). L'absence d'immuno-réactivité à la GnRH dans des cellules exprimant des pro-convertisases (AT20) surexprimant ce mutant a été validée *in vitro*. L'administration pulsatile de GnRH à la patiente a permis de restaurer la pulsativité de la LH confirmant l'origine hypothalamique de l'HHC. Cette nouvelle forme génétique d'HHC familial permet de valider définitivement le rôle capital de la GnRH dans la reproduction humaine et de réfuter le rôle du GAP comme inhibiteur de la fonction lactotrope. Il s'agit de la première description d'une mutation dans un facteur hypothalamique hypophysiotrope.

**Mots-clés :** GnRH, mutation, hypogonadisme hypogonadotrope.

### ■P350. MOLECULAR ANALYSIS OF THREE GENES IN ISOLATED HYPOPARATHYROIDISM

C. Silve (1, 2), G. Bertrand (2), A. Lienhardt (3), A. Linglart (1, 4), B. Grandchamp (2)

(1) *INSERM U561, Hôpital St-Vincent-de-Paul, Paris, France*; (2) *Service de Biochimie Hormonale et génétique, Hôpital Bichat, Paris, France*; (3) *Pédiatrie Médicale, Hôpital Dupuytren, Limoges, France*; (4) *Service d'endocrinologie pédiatrique, Hôpital St Vincent de Paul, Paris, France*  
Contact : Caroline.Silve@inserm.fr

Hypoparathyroidism (HP) is characterized by hypocalcemia, hyperphosphatemia, and absent, or markedly reduced serum PTH levels. Most cases of HP are sporadic, but familial forms (FHP) with either autosomal dominant (AD) or recessive (AR) inheritance are described. Syndromic and isolated forms exist. Isolated HP (IHP) are rare and have been shown to



be caused by mutation in either of three genes critical for appropriate PTH secretion. Rare mutations in the PTH gene can cause AD or AR FIHP. More commonly, gain of function mutations in the CaSR gene have been identified in AD hypocalcemia. More recently, homozygous mutations in glial cells missing B (GCMB) have been reported in AR-IHP. Here we report the prevalence of mutations in the PTH, CaSR, and GCMB genes in a series of patients with familial or sporadic IHP collected from 2003 to 2009.

We obtained blood samples from 28 affected members of 13 IHP kindreds, all compatible with an AD transmission, and from 56 patients affected with sporadic IHP. In addition, we collected blood samples from 16 and 13 unaffected relatives from familial and sporadic cases respectively. When a new mutation was identified, its presence was searched for in genomic DNA from at least 48 healthy Caucasians. Sequence of all coding exons and intron-exon junctions for the CaSR, PTH, and GCMB genes were amplified and sequenced. Results showed:

PTH gene: no mutation.

CaSR gene: 7 heterozygous missense mutations, 6 in AD-HP and 1 in sporadic IHP. One mutation was reported by us (Silve, 2005), three are unpublished.

GCMB gene: (a) in AD-HP, 1 missense mutation previously described as autosomal recessive (R47L), and two heterozygous single base deletion leading to frame shifts (reported by us, Mannstadt, 2008). (b) In sporadic cases, one homozygous 9 bp insertion, one homozygous missense mutation and one heterozygous missense mutation, which, interestingly, also affects R47 (all unpublished).

No mutation in either of the 3 studied genes were identified in the remaining 4 AD-HP kindreds, and 52 sporadic cases.

Four major conclusions can be drawn from these results:

- Gene mutation in either CaSR or GCMB genes are more frequently identified in FIHP than in sporadic cases.
- AD-IHP can be caused by mutations in the GCMB gene with variable penetrance.
- For some GCMB mutations described as recessive, a phenotype can be observed at the heterozygous state.
- Most cases of sporadic IHP remain unexplained.

#### ■P351. SOX3 ANALYSIS IN A LARGE COHORT OF PATIENTS WITH SYNDROMIC AND NON SYNDROMIC HYPOPIUITA-RISM: ALLELIC AND PHENOTYPIC HETEROGENEITY – FUNCTIONAL CONSEQUENCES

M.L. Sobrier (1), I. Giurgea (1, 3), K. Machinis (1), M. Legendre (1, 2), M.P. Vie-Luton (1), S. Rose (2), N. Collot (2), G. Pinto (4), B. Mignot (5), A.M. Bertrand (5), C. Naud-Saureau (6), F. Kurtz (7), S. Odent (8), F. M'Bou (9), S. Cabrol (10), M. Houang (10), J.C. Carel (11), J. Leger (11), P. Czernichow (11), S. Amslem (1, 2)

(1) INSERM U.933, Université Paris 6, Hôpital Armand-Trousseau, Paris, France ; (2) AP-HP, Service de Génétique et d'Embryologie médicales, Hôpital Armand-Trousseau, Paris, France ; (3) AP-HP, Service de Biochimie et Génétique, Groupe Henri Mondor-Albert Chenevier, Créteil, France ; (4) AP-HP, Service d'Endocrinologie, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris, France ; (5) Service d'Endocrinologie, Hôpital Saint Jacques, Besançon, France ; (6) Service de Pédiatrie, Hôpital de Lorient, France ; (7) Service de Pédiatrie, Hôpital de Saint-Avold, France ; (8) Service de Génétique CHU de Rennes, France ; (9) Service de Pédiatrie et néonatalogie, CH du Lamentin, Martinique, France ; (10) AP-HP, Service d'explorations fonctionnelles Endocriniennes, Hôpital Trousseau, Paris, France ; (11) AP-HP, Service d'Endocrinologie, Hôpital Robert Debré, Paris, France

Contact : marie-laure.sobrier@inserm.fr

SOX3, a transcription factor belonging to the SRY related high mobility group (HMG) box (SOX) family of proteins, is involved in the early control of pituitary development and function. So far, only 4 mutations have been identified in the SOX3 gene, which maps to Xq27.1. To assess SOX3 involvement in human pathology, we investigated 168 male patients from 166 independent families with pituitary dysfunction and with or without midline central nervous system (CNS) defects. Mutations were identified in 13 patients from 11 unrelated families. Expansions of the polyalanine tract (+8 and +11 Ala) were found in 4 boys (from 2 families) ; 3 of them displayed isolated growth hormone deficiency (IGHD), whereas one had combined pituitary hormone deficiency (CPHD) involving GH and TSH. A contraction of the polyalanine tract (-9 Ala) was found in a patient with CPHD and callosal anomalies. Missense mutations were observed in 8 independent patients : p.Ala102Ser in a patient with transitory ACTH deficiency, blindness related to septo-optic dysplasia and severe midline CNS anomalies ; p.Arg5Pro in one with IGHF and behaviour troubles ;

p.Arg5Gln in a patient with CPHD and mental retardation ; p.Pro3Ser in a patient with CPHD and hypertelorism ; and p.Pro103Thr in 4 independent patients with non-syndromic CPHD. A majority of patients had morphological pituitary anomalies : anterior pituitary hypoplasia (9/13), abnormal pituitary stalk (9/13), and ectopic posterior pituitary (10/13). The impact of each identified mutation on the subcellular location of SOX3 and its ability to transactivate a target construct were assessed through *in vitro* expression studies (i.e use of SOX3 antibody and luciferase tests). The missense mutations and the contraction of the polyalanine tract (-9Ala) do not modify the expression pattern of this nuclear protein ; however, expansions of the poly-alanine tract (+8 or +11Ala) lead to the formation of SOX3 aggregates in the nucleus or both in the nucleus and the cytoplasm. Depending on the type of mutation, transcriptional activity was found to be diminished (+11Ala), increased (p.Pro3Ser, p.Arg5Pro, p.Pro103Thr, -9Ala) -in keeping with the previously described critical importance of SOX3 gene dosage in proper development-, or normal (+8Ala, p.Arg5Gln, p.Ala102Ser, therefore suggesting that these latter two variations may represent polymorphisms). This study, which identifies 8 SOX3 mutations (among which 4 are new) in 7 % of this large cohort, broadens the clinical spectrum of SOX3-related disorders.

**Mots-clés :** pituitary deficiency, SOX3 mutations.

#### ■P352. PARTIAL PROHORMONE CONVERTASE 1 DEFICIENCY CONFERS INCREASED RISK OF OBESITY

H. Choquet (1), J.W.M. Creemers (2), M. Pigeyre (3), V. Vatin (1), S. Beckers (4), S. Meulemans (2), N. Potoczna (5), M. Tauber (6), B. Balkau (7), P. Elliot (8), M.R. Jarvelin (8, 9), F. Horber (5), W. Van Hul (4), L. Van Gaal (10), F. Pattou (11), P. Froguel (1, 12), D. Meyre (1)

(1) CNRS-8090-Institute of Biology, Pasteur Institute, Lille, France ; (2) Department of Human Genetics, University of Leuven, Leuven, Belgium ; (3) Department of Nutrition, Hospital University, Lille, France ; (4) Department of Medical Genetics, University of Antwerp and Antwerp University Hospital, Antwerp, Belgium ; (5) Department of Surgery and Internal Medicine, Clinic Lindberg, medical departement, Winterthur and University of Berne, Switzerland ; (6) Institut National de la Santé et de la Recherche médicale U563, Children's Hospital, Centre Hospitalier Universitaire de Toulouse, France ; (7) INSERM U780-IFR69 ; University Paris Sud, Villejuif, France ; (8) Department of Epidemiology and Public Health, Imperial College London, London, United Kingdom ; (9) Institute of Health Sciences, University of Oulu Department of Child and Adolescent Health, National Public Health Institute, Biocenter Oulu, University of Oulu, Oulu, Finland ; (10) Department of Endocrinology, Diabetology and Metabolism, Antwerp University Hospital, Antwerp, Belgium ; (11) Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale U859, Centre Hospitalier Régional Universitaire de Lille, Lille North of France University, Lille, France ; (12) Department of Genomic Medicine, Hammersmith Hospital, Imperial College London, London, UK

Contact : helene@good.ibl.fr

Complete prohormone convertase 1 (PCSK1) deficiency is a rare recessive form of obesity with only three cases reported so far. Although these homozygous or compound heterozygous carriers of loss of function mutations have severe phenotypes, including obesity, and intestine and hormonal defects, heterozygous family carriers were considered clinically unaffected. We sequenced PCSK1 exons in 845 non-consanguineous obese subjects of European origin. We characterized the functional consequences of the detected mutations on PC1/3 protein using *in silico* and *in vitro* studies. We also genotyped 6,104 obese and 6,274 non obese subjects for the identified functional mutations, to find additional carriers. Eight individuals (0.95 %) were heterozygous for novel PCSK1 non-synonymous mutations. No homozygous or heterozygous compound for a pathogenic mutation was found. Although *in silico* analyses predicted only 62.5% of these mutations to be potentially deleterious, we found that 87.5 % of mutations had indeed an effect on PC1/3 processing and/or on its enzymatic activity. In addition, mutation T175M located on a potential N-glycosylation site of PC1/3 altered maturation and secretion of the protein. The genotyping of the seven pathogenic mutations in additional obese and normal weight subjects identified twelve carriers amongst cases and two carriers amongst controls. These data evidence a 6-fold enrichment of these PCSK1 mutations in European obese adults and children (Fisher's exact test, P = 0.007). Currently, family studies are undertaken to examine cosegregation of identified mutations with obesity and detailed phenotypic studies of heterozygous carriers and family members are in progress. In conclusion, in addition to the very rare syndromic forms of obesity due to complete PCSK1 deficiency, and to the frequent coding non-synonymous polymorphisms that modestly

increase obesity risk, we now report that partial prohormone convertase 1 deficiency conferred by heterozygous non-synonymous mutations associates with obesity.

**Mots-clés :** prohormone convertase 1, monogenic, obesity.

**■P353. ÉTUDE DE 109 CAS D'HYPERINSULINISME CONGÉNITAL RÉSISTANT AU DIAZOXYDE, AGONISTE DU CANAL KATP : SPECTRE MUTATIONNEL, CORRÉLATION AVEC LE DIAGNOSTIC HISTOPATHOLOGIQUE**

C. Saint-Martin (1), C. Vaury (1), M. Santiago-Ribeiro (2), J.B. Arnoux (3), V. Verkarre (4), S. Gobrecht (1), F. Jaubert (4), Y. Aigrain (5), P. de Lonlay (3), C. Bellanné-Chantelot (1)

(1) Département de Génétique, AP-HP Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Université Pierre-et-Marie-Curie, Paris, France ; (2) Département de Recherche Médicale, Commissariat à l'Énergie Atomique, Orsay, France ; (3) Centre de Référence des Maladies Métaboliques, AP-HP Hôpital Necker-Enfants Malades, Université Paris Descartes, Paris, France ; (4) Département d'Anatomo-pathologie, AP-HP Hôpital Necker-Enfants Malades, Université Paris Descartes, Paris, France ; (5) Département de Chirurgie pédiatrique, AP-HP Hôpital Necker-Enfants Malades, Université Paris Descartes, Paris, France  
Contact : cecile.saint-martin@psh.ap-hop.fr

L'hyperinsulinisme congénital caractérisé par une sécrétion inappropriée d'insuline par les cellules bêta-pancréatiques est la principale cause d'hypoglycémie chez le jeune enfant. Une prise en charge rapide et adaptée est primordiale pour éviter toute complication neurologique. Celle-ci dépend de la réponse du patient au diazoxide et du diagnostic histopathologique. La forme focale correspond à une hyperplasie limitée à quelques îlots de Langherans et est guérie par une pancréatectomie ciblée de la lésion alors que la forme diffuse est une hyperplasie de l'ensemble des îlots de Langherans et nécessite une pancréatectomie subtotalaire. Les formes résistantes au diazoxide sont majoritairement associées à des mutations des gènes ABCC8 et KCNJ11 codant pour les sous-unités SUR1 et KIR6.2 du canal potassique sensible à l'ATP (KATP) qui régule la sécrétion d'insuline par les cellules bêta du pancréas. Nous avons criblé ABCC8 et KCNJ11 par séquençage et par dosage génique (MLPA, QMPST) pour 109 cas d'hyperinsulinisme congénital résistants au diazoxide. Les résultats ont ensuite été analysés en fonction du diagnostic histopathologique obtenu par examen radiologique (PET-CT) ou après chirurgie. Une anomalie moléculaire des gènes ABCC8 ou KCNJ11 a été identifiée dans 82 % des cas. Parmi 119 mutations identifiées, 94 étaient distinctes et 50 % d'entre elles étaient privées soulignant la diversité allélique. Dans 94 % des cas, il s'agissait d'une mutation ABCC8. Tous les patients avec une forme focale étaient associés à une anomalie moléculaire du canal KATP. Les formes diffuses étaient génétiquement plus hétérogènes : 41 % des patients étaient homozygotes ou hétérozygotes composés, 32 % portaient une mutation hétérozygote et 27 % étaient sans mutation. De façon intéressante, nous avons observé une transmission paternelle pour deux tiers des patients diagnostiqués avec une forme diffuse et portant une mutation hétérozygote du canal KATP. Le mécanisme de disomie uniparentale observé dans les formes focales a été exclu. Les gènes ABCC8 et KCNJ11 étant localisés à proximité de la région 11p15.5 soumise à empreinte, nous avons recherché un défaut épigénétique responsable de l'expression du seul allèle paternel. Nous avons exclu une anomalie de méthylation au niveau leucocytaire, une analyse au niveau pancréatique est en cours. Cette étude montre l'intérêt du diagnostic moléculaire dans les formes diffuses avec 2 mutations pour lesquelles un PET-CT n'est alors pas nécessaire et un conseil génétique envisageable pour la famille. Dans le cas des patients avec une seule mutation du canal KATP, l'analyse moléculaire doit être confrontée à l'exploration radiologique par PET-CT de façon à classer les patients en formes focales ou diffuses et à leur fournir une prise en charge clinique adaptée.

**Mots-clés :** hyperinsulinisme, ABCC8, KCNJ11.

**■P354. INTÉRÊT DU TEST FONCTIONNEL EX VIVO D'ÉPISAGE POUR LE DIAGNOSTIC MOLÉCULAIRE DES MALADIES GÉNÉTIQUES : ÉVALUATION DE L'EFFET DES SUBSTITUTIONS NUCLÉOTIDIQUES DE SIGNIFICATION INCONNUE**

P. Gaildrat (1), A. Killian (1), J.C. Thery (1), M. Vezain (1), I. Tournier (1), S. Baert-Desurmont (1, 2), S. Krieger (3), A. Hardouin (3), T. Frébourg (1, 2), A. Martins (1), M. Tosi (1)

(1) Inserm U614, Faculté de Médecine, Institut Hospitalo-Universitaire, Université de Rouen, Cancéropôle Nord-Ouest, France ; (2) Département de Génétique, Centre Hospitalo-universitaire de Rouen, France ; (3) Laboratoire de Biologie Clinique et Oncologique, Centre François Baclesse, Caen, Cancéropôle Nord-Ouest, France  
Contact : mario.tosi@univ-rouen.fr

De nombreuses variations nucléotidiques de signification biologique inconnue (VSI) sont identifiées au niveau des gènes impliqués dans les

maladies à déterminisme mendélien. L'interprétation de ces VSI représente un défi majeur en génétique médicale et, plus particulièrement, en oncogénétique. De nombreuses études ont montré qu'une fraction importante de ces VSI peut être pathogène du fait de l'altération du processus d'épissage de l'ARN pré-messager. Depuis 2007, nous avons introduit dans le cadre du diagnostic moléculaire un test fonctionnel d'épissage basé sur l'utilisation d'un minigène, permettant de déterminer si le VSI analysé est responsable d'un défaut d'épissage potentiellement délétère. Les principaux avantages de cet essai sont, d'une part, l'utilisation d'un matériel biologique toujours disponible, l'ADN génomique du patient et, d'autre part, une interprétation facilitée des résultats, notamment du fait de son caractère monoallélique. Nous avons mis à profit ce test dans le cadre d'une étude nationale portant sur 150 VSI identifiés dans les gènes MLH1 et MSH2, impliqués dans les cancers héréditaires du colon (Tournier *et al.*, 2008 et données non publiées). Ces données ont contribué au reclassement de 19 % des variants en mutations délétères d'épissage. L'utilisation de ce test nous a également permis d'analyser, dans le cadre d'une collaboration au sein du Cancéropôle Nord-Ouest, 73 VSI des gènes BRCA1 et BRCA2 impliqués dans les cancers héréditaires du sein et de l'ovaire et de reclassement 12 % de ces variants en mutations d'épissage (Bonnet *et al.*, 2008 ; Thery *et al.*, données non publiées). La bonne concordance entre les données obtenues à l'aide du test d'épissage et celles établies par l'analyse RT-PCR de l'ARN des patients démontre la pertinence de cette approche. Aujourd'hui, compte-tenu du problème que posent les VSI dans le diagnostic moléculaire des maladies génétiques, nous avons développé au sein de notre unité Inserm cette activité de test d'épissage, sous forme de prestation de service que nous proposons aux laboratoires de génétique moléculaire afin de les aider dans l'interprétation de ces variants. Dans le cadre du diagnostic, cet essai représente i) une méthode alternative pour l'évaluation des effets des VSI sur l'épissage, quand l'ARN du patient n'est pas disponible, ii) une méthode de criblage, précédant la demande du prélèvement sanguin du patient pour la confirmation sur l'ARN, iii) une approche complémentaire à l'analyse de l'ARN du patient, quand ce matériel est disponible.

**Mots-clés :** variants de signification inconnue, test fonctionnel d'épissage, diagnostic moléculaire.

**■P355. ACTIVATION D'UN PSEUDOEXON ASSOCIÉE À UNE DOUBLE DÉLÉTION DANS UN INTRON DU GÈNE DMD**

M. Messaoud Khelifi (1, 2), C. Saquet (3), D. Thorel (3), D. Méchin (3), M. Claustres (1, 2, 3), P. Khau van Kien (3), S. Tuffery-Giraud (1, 2)

(1) Université Montpellier1, UFR médecine, Montpellier, France ; (2) INSERM, U827, Montpellier, France ; (3) CHU Montpellier, Laboratoire de Génétique Moléculaire, Montpellier, France  
Contact : mouna.messaoud-khelifi@inserm.fr

Les pseudoexons (PEs) sont des séquences introniques présentant toutes les caractéristiques des « vrais » exons (longueur, présence de sites accepteur et donneur d'épissage), bien que n'étant pas reconnues au cours du processus d'épissage. Cette régulation négative s'exercerait *via* un enrichissement en séquences inhibitrices d'épissage (exonic splicing silencers « ESS », intronic splicing silencers « ISS »), ou la présence de structure secondaire inadaptée de l'ARN pré-messager, ne permettant pas au spliceosome d'accéder aux sites d'épissage. L'exonisation de ces séquences introniques résulte le plus souvent du renforcement d'un des sites d'épissage par une mutation ponctuelle. L'étude des transcrits du gène DMD chez un patient atteint de Dystrophie Musculaire de Becker a révélé l'inclusion d'un PE de 166 pb entre les exons 56 et 57 dans une fraction des transcrits musculaires (dp427m), correspondant à une séquence de l'intron 56. L'analyse de l'ADN génomique chez ce patient n'a pas mis en évidence de mutation ponctuelle, mais la présence exceptionnelle de deux délétions génomiques, de 592 pb et 29 pb en 5' et 3' du PE. Afin d'explorer le rôle de ces délétions dans l'activation du PE, nous avons construit une série de minigènes rapporteurs d'épissage correspondant à la séquence sauvage du PE et de ses bordures introniques (contexte sauvage), ou à la séquence du PE incluant les deux ou une seule des deux délétions en amont et en aval du PE. Les expériences d'épissage *ex vivo* ont permis de reproduire le profil anormal d'épissage en contexte muté, et de démontrer que seule la délétion en amont était nécessaire à l'activation du PE. Des études complémentaires sont en cours combinant une analyse bioinformatique à l'aide des logiciels Human Splicing Finder (HSF) et MFOLD et une approche de mutagenèse dirigée afin d'identifier les éléments cis régulateurs d'épissage (motifs de liaison à des protéines activatrices ou inhibitrices, et structure secondaire de l'ARN) potentiellement impliqués dans la reconnaissance de ce PE dans le gène DMD. Ces résultats démontrent que les remaniements génomiques dans les introns peuvent conduire à des événements indésirables dans les transcrits tels que l'insertion de PE.



Une meilleure connaissance des PEs du gène DMD et des éléments cis-régulateurs impliqués dans leur reconnaissance est essentielle pour le développement et la sécurité des thérapies basées sur le saut d'exon.

**Mots-clés :** pseudoexon, gène DMD.

**■P356. IDENTIFICATION DE NOUVELLES SÉQUENCES DANS LES GÈNES LAMA2 ET SGCG MODULANT LES ÉLÉMENTS RÉGULATEURS DE L'ÉPISSAGE EN CIS AINSI QUE LA STRUCTURE SECONDAIRE DE L'ARN MESSAGER**

O. Siala, I. Hadj-Salem, A. Tlili, I. Ammar, H. Belguith, F. Fakhfakh  
Laboratoire de Génétique Moléculaire Humaine, Faculté de Médecine de Sfax, Tunisie

Contact : [ofja\\_siala@yahoo.fr](mailto:ofja_siala@yahoo.fr)

L'épissage de l'ARN pré messager nécessite la présence de sites et de consensus d'épissage par la machinerie cellulaire. En effet, et en plus des informations situées au niveau des sites 5' et 3' d'épissage, la cellule a besoin d'autres séquences activatrices ou inhibitrices de l'expression génique qui sont respectivement les enhanceurs et les silenciers. Au cours de notre étude, nous avons séquencé les gènes LAMA2 et SGCG respectivement responsables des formes MDC1A et LGMD2C de dystrophies musculaires. Des études bioinformatiques ont été ensuite réalisées utilisant le programme ESEfinder pour la caractérisation des enhanceurs, ainsi que le programme MFOLD pour étudier l'effet des nouvelles variations nucléotidiques sur la structure secondaire de l'ARNm. Le séquençage a montré la présence de nouveaux polymorphismes dans le gène LAMA2 et SGCG qui n'existent pas dans la dernière version des banques de données. Il s'agit des polymorphismes c.3174+22\_23insAT et c.6085+12delA respectivement au niveau des introns 22 et 42 du gène LAMA2 ; ainsi que du polymorphisme c.\*102A/C dans la région 3' UTR du gène SGCG. Ces variations ont été retrouvées à l'état homozygote chez 210 individus issus de 5 populations méditerranéennes (Tunisienne, Marocaine, Algérienne, Libanaise et Française). Le programme ESEfinder a montré que la variation c.\*102A/C crée un enhanceur qui se lie à la protéine SR « SF2/ASF » avec un score de 3.9 largement supérieur à la valeur du seuil significatif (1.9). Pour le gène LAMA2, l'ESEfinder a montré que la variation c.3174+22\_23insAT n'a pas d'effet sur la composition en enhanceurs ; alors que le polymorphisme c.6085+12delA se trouve dans la région de liaison entre le consensus d'épissage en 5' et la protéine U1snRNA du spliceosome. Le programme MFOLD a montré que c.\*102A/C est accompagné de plusieurs variations structurelle touchant la position, le nombre et l'orientation des boucles externes. Cependant, le polymorphisme c.3174+22\_23insAT n'a pas d'effet sur la structure secondaire de l'ARN ; alors que c.6085+12delA a un effet remarquable sur la totalité de la structure de l'ARNm. Ces résultats montrent une corrélation structure-fonction entre la séquence primaire de l'ARN et la liaison aux facteurs d'épissage.

**Mots-clés :** épissage de l'ARNm, ESEfinder, MFOLD.

**■P357. ANOMALIES D'ÉPISSAGE DUES À DES VARIANTES DE SÉQUENCE NON CLASSÉS DANS LES GÈNES DES CAVERNOMATOSSES CÉRÉBRALES ; UTILISATION DES LOGICIELS PRÉDICTIONNELS D'ÉPISSAGE**

F. Riant (1, 2, 3), M. Cecillon (1), E. Tournier-Lasserre (1, 2, 3)

(1) Laboratoire de Génétique moléculaire, Hôpital Lariboisière, Paris, France ; (2) INSERM U 740, Paris, France ; (3) CERVC0, APHP, Hôpital Lariboisière, Paris, France

Contact : [florence.riant@lrb.aphp.fr](mailto:florence.riant@lrb.aphp.fr)

Introduction : De nombreux variants non classés ont un effet sur l'épissage de l'ARNm par destruction ou création de séquences consensus d'épissage. Dans les Cavernomatoses Cérébrales Multiples (CCM), la majorité des mutations aboutit à l'apparition d'un codon stop prématuré et pour tout variant inconnu une conséquence sur l'épissage doit être suspectée. Objectifs : 1) rechercher les conséquences sur l'ARN de variants non classés 2) comparer les conséquences observées sur l'ARNm avec les prédictions données par les logiciels d'épissage. Méthode : les conséquences de 25 variants non classés trouvés chez des patients CCM ont été recherchées sur l'ARN de leucocytes périphériques. Un éventuel effet sur l'épissage du cDNA a aussi été recherché pour 11 mutations stop et 7 petites délétions ou insertions exoniques trouvées chez les patients CCM. Les résultats ont alors été comparés avec les prédictions données par 3 logiciels de prédiction d'épissage *via* Alamut. Résultats : 14 variants induisent un défaut d'épissage (10 introniques et 4 exoniques) et une mutation faux sens entraîne un saut d'exon. Les 10 autres mutations stop et les 8 mutations de type insertion ou délétion ne modifient pas l'épissage. Treize des 15 variants altérant l'épissage étaient prédits comme délétères par les analyses *in silico* et 10 des 12 variants non classés sans effet sur l'épissage

ont été correctement prédits comme neutres. Conclusion : 15 variants CCM affectent l'épissage, dont 3 mutations faux sens, une mutation silencieuse et une mutation stop. Les prédictions données par les logiciels étaient exactes dans 85 % des cas pour un seuil de variation de 10 % (2 faux positifs et 2 faux négatifs). Il est donc très important de tester la conséquence sur l'épissage pour tout nouveau variant trouvé dans les gènes CCM. Cependant, les prélèvements appropriés pour l'extraction d'ARN ne sont pas toujours disponibles et la présence de transcrits alternatifs peut être une gêne pour l'analyse. L'analyse par Alamut est une aide pour la prédiction des défauts d'épissage, mais les résultats doivent absolument être confirmés expérimentalement.

**Mots-clés :** variants non classés, logiciels prédictifs, cavernomatose cérébrale.

**■P358. CONSÉQUENCES FONCTIONNELLES D'UNE MUTATION GERMINALE DU DOMAINE RICHE EN LEUCINE DE NLRP3, IDENTIFIÉE DANS UNE FORME ATYPIQUE DE MALADIE AUTOINFLAMMATOIRE – IMPLICATIONS THÉRAPEUTIQUES**

I. Jéru (1, 2, 3), S. Marlin (4, 5), G. Le Borgne (1, 2), E. Cochet (3), P. Duquesnoy (1), F. Dastot-Le Moal (3), L. Cuisset (6), V. Hentgen (7), R. Dhote (8), G. Grateau (9), S. Amselem (1, 2, 3)

(1) INSERM, U933, Paris, France ; (2) Université Pierre-et-Marie-Curie-Paris6, UMR S\_933, Paris, France ; (3) Service de Génétique et Embryologie médicales, Hôpital Trousseau, Paris, France ; (4) INSERM, U587, Paris, France ; (5) Centre de référence des surdités congénitales et héréditaires, Hôpital Trousseau, Paris, France ; (6) Service de Biochimie et Génétique moléculaire, Hôpital Cochin, Paris, France ; (7) Service de Pédiatrie, Centre Hospitalier de Versailles, Le Chesnay, France ; (8) Service de Médecine Interne, Hôpital Avicenne, Bobigny, France ; (9) Centre de référence Amyloses d'origine inflammatoire et Fièvre méditerranéenne familiale, Hôpital Tenon, Paris, France  
Contact : [isabelle.jeru@trs.aphp.fr](mailto:isabelle.jeru@trs.aphp.fr)

La physiopathologie des cryopyrinopathies, appartenant au groupe plus large des fièvres récurrentes héréditaires (FRHs), reste inexplicée chez de nombreux patients. La quasi-totalité des anomalies moléculaires identifiées à ce jour sont localisées dans le domaine NBS (Nucleotide Binding Site) de la protéine NLRP3, codé par l'exon 3 du gène. Nous avons étudié une forme familiale très atypique de cryopyrinopathie, de transmission autosomique dominante et présente sur trois générations, caractérisée par une surdité de perception, un syndrome inflammatoire biologique et une absence de signes cutanés. L'analyse de marqueurs microsatellites liés au gène NLRP3 nous a conduits à séquencer tous les exons de ce gène et à identifier une mutation faux-sens hétérozygote (p.Tyr859Cys), ségrégeant avec le phénotype pathologique. Cette mutation est localisée en C-terminal dans le domaine riche en leucine (LRR – leucine rich repeats) de la protéine. Des tests fonctionnels réalisés dans des cellules HEK293T, exprimant de manière stable ASC (Apoptosis-associated Speck-like protein containing a CARD) et la pro-caspase 1, ont montré un effet activateur modéré de cette mutation sur le clivage protéolytique de la pro-caspase 1 en caspase 1 et sur la formation de specks (agrégats intra-cytoplasmiques). En revanche, cette mutation n'a pas d'effet décelable sur la voie NFKB. Cette étude décrit la première forme familiale de cryopyrinopathie associée à une mutation de NLRP3 localisée hors de l'exon 3. Cela souligne l'importance de séquencer tous les exons de ce gène chez les patients présentant des manifestations atypiques, ce d'autant que les traitements anti-IL1 sont très efficaces chez la quasi-totalité des patients présentant ce type d'affections. Par ailleurs, cette première étude des conséquences fonctionnelles d'une mutation faux-sens affectant le domaine LRR de NLRP3 montre à la fois l'intérêt et la limite des tests fonctionnels développés aujourd'hui pour tester la pathogénicité de nouveaux variants. À cet égard, l'effet « gain de fonction » de cette mutation sur la voie de signalisation de la pro-caspase 1 est en accord avec le phénotype inflammatoire des patients.

**Mots-clés :** autoinflammatoire, NLRP3, LRR.

**■P359. PROFIL MUTATIONNEL DU GÈNE DE LA FIÈVRE MÉDITERRANÉENNE FAMILIALE AU MAROC**

L. Belmahi (1), F.Z. Laarabi (1), I. Cherkaoui (1), A. Sefiani (1, 2)

(1) Département de Génétique Médicale, Institut National d'Hygiène, Rabat, Maroc ; (2) Centre de Génomique Humaine, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Université Mohamed V, Rabat, Maroc

Contact : [lati\\_belma@yahoo.fr](mailto:lati_belma@yahoo.fr)

La Fièvre Méditerranéenne Familiale (FMF), ou maladie périodique, est une maladie héréditaire autosomique récessive. Elle se caractérise par la récurrence d'épisodes paroxystiques comportant une fièvre, une douleur abdominale, thoracique et/ou articulaire. La FMF touche surtout les



populations du Bassin méditerranéen en particulier, les Arméniens, les Juifs Sépharades, les Turcs et les Arabes. La principale complication de cette maladie est une amylose généralisée, qui peut être évitée par un traitement à vie à la colchicine. Après avoir été pendant plusieurs années en diagnostic par élimination des autres causes de fièvres récurrentes, la confirmation diagnostique de la FMF est aujourd'hui moléculaire, basée sur la mise en évidence de mutations du gène MEFV qui a été cloné en 1997. Nous rapportons à travers cette étude la première série de mutations à l'origine de la FMF dans la population marocaine. Le séquençage de l'exon 10 et de l'exon 2 du gène MEFV, nous a permis d'identifier un panel de 7 mutations situées dans l'exon 10 et une seule mutation (E148Q) au niveau de l'exon 2. La mutation M694V et la mutation M694I sont majoritaires à 53 % et 30,5 % respectivement, avec une prévalence élevée de la M694V chez la population originaire de la ville Fès. Les autres mutations plus rares sont la E148Q (5,5 %), M680L (4,5 %), A744S (4,5 %), M694del (1 %), R761H (1 %).

**Mots-clés :** fièvre méditerranéenne familiale, diagnostic moléculaire, MEFV.

### ■P360. DÉFICIENCE COGNITIVE ET PETITE TAILLE : EXPRESSION INHABITUELLE D'UN SYNDROME CINCA

C. Beneteau (1), F. Guerin (1, 2), I. Lemelle (2), J. Gosselin (1), J.L. Schaeffer (3), K. Angioi (4), I. Touitou (5), B. Leheup (1)  
(1) Centre de Référence Est Syndromes Malformatifs et Anomalies du Développement, Service de Médecine Infantile III et de Génétique Clinique CHU de Nancy et EA 4368 Faculté de Médecine Nancy-Université Henri Poincaré, Nancy, France ; (2) Service de Médecine Infantile II, CHU de Nancy, France ; (3) Service de Pédiatrie, Hôpital de Saint-Dizier, France ; (4) Département d'ophtalmologie, CHU de Nancy, France ; (5) Unité Médicale des Maladies Auto-Inflammatoires, Hôpital A de Villeneuve, Centre Hospitalier Universitaire de Montpellier, Montpellier, France  
Contact : leheup.bruno@wanadoo.fr

Parmi les fièvres intermittentes héréditaires familiales, le syndrome CINCA (Chronic Infantile Neurological Cutaneous and Articular) est une maladie rare, caractérisée par un début très précoce avec typiquement un érythème diffus durant la période néonatale et une triade clinique associant : manifestations cutanées, céphalées chroniques et arthropathies. Des observations « mild » du syndrome CINCA ont déjà été rapportées avec une révélation clinique plus tardive et des symptômes plus modérés, proches du syndrome de Muckle Wells. Nous rapportons une observation de syndrome CINCA, avec mutation identifiée dans le gène NLRP3-CIAS1 chez deux jumeaux monozygotes, dont le tableau clinique est inhabituel. Ils sont nés en 1996, les 2<sup>e</sup> et 3<sup>e</sup> de leur père et 6<sup>e</sup> et 7<sup>e</sup> de leur mère. Aucun des deux parents n'a de qualification professionnelle. Un des deux jumeaux présentait un RCIU avec taille et poids à -2,5 DS. Les deux patients consultent initialement à l'âge de 8 ans pour des difficultés scolaires avec scolarisation en CLIS dans le cadre d'une déficience légère avec QI 55, QIV 62, QIP 58 chez l'un et QI 66, QIV 66, QIP 73 chez l'autre et un retard de croissance (tailles à respectivement -2,5 et -3,5 DS). Le bilan hormonal ne met pas en évidence de déficit somatotrope. Le bilan inflammatoire systématique retrouve une VS augmentée à 30/60 chez les deux patients. La réévaluation étiologique retrouve en fait une surdité de perception bilatérale chez les deux enfants et la notion de deux épisodes de méningites aseptiques chez un des jumeaux. Un œdème papillaire bilatéral au fond d'œil est également retrouvé à l'âge de 9 ans dans le cadre du bilan d'un épisode aigu de céphalées et de vomissements. Au plan morphologique, les particularités sont discrètes avec front proéminent, antéversion nasale et philtrum long. Malgré l'absence de signes articulaires (bilan radiologique articulaire normal) ou cutanés, la suspicion de syndrome CINCA est confirmée par la détection de la mutation c.2068G>A dans le gène NLRP3. Les deux enfants sont traités depuis maintenant un an par Anakinra. Il faut souligner la reprise staturale nette puisque la vélocité de croissance annuelle préthérapeutique se situait à -3 ds et à +2 DS un an après l'initiation du traitement. Nous rappelons au travers de cas deux observations que les syndromes inflammatoires chroniques peuvent être associés à des troubles cognitifs et soulignons l'intérêt de la mesure systématique de la VS dans les consultations génétiques de retard mental.

**Mots-clés :** CINCA, NLRP3, retard mental.

### ■P361. DÉLÉTIONS DANS LE DOMAINE C-TERMINAL DU GÈNE ALAS2 : NOUVELLE PORPHYRIE, NOUVEAU MÉCANISME MOLÉCULAIRE

S. Ducamp (1, 2), C. Martin-Schmitt (1), S. Lyoumi (1), C. Kannengiesser (1, 3), L. Gouya (1, 2), B. Grandchamp (1, 3), J.C. Deybach (1, 2), H. Puy (1, 2)  
(1) INSERM Unité 773, Centre de Recherche Biomedicale Bichat-Beaujon, Université Paris Diderot, Site Bichat, Paris, France ; (2) AP-HP, Centre

Français des Porphyries, Hôpital Louis Mourier, Colombes, France ; (3) AP-HP, Service de Génétique et Biochimie hormonale, Hôpital Bichat Claude Bernard, Paris, France  
Contact : sarah.ducamp@inserm.fr

La protoporphyrie érythropoïétique (EPP, MIM177000) est une maladie rare héréditaire résultant d'un déficit partiel de l'activité de la Ferrochélatase (FECH, EC.4.99.1.1), dernière enzyme de la voie de biosynthèse de l'hème. Ce déficit est responsable de l'accumulation de Protoporphyrine IX (PPIX) entraînant le développement d'une photodermatose algue et plus rarement, dans 2 % des cas, d'une insuffisance hépatique terminale. Le mode de transmission original de cette maladie repose sur la co-transmission d'un allèle FECH portant une mutation délétère, en trans de l'allèle commun hypomorphe FECH IVS3-48C, ramenant l'activité FECH en dessous du seuil critique de 30 % (Gouya *et al.*, Am. J. Hum. Genet. 2006). Pour 7 % des patients EPP, aucune mutation FECH n'est trouvée. Parmi ceux-ci 3 % sont homozygotes pour l'allèle normal FECH IVS3-48T et présentent une activité FECH normale. Ceci suggère fortement l'existence d'un variant EPP impliquant un autre locus. Chacune des sept porphyries héréditaires résulte d'un déficit partiel d'une des enzymes de la voie de biosynthèse de l'hème. Avant ce travail, aucune mutation affectant les gènes ALAS1 et ALAS2, codant respectivement pour les isoformes ubiquitaires et érythroïdes spécifiques de l'acide delta-aminolévulinique synthétase (ALAS, EC 2.3.1.37), première enzyme de la voie de biosynthèse de l'hème, n'a été associée à une porphyrie. Les mutations affectant le gène ALAS2 sont responsables chez l'homme d'anémies sidéroblastiques liées à l'X (XLSA, MIM 301300). Nous décrivons ici huit familles EPP pour lesquelles le locus FECH a été exclu. Nous avons identifié chez les atteints des délétions dans le domaine C-terminal de l'ALAS2, soit c.1706-1709 delAGTG (p.E569GfsX24) ou c.1699-1700 delAT (p.M567EfsX2), menant à la délétion ou au remplacement des 19-20 derniers résidus de l'enzyme. Les études d'expression, en système procaryote, montrent une augmentation de l'activité ALAS2 pour les deux types de mutations. Ces mutations gain de fonction sont responsables d'une nouvelle forme de porphyrie : la protoporphyrie érythropoïétique dominante liée à l'X (XLDPP, MIM 300752), biochimiquement caractérisée par une haute proportion de zinc-PPIX dans les érythrocytes (Ducamp *et al.*, Am. J. Hum. Genet. 2008). De plus, nos études préliminaires indiquent que seule une partie définie du domaine C-terminal est impliquée dans l'augmentation de l'activité ALAS2. Enfin les enzymes mutants montrent une température optimale inférieure à celle de l'enzyme sauvage, suggérant une énergie d'activation plus faible entraînant le gain de fonction.

**Mots-clés :** protoporphyrie érythropoïétique, ALAS2, liée à l'X.

### ■P362. MUTATIONS DE TMPRSS6 AFFECTANT LES DIFFÉRENTS DOMAINES FONCTIONNELS DE LA PROTÉINE DANS DES ANÉMIES MICROCYTAIRES FERRIPRIVES

F. Guillem (1), C. Oudin (2), C. Kannengiesser (1, 2), P. Matak (3), G. Nicolas (3), J. Donadieu (4), B. Isidor (5), P. Aguilar-Martinez (6), S. Vaulont (3), C. Beaumont (1), B. Grandchamp (1, 2)  
(1) INSERM UMR773 et Université Paris Diderot, site Bichat, Paris, France ; (2) APHP, Hôpital Xavier Bichat, Service de Biochimie Hormonale et Génétique, Paris, France ; (3) Institut Cochin, Université Paris-Descartes, CNRS, UMR8104, INSERM U567, France ; (4) APHP, Service d'Hématologie Pédiatrique, Hôpital Armand-Trousseau, Paris, France ; (5) Service de Génétique Médicale, CHU de Nantes, Nantes, France ; (6) Service d'Hématologie Biologique, CHU de Montpellier, France  
Contact : bernard.grandchamp@inserm.fr

TMPRSS6 est une sérine protéase membranaire d'expression hépatique qui réprime l'expression de l'hepcidine, hormone clé du métabolisme du fer. Cette régulation s'opère par la dégradation de la forme membranaire de l'hémojuvénine, corécepteur des BMPs indispensable à la régulation de l'hepcidine par le fer. TMPRSS6 comporte un court domaine intracytoplasmique, un domaine transmembranaire et un ectodomaine composé de 1 domaine SEA, 2 domaines CUB, 3 domaines LDLR et un domaine sérine protéase. Comme toutes les protéines appartenant à la famille des TTSP (type II transmembrane serine protease), la protéine TMPRSS6 est activée *via* un clivage autocatalytique après une arginine, en N-terminus du domaine sérine protéase. Des mutations du gène TMPRSS6 ont été décrites chez des patients souffrant d'une anémie avec déficience en fer, réfractaire au traitement par le fer oral (IRIDA), une maladie transmise sur le mode autosomique récessif et caractérisée par un fer sérique bas, un faible pourcentage de saturation de la transferrine, une microcytose. La physiopathologie de la maladie s'explique par une concentration d'hepcidine plasmatique anormalement élevée conduisant à une hypoabsorption du fer alimentaire et une rétention du fer macrophagique. L'administration de fer par voie intraveineuse entraîne une augmentation de la ferritine sérique et



une correction de l'anémie quasi complète et la réponse à ce traitement est généralement durable : la concentration d'hémoglobine est maintenue à des valeurs normales ou subnormales pendant plusieurs mois. Ces observations suggèrent que malgré une concentration plasmatique élevée d'hepcidine, une part du fer administré par voie intraveineuse et capté par les macrophages est lentement redistribuée dans la circulation puis utilisée pour l'érythropoïèse. Nous avons récemment identifié cinq nouvelles mutations chez 5 patients (3 cas index) par séquençage des 18 exons, des jonctions introns-exons, et du promoteur du gène. Deux frères étaient homozygotes pour la délétion d'un nucléotide dans l'exon 15 entraînant la perte du domaine sérine protéase (p.A605fsX8). Trois patients étaient hétérozygotes composites pour des mutations faux sens touchant différents domaines de la protéine : p.Glu114Lys localisée dans le putatif domaine SEA et p.Pro765Ala dans le domaine sérine protéase chez un patient, p.Leu235Pro dans le premier domaine CUB et p.Tyr418Cys dans le deuxième domaine CUB chez deux frères d'une autre famille. Les quatre acides aminés touchés par les mutations faux sens et localisés dans différents domaines de la protéine sont très conservés entre les espèces. L'étude fonctionnelle, par transfections dans les cellules HuH7, de cDNAs codant pour des protéines TMPRSS6 portant les mutations faux-sens dans les différents domaines montre que l'intégrité structurale de ces domaines est nécessaire au clivage autocatalytique activateur de TMPRSS6.

**Mots-clés :** hepcidine, IRIDA, TMPRSS6.

### ■P363. LA MUTATION V617F DU GÈNE JAK2 CHEZ LES MALADES DE SYNDROMES MYÉLOPROLIFÉRATIFS AU MAROC : CONTRIBUTION AU DIAGNOSTIC ET PERSPECTIVES THÉRAPEUTIQUES

H. Dehbi (1), A. Benmoussa (1), S. Fehri (2), A. Quessar (2), S. Nadifi (1) (1) *Laboratoire de Génétique Médicale, Faculté de Médecine et de Pharmacie de Casablanca, Maroc ; (2) Service d'hématologie et d'oncologie pédiatrique, hôpital 20 aout 1953, Casablanca, Maroc*  
Contact : hind500@yahoo.fr

La mutation JAK2 V617F est de découverte récente, son implication dans la pathogénie des syndromes myéloprolifératifs (SMP) est actuellement confirmée. Notre étude est la première à s'intéresser au statut de la mutation JAK2 V617F chez les patients souffrants d'un syndrome myéloprolifératif au Maroc. L'étude a porté sur 70 patients, la mutation a été détectée par PCR allèle spécifique (AS-PCR). L'incidence de la mutation V617F JAK2 dans la polyglobulie de vauquez, thrombocytemie essentielle et la myélofibrose idiopathique sont respectivement 89,47 %, 62,5 % et 33,33 %. Nous avons également constaté que les patients porteurs de cette mutation présentent des niveaux plus élevés de l'hémoglobine et l'hématocrite par rapport aux malades ne portant pas cette mutation. Par contre, la mutation V617F JAK2 est absente chez les patients atteints de polyglobulie ou de thrombocytose secondaire. Notre étude est la première à évaluer la mutation JAK2 V617F chez des patients avec syndromes myéloprolifératifs au Maroc. Nos données semblent confirmer que la mutation JAK2 V617F est spécifique aux syndromes myéloprolifératifs.

**Mots-clés :** syndromes myéloprolifératifs, mutation V617F, gène JAK2.

### ■P364. HÉTÉROGÉNÉITÉ GÉNÉTIQUE DES ANÉMIES SIDÉROBLASTIQUES : SÉRIE DE 31 PROPOSANTS

C. Kannengiesser (1, 3), S. Ducamp (2, 3), G. Hetet (1), D. Henry (1), C. Oudin (1), M. Touati (4), L. Garçon (5), H. Puy (2, 3), C. Beaumont (3), B. Grandchamp (1, 3)  
(1) *AP-HP, Service de Génétique et Biochimie hormonale, Hôpital Bichat-Claude-Bernard, Paris, France, Université Paris-Diderot, Paris, France ; (2) AP-HP, Centre français de porphyries, Hôpital Louis-Mourier, France ; (3) INSERM U773, Université Paris-Diderot, Paris, France ; (4) service d'hématologie clinique, CHU de Limoges, Hôpital Dupuytren, Limoges, France ; (5) AP-HP, service d'hématologie Biologique, Hôpital Hotel-Dieu, Paris*  
Contact : bernard.grandchamp@inserm.fr

L'anémie sidéroblastique (AS) se définit par la présence de sidéroblastes en couronne dans la moelle osseuse. Les formes génétiques d'AS sont soit isolées, soit syndromiques. À ce jour, 7 formes d'AS congénitales sont identifiées. Les formes isolées sont : l'AS liée à l'X impliquant le gène ALAS2 qui est la forme la plus fréquente, l'anémie autosomique récessive non syndromique (gène SLC25A38) et l'AS avec surcharge en fer (gène GLRX5). Quatre formes sont syndromiques : l'anémie mégaloblastique répondant à la thiamine, avec diabète et surdité (gène SLC19A2), l'anémie sidéroblastique liée à l'X et ataxie (gène ABCB7), la myopathie mitochondriale, acidose lactique et AS (gène PUS1) et le syndrome de Pearson, cytopathie mitochondriale caractérisé par une AS et une insuffisance

pancréatique. Nous avons reçu depuis 2002 des prélèvements pour 31 proposants (20 hommes et 11 femmes) pour lesquels a été établi un diagnostic d'AS sur la présence de sidéroblastes en couronne dans la moelle. En fonction du dossier clinico-biologique, une recherche de mutations dans les séquences codantes, les jonctions exons-introns et promoteurs des gènes ALAS2, SLC25A38, SLC19A2, GLRX5 a été réalisée par séquençage direct. Des mutations ont été identifiées dans 3 de ces gènes : -ALAS2 : 16 cas index dont 11 hommes et 5 femmes (52 % des proposants) dont 7 nouvelles mutations. Toutes les femmes atteintes d'AS liées à l'X présentaient un biais d'inactivation de l'X. Ces mutations sont dans 6 cas des substitutions affectant des codons conservés et dans un cas une délétion au niveau du promoteur. L'expression des cDNAs mutés chez E coli confirme l'importance fonctionnelle des mutations faux sens observées. On observe une variabilité phénotypique importante chez les patients porteurs de mutation d'ALAS2, certains d'entre eux diagnostiqués à l'âge adulte présentent une microcytose associée à une surcharge en fer parfois importante mais une anémie très modérée ou même absente. -SLC25A38 : 4 patients porteurs de mutations (13 % des cas) dont 3 nouvelles mutations. Dans 3 cas sur 4, il s'agissait d'homozygotie vraie, traduisant une consanguinité. -SLC19A2 : 1 patient porteur d'une mutation déjà décrite dans une autre famille. Cette série confirme la grande hétérogénéité génétique des AS. Les formes liées à l'X sont les plus fréquentes dans notre série (52 %). Cette proportion est proche de celle de 37 % rapportée dans la plus grande série américaine publiée récemment (Bergmann *et al.*, *Pediatr Blood Cancer*, 2009). L'absence d'AS liées à GLRX5 confirme leur rareté. Dans une proportion relativement élevée de patients aucune anomalie génétique n'a pu être identifiée (32 % dans notre série, 43 % dans la série américaine) suggérant l'implication d'autres gènes non identifiés à ce jour dans les AS.

**Mots-clés :** anémie sidéroblastique, ALAS2, SCL25A38.

### ■P365. MYÉLODYSPLASIE NÉONATALE : PREMIER SIGNE D'UNE INTOLÉRANCE AUX PROTÉINES DIBASIQUES

M. Barth (1), X. Riolland (2), S. Le Bouedec (3), G. Simard (4), M. Nagel (5), D. Bonneau (1)  
(1) *Service de génétique, CHU Angers, Angers, France ; (2) Service d'onco-hématologie pédiatrique, CHU Angers, Angers, France ; (3) Service de néonatalogie, CHU Angers, Angers, France ; (4) Service de biochimie métabolique, CHU Angers, Angers, France ; (5) Center for metabolic disorders, Weisswasser, Germany*  
Contact : mabarth@chu-angers.fr

Introduction : L'intolérance aux protéines dibasiques (LPI) est une maladie métabolique rare par mutation d'un transporteur des acides aminés dibasiques (lysine, ornithine, arginine) situé sur la membrane basolatérale des entérocytes, des cellules tubulaires rénales, des hépatocytes et de l'épithélium bronchique. Classiquement, la maladie débute après le sevrage par des vomissements, des diarrhées, un retard de croissance, une hépatosplénomégalie, une ostéoporose et une protéinose alvéolaire. Une atteinte hématologique à type de pancytopenie a également été rapportée avec parfois un début néonatal. Le myélogramme retrouvait alors toujours un syndrome d'activation macrophagique. Cas clinique : Nous rapportons le cas d'un enfant qui a développé à 48 h de vie, une thrombopénie sévère isolée à 20 000 plaquettes/mm<sup>3</sup>. L'enfant a régulièrement été transfusé en plaquettes. Le myélogramme a montré une moelle dysplasique avec myélofibrose réticulinique, érythroblastopénie et mégacaryocytopenie. À 6 mois, alors que la diversification alimentaire a été débutée, elle a présenté une diarrhée chronique entraînant une cassure de la courbe staturo-pondérale. Le bilan métabolique a retrouvé une élévation de la glutamine et des taux plasmatiques effondrés de lysine, arginine et ornithine alors que la chromatographie d'acides aminés urinaires était normale. Évolution : Malgré la normalité de l'excrétion urinaire d'acides aminés dibasiques, le diagnostic d'intolérance aux protéines dibasiques a été retenu et confirmé par la mise en évidence de deux mutations hétérozygotes dans le gène SLC7A7 codant pour le transporteur y+LAT1 des acides aminés dibasiques. Un traitement par nutrition parentérale restreinte en protéines ainsi qu'une supplémentation en citrulline et carnitine a été débuté. Rapidement la diarrhée s'est estompée, la croissance staturo-pondérale a repris et les besoins transfusionnels ont progressivement diminués. À 18 mois, le myélogramme est normalisé. Les apports protidiques entéraux sont alors progressivement augmentés jusqu'à 2 g/kg/j. À l'âge de 7 ans, le traitement par citrulline a été arrêté. Six mois plus tard, l'enfant a développé une nouvelle thrombopénie sévère. La reprise du traitement par citrulline et d'un régime végétarien apportant 1,5 g/kg/j a permis la normalisation de la numération formule sanguine en un an. Conclusion : Nous rapportons le cas d'un enfant qui a développé une myélodysplasie de début néonatal causée par une intolérance aux protéines dibasiques. La mise en place du traitement spécifique par citrulline et d'un régime restreint en protéines a permis une

normalisation du bilan hématologique. Le diagnostic d'intolérance aux protéines dibasiques doit donc être évoqué comme diagnostic différentiel des myélodysplasies de révélation néonatale.

**Mots-clés :** myélodysplasie, intolérance aux protéines dibasiques.

**■P366. UNE NOUVELLE MUTATION, P.ASN491SER, DU GÈNE CODANT DMT1 MODIFIE LE ROUTAGE DE LA PROTÉINE ET CONDUIT, LORSQU'ELLE EST ASSOCIÉE À LA MUTATION P.GLY212VAL, À UNE ANÉMIE MICROCYTAIRE HYPOCHROME**  
E. Bardou-Jacquet (1, 2, 3), A. Mosser (2, 4), M.L. Island (3), L. Detivaud (2, 3), N. Fatih (3), E. Brissot (5), M. Ropert (2, 3, 6), H. Maisonneuve (5), P. Brissot (1, 2, 3), O. Loréal (2, 3), A.M. Jouanolle (2, 4)  
(1) Service des maladies du foie, CHU Pontchaillou, Rennes, France ; (2) Centre de référence des surcharges génétiques en fer rares, CHU Pontchaillou, France ; (3) Inserm U-522, Université de Rennes 1, France ; (4) Laboratoire de génétique moléculaire, CHU Pontchaillou, Rennes, France ; (5) Service de médecine interne et hématologie, CH les Oudairies, La Roche sur Yon, France ; (6) Laboratoire de biochimie, CHU Pontchaillou, Rennes, France

Contact : anne-marie.jouanolle@chu-rennes.fr

DMT1 est une protéine transmembranaire assurant le transfert de cations divalents, dont le fer, du pôle apical vers le cytosol dans les entérocytes, et des endosomes acidifiés vers le cytosol dans les autres types cellulaires. Des mutations du gène SLC11A2 codant DMT1 conduisent à une anémie microcytaire hypochrome associée le plus souvent à une surcharge hépatique en fer massive. Nous rapportons ici le 5<sup>ème</sup> cas d'anémie microcytaire relevant du gène codant DMT1. Il s'agit d'une jeune femme chez laquelle le diagnostic d'anémie microcytaire hypochrome a été posé à l'âge de 13 ans (Hb : 8,6g/dL ; VGM : 58 fl ; CHM : 17,8 pg/cell). À 27 ans, elle est adressée pour avis au Centre de Référence des surcharges génétiques en fer rares (Rennes). Le bilan hématologique est inchangé, le bilan martial perturbé révèle une franche augmentation du fer sérique et du coefficient de saturation de la transferrine (respectivement 37 µmol/L et 83 %) ; la concentration hépatique en fer évaluée par IRM est très élevée (300 µmol/g de poids sec (N<36)), contrastant avec une ferritinémie modérément augmentée (214 µg/L). L'analyse du gène SLC11A2 par séquençage a mis en évidence deux mutations hétérozygotes : la mutation p.Gly212Val déjà décrite (Beaumont *et al.*, 2006) et la mutation p.Asn491Ser non rapportée dans la littérature. L'impact fonctionnel des mutations a été évalué sur i) l'épissage de l'ARN et ii) le routage de la protéine dans la lignée cellulaire humaine HUH7 d'origine hépatique en utilisant le vecteur d'expression pdsRed2-C1 dans lequel les formes sauvages et mutées de l'ADNc ont été insérées. Les résultats i) montrent l'impact, sur le métabolisme du fer, d'une hétérozygotie composite du gène codant DMT1 qui entraîne anémie microcytaire et surcharge en fer paradoxale dont le mécanisme reste à élucider, ii) rapportent une mutation p.Asn491Ser ayant un impact sur le routage cellulaire de la protéine, et iii) suggèrent que la mutation p.Gly212Val a un impact sur l'activité de la protéine sans affecter son routage cellulaire.

**Mots-clés :** DMT1, anémie, fer.

**■P367. IMPACT DES MUTATIONS G1691A DU FACTEUR V LEIDEN ET DE G20210A DE LA PROTHROMBINE DANS LA GÉNÈSE DE LA MALADIE THROMBO-EMBOLIQUE**  
H. Dehbi (1), H. QAadda (1), K. Raddaoui (1), M. Miguil (2), S. Faiz (3), I. Slassi (4), S. Nadifi (1)

(1) Laboratoire de Génétique Médicale, Faculté de Médecine et de Pharmacie de Casablanca, Maroc ; (2) Service de réanimation gynéco obstétricale, CHU Ibn Rochd, Casablanca, Maroc ; (3) Laboratoire d'hématologie, CHU Ibn Rochd, Casablanca, Maroc ; (4) Service de neurologie, CHU Ibn Rochd, Casablanca, Maroc  
Contact : hind500@yahoo.fr

Les mutations du facteur V Leiden (G1691A), de la prothrombine (G20210A) sont fréquentes en Europe et rare en Afrique, cependant leur implication dans la genèse des complications thromboembolique est certaine. Le but de cette étude était de déterminer la prévalence de ces mutations chez des malades ayant eu différentes complications thromboemboliques afin de déterminer les causes génétiques prédisposant à la maladie thromboembolique (MTE). La recherche de ces mutations a concerné différentes complications thromboemboliques (AVC, TVP, complications obstétricales...) provenant de différents services de CHU Ibn Rochd de Casablanca. Notre méthodologie consiste en une amplification génique par PCR de l'ADN génomique, suivie d'un clivage enzymatique. Nos résultats ont montré que la mutation du FV Leiden est significativement plus élevée chez les sujets présentant une thrombose veineuse profonde (15,4 %) que

lors des complications obstétricales (6,25 %) alors que la mutation du facteur II a été retrouvée avec une prévalence de 4,7 % chez les TVP contre 3,12 % dans les complications obstétricales. Ces deux mutations étaient absentes lors des AVC, thrombophilie. Ces résultats ont été comparés à ceux obtenus dans une autre étude réalisée préalablement chez 200 sujets sains pris au hasard dans la population Marocaine. Ces données révèlent que la prévalence de mutation du facteur V Leiden qui était absente chez la population saine est beaucoup plus impliquée dans la genèse des TVP que dans les complications obstétricales alors que le FII est impliqué à part égale et son taux avoisine celui retrouvé chez la population saine (2,4 %).

**Mots-clés :** maladie thromboembolique, mutation G1691A, mutation G20210A.

**■P368. LE TAUX D'HÉMOGLOBINE A2 N'EST PAS TOUJOURS FACILE A INTERPRÉTER : LE CAS D'UNE HÉMOGLOBINE RÉSULTANT D'UN GÈNE DE FUSION AVEC PROMOTEUR BÊTA-GLOBINE**

K. Moradkhani, C. Préhu, J. Riou, M. Mathis, C. Godart, M. Goossens, H. Wajcman  
Laboratoire des hémoglobines, Service de Biochimie et Génétique, Hôpital Henri Mondor, Créteil, France  
Contact : kamikimi@yahoo.com

Le taux d'hémoglobine A2 est diminué dans les alpha-thalassémies et augmenté dans les bêta-thalassémies. Le degré d'augmentation et/ou de diminution du taux d'HbA2 dépend de la nature de l'anomalie. Pendant la période embryonnaire et fœtale, ce sont les gènes dzêta- et alpha-globine, sur le cluster alpha- et epsilon- et gamma-globine sur le cluster bêta, qui sont exprimés. Ce n'est qu'à partir de la 36<sup>ème</sup> semaine d'aménorrhée que les gènes de delta- et bêta-globine s'expriment. Cette régulation est sous le contrôle du LCR (cluster bêta) et de la région HS40 (cluster alpha). Le promoteur du gène delta-globine est faiblement stimulé par LCR : le taux d'HbA2 (alpha2delta2) se situe à 2,5 % après l'âge d'un an et reste à ce niveau toute la vie. Au contraire, le promoteur de bêta-globine est rapidement fortement stimulé et le reste de l'Hb est constitué par de l'HbA (alpha2beta2).

Quelles sont les causes d'une Hb A2 abaissée ? Ceci est fréquemment observé dans le cadre d'une carence martiale car le fer est impliqué dans la transcription de l'alpha-globine. La diminution d'HbA2 est également rencontrée dans les alpha-thalassémies. Une autre cause d'Hb A2 basse, sans traduction clinique, est la présence d'un variant de delta-globine ou d'une delta-thalassémie. L'absence totale de gamma-globine se traduit par l'absence de l'HbA2 mais reste sans conséquence pathologique.

L'HbA2 peut être faussement normale. Si le tableau hématologique et clinique correspond à une thalassémie mais sans répercussion sur le taux de A2 on doit penser à une association de plusieurs anomalies (bêta-thalassémie associée à une carence martiale ou à une (delta-bêta-zéro thalassémie).

Quelles sont les causes d'une Hb A2 élevée ? La plus fréquente est une beta-thalassémie. En effet, en cas de bêta-thalassémie, le gène de delta-globine est stimulé d'avantage par le LCR entraînant un taux plus élevé d'HbA2. Ce taux varie d'une mutation bêta-thalassémique à une autre et peut atteindre, dans certains cas, jusqu'à 15-17 % de l'hémoglobine totale. Une augmentation modérée du taux d'HbA2 est également décrite dans les anémies mégaloblastiques (carence en vit. B12) et à la suite de certains traitements antiviraux. La méthode classique de diagnostic d'une alpha ou bêta-thalassémie est le dosage d'HbA2 effectué par des systèmes électrophorétiques (électrophorèse capillaire) ou chromatographiques (CE-HPLC). Dans cette dernière méthode une cause d'erreur à connaître est l'éluion de certains variants d'hémoglobine dans la fenêtre de l'HbA2. Parmi ces variants on peut citer les HbE, Hb Lepore, Hb D-Ouled Rabah, Hb D-Iran, Hb Fort de France, Hb Jeddah. En utilisant l'électrophorèse capillaire, on peut distinguer certains de ces variant de l'Hb A2. Parmi les hémoglobines issues de la fusion entre les gènes delta- et bêta-globine, on peut citer les Hbs Lepore (protéine de fusion delta-bêta) et les Hbs Anti-Lepore (protéine de fusion bêta-delta). Ces dernières donnent plusieurs hémoglobines en fonction de point de recombinaison (ex. : Hb P-Nilotic, Hb Miyada et Hb Hong Kong). L'Hémoglobine Hong Kong a la particularité de conserver le promoteur du gène bêta ?globine et d'avoir la partie codante du gène delta-globine. Nous rapportons ici le cas d'un sujet porteur d'une Hb Hong Kong chez qui la CE-HPLC a révélé un pic représentant 17 % de l'Hb totale qui éluait dans la fenêtre de l'HbA2 et dont l'origine ethnique nous suggérait une HbE alors que les paramètres hématologiques étaient normaux. Des études phénotypiques et génétiques complémentaires ont permis le diagnostic d'une Hb Hong Kong à l'état hétérozygote.

**Mots-clés :** gène de fusion, Hémoglobine anti-Lepore, bêta-thalassémie et hémoglobine A2.

**■P369. PÉNÉTRANCE THÉRAPEUTIQUE DU GÉNOTYPE C282Y HOMOZYGOTE**

E. Cadet (1), D. Capron (2), J.P. Ducroix (3), J.F. Cadranel (4), J. Rochette (1)

(1) *Génétique UMR-INSERM U 925, Amiens, France*; (2) *Hépatogastroentérologie, CHU d'Amiens, France*; (3) *Médecine Interne, CHU d'Amiens, France*; (4) *Hépatogastroentérologie, Hôpital Laënnec, Creil, France*Contact : [jacques.rochette@u-picardie.fr](mailto:jacques.rochette@u-picardie.fr)

La Pénétrance d'un génotype est le nombre de sujets développant un phénotype spécifique rapporté au nombre de sujets porteurs du génotype correspondant. Elle est habituellement déterminée à partir d'un phénotype hérité sur le mode dominant et elle peut-être utilisée pour des calculs de risque dans certaines maladies génétiques. Elle présente donc un intérêt en santé publique. L'hémochromatose HFE est une surcharge en fer primaire d'origine génétique. Malgré son mode de transmission autosomique récessif, de très nombreuses études ont tenté d'établir la pénétrance du génotype morbide C282Y homozygote. La plupart des études cherchent à établir deux valeurs de pénétrance : i) la pénétrance « clinique » basée sur la présence ou l'absence d'un certain nombre de symptômes plus ou moins spécifiques d'une surcharge en fer, ii) la pénétrance « biochimique » basée sur la valeur du coefficient de saturation de la transferrine (Sat %) et/ou sur la valeur de la ferritine sérique (FS). Les valeurs de ces deux pénétrances (âge et sexe confondus) varient de 1 % à 50 % pour la pénétrance clinique et de 9 % à 100 % pour la pénétrance biochimique selon les auteurs. Cette dispersion des valeurs indique une hétérogénéité importante dans le choix des critères d'inclusion pour la définition du phénotype ainsi qu'un certain nombre de biais concernant le choix d'une population témoin. Afin de pallier ces difficultés, nous avons introduit la notion de « pénétrance thérapeutique ». Nous avons défini la pénétrance thérapeutique comme la proportion de sujets porteurs du génotype C282Y homozygote pour lesquels il est nécessaire de soustraire au moins 5 grammes de fer afin de normaliser la FS à une valeur  $\leq 50$  microgrammes/L. La soustraction de 5 grammes de fer au moins, pour normaliser la FS est l'un des critères communément admis pour la définition phénotypique de l'hémochromatose. Entre 1997 et 2009, nous avons suivi 808 sujets (477 hommes et 331 femmes) porteurs du génotype C282Y homozygote. Au moment du diagnostic, les sujets ayant une FS  $\geq 600$  microgrammes/L ont été soumis à un protocole de phlébotomies. Sur 331 femmes de plus de 45 ans, 39 seulement entraient dans la définition précédente. Pour les hommes de plus de 35 ans, 163 sujets sur 477 correspondaient au critère retenu. Dans notre série, la pénétrance thérapeutique du génotype C282Y homozygote est donc estimée à 0,14 chez la femme et à 0,34 chez l'homme. Nous avons établi que la pénétrance thérapeutique représente environ la moitié de la pénétrance biochimique. La pénétrance thérapeutique n'introduit pas la confusion entre la prévalence de l'hémochromatose symptomatique aux différents stades de la maladie, relevant le plus souvent de l'expressivité variable, et la pénétrance clinique. Il n'est pas nécessaire d'utiliser une population témoin et elle est applicable à d'autres génotypes d'hémochromatose comprenant aussi le phénomène d'oligogénisme.

**Mots-clés** : pénétrance, mutation C282Y, HFE.**■P370. DES MUTATIONS FAUX-SENS DANS LA SÉQUENCE CODANTE DE SOUS-UNITÉ L-FERRITINE : UNE NOUVELLE CAUSE GÉNÉTIQUE D'HYPERFERRITINÉMIE EN L'ABSENCE DE SURCHARGE EN FER**

C. Kannengiesser (1, 3), A.M. Jouanolle (2), G. Hetet (1), A. Mosser (2), F. Muzeau (3), D. Henry (1), E. Bardou-Jacquet (2), M. Mornet (4), P. Brissot (5), Y. Deugnier (5), B. Grandchamp (1, 3), C. Beaumont (3)

(1) *AP-HP, Service de Génétique et Biochimie hormonale, Hôpital Bichat Claude Bernard, Paris, France, Université Paris-Diderot, Paris, France*; (2) *Laboratoire de Génétique Moléculaire, Hôpital Pontchaillou, Rennes, France*; (3) *INSERM U773, Université Paris-Diderot, Paris, France*; (4) *Service de Médecine Interne, Centre Hospitalier Jacques Cœur, Bourges, France*; (5) *Service des Maladies du Foie et Centre de Référence des Surcharges Génétiques en Fer, Hôpital Pontchaillou, Rennes, France*  
Contact : [bernard.grandchamp@inserm.fr](mailto:bernard.grandchamp@inserm.fr)

La ferritine est une protéine composée de deux types de sous unités H et L dont le polymère permet le stockage intracellulaire du fer sous une forme non toxique. Chez les mammifères une fraction de la sous-unité L synthétisée dans les hépatocytes est sécrétée dans le plasma sous forme glycosylée tandis que la sous unité H n'est pas sécrétée. Le rôle physiologique de la ferritine sécrétée n'est pas connu et une hypothèse serait qu'elle puisse, au cours du développement embryonnaire, apporter du fer à certains types cellulaires sur lesquels un récepteur de la ferritine est exprimé Un

taux élevé de ferritine sérique est fréquemment rencontré dans des situations cliniques variées et une fois écartées les causes habituelles d'hyperferritinémie (surcharge en fer, inflammation), de nombreux cas restent inexpliqués. Jusque récemment, la seule cause génétique connue d'hyperferritinémie sans surcharge en fer, souvent associée à une cataracte, était le syndrome héréditaire hyperferritinémie-cataracte (HHCS), transmis sur le mode autosomique dominant. Ce syndrome est lié à des mutations de l'IRE (iron responsive element) dans la région 5' non traduite de l'ARNm L ferritine, responsable de la régulation traductionnelle de cet ARNm. Nous avons étudié 93 proposants avec hyperferritinémie comprenant 26 cas appartenant à des familles ayant au moins deux cas d'hyperferritinémie inexpliquée, et 67 cas isolés. Dans les familles, nous avons également analysé 30 apparentés. L'hyperferritinémie était considérée comme inexpliquée en l'absence d'autre signe de surcharge en fer (saturation de la transferrine inférieure à 45 % et/ou fer sérique inférieur à 25  $\mu\text{mol/L}$  et/ou absence d'excès de fer tissulaire) et en l'absence d'inflammation (CRP normale). Nous avons exploré par séquençage des exons le gène codant pour la sous unité L ferritine (FTL) chez les cas index et 30 apparentés. Une mutation p.Thr30Ile hétérozygote a été trouvée chez 17 cas index de la cohorte et une autre mutation p.Gln26Leu chez deux cas index. Ces deux mutations sont situées dans l'hélice alpha située en position N terminale de la molécule et en augmentent l'hydrophobicité. La mutation p.Thr30Ile coségrège avec l'hyperferritinémie (transmission autosomique dominante) dans les 10 familles qui ont pu être étudiées. Aucun symptôme clinique spécifique n'a été trouvé associé à la présence de ces mutations. Tous les sujets porteurs de l'une de ces deux mutations présentent un pourcentage très élevé de la glycosylation de la ferritine sérique ( $>90$  %, normales : 50-80 %) signant l'origine secrétée de la ferritine en excès. Ces mutations faux-sens de FTL représentent de nouvelles causes d'hyperferritinémie génétique, sans surcharge en fer et dont la reconnaissance peut éviter aux sujets concernés des investigations souvent nombreuses et parfois invasives. Ces mutations augmenteraient l'efficacité de la sécrétion de la L-Ferritine qui s'exerce en l'absence d'un peptide signal.

**Mots-clés** : hyperferritinémie, L-ferritine, ferritine secrétée.**■P371. HÉTÉROZYGOTIE COMPOSITE ET PHÉNOTYPE D'HEMOCHROMATOSE JUVÉNILE TARDIVE : IDENTIFICATION DE NOUVEAUX GÉNOTYPES**

E. Cadet (1), G. Le Gac (2), E. Letocart (2), I. Fajardy (3), M. Voicu (3), E. Verlet (4), R. Garidi (5), D. Capron (6), B. Heymann (7), C. Ferec (2), J. Rochette (1)

(1) *Laboratoire de Génétique Moléculaire Médicale-INSERM UMR-925, CHU, Amiens, France*; (2) *Établissement Français du Sang-INSERM U613, Université de Bretagne Occidentale, Brest, France*; (3) *Laboratoire de Biochimie, CHRU, Lille, France*; (4) *Service de Médecine Interne, CH, Dunkerque, France*; (5) *Service d'Hématologie Clinique, CHU, Amiens, France*; (6) *Service d'Hépatogastro-Entérologie, CHU, Amiens, France*; (7) *Centre de Gastro-Entérologie privé, Amiens, France*  
Contact : [estelle.cadet@u-picardie.fr](mailto:estelle.cadet@u-picardie.fr)

L'hémochromatose de type 2 ou hémochromatose juvénile est une forme sévère de surcharge en fer de transmission autosomique récessive. Il existe un hétérogénéité génétique avec 2 formes : 2A et 2B liées respectivement à des mutations dans les gènes codant l'hémojuvénine (HJV) et l'hepcidine (HAMP). Les formes les plus fréquentes sont dues à des mutations du gène HJV. L'hémochromatose 2A est notamment illustrée par un hétérogénéité allélique importante et les hétérozygoties composites sont fréquentes. Nous décrivons quatre nouveaux génotypes d'hétérozygoties composites caractérisés par une présentation phénotypique tardive dans quatre familles différentes. Il s'agit respectivement des génotypes p.R92P/p.D172Y ; p.L194R/p.D149fsX245 ; p.R288Q/p.G320V et p.L194R/p.C347X. Les deux premiers génotypes ont été mis en évidence chez un seul membre de chaque famille. En revanche, les deux autres génotypes ont été trouvés respectivement chez trois frères et chez une frère et une sœur. Une variabilité importante est à noter dans l'âge des diagnostics : de 19 ans pour la patiente porteuse de l'hétérozygotie p.R92P/p.D172Y à 40 ans en moyenne pour ceux porteurs des mutations p.R288Q/p.G320V. Sur le plan clinique, une hyperferritinémie associée à une cardiomyopathie et à un hypogonadisme sont présents chez deux des sujets masculins porteurs d'une mutation non-sens. Par contre, la sœur dont le génotype est p.L194R/p.C347X présente une hyperferritinémie à 800  $\mu\text{g/L}$  sans signe clinique. Les autres patients porteurs des hétérozygoties composites p.R92P/p.D172Y et p.R288Q/p.G320V présentent tous une surcharge en fer importante confirmée par IRM sans complication cardiaque ni endocrinienne. La recherche des mutations préalablement identifiées a pu être effectuée chez les parents des propositus dans trois des quatre familles (excepté celle du patient dont le génotype est p.L194R/p.D149fsX245). Dans tous les cas, chaque parent était porteur à l'état hétérozygote d'une des



mutations retrouvées chez le probant. Aucun des parents hétérozygotes ne présentaient de surcharge en fer. Des tests *in vitro* basés sur la relation fonctionnelle décrite entre l'hémojuvéline membranaire et l'hepcidine ont été effectués. Ces derniers consistaient à mesurer et à comparer les activités transcriptionnelles du promoteur HAMP en réponse à l'HJV sauvage ou mutée, avec et sans BMPs (Bone Morphogenetic Proteins). Ces tests fonctionnels ont permis de révéler que toutes les protéines HJV mutées aux positions p.R92P, p.D172Y, p.L194R et p.C347X sont incapables de stimuler la transcription du gène HAMP. Ces résultats sont également obtenus avec la mutation la plus fréquemment décrite : p.G320V. Les hémojuvélines mutées, rapportées dans cette étude, sont donc incapables d'activer la synthèse de l'hepcidine *via* la voie de signalisation intracellulaire BMP/SMAD. Ces résultats illustrent de nouveau l'hétérogénéité allélique, génotypique et phénotypique de l'hémochromatose de type 2A.

**Mots-clés :** hémochromatose juvénile, hétérozygotie composite, hémojuvéline.

### ■P372. DYNAMIQUE MOLÉCULAIRE EN SOLVANT EXPLICITE ET AIDE À L'INTERPRÉTATION DES CONSÉQUENCES DES MUTATIONS : APPLICATION AU VARIANT HFE P.R226G

C. Cézard (1), G. Legac (2), C. Férec (2), J. Rochette (3)  
(1) UMR-CNRS 6219, UPJV-Amiens, France ; (2) INSERM U 613, Brest, France ; (3) UMR-INSERM 925, UPJV-Amiens, France  
Contact : jacques.rochette@u-picardie.fr

L'hémochromatose HFE est une maladie autosomique récessive liée à l'homozygotie p.C282Y. Quelques cas d'hétérozygotie composite ont été décrits, associant presque toujours la mutation p.C282Y à une mutation privée. Nous décrivons un nouveau génotype d'hétérozygotie composite : p.C282Y/p.R226G, responsable d'une surcharge en fer (FS > 2 000 microgrammes/ml, Csat = 75 %) chez un adulte de sexe masculin. Nous avons voulu savoir si la substitution R226G, vicinale du résidu cystéine 225, pouvait générer un mécanisme susceptible de conduire à l'impossibilité de la création du pont disulfure 225 S-S 282 malgré la présence des 2 cystéines au sein du mutant. Cette hypothèse était basée sur un phénotype identique à celui qui est observé au cours de l'hémochromatose HFE due à l'homozygotie p.C282Y. Nous avons utilisé une méthode de dynamique moléculaire en solvant explicite, beaucoup plus proche de la réalité physiologique que les méthodes de modélisation par homologie ou en solvant implicite, déjà employées pour l'étude du variant p.Q283P. Nous avons effectué des simulations de 45 nanosecondes sur le domaine alpha3 de chacune de ces protéines (sauvage et mutée) en utilisant le champ de forces AMBER99SB développé au laboratoire. Les calculs ont été effectués à température et pression constantes, respectivement de 300 °K et de 1 bar. Des études énergétiques et de conformation ont été réalisées afin d'étudier la stabilité du mutant. Nous montrons : i) que la structure secondaire de la protéine est conservée, en particulier la structure du feuillet beta dans lequel est localisée la mutation, n'est pas affectée, ii) nous notons pour le variant, des fluctuations de structures tertiaires, absentes dans la structure sauvage. En particulier, le résidu G226 induit un remaniement du groupement phényle du résidu Y64 alors qu'aucune interaction de ce type n'est décelable entre les résidus R226 et Y64 de la protéine sauvage. Nous avons ensuite établi la distance entre les deux atomes de soufre impliqués dans le pont disulfure pour les deux protéines. Cette distance est de : 3,57 Å +/- 0,21 pour la protéine sauvage, alors que pour le mutant cette distance est significativement plus grande : 4,25 Å +/- 0,52. Des résultats de calculs d'énergie libre de solvation viennent renforcer l'hypothèse d'une déstabilisation importante de la conformation du mutant. En effet ; les temps nécessaires à la création de plusieurs ponts salins qui stabilisent normalement la structure tertiaire de la protéine sauvage sont significativement modifiés pour le variant. L'ensemble de ces résultats indique que la mutation R226G ne permet pas la création du pont disulfure 225 S-S 282 et introduit des modifications d'interaction charge-charge à distance de la substitution R226G. Ce travail confirme l'intérêt de l'utilisation de l'outil de dynamique moléculaire en solvant explicite pour l'interprétation des conséquences des mutations lorsque des tests fonctionnels sont difficiles à développer.

**Mots-clés :** HFE, mutation, dynamique moléculaire.

### ■P373. IDENTIFICATION DE NOUVELLES MUTATIONS DANS LES GÈNES HFE, TFR2 ET SLC40A1 IMPLIQUÉS DANS LES FORMES RARES D'HÉMOCHROMATOSE HÉRÉDITAIRE

M. Voicu (1), E. Cadet (2), I. Fajardy (1), P. Thuillier (1), N. Roger (1), A. Tronc (1), E. Verlet (3), Ph. Mathurin (4), V. Canva (4), S. Ruet (1), V. Bailleul (1), J. Rochette (2)  
(1) Laboratoire de Biochimie, CHRU Lille, France ; (2) Laboratoire de Génétique Moléculaire Médicale, INSERM UMR-925, CHU Amiens, France ; (3) Service de Médecine Interne et Endocrinologie, CH

Dunkerque, France ; (4) Clinique des Maladies de l'Appareil Digestif et de la Nutrition, CHRU Lille, France  
Contact : voicupm@yahoo.fr

Les hémochromatoses génétiques résultent de mutations dans plusieurs gènes codant des protéines impliquées dans le métabolisme du fer. Plusieurs formes de la maladie ont été décrites : l'hémochromatose classique de type 1 liée à des mutations dans le gène HFE, l'hémochromatose de type 2 ou juvénile due à des mutations dans les gènes codant soit l'hémojuvéline (type 2A) soit l'hepcidine (type 2B), l'hémochromatose de type 3 due à des mutations dans le gène codant le récepteur 2 de la transferrine (TfR2) et l'hémochromatose de type 4 liée à des mutations dans le gène SLC40A1 codant la ferroportine. De nouvelles mutations ont été mises en évidence dans les gènes HFE, TfR2 et SLC40A1 chez des patients présentant une surcharge en fer. Nous avons mis en évidence dans le gène HFE une nouvelle hétérozygotie composite p.T117N/H63D chez un patient de 40 ans d'origine italienne, présentant une fatigue accentuée à l'effort, un coefficient de saturation de la transferrine de 70 % et une ferritine de 342 ng/mL. La mutation p.T117N est située dans l'exon 3 et n'est pas retrouvée dans la population générale, sur un échantillon test de 90 individus. Nous décrivons deux nouvelles mutations du gène TfR2 : (1) la mutation p.Q672X (exon 16) à l'état homozygote provoque l'apparition prématurée d'un codon stop. Elle a été trouvée chez un homme de 40 ans présentant une forte surcharge en fer objectivée par la biologie et la biopsie hépatique. La surcharge décrite est très sévère et est associée à une fibrose septale mutilante. Par ailleurs, ce patient est hétérozygote HFE p.C282Y mais ne présente aucune mutation sur les autres gènes HJV, HAMP et SLC40A1 (2) une hétérozygotie composite associant une mutation connue p.I238M (exon 5) et une mutation nouvelle p.A45A a été retrouvée chez un patient de 49 ans d'origine africaine présentant une hyperferritinémie, une discrète surcharge hépatique en fer et aucune des 2 mutations p.C282Y et p.H63D du gène HFE. Enfin, nous rapportons une mutation nouvelle du gène SLC40A1 p.V161A à l'état hétérozygote (exon 5) chez un patient de 59 ans présentant un rhumatisme distal et une hyperferritinémie. Des études familiales et la recherche de ces anomalies dans la population générale sont en cours de réalisation afin de pouvoir affirmer ou non leur caractère pathogène. Des études fonctionnelles réalisées dans un second temps pourront confirmer les premiers résultats.

**Mots-clés :** hémochromatose HFE, TfR2, SLC40A1.

### ■P374. DÉLÉTIONS DU GÈNE HFE : CARACTÉRISATION MOLÉCULAIRE, PÉNÉTRANCE ET INTÉRÊT DIAGNOSTIQUE

G. Le Gac (1), I. Gourlaouen (1), J.-M. Chen (1), S. Quemener (1), C. Ronsin (2), V. Géromel (2), C. Férec (1)  
(1) Inserm U613, Établissement Français du Sang, Bretagne, Laboratoire de Génétique Moléculaire et d'Histocompatibilité du CHU de Brest, Université de Bretagne Occidentale, Brest, France ; (2) LCL, service de biologie moléculaire, Ivry-sur-Seine, France  
Contact : gerald.legac@univ-brest.fr

Introduction : Nous avons récemment décrit l'existence d'une délétion complète du gène HFE chez une femme de 47 ans. Bien que homozygote pour l'allèle délété, cette femme présentait un phénotype modéré de surcharge en fer [1]. La même délétion a été rapportée chez deux autres patients : une femme de 29 ans et un homme de 44 ans. Tous deux étaient homozygotes et tous deux présentaient des phénotypes sévères de surcharges en fer [2]. Les trois patients étaient d'origine sarde. Cela nous a conduit à réaliser une étude de population qui a confirmé l'existence d'un effet fondateur, et qui a également permis d'établir que la délétion du gène HFE était responsable d'une majorité de cas d'hémochromatose en Sardaigne [2]. Dans cette étude, nous rapportons l'existence d'un second type de délétion du gène HFE. Résultats : La délétion a été observée chez un homme de 60 ans, qui n'est pas d'origine sarde et chez qui une recherche de la mutation p.C282Y du gène HFE avait été prescrite en raison d'une élévation du coefficient de saturation de la transferrine (95 %). Une PCR spécifique de la délétion observée dans la population sarde a permis de révéler l'existence de points de cassures différents. Ce résultat a été confirmé par l'analyse de marqueurs du système HLA de classe I, mettant en évidence deux haplotypes, et par la mise en œuvre d'une technique de « marche sur le chromosome ». La caractérisation du second type de délétion du gène HFE n'est pas encore totalement achevée, mais il est déjà possible de souligner que les deux délétions ont été causées par des recombinaisons entre séquences Alu. Conclusions : Un parallèle peut être réalisé entre la variabilité phénotypique qui a été observée chez les patients homozygotes pour une délétion du gène HFE et celle qui est habituellement décrite pour le génotype p.C282Y/p.C282Y. Un parallèle peut également être réalisé avec les études fonctionnelles qui témoignent d'un rôle limité de la protéine HFE dans la régulation de la synthèse hépatique d'hepcidine,



au regard de l'hémojuvénine et du récepteur à la transferrine de type 2. Les mutations du gène HFE apparaissent alors comme des facteurs nécessaires mais pas suffisants pour expliquer les phénotypes les plus sévères de surcharge en fer. Les séquences de type Alu apparaissent autour du gène HFE avec une fréquence plus importante (17 %) que celle que l'on peut observer en moyenne à l'échelle du génome (5 %). Une telle situation a été rapportée pour le gène SERPINC1 qui code l'antithrombine et dans lequel plusieurs délétions ont pu être identifiées [4]. Il ne serait donc pas surprenant que d'autres délétions puissent être découvertes autour du gène HFE.

#### Références

1. Le Gac G., *et al.* Blood 2008.
2. Peluchi S., *et al.* Blood 2009.
3. Le Gac G., *et al.* Haematologica (in press).
4. Picard V., *et al.* Hum Genet 2009.

**Mots-clés :** hémochromatose, larges délétions.

#### ■P375. MOLECULAR BASIS OF ADH IN A FRENCH FAMILIAL COHORT

M. Marduel (1, 2), M. Devillers (2), A. Marques (2), M. Abifadel (2), A. Carrié (3), A. Sassolas (4), D. Erlich (2), A. Munnich (1, 2), C. Junien (2), C. Boileau (2), M. Varret (1, 2), J.P. Rabès (2), The French ADH Research Network

(1) *Université Paris-Descartes, Paris, France*; (2) *INSERM U781, Paris, France*; (3) *CHU Pitié Salpêtrière, Paris, France*; (4) *CHU Antiquaille, Lyon, France*

Contact : marie.marduel@inserm.fr

Autosomal Dominant Hypercholesterolemia (ADH) is characterized by isolated elevation of plasmatic LDL cholesterol associated with high risk of premature cardiovascular complications, that are the most important cause of morbidity and mortality in industrialized countries. Genetic factors involved in cholesterol homeostasis are multiple, but identification of genes linked to ADH have contributed to a better understanding of cholesterol metabolism. ADH was initially associated with mutations in 3 major genes: LDLR (encoding the low-density lipoprotein receptor), APOB (for the apolipoprotein B) and PCSK9 (for proprotein convertase subtilisin-kexin type 9). Over 1,000 mutations in the LDLR gene, 9 mutations in the APOB gene and 10 mutations in the PCSK9 gene have been implicated in ADH. Through the ADH French Research Network, we collected clinical, biological and molecular data from 392 French families. Mutations in the LDLR gene were identified in 286 families and are distributed as following : 46.9% missense, 17.5% nonsense, 10.3% splice, 12% frameshift, 1.7% in phase small indel and 11.6% major rearrangements. Mutations were identified in 27 families for the APOB gene and in 8 families for the PCSK9 gene. The 69 remaining families were named nonLDLR/nonAPOB/nonPCSK9 and are currently extended and analysed in order to identify other ADH genes. Thus, after the discovery of PCSK9 as the third ADH gene, our team has pursued the claim assertion that the disease is far more heterogeneous and that other ADH gene remain to be identified.

#### ■P376. PCSK9 : DE LA RECHERCHE DE MUTATIONS AU DOSAGE SÉRIQUE DANS L'HYPERCHOLESTÉROLÉMIE FAMILIALE

M. Abifadel (1, 2), J.P. Rabès (1, 3), A. Marquès (1), M. Marduelle (1), L. Tosolini (1), M. Devillers (1), M.E. Samson Bouma (1), A. Munnich (1), M. Varret (1), C. Boileau (1, 3)

(1) *Inserm U781, hôpital Necker-Enfants malades, Paris, France*; (2) *Faculté de pharmacie, université Saint-Joseph, Beyrouth, Liban*; (3) *Laboratoire de biochimie et de génétique moléculaire, Hôpital Ambroise-Paré, Boulogne, France*

Contact : marianne.abi-fadel@inserm.fr

L'hypercholestérolémie à transmission autosomique dominante touche un sujet sur 500 dans sa forme hétérozygote. Les gènes codant le récepteur des lipoprotéines de faible densité (LDLR) et son ligand l'apolipoprotéine B ont été longtemps les seuls incriminés dans cette pathologie. Nos travaux ont permis d'identifier en 2003, le troisième gène impliqué dans cette maladie : PCSK9, Proprotéine Convertase Subtilisine Kexine 9 (Abifadel *et al.* Nature Genetics, 2003). Plusieurs mutations hypercholestérolémiantes de PCSK9 (p.S127R, p.F216L, p.R218S...) entraînent un gain de fonction provoquant une diminution des taux de récepteurs des LDL en surface cellulaire. Tandis que d'autres variations sont hypocholestérolémiantes, notamment les mutations faux sens p.Y142X et p.C679X, retrouvées chez 2 % des Afro-américains et associées à une forte réduction de l'incidence des accidents cardiovasculaires. PCSK9 est une enzyme circulante qui s'active par clivage auto-catalytique avant d'être sécrétée. Ses substrats et inhibiteurs ainsi que ses différents mécanismes d'action restent à élucider. Le dosage de PCSK9 dans le sang circulant est récemment possible grâce à des méthodes immunologiques (ELISA, Enzyme-linked

immunosorbent assay). Nous avons ainsi pu mesurer la protéine PCSK9 pour la première fois dans le plasma de patients porteurs de 4 différentes mutations hypercholestérolémiantes du gène et de variations hypocholestérolémiantes. Les valeurs de PCSK9 obtenues fluctuent entre 50 et 680 ng/ml, avec des valeurs moyennes de 310 ng/ml. Bien que le nombre d'individus porteurs des mutations de PCSK9 soit minime, les valeurs obtenues pour 2 de ces mutations confirment les données obtenues dans les modèles cellulaires par des études de mutagenèse dirigée. Ceci contribue parallèlement aux études génétiques, aux modèles cellulaires et animaux que nous étudions, à une meilleure caractérisation du rôle de PCSK9 qui constitue actuellement une cible thérapeutique majeure dont l'inhibition pourrait agir en synergie avec les statines dans le traitement de l'hypercholestérolémie.

**Mots-clés :** hypercholestérolémie familiale, PCSK9, mutations.

#### ■P377. NOVEL ZMPSTE24 (FACE1) MUTATIONS IN B-TYPE MANDIBULOACRAL DYSPLASIA AND RESTRICTIVE DERMOPATHY

I. Agouti (1), V. Esteves-Vieira (1), P.S. Jouk (2), N. Elcioglu (3), P.C. Van den Akker (4), S.A. Lynch (5), C. Bennett (6), E. Hobson (7), S.A. Shalev (8), D. Mowat (9), N. Lévy (1, 10), A. De Sandre-Giovannoli (1, 10)

(1) *Laboratoire de Génétique Moléculaire, Département de Génétique Médicale, Hôpital la Timone Enfants, 264 Rue St Pierre, Marseille, France*; (2) *Génétique Médicale, Chu Michallon, Grenoble, France*; (3) *Department of Pediatric Genetics, Marmara University Hospital, Altunizade, Istanbul, Turkey*; (4) *Department of Clinical Genetics, University Medical Center Groningen, GRONINGEN, The Netherlands*; (5) *National Centre for Medical Genetics, Our Lady's Children's Hospital Crumlin, Dublin 12, Ireland*; (6) *Department of Clinical Genetics, Algernon Firth Building, Leeds General Infirmary, Great George Street, Leeds, UK*; (7) *Department of Clinical Genetics, Chapel Allerton Hospital, Chapelton Road, Leeds, UK*; (8) *The Institute for Genetics, Ha'Emek Medical Center, Afula, Israel*; (9) *Sydney Children's Hospital Randwick, Sydney, Australia*; (10) *INSERM UMR\_S910, Faculté de Médecine de Marseille, 27 Bd Jean Moulin, Marseille, France*

Contact : annachiara.desandre@ap-hm.fr

Homozygous mutations of ZMPSTE24, encoding a zinc metalloprotease specifically involved in the post-translational processing of prelamin A to mature lamin A, have been shown to cause two autosomal recessive disorders belonging to the phenotypic spectrum of systemic laminopathies : B-type Mandibuloacral Dysplasia (MAD-B) and Restrictive dermopathy (RD). Typically, ZMPSTE24 loss of function mutations lead to MAD-B, while null mutations lead to RD, respectively inducing partial or massive intracellular accumulation of toxic Prelamin A precursors. B-type MAD is characterized by mandibular hypoplasia, progressive lyses of the distal clavicles and phalanges, lipodystrophy, mottled cutaneous pigmentation and brittle and sparse hair. RD is an extremely severe genodermatosis, usually lethal in the perinatal period, characterized by a tight and rigid skin, multiple joint contractures, clavicular hypoplasia, generalized low bone density and pulmonary insufficiency generally leading to early death. We report eight novel homozygous or compound heterozygous ZMPSTE24 mutations and a novel LMNA heterozygous sequence variation observed in 7 families that were addressed to our laboratory for molecular genetic diagnosis. Among the ZMPSTE24 mutations, a three-nucleotide deletion was observed in two unrelated families affected with B type MAD; the seven other mutations, including a large deletion involving exons 9 and 10, four predicted missense mutations, one non sense and one donor splice site mutations, were observed in typical RD cases. One further case affected with RD carried the most frequent ZMPSTE24 mutation associated to this disease, i.e. a homozygous thymine insertion in exon 9. The mutations segregated following an autosomal recessive transmission pattern, as expected, in all the families. Functional analyses on lymphoblastoid or fibroblast cell lines could be carried out in some of the families, supporting the pathogenic effects of the mutations identified. Conversely, in one case of this series, the pathogenic effect of the mutation observed could not be ascertained, with obvious consequences for genetic counselling and eventual prenatal diagnosis issues.

**Mots-clés :** laminopathy, ZMPSTE24, restrictive dermopathy.

#### ■P378. RECHERCHE DE LA MUTATION RÉCURRENTÉ P.GLY608GLY CHEZ TROIS PATIENTS MAROCAINS ATTEINTS DU SYNDROME D'HUTCHINSON-GILFORD (PROGERIA)

A. Lamzouri (1), Y. Doubaj (1), I. Ratbi (1, 2), S. Chafai Elaloui (1), F.Z. Laarabi (1), A. Sefiani (1, 2)

(1) *Département de Génétique Médicale, Institut National d'Hygiène, Rabat, Maroc*; (2) *Centre de Génomique Humaine, Faculté de Médecine et de Pharmacie de Rabat, Université Mohammed V Souissi, Rabat, Maroc*  
Contact : lamzouriaf@hotmaill.com

Le syndrome d'Hutchinson-Gilford ou Progeria est une maladie génétique extrêmement rare dont la prévalence est estimée à 1 sur 8 millions. Elle est caractérisée par un vieillissement prématuré et une atteinte multisystémique sans retard mental, entraînant un décès précoce à la 1<sup>re</sup> ou 2<sup>e</sup> décennie de vie. Son mode de transmission est autosomique dominant, avec une pénétrance complète. Le gène impliqué est le LMNA localisé en 1q21.2 codant pour les protéines lamines A et C. Dans plus de 80 % des cas, il s'agit d'une substitution hétérozygote d'une seule paire de base, apparue *de novo* au niveau de l'exon 11 : c.1824C>T ; p.Gly608Gly, qui provoque la création d'un site donneur d'épissage, aboutissant à la formation d'une protéine lamine A tronquée. Celle-ci s'accumule sous forme d'un précurseur (prélamine A) dans les noyaux des cellules où elle exerce des effets délétères. Nous rapportons dans ce travail les observations de trois patients marocains, deux filles et un garçon âgés de 5 à 12 ans, suivis en consultation de génétique pour un tableau classique de Progeria. Un seul de nos patients, avait la mutation récurrente c.1824C>T ; p.Gly608Gly du gène LMNA à l'état hétérozygote. Le séquençage de la totalité de ce gène est en cours pour identifier la mutation causale chez les deux autres patients.

**Mots-clés :** Hutchinson, Gilford, LMNA, mutation.

#### ■P379. NOTRE EXPÉRIENCE DANS LE DIAGNOSTIC DES MALADIES LYSOSOMALES

B. Imessaoudene, A. Zellagui, D. Ghis, A. Boughalem, M.T. Hassen, A. Lebdiril, I. Amara, A. Berhoune  
*Laboratoire de Biochimie, CHU Mustapha, Alger, Algérie*  
*Contact : imessaoudene@hotmail.com*

Les maladies lysosomales recouvrent l'ensemble des affections métaboliques caractérisées par une accumulation pathologique de substance de réserve. Elles comprennent une cinquantaine de maladies présentant une symptomatologie avec des répercussions neurologiques graves. La structure familiale dans notre population est fortement imprégnée de consanguinité. Ceci est soutenu par le nombre important de maladies dont le diagnostic phénotypique à été posé dans notre laboratoire. Ce diagnostic phénotypique repose essentiellement sur la mise en évidence des métabolites urinaires et sanguins ainsi que sur les activités enzymatiques. Depuis plusieurs années les malades nous sont adressés par les services de pédiatrie et de neurologie de tout le pays. Dans notre bilan sur les trois dernières années nous retrouvons par ordre d'importance les maladies suivantes : Gauchers = 40 cas Leucodystrophie métagénomique = 16 cas Landau-Weiner = 14 cas Mucopolysaccharidoses = 40 cas Le diagnostic génotypique à été réalisé seulement pour quelques Gauchers. La demande était justifiée par la mise en œuvre d'un traitement substitutif. Le conseil génétique serait une finalité importante pour fournir à ces familles un indice permettant de prévenir la survenue d'autres enfants atteints.

**Mots-clés :** lysosome, maladies génétiques, enzymothérapie.

#### ■P380. ANALYSE MUTATIONNELLE DU GÈNE *HGNSAT* CHEZ 2 FAMILLES MAROCAINES ATTEINTES DU SYNDROME DE SANFILIPPO TYPE C

S. Chafai Elaloui (1), I. Cherkaoui Jaouad (1), I. Canals (2), D. Grinberg (2), L. Vilageliu (2), A. Sefiani (1, 3)

(1) *Département de génétique médicale, Institut National d'Hygiène, Rabat, Maroc ; (2) Centre de génomique humaine, Faculté de médecine et de pharmacie de Rabat, Université Mohammed V Souissi, Rabat, Maroc ; (3) Centre de génomique humaine, Faculté de médecine et de pharmacie de Rabat, Université Mohammed V Souissi, Rabat, Maroc*  
*Contact : sihamgen@yahoo.fr*

La mucopolysaccharidose de type III ou syndrome de Sanfilippo (SS) est une maladie de surcharge lysosomale, du groupe des mucopolysaccharidoses, de transmission autosomique récessive. Elle se caractérise par un retard d'apparition des traits dysmorphiques, une détérioration neuropsychique, et le décès survient vers l'âge de 20 ans. Elle est due à la présence d'héparane sulfate non dégradé en raison du déficit de l'une des quatre enzymes nécessaires à son catabolisme, définissant ainsi les types A, B, C et D. Le SS type C, est dû au déficit en Acétyl CoA : alpha-glucosaminidase-acétyltransférase, codée par le gène *HGNSAT* récemment cloné et identifié. Plusieurs mutations ont été rapportées dans ce gène, dont la mutation récurrente c.[318+1G>A;794C>A], rapportée chez deux patients marocains et un patient espagnol. Nous avons recherché chez deux familles marocaines consanguines, non apparentés ayant le SS type C cette mutation récurrente. Pour l'une des familles, le SS était associé à une puberté précoce chez les deux sœurs atteintes dans cette famille. Nous avons commencé par la recherche de la mutation récurrente c.[318+1G>A;794C>A], qui n'a été trouvée que chez une famille. Tandis que pour l'autre famille, une nouvelle mutation p.L141P jamais décrite a

été trouvée, dont les études fonctionnelles ont montré que l'enzyme ayant cette nouvelle mutation n'a aucune activité. Nous nous sommes intéressés à la causalité de la substitution c.794C>A (P265Q) dans la mutation complexe c.[318+1G>A ;794C>A]. Nous avons recherché la substitution c.794C>A chez 61 témoins marocains, parmi lesquels 2 d'entre eux l'avaient (un homozygote et un hétérozygote), ce qui correspond à 3 chromosomes sur 122. Par ailleurs des études de fonction ont montré que l'enzyme ayant cette substitution présente une activité de 96 % par rapport à l'enzyme normale, et que l'enzyme ayant la mutation complexe a une activité très diminuée. Ceci nous permet de conclure que la mutation complexe c.[318+1G>A;794C>A] serait au fait la mutation d'épissage c.318+1G>A. Ces résultats nous permettent de proposer la recherche de cette mutation récurrente en première intention chez les patients marocains ayant le syndrome de Sanfilippo type C.

**Mots-clés :** gène *HGNSAT*, nouvelle mutation, mutation récurrente.

#### ■P381. IDENTIFICATION ET CARACTÉRISATION D'UNE DÉLÉTION INTRAGÉNÉTIQUE HOMOZYGOTE DU GÈNE ALPHA-N-ACÉTYLGLUCOSAMINIDASE CHEZ UN PATIENT ATTEINT D'UNE MALADIE DE SANFILIPPO DE TYPE B (MUCOPOLYSACCHARIDOSE IIIB)

I. Maystadt (1), A. Destrée (1), P. Vannuffel (1), C. Verellen-Dumoulin (1), K.J. Champion (2), T. Wood (2), M.J. Basehore (2)

(1) *Institut de Pathologie et de Génétique, Gosselies, Belgique ; (2) Greenwood Genetic Center, Greenwood, South Carolina, USA*  
*Contact : isabelle.maystadt@ipg.be*

La maladie de Sanfilippo de type B (mucopolysaccharidose IIIB) est une maladie de transmission autosomique récessive, résultant d'une accumulation de glycosaminoglycans dans les lysosomes suite à un déficit en alpha-N-acétylglucosaminidase, une enzyme lysosomale codée par le gène *NAGLU*. La maladie est évolutive et se manifeste par un retard de développement psychomoteur apparaissant le plus souvent entre l'âge de un et quatre ans, suivi de troubles du comportement de type agressivité et agitation, et d'une détérioration progressive des fonctions neurologiques tant sur le plan moteur que cognitif. Plus de 100 mutations différentes du gène *NAGLU* ont déjà été répertoriées chez les patients atteints de la maladie de Sanfilippo, mais aucune délétion intragénétique de grande taille n'a été rapportée à ce jour. Chez une patiente de sept ans, issue de parents consanguins et présentant un phénotype classique de maladie de Sanfilippo avec déficit prouvé en alpha-N-acétylglucosaminidase, nous décrivons ici pour la première fois une délétion intragénétique de 1 146 paires de bases, emportant les exons 3 et 4 du gène *NAGLU*. Cette délétion provient vraisemblablement d'une recombinaison homologue non-allélique entre deux séquences Alu (séquence Alu-Y dans l'intron 2 et séquence Alu-Sx dans l'intron 4). Les séquences Alu ont déjà été incriminées dans la pathogénèse de plusieurs maladies génétiques humaines (hypercholestérolémie, maladie de Duchenne, maladie de Tay-Sachs,...). Cette observation confirme donc le rôle des séquences Alu dans la survenue de délétions intragénétiques. L'existence de délétions intragénétiques dans le gène *NAGLU* est une information capitale pour le conseil génétique. Il convient en effet de différencier les patients homozygotes des patients hétérozygotes composites pour une délétion intragénétique et une mutation ponctuelle du gène *NAGLU*. En cas de découverte d'une mutation apparemment homozygote, il est donc indispensable d'en tester l'origine parentale et de compléter si nécessaire le séquençage du gène par des méthodes de dosage génique.

**Mots-clés :** mucopolysaccharidose, délétion, séquence Alu.

#### ■P382. NOUVELLE MALADIE DE SURCHARGE RESSEMBLANT AU SYNDROME DE MORQUIO CHEZ DEUX FRÈRES

L. Perrin (1), O. Fenneteau (2), C. Baumann (1), M. Gérard (1), K. Mazda (3), A. Verloes (1)

(1) *Génétique clinique, Hôpital Robert-Debré, Paris, France ; (2) Laboratoire d'hématologie, Hôpital Robert-Debré, Paris, France ; (3) Chirurgie orthopédique, Hôpital Robert-Debré, Paris, France*  
*Contact : laurence.perrin@rdh.aphp.fr*

Nous rapportons le cas de deux frères issus de parents d'origine antillaise non apparentés présentant une maladie de surcharge non identifiable. Les deux enfants ont la même histoire clinique : grossesse et la naissance normale, impression de micromélie dès les premiers mois de vie, puis retard statural progressif et déformations squelettiques évoquant une maladie de Morquio. On observe une petite taille (-4DS), un tronc court, un thorax bombé avec un pectus carinatum, un cou court, une scoliose sévère, une micromélie rhizomélisque, des pieds petits et adductus ainsi qu'une hyperlaxité des petites articulations et un genu valgum. Il n'y a pas d'hépatosplénomégalie ni de dysmorphie faciale. Le périmètre crânien est normal



et l'examen neurologique sans particularité. La marche a été acquise à un âge normal mais les deux enfants ont présenté des difficultés d'apprentissage. La scoliose sévère et évolutive a nécessité une correction chirurgicale chez les deux patients à 4 et 6 ans. Les radiographies osseuses mettent en évidence une platyspondylie généralisée avec une déformation en rostre des corps vertébraux et une hypoplasie de l'odontoïde. Il existe également une dysplasie épiphysométaphysaire. L'examen ophtalmologique est sans particularité (pas de dépôts cornéens). Malgré des screenings urinaires itératifs, des traces de dermatane sulfate ont été retrouvées une seule fois, chez l'un des deux patients. Au frottis sanguin, on n'observe pas de lymphocytes vacuolés, alors que les éosinophiles présentent des granulations anormales de teintes variées et qu'il existe un renforcement des granulations azurophiles des polynucléaires (anomalie d'Alder). La biopsie de peau ne montre pas de signes de surcharge. Les dosages enzymatiques ont permis d'exclure une maladie de Morquio (N-acetylgalactosamine-6-sulfatase et beta-D-galactosidase), une maladie de Maroteaux-Lamy (arylsulfatase B), une mucopolidose (hydrolases acides), une mannosidose (beta mannosidase), une maladie de Hurler (alpha-L-iduronidase). En conclusion : ces deux enfants présentent une maladie de surcharge non classifiable, ressemblant sur le plan clinique et radiologique à la maladie de Morquio. Le déficit enzymatique causal n'est pas identifié à ce jour.

**Mots-clés :** morquio, maladie de surcharge.

### ■P383. CARACTÉRISATION MOLÉCULAIRE DE LA MALADIE DE SANFILIPPO CHEZ DES PATIENTS TUNISIENS

S. Ouesleti (1, 4), H. Ben Turkia (2), H. Dranguet (3), P. Saugier-veber (3), A. Miled (1), N. Miladi (4), S. Bekri (3)

(1) Laboratoire de Biochimie de l'Hôpital Farhat Hached, Sousse, Tunisie ; (2) Service de pédiatrie de la Rabta, Tunis, Tunisie ; (3) Fédération de Génétique-CHU de Rouen, France ; (4) Unité de recherche des Maladies Neurologiques de L'Enfant, Faculté de Médecine de Tunis, Tunisie

Contact : Soumeia.Bekri@chu-rouen.fr

La mucopolysaccharidose de type III (MPS III) ou maladie de Sanfilippo est une maladie lysosomale caractérisée par le déficit d'une des 4 enzymes intervenant dans le catabolisme de l'héparane sulfate : héparane sulfamidase-type IIIA, alpha-N-acétylglucosaminidase-type IIIB, acétyl-CoA:alpha-glucosaminide-N-acétyltransférase-type IIIC, et N-acétylglucosamine-6-sulfate sulfatase-type IIID. Les manifestations cliniques sont dominées par un retard mental et une atteinte du système nerveux central. Cette pathologie est sous-diagnostiquée car l'atteinte viscérale est généralement mineure et la dysmorphie faciale reste modérée. Le pronostic sévère est lié à la détérioration neurologique. Cette étude a porté sur la caractérisation clinique et moléculaire de 9 familles tunisiennes ayant une maladie de Sanfilippo (10 cas index et 22 apparentés). Une recherche de mutations par séquençage direct des exons, jonctions intron-exon et de la région promotrice a été effectuée pour les gènes SGSH (MPS IIIA), NAGLU (MPS IIIB) et HGSNAT (MPS IIIC). Le gène SGSH a été étudié dans 4 familles MPS IIIA, 6 mutations ont été identifiées dont 4 non répertoriées. Le génotypage de NAGLU dans 3 familles MPS IIIB a conduit à la caractérisation de 2 mutations non décrites précédemment. Le séquençage de HGSNAT dans 2 familles MPS IIIC a mis en évidence la présence de 2 nouvelles mutations. Le taux de consanguinité très élevé en Tunisie laisserait supposer une prévalence plus élevée dans cette population. La caractérisation moléculaire de la maladie de Sanfilippo est un préalable à l'optimisation de nouvelles perspectives thérapeutiques de type molécules chaperonnes et permet de proposer un diagnostic anténatal le cas échéant.

### ■P384. LA MALADIE DE GAUCHER EN TUNISIE À PROPOS DE HUIT CAS ADULTES

F. Ben Rhouma (1, 2), H. Ben Turkia (3), W. Cherif (1, 3), N. Tebib (3), H. Azzouz (3), S. Mseddi (4), M.F. Ben Dridi (3), S. Abdelhak (1)

(1) Unité SP 26/04 d'Exploration Moléculaire des Maladies Orphelines d'Origine Génétique, Institut Pasteur de Tunis, Tunisie ; (2) Unité 05/UR/08-02 des maladies neurologiques de l'enfant, Faculté de Médecine de Tunis, Tunisie ; (3) Unité 25/04 de Dépistage et de Prise en charge des Maladies Héritaires du Métabolisme, Service de Pédiatrie du CHU la Rabta Tunis, Tunisie ; (4) Service et Laboratoire d'Hématologie du CHU Hédi Chaker de Sfax, Tunisie

Contact : benrhouma\_faten@yahoo.fr

La maladie de Gaucher est la maladie de surcharge lysosomale la plus fréquente. De transmission autosomique récessive, elle est due à un déficit enzymatique en beta-glucocérébrosidase qui entraîne l'accumulation pathologique du substrat (le glucosylcéramide) dans les lysosomes des macrophages. Cette surcharge est responsable des manifestations cliniques de l'affection. Elle est caractérisée par une hétérogénéité phénotypique

considérable. Elle est subdivisée en trois types (Type 1 : MIM 230800 ; Type 2 : MIM 230900 ; Type 3 : MIM 231000) classés selon l'absence ou la présence de manifestations neurologiques. De plus, elle présente une très grande hétérogénéité génétique. Plus de 200 mutations touchant le gène GBA codant pour cette enzyme ont été identifiées. Certaines mutations surviennent par des mécanismes de recombinaison entre le gène GBA et son pseudogène psGBA. La proximité de ces deux derniers complique l'analyse génotypique et interfère dans le dépistage de quelques mutations dans ce gène. Dans le présent travail, nous avons cherché trois mutations récurrentes (N370S, L444P et RecNciI) chez huit patients adultes tunisiens atteints de la maladie de Gaucher. Le dépistage de ces mutations a été réalisé par la méthode de PCR/RFLP puis confirmé par séquençage. Les résultats ont révélé que 5 patients sont homozygotes N370S/N370S ; un seul patient hétérozygote N370S/RecNciI et deux patients hétérozygotes N370S/L444P. À travers notre étude nous avons remarqué une homogénéité du spectre mutationnel de la maladie de Gaucher chez les patients adultes dans la population Tunisienne ; ce qui fournit un outil de diagnostic moléculaire très important. De plus, nous avons trouvé qu'un des patients explorés a développé la maladie de Parkinson. Sachant qu'il est le seul qui porte la mutation RecNciI, une hypothèse peut être évoquée sur l'association de cette mutation avec l'apparition de la maladie de Parkinson chez les patients adultes tunisiens atteints de la maladie de Gaucher.

**Mots-clés :** maladie de Gaucher, gène GBA, beta-glucocérébrosidase.

### ■P385. MALADIE DE SAN FILIPPO : CAS CLINIQUE D'UNE FAMILLE MAROCAINE

H. Dehbi (1), H. Hjiç (2), S. Nassereddine (1), S. Nadifi (1), G. Benjalloun (2)

(1) Laboratoire de Génétique Médicale, Faculté de Médecine et de Pharmacie de Casablanca, Maroc ; (2) Unité de pédopsychiatrie, hôpital des enfants, CHU Ibn Rochd, Casablanca, Maroc

Contact : hind500@yahoo.fr

La maladie de San Filippo ou la mucopolysaccharidose (MPS) de type III est une maladie de surcharge lysosomale caractérisée par un défaut de dégradation de l'héparane sulfate (HS) suite à un déficit enzymatique. Sa prévalence est variable car elle est souvent sous-diagnostiquée, mais elle reste plus fréquente en Europe qu'en Afrique. Cette pathologie autosomale récessive est caractérisée par une dégradation intellectuelle sévère et rapide. Nous rapportons dans ce travail l'observation clinique d'une famille marocaine atteinte de cette encéphalopathie métabolique. Il s'agit de deux frères âgés respectivement de 5 ans et 16 ans, issus de parents consanguins, et qui présentent un retard global de développement. L'examen clinique retrouve chez les deux garçons une dysmorphie faciale légère avec déformation des membres inférieurs en genu valgum et pieds bots varus, l'évaluation pédopsychiatrique retrouve un retard mental avec trouble de la compréhension. Le benjamin présente en plus, un retard de langage et des acquisitions psychomotrices avec troubles du comportement et instabilité, sans agressivité ni crises épileptiques associées. Par contre, le frère aîné présente une forme plus atténuée, il est autonome et scolarisé dans une école spécialisée, et sa symptomatologie se limite à un bégaiement. La pathologie a été confirmée par le dosage élevé de l'HS dans les urines. Le dosage dans les leucocytes des quatre enzymes impliquées est en cours de réalisation, il permettra de préciser le sous type et d'orienter le conseil génétique. La recherche des mutations ne pourra être réalisée qu'après la détermination du sous type. L'évolution a été marquée par une amélioration nettement positive du langage et du comportement après une année de suivi médical, de rééducations intensives, et de prise en charge en psychothérapie.

**Mots-clés :** mucopolysaccharidose type III, héparane sulfate, déficience intellectuelle.

### ■P386. CARACTÉRISATION MOLÉCULAIRE DES GLYCOGÉNOSES HÉPATIQUES PAR DÉFICIT EN PHOSPHORYLASE (TYPE VI) ET PHOSPHORYLASE KINASE (TYPE VIII)

A. Spraul (1), D. Dobbelaere (2), D. Habes (3), V. Valayannopoulos (4), P. Labrune (5), O. Bernard (3), E. Jacquemin (3), C. Baussan (1)

(1) Laboratoire de Biochimie, CHU Bicêtre, APHP, France ; (2) Centre de Référence des Maladies Héritaires du Métabolisme, CHU Lille, France ; (3) Service d'Hépatologie Pédiatrique et Centre de Référence des Maladies Rares, CHU Bicêtre, APHP, France ; (4) Centre de Référence des Maladies Métaboliques, CHU Necker, APHP, France ; (5) Centre de Référence des Maladies Héritaires du Métabolisme Hépatique, CHU Antoine-Béclère, APHP, France

Contact : anne.spraul@bct.aphp.fr

Les glycogénoses de type VI (GSDVI) et de type VIII (GSDVIII) sont la conséquence d'un dysfonctionnement du système de la phosphorylase



(PHase) hépatique qui catalyse la première étape de la dégradation du glycogène. Ces maladies génétiques sont liées soit à un déficit en PHase hépatique (gène PYGL), soit à un déficit en phosphorylase kinase (PHK), complexe multienzymatique activant la PHase et formé par l'association de plusieurs sous-unités, dont les sous-unités alpha et gamma respectivement codées par les gènes PHKA2 et PHKG2. Les déficits en PYGL et PHKG2 sont transmis selon un mode autosomique récessif, le déficit en PHKA2 est lié au chromosome X (XLG). L'orientation initiale est clinico-biologique : hépatomégalie, cytolysse, retard de croissance, bonne tolérance au jeûne. Le diagnostic enzymatique direct peut être effectué sur cellules sanguines mais n'est pas toujours informatif du fait d'une activité résiduelle de la PHase ou d'une expression incomplète du déficit en PHK « variants XLG2 ». Le diagnostic nécessite alors de faire une biopsie hépatique pour mesurer l'activité enzymatique hépatique. La recherche de mutation représente maintenant une alternative pour confirmer le diagnostic et éviter un geste invasif. Cette étude rapporte la caractérisation moléculaire de 20 patients atteints de GSDVI ou GSDVIII après orientation du déficit enzymatique sur cellules sanguines. Patients et Méthodes : Le séquençage du gène PYGL a été réalisé chez les enfants suspects de GSDVI. Chez les garçons atteints de GSDVIII modérée, l'étude du gène PHKA2 a été réalisé d'emblée. Par contre, chez les filles et les garçons avec un phénotype sévère, le gène PHKG2 a été séquencé en première intention. Résultats : Un déficit enzymatique en PHase, plus ou moins prononcé, sans défaut d'activation de la PHase, a été retrouvé chez 8 patients. L'étude moléculaire du gène PYGL a permis de confirmer le diagnostic de GSDVI et d'identifier 10 nouvelles mutations et 2 décrites. Ces mutations étaient homozygotes ou hétérozygotes composites. Chez les 12 autres patients, la diminution de l'activité PHase était associée à un défaut d'activation et à une diminution de l'activité PHK sur cellules sanguines, excepté chez 3 patients présentant uniquement un défaut d'activation « variants XLG2 ». L'étude du gène PHKA2 a révélé des mutations hémizygotiques chez 10 garçons avec des mutations faux sens chez les 3 « variants XLG2 ». L'analyse du gène PHKG2, réalisée chez les 2 autres enfants a retrouvé une délétion homozygote chez le garçon mais aucune mutation chez la fille. Conclusion : La sélection des patients atteints de GSDVI ou GSDVIII par l'étude enzymatique sur cellules sanguines permet d'orienter le choix du gène à séquencer. L'étude moléculaire a confirmé le diagnostic dans la quasi totalité des cas et suggère que l'on peut surseoir à la biopsie hépatique si l'étude enzymatique sur cellules sanguines n'est pas informative.

**Mots-clés :** PYGL, PHKA2, PHKG2.

#### ■P387. DESCRIPTION MOLÉCULAIRE DES MUTATIONS DANS PGM1 RESPONSABLES DE LA GLYCOGÉNOSE DE TYPE XIV

L. Capel (1), T. Stojkovic (2), M. Piraud (3), F. Parisot (1), P. Laforêt (2), F. Petit (1)

(1) Service de biochimie et hormonologie, unité de génétique, Hôpital Antoine-Béclère (APHP), Clamart, France ; (2) Service de neurologie et maladies musculaires, Institut de myologie, Groupe hospitalier Pitié-Salpêtrière (APHP), Paris, France ; (3) Service des maladies métaboliques, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France  
Contact : francois.petit@abc.aphp.fr

Introduction. Les glycogénoses sont des pathologies rares touchant les enzymes du métabolisme du glycogène et, par extension, des enzymes du métabolisme des produits de dégradation du glycogène. Ces affections ont des répercussions hépatiques et/ou musculaires pouvant être à l'origine d'une maladie métabolique potentiellement létale et/ou d'une maladie musculaire pouvant être responsable de myopathie. Matériels et méthodes. Nous rapportons ici le cas d'un patient présentant un déficit musculaire modéré se caractérisant principalement par une intolérance à l'effort (crampes musculaires) avec des signes de rhabdomyolyse. L'étude biochimique de la cascade enzymatique de la glycogénolyse a mis en évidence un déficit en activité phosphoglucomutase. Le but de ce travail était de caractériser sur le plan moléculaire le déficit en phosphoglucomutase. Il existe 4 gènes codant une protéine à activité phosphoglucomutase mais une analyse des profils d'expression nous a orienté vers l'étude du gène de la phosphoglucomutase de type I (PGM1). Les ADN du patient et de ses parents ont été extraits à partir des leucocytes circulants. Les 12 exons du gène PGM1 (exo 1A de la protéine PGM1 commune et exon 1B de la protéine PGM1 musculaire) ont été amplifiés, séquencés et comparés à la séquence de référence (Genbank accession BC019920). Résultats. L'analyse de la séquence du gène PGM1 chez notre patient a permis de mettre en évidence deux anomalies de séquence en trans : - la mutation c.343A>G d'origine paternelle responsable de la modification de séquence peptidique p.Thr115Ala dans l'exon 2 (acide aminé hautement conservé), - la mutation c.1145-1G>C d'origine maternelle dans le site donneur d'épissage de l'intron 7-8. La mutation c.343A>G a été recherchée dans une population de 64 témoins adultes sains et n'a pas été retrouvée. Le polymorphisme c.262A>G (p.Ile88Val) a

également été retrouvé chez le patient (rs855314). Discussion - conclusion. Il s'agit de la première description d'une anomalie moléculaire à l'origine d'un déficit en activité phosphoglucomutase responsable d'une atteinte musculaire modérée. Il a été proposé de classer ce déficit comme la glycogénose de type XIV. Il est probable que d'autres anomalies seront décrites dans ce gène en étudiant des patients présentant des signes cliniques similaires et jusque là peu ou pas explorés sur le plan moléculaire.

**Mots-clés :** phosphoglucomutase, glycogénose

#### ■P388. FACTEURS GÉNÉTIQUES DE L'HYPERBILIRUBINÉMIE NON-CONJUGUÉE EN PÉRIODE NÉONATALE

E. Brisselet (1), M. Hébert (1), L. Capel (1), F. Parisot (1), C. Poüs (1), P. Labrune (2), F. Petit (1)

(1) Service de biochimie et hormonologie, unité de génétique, Hôpital Antoine-Béclère (APHP), Clamart, France ; (2) Service de pédiatrie, Centre de référence maladies héréditaires du métabolisme hépatique, Université Paris Sud, INSERM U 948, Hôpital Antoine-Béclère (APHP), Clamart, France

Contact : francois.petit@abc.aphp.fr

L'hyperbilirubinémie non-conjuguée est une situation fréquente en période néonatale, en particulier en cas de prématurité. Souvent bénigne, l'hyperbilirubinémie peut cependant, dans certains cas, atteindre des concentrations dépassant les 250 µmol/L pouvant être à l'origine d'une atteinte neurologique et nécessitant une prise en charge rapide et efficace alliant photothérapie et parfois exsanguinotransfusion. En dehors des cas d'hyper-hémolyse, les causes sont souvent mal identifiées. Le but de cette étude était de déterminer si la démarche biologique consistant en l'analyse du promoteur du gène UGT1A1 était nécessaire et suffisante pour répondre à la demande clinique de diagnostic étiologique de l'hyperbilirubinémie en période néonatale. 103 nouveau-nés à terme ayant présenté une hyperbilirubinémie non-conjuguée avec des concentrations en bilirubine comprises entre 85 et 277 µmol/L ont été inclus. Les données moléculaires obtenues ont été comparées avec celles obtenues chez 64 témoins sains adultes. Nous avons étudié les polymorphismes et séquences suivantes : le polymorphisme A(TA)6TAA/A(TA)7TAA du promoteur du gène UGT1A1 (TATAbox), la séquence des 5 exons du gène UGT1A1 (exons 1, 2, 3, 4 et 5), le polymorphisme c.-3275T>G de la séquence de liaison du phénobarbital en amont du gène UGT1A1 (PBREM), deux polymorphismes c.388A>G et c.521T>C dans le gène du canal OATP2 (OATP2 ex4 et OATP2 ex5), le polymorphisme (GT)<sub>n</sub> de la séquence promotrice du gène de l'hème-oxygénase 1 (HOX1). Concernant les deux polymorphismes du canal OATP2 et le polymorphisme de la séquence promotrice du gène HOX1, aucune différence significative n'a été mise en évidence entre les deux groupes. Concernant le polymorphisme de la TATAbox, il existe une réduction significative de la fréquence de l'allèle A(TA)7TAA homozygote dans la population des patients par rapport au groupe des témoins. Concernant le polymorphisme du PBREM, nous avons observé chez les témoins un lien d'exclusion entre l'allèle A(TA)7TAA de la TATAbox et l'allèle G. En revanche, il a été mis en évidence chez les patients une augmentation significative des associations A(TA)6TAA et allèle T et A(TA)7TAA et allèle G. Sur les 103 patients, une anomalie génétique dans le gène UGT1A1 pouvant être à l'origine de l'hyperbilirubinémie n'a été retrouvée que pour 52 cas. Ces résultats montrent que l'étude limitée au promoteur du gène UGT1A1 ne permet pas d'apporter une réponse suffisante en matière de diagnostic étiologique. De plus, ces résultats suggèrent une absence d'implication dans le phénotype hyperbilirubinémie néonatale des gènes OATP2 et de l'hème-oxygénase 1. Le PBREM semble être un polymorphisme influant mais son rôle doit encore être évalué sur une population plus importante. D'autres facteurs, comme par exemple l'allaitement maternel, ont probablement une implication plus importante que les aspects moléculaires dans l'origine des icteres en période néonatale.

**Mots-clés :** hyperbilirubinémie, UGT1A1.

#### ■P389. MISE AU POINT DE LA QMPSF DANS LE DIAGNOSTIC MOLÉCULAIRE RÉFRACTAIRE DE LA GLYCOGÉNOSE DE TYPE IA

F. Parisot (1), A. Hubert-Buron (1, 2), L. Capel (1), P. Saugier-Weber (3), P. Labrune (2), F. Petit (1)

(1) Service de biochimie et hormonologie, unité de génétique, Hôpital Antoine-Béclère (APHP), Clamart, France ; (2) Service de pédiatrie, Centre de référence maladies héréditaires du métabolisme hépatique, Université Paris Sud, INSERM U 948, Hôpital Antoine-Béclère (APHP), Clamart, France ; (3) Service de génétique, Hôpital Charles Nicolle, Rouen, France

Contact : francois.petit@abc.aphp.fr

Introduction. La glycogénose de type Ia (GSDIa) ou maladie de Von Gierke est une affection rare (1 naissance sur 100 000) du métabolisme du

glycogène liée à un déficit en glucose-6-phosphatase. Elle se manifeste dès les premiers jours de vie par une intolérance au jeûne pouvant être à l'origine d'hypoglycémies graves. Elle est également caractérisée par des perturbations du métabolisme des lipides avec notamment une hypertriglycéridémie, une hépatomégalie majeure avec un risque d'adénomes hépatiques pouvant dégénérer. De nombreuses anomalies de séquence dans le gène G6PC ont été rapportées chez les patients présentant une GSDIa, la plus fréquente dans la population caucasienne étant la p.Arg83Cys. Cependant, quelques patients dont le diagnostic de GSDIa a été confirmé par enzymologie sur biopsie hépatique restent réfractaires au diagnostic moléculaire utilisant le séquençage systématique des 5 exons du gène G6PC. Le but de cette étude était de mettre en place la QMPSF (quantitative multiplex PCR of short fragments) dans le cadre du diagnostic de la GSDIa pour rechercher des délétions ne pouvant être mises en évidence par des méthodes de PCR classiques. Matériels et méthodes. La mise au point de la QMPSF pour le gène G6PC a été réalisée sur des témoins adultes sains et sur 10 patients présentant une GSDIa réfractaire au séquençage systématique des 5 exons. La PCR multiplex a été réalisée à partir de 75 ng d'ADN en utilisant des amorces marquées au 6-FAM. Les amplicons couvraient soit une partie de l'exon soit une des jonctions intron-exon selon la taille des exons. Les amplicons ont été purifiés et séparés sur l'analyseur de fragments ABI Prism 3130 (Applied Biosystems). Les fragments d'intérêt ont été repérés grâce au marqueur de taille GS500ROX (Applied Biosystems). Discussion – conclusion. La QMPSF permet un screening rapide de larges délétions génomiques, constituant une alternative à la PCR quantitative. Son application au gène G6PC permettra d'évaluer la fréquence des grandes délétions dans ce gène et ainsi d'apporter une réponse complémentaire aux patients et aux familles pour lesquelles le diagnostic moléculaire classique n'est pas complet.

**Mots-clés :** QMPSF, glycogénose Ia.

### ■P390. VICTOIRES ET IMPASSES DU DIAGNOSTIC PHÉNOTYPIQUE DE CERTAINES MALADIES GÉNÉTIQUES : À PROPOS DE 12 CAS DE TYROSINÉMIE HÉRÉDITAIRE

L. Yargui, D.J. Ghriess, H. Benghezal, A. Berhoune  
Laboratoire Central de Biochimie, CHU Mustapha, Alger, Algérie  
Contact : lycebiochem@yahoo.fr

Les erreurs innées du métabolisme des acides aminées sont une pathologie souvent rencontrée dans notre population. C'est ainsi que depuis plusieurs décennies, nous avons eu à répondre à plusieurs demandes de diagnostic de maladies génétiques et en particulier le syndrome d'hypertyrosinémie. Nous avons alors mis en pratique un screening basé sur des réactions simples de mise en évidence de l'accumulation des métabolites urinaires de la tyrosine ainsi que la mesure plasmatique de cet acide aminé aromatique. Sur un total de 657 enfants examinés, âgés de 2 à 14 mois, le diagnostic de tyrosinémie héréditaire (TH) a été retenu chez 12 malades. Seul le diagnostic phénotypique basé sur des réactions d'orientation simples et la détermination quantitative de la tyrosine ont été utilisés. Au regard des signes d'appel et de la symptomatologie clinique présentés par ces nourrissons, la forme hépatorénale (TH type 1) a été retenue. Le typage par la mesure du succinylacétone urinaire et l'évaluation de l'activité enzymatique tissulaire déficitaire n'ont pu être effectués faute de moyens techniques plus élaborés. Nous développerons, les forces des tests biochimiques simples pratiqués et leurs limites à défaut du diagnostic moléculaire non encore réalisable dans notre laboratoire.

**Mots-clés :** hypertyrosinémie, diagnostic phénotypique, aminoacidopathie.

### ■P391. HYPERGLYCINÉMIE SANS CÉTOSE : ÉTUDE RÉTROSPECTIVE DE 218 PATIENTS

C. Acquaviva, S. Boyer, P. Clerc-Renaud, C. Vianey-Saban  
Service Maladies Héréditaires du Métabolisme et Dépistage Néonatal, Centre de Biologie et de Pathologie Est, CHU Lyon, France  
Contact : cecile.acquaviva-bourdain@chu-lyon.fr

L'hyperglycinémie sans cétose (NKH) est une anomalie héréditaire du métabolisme de la glycine, transmise selon un mode autosomique récessif. Elle est la conséquence d'un déficit du système de clivage de la glycine (SCG), complexe enzymatique mitochondrial composé de 4 protéines : protéine P, T, H et L, codées respectivement par les gènes GLDC, AMT, GCSH et DLD. Chez tous les patients décrits dans la littérature, le déficit enzymatique résulte de mutations dans les gènes GLDC ou AMT, à l'exception de 3, atteints d'une forme transitoire de NKH, pour lesquels des anomalies du gène GCSH ont été rapportées. La protéine L étant commune à d'autres systèmes multienzymatiques, la présentation clinique de ce déficit est différente de celle des patients atteints de NKH. Depuis 1986, nous avons étudié 218 patients (issus de 214 familles, d'origine caucasienne pour la majorité)

atteints de NKH par mesure de l'activité du SCG et/ou étude des gènes AMT et GLDC. Les symptômes (hypotonie et convulsions) sont apparus au cours de la 1<sup>re</sup> semaine de vie pour la majorité des patients (84 %). Seuls 5 % ont développé des signes cliniques (retard psychomoteur) après l'âge de 10 mois. Le pronostic est sévère : 48 % des patients décèdent avant l'âge de 1 mois et seulement 10 % sont en vie à 5 ans. La chromatographie des acides aminés dans le plasma et le LCR permet d'orienter le diagnostic. Les concentrations de glycine dans le plasma varient de 177 à 3 785  $\mu\text{mol/L}$  (médiane 1 125-valeurs usuelles < 240), dans le LCR de 16 à 702  $\mu\text{mol/L}$  (médiane 179-valeurs usuelles < 10) et le ratio LCR/plasma est compris entre 0,03 et 0,61 (médiane 0,16-valeurs usuelles < 0,04). Pour 5 patients, le ratio LCR/plasma est normal mais tous présentent une concentration de glycine plasmatique supérieure à 624  $\mu\text{mol/L}$ . Le diagnostic de NKH a été confirmé par la mesure de l'activité du système de clivage de la glycine dans le foie (45 % des patients), par étude des gènes AMT et/ou GLDC (20 %) ou par les deux techniques (35 %). L'activité du SCG varie de 0 à 70 % des témoins (valeur médiane 2 %), 85 % des patients ayant une activité résiduelle inférieure à 15 %. L'analyse moléculaire a été réalisée pour tous les patients avec une activité résiduelle supérieure à 30 % (n = 9). Pour 117 familles, le génotype a été établi : 35 % des mutations ont été identifiées dans le gène AMT (35 mutations différentes dont 32 nouvelles et 1 mutation majoritaire, p.Arg320His concernant 23 % des allèles) et 65 % dans le gène GLDC (95 mutations différentes dont 50 nouvelles). Quarante vingt dix neuf familles ont bénéficié d'un diagnostic prénatal (194 au total) par technique enzymatique ou moléculaire. Cependant, une activité normale du SCG dans le tissu trophoblastique a été mesurée chez 3 fœtus atteints. Il est donc indispensable de coupler l'étude génétique à la mesure de l'activité enzymatique chez tous les nouveaux patients diagnostiqués afin de proposer aux familles un diagnostic prénatal fiable par étude génétique.

**Mots-clés :** hyperglycinémie sans cétose, gène GLDC, gène AMT.

### ■P392. DÉVELOPPEMENT D'UN OUTIL BIOINFORMATIQUE (HPRED) DÉDIÉ À LA PRÉDICTION DES CONSÉQUENCES DES MUTATIONS DU GÈNE DE L'HYPOPHOSPHATASIE POUR L'AIDE AU DIAGNOSTIC ET AU CONSEIL GÉNÉTIQUE

H. Countouris (1), D. Fauvert (1, 2), A. Taillandier (1), I. Brun-Heath (2), P. De Mazancourt (2), E. Mornet (1, 2)  
(1) Laboratoire SESEP, Centre Hospitalier de Versailles, Le Chesnay, France ; (2) EA2493, Université de Versailles Saint-Quentin en Yvelines, Versailles, France  
Contact : emornet@labosese.fr

Un nombre croissant de travaux est consacré à la construction de modèles in silico permettant de prédire les conséquences des variations de séquence au niveau de l'ADN. Ces outils sont essentiellement basés sur l'alignement multiple de séquences entre différentes espèces, sur les caractéristiques physico-chimiques des acides aminés composant la protéine et/ou, sur l'altération de structures à partir de modèles tridimensionnels. Bien que ces outils soient de plus en plus utilisés, leurs résultats de prédiction sont souvent discordants. De plus, ces outils étant destinés à l'étude de tout gène, ils ne prennent pas en compte certaines spécificités déterminées par des données expérimentales. Nous avons développé HPRED, un outil prédictif de la sévérité des mutations du gène de la phosphatase alcaline tissu non spécifique (ALPL ; MIM 171760) responsables de l'hypophosphatase, maladie héréditaire rare caractérisée par un défaut de minéralisation osseuse et dentaire. Pour ce faire nous avons généré systématiquement toutes les mutations possibles pour tous les acides aminés de la protéine. Le serveur HPRED joue d'une part le rôle d'un métamoteur capable d'afficher les scores de sévérité donnés par trois des principaux serveurs existants (SIFT, PMUT, POLYPHEN), et d'autre part d'un outil prédictif produisant un score de sévérité propre aux résultats expérimentaux obtenus au laboratoire (score SESEP). Ces derniers sont issus d'expériences de mutagenèse dirigée qui ont permis de définir des points chauds pour l'effet dominant négatif, et de l'étude des domaines fonctionnels basés sur le modèle tridimensionnel de la phosphatase alcaline. L'outil intègre également le programme de prédiction ESEfinder 3.0 pour l'identification de sites potentiellement activateurs d'épissage. Pour chaque mutation soumise par l'utilisateur, un traitement statistique des 4 scores obtenus (SIFT, PMUT, POLYPHEN et SESEP) est réalisé afin de générer un score global et unique. Afin de valider le modèle nous avons testé 67 mutations fausses du gène ALPL préalablement identifiées et pour lesquelles le degré de sévérité était déterminé avec certitude. Le taux de discordance entre les trois serveurs SIFT, PMUT et POLYPHEN était de 46,3 %. Le taux d'assignements corrects était de 68,6 % pour SIFT, 55 % pour PMUT, 80,5 % pour POLYPHEN et 89,8 % pour le serveur HPRED. En conclusion, HPRED propose un service en ligne comprenant l'analyse de mutations et/ou polymorphismes selon les coordonnées génomiques, protéiques ou

ADNc et fournit en sortie les scores prédictifs de SIFT, PMUT, POLYPHEN et SESEP, le score prédictif global, un ensemble d'informations répertoriées dans les bases de données NCBI, ENSEMBL et Applied Biosystems, et la localisation du résidu muté sur le modèle tridimensionnel. L'adresse du serveur HPRED est : [http://www.sesep.uvsq.fr/03\\_hypo\\_00\\_hpred\\_form.php](http://www.sesep.uvsq.fr/03_hypo_00_hpred_form.php)

**Mots-clés :** modèle prédictif, mutation, hypophosphatase.

**■P393. PREMIÈRE OBSERVATION D'UN SYNDROME DE GÈNES CONTIGUS IMPLIQUANT UN GÈNE DU COMPLEXE PYRUVATE DÉSHYDROGÉNASE**

A. Boutron (1), C. Thauvin-Robinet (2), C. Altuzarra (3), O. Dulac (4), P. Callier (2), F. Mugneret (2), M. Brivet (1)

(1) *Laboratoire de Biochimie, AP-HP Hôpital de Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre, France ; (2) Génétique, Hôpital d'Enfants de Dijon, France ; (3) Pédiatrie, CHU de Besançon, France ; (4) Neuropédiatrie, AP-HP hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France*

Contact : [michele.brivet@bct.aphp.fr](mailto:michele.brivet@bct.aphp.fr)

Le déficit en pyruvate deshydrogénase (PDH) atteint le métabolisme énergétique en provoquant des encéphalopathies dégénératives. Une dizaine de cas de déficits en PDH sont diagnostiqués par an en France, surtout dus à une anomalie du gène PDHA1 (Xp22.1) codant la sous-unité E1alpha. Nous avons identifié une délétion complète du gène PDHA1, hétérozygote, chez une jeune fille de 18 ans, confirmée par hybridation génomique *in situ* (FISH) et hybridation génomique comparative (CGH-array). Cette dernière a révélé qu'il s'agissait en fait d'un syndrome de gènes contigus impliquant 19 gènes. Cas clinique : La patiente a présenté des symptômes évocateurs d'un déficit en PDH dès son 8<sup>e</sup> jour (mauvaise prise de poids, dilatation des ventricules cérébraux, augmentation du lactate et du pyruvate dans le sang et le LCR avec rapports L/P normaux). Un traitement par régime cétogène et thiamine a corrigé les anomalies biologiques mais n'a pas empêché la survenue d'un retard de développement. L'état clinique s'est ensuite progressivement détérioré (comportement psychotique, dystonie, syndrome de West) malgré le traitement. L'activité PDH était normale dans les lymphocytes mais abaissée dans les fibroblastes, avec diminution de la sous-unité E1alpha en Western-blot, justifiant la recherche d'anomalies du gène PDHA1. Matériel et Méthodes : Le gène PDHA1 a été amplifié par PCR longue (PCRL) entre le promoteur et l'extrémité 3' UTR du gène puis séquencé au niveau du promoteur et de chaque exon. Un dosage génique des extrémités du gène a été réalisé par qPCR de 2 fragments d'ADN chevauchant les amorces de PCRL. Une délétion du chromosome X a aussi été recherchée, à l'aide de sondes FISH. Les bornes de la délétion ont été déterminées à l'aide d'une puce à oligo nucléotides 244k Agilent. Résultats : le séquençage du promoteur de PDHA1 a révélé la présence d'un changement de base, apparemment homozygote, pouvant refléter l'existence d'une grande délétion hétérozygote ; la qPCR a montré qu'il n'existait qu'une seule copie du gène dans les régions 5'UTR et 3'UTR du gène. La FISH et la CGH-array ont confirmé l'existence d'une délétion interstitielle en Xp22.12 de 3,4 Mb (16,42-19,81 Mb), emportant 19 gènes allant de CPTS2 à SH3KBP autour de PDHA1. Discussion : Le tableau clinique de notre patiente n'intègre pas tous signes que l'on pourrait attendre à la suite de la perte de 19 gènes contigus du chromosome X ; Il semble plutôt à rapporter au seul déficit en PDH, mis à part l'épilepsie résistante qui pourrait aussi être associée au gène CDKL5. Cette situation s'explique probablement par un biais d'inactivation du chromosome X favorable. Il est à noter que cette patiente est issue d'une grossesse gémellaire monochoriale monoamniotique. Sa sœur jumelle est décédée précocement au 8<sup>e</sup>me jour, dans un tableau évoquant aussi un déficit en PDH, ce qui peut suggérer qu'il existait une asymétrie d'inactivation du chromosome X, différente entre les 2 jumelles.

**Mots-clés :** PDH, grande deletion, gènes contigus.

**■P394. LA SÉVÉRITÉ CLINIQUE DES ENCÉPHALOMYOPATHIES SECONDAIRES À DES MUTATIONS DU GÈNE SUGL1 SERAIT CORRÉLÉE À LA DIMINUTION D'EXPRESSION DE LA PROTÉINE**

C. Rouzier (1, 2), S. Tuffery-Giraud (3), K. Fragaki (1, 2), V. Serre (4), J. Miro (3), S. Leguedard (3), A. Chaussonot (1), S. Bannwarth (1, 2), C. Caruba (5), E. Ostergaard (6), J.F. Pellissier (7), C. Richelme (8), C. Espil (9), B. Chabrol (10), V. Paquis-Flucklinger (1, 2)

(1) *Service de génétique médicale, Hôpital Archet 2, CHU de Nice, France ; (2) IGMRC, FRE CNRS/UNSA 3086, Université de Nice Sophia-Antipolis, France ; (3) INSERM U827, Institut de recherche clinique, Montpellier, France ; (4) INSERM U781, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris, France ; (5) Service de biochimie, Hôpital Pasteur, CHU de Nice, France ; (6) Department of Clinical Genetics, National University Hospital Rigshospitalet, Copenhagen, Denmark ; (7) Laboratoire de neuropathologie, Hôpital Timone, CHU de Marseille, France ; (8) Service de*

*pédiatrie, Hôpital Archet 2, CHU de Nice, France ; (9) Service de Neuropédiatrie, CHU Pellegrin, Bordeaux, France ; (10) Service de Neuropédiatrie, Hôpital Timone, CHU de Marseille, France*

Contact : [cecilerouzier@gmail.com](mailto:cecilerouzier@gmail.com)

Les mitochondriopathies secondaires à une déplétion de l'ADN mitochondrial (ADNmt) forment un groupe hétérogène de pathologies sévères de transmission autosomique récessive. Récemment des déficits de la ligase succinate-CoA ont été impliqués dans des encéphalomyopathies avec déplétion de l'ADNmt et acidurie méthylmalonique modérée. À ce jour, des mutations du gène SUCLA2, qui code pour la sous-unité beta de la ligase succinate-CoA, ont été identifiées chez 17 patients. En revanche des mutations du gène SUGL1, qui code pour la sous-unité alpha de l'enzyme, ont été rapportées dans seulement deux familles. Nous rapportons les cas de deux patients non apparentés chez lesquels nous avons identifié trois nouvelles mutations pathogènes du gène SUGL1. Le premier patient présentait une hypotonie néonatale sévère associée à une acidose lactique et une acidurie méthylmalonique ayant entraîné le décès à l'âge de un an. Nous avons identifié chez ce patient une mutation faux-sens hétérozygote (p.Pro170Arg) et une mutation qui entraîne l'épissage complet de l'exon 1 du transcrit. Le rôle de SUGL1 a été confirmé par les résultats du western blot qui mettait en évidence une absence totale de protéine SUGL1 dans les fibroblastes. Le second patient, âgé de 12 ans, avait un phénotype plus modéré, similaire à celui présenté par les patients porteurs de mutations dans le gène SUCLA2. Nous avons identifié chez ce patient une mutation non-sens hétérozygote (p.Gln150X). Le western blot mettait en évidence une expression résiduelle de SUGL1 dans les fibroblastes de ce patient. Nos résultats suggèrent qu'une absence totale de protéine SUGL1 est responsable de formes sévères d'encéphalomyopathie avec un début très précoce, voire anténatal, alors qu'une expression résiduelle de SUGL1 est impliquée dans les formes de début plus tardif de type SUCLA2-like. D'autre part, nous montrons l'absence de protéine SUCLA2 par western blot dans les fibroblastes n'exprimant pas SUGL1. Ces résultats suggèrent une dégradation de SUCLA2 lorsque SUGL1, son partenaire hétérodimérique, est absent.

**Mots-clés :** SUGL1, mitochondriopathie, acidurie méthylmalonique.

**■P395. DÉFICIT EN PYRUVATE DÉSHYDROGÉNASE DU À UNE NOUVELLE MUTATION DU GÈNE PDHX CHEZ DEUX PATIENTS MAROCAINS**

M. Tajir (1), J.B. Arnoux (2), A. Boutron (3), S. Chafai Elaloui (1), P. De Lonlay (2), A. Sefiani (1, 4), M. Brivet (3)

(1) *Département de Génétique Médicale, Institut National d'Hygiène, Rabat, Maroc ; (2) Centre de Référence Maladies Métaboliques, AP-HP Hôpital Necker Enfants-Malades, Paris, France ; (3) Biochimie métabolique, AP-HP Hôpital de Bicêtre, le Kremlin-Bicêtre, France ; (4) Centre de Génomique Humaine, Faculté de Médecine et Pharmacie, Université Mohamed V Souissi, Rabat, Maroc*

Contact : [mariam\\_tajir@yahoo.fr](mailto:mariam_tajir@yahoo.fr)

Le déficit en pyruvate deshydrogénase (PDH) est une maladie héréditaire du métabolisme énergétique affectant principalement le système nerveux et caractérisée par une détérioration neurologique de gravité variable. La PDH est un complexe enzymatique formé de 5 sous-unités (E1alpha, E1beta, E2, E3 et E3BP), codées chacune par des gènes différents et associées à une PDH kinase et une PDH-phosphatase. La PDH joue un rôle important dans le métabolisme du glucose en catalysant la décarboxylation oxydative du pyruvate, produit de la glycolyse, en acétyl CoA, qui rentre dans le cycle de Krebs. On décrit trois phénotypes cliniques : une forme néonatale sévère caractérisée par une détresse neurologique et une acidose lactique ; une forme infantile avec hypotonie et retard psychomoteur ; une forme intermédiaire avec des épisodes d'ataxie à rechute, aggravés par les apports en sucres. Une hyperlactémie avec un rapport lactate/pyruvate normal est retrouvée dans les 3 types. La presque totalité des mutations est retrouvée sur le gène PDHA1 porté par le chromosome X, codant la sous-unité E1alpha de l'enzyme. Des mutations de transmission autosomique récessive, affectant les autres sous unités du complexe ont également été caractérisées sur le gène PDHX (en 11p13 ; codant la protéine X ou E3BP), le gène PDHB (en 3p21.1-p14.2 ; codant la protéine E1 beta), le gène DLAT (en 11q23.1 ; codant la protéine E2) et le gène DLD (en 7q31-q32 ; codant la protéine E3). Nous rapportons dans ce travail les observations de deux patients d'origine marocaine ayant un déficit en PDH. La première observation décrit une forme infantile, d'un enfant âgé de 8 ans, consanguin, adressé à la consultation de génétique médicale pour fatigabilité et retard des acquisitions psychomotrices. Une hyperalaninémie à la chromatographie des acides aminés plasmatiques, l'augmentation du lactate et du pyruvate sanguin et l'IRM cérébrale étaient en faveur d'une maladie du métabolisme énergétique. L'étude de l'activité enzymatique sur fibroblastes a objectivé une baisse de l'activité de la pyruvate



déshydrogénase et l'étude moléculaire a révélé une nouvelle mutation au niveau du gène PDHX à l'état homozygote (c.1182+2T>C). La deuxième observation décrit une forme néonatale, d'un nourrisson de sexe féminin, née dans un contexte de souffrance fœtale aigue, qui a présenté en période néonatale une hyperlactatémie constante avec rapport lactate/pyruvate normal, une lactaturie élevée, une hyperalaninémie et des anomalies à l'IRM cérébrale. Le dosage de l'activité enzymatique sur lymphocytes a retrouvé un déficit en PDH. L'étude moléculaire a retrouvé la même mutation au niveau du gène PDHX. La récurrence de cette nouvelle mutation chez deux patients marocains non apparentés suggère un effet fondateur de cette mutation. Si cette hypothèse est confirmée, le diagnostic moléculaire du déficit en PDH pourra être débuté par la recherche de cette mutation en premier chez les patients marocains.

**Mots-clés :** déficit en PDH, gène PDHX, nouvelle mutation.

### ■P396. UNE MUTATION FRÉQUENTE DANS LES DÉFICITS DU COMPLEXE PYRUVATE DÉSHYDROGÉNASE ?

H. Romdhane (1), M.C. Marden (2), A. Boutron (1), M. Zater (1), F. Sedel (3), H. Ogier de Baulny (4), F. Rivier (5), A. Lebas (6), M. Brivet (1)  
(1) *Laboratoire de Biochimie, AP-HP Hôpital de Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre, France* ; (2) *INSERM U779, Université Paris XI, Le Kremlin-Bicêtre, France* ; (3) *Neurologie, AP-HP GH Pitié-Salpêtrière, Paris, France* ; (4) *Centre de Référence des Maladies Métaboliques Héritées, Hôpital Robert Debré, Paris, France* ; (5) *Neuropédiatrie, Hôpital Gui de Chauliac, Montpellier, France* ; (6) *Neuropédiatrie, AP-HP Hôpital de Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre, France*  
Contact : [michele.brivet@bct.aphp.fr](mailto:michele.brivet@bct.aphp.fr)

Les anomalies du complexe pyruvate deshydrogénase (PDH) perturbent gravement le métabolisme énergétique et provoquent des encéphalopathies dégénératives. Une dizaine de cas de déficits en PDH sont diagnostiqués par an en France, essentiellement dus à une anomalie du gène PDHA1 codant la sous-unité E1alpha. Les anomalies des gènes codant les autres sous-unités (PDHB, PDHX, DLAT et DLD) sont extrêmement rares et sont des mutations uniques jusqu'à maintenant. C'est pourquoi l'identification d'une même mutation faux sens (p.M101V) du gène PDHB codant la sous-unité E1alpha chez 6 patients, nous a conduit à nous interroger sur le caractère délétère de cette mutation. Patients : Les 6 patients ont été identifiés au sein d'une cohorte de 75 patients atteints d'un déficit en PDH. Ils présentaient une forme clinique modérée avec des accès d'ataxie à répétition et une augmentation parallèle du pyruvate et du lactate dans le sang et le liquide céphalo-rachidien au moment des crises. La diminution de l'activité PDH a été objectivée dans les lymphocytes. La recherche d'une mutation sur les 5 gènes codant les différentes sous-unités du complexe PDH n'a révélé aucune anomalie sauf sur le gène PDHB : cinq des patients (consanguins, d'origine maghrébine) étaient homozygotes pour la mutation c.301A>G (p.M101V) et le 6<sup>e</sup> était hétérozygote composite pour cette mutation et l'anomalie d'un site consensus d'épissage (c.301A>G / c.793-2A>G). Matériel et Méthodes : Le caractère délétère de la mutation p.M101V a été étudié in silico et expérimentalement, au niveau de ses conséquences possibles sur l'épissage (séquençage du cDNA), sur la stabilité (western blot) ou la structure de la protéine (modélisation). Résultats : La mutation p.M101V concerne un acide aminé conservé chez les eucaryotes. Elle n'a pas été retrouvée sur 100 chromosomes témoins. Cette mutation fait partie du site donneur d'épissage de l'intron 5 mais ne modifie pas le cDNA-PDHB. Le western-blot réalisé à partir d'un homogénat de fibroblastes, n'a pas montré de diminution de la sous-unité E1alpha. La mutation p.M101V se situe dans une zone étroite d'interface hydrophobe, rigide, entre les sous-unités E1alpha et E1beta. Le changement de taille lié au remplacement d'un résidu méthionine par un résidu valine (perte de 2 atomes de la chaîne latérale) pourrait destabiliser localement l'hétérodimère. Conclusions : Plusieurs données épidémiologiques et structurales suggèrent que la mutation p.M101V du gène PDHB est bien responsable du déficit en PDH des patients. De plus, cette mutation a été retrouvée récemment chez un patient autrichien à l'état hétérozygote composite (p.M101V / p.R105Q). Il n'a été rapporté dans la littérature que 9 mutations de PDHB chez 7 patients. La mutation p.M101V peut donc être considérée comme la mutation fréquente de ce gène et suggère un effet fondateur au Maghreb.

**Mots-clés :** pyruvate deshydrogénase, PDHB, mutation fréquente

### ■P397. CARTOGRAPHIE PAR HOMOZYGOTIE AVEC UNE PUCE À SNP CHEZ 3 PATIENTS AYANT UNE ANOMALIE DU TRANSPORT MITOCHONDRIAL DU PYRUVATE

M. Brivet (1), A. Boutron (1), G. Touati (2), L. Burglen (3), P. De Lonlay (2), J.L. Mandel (4)

(1) *Laboratoire de Biochimie, AP-HP Hôpital de Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre, France* ; (2) *Centre de Référence Maladies Métaboliques, AP-HP Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France* ; (3) *Génétique, AP-HP Hôpital Trousseau, Paris, France* ; (4) *Institut de Génétique et de Biologie Moléculaire et Cellulaire, Strasbourg, France*  
Contact : [michele.brivet@bct.aphp.fr](mailto:michele.brivet@bct.aphp.fr)

Le transport du pyruvate dans la mitochondrie est une étape essentielle de la glycolyse, de la lipogénèse et de la néoglucogénèse. Un gène de la levure (YIA6) a été identifié en 2003 pour ce transporteur. Une anomalie du transport du pyruvate dans la mitochondrie a pu être caractérisée chez 2 patients non apparentés et un fœtus, dans 2 familles algériennes consanguines. Mais l'étude de 3 gènes candidats, codant pour les protéines humaines les plus homologues du produit de YIA6, n'a pas révélé d'anomalies chez ces sujets. En 2008, Le gène YIA6 a d'ailleurs été ré-attribué au transport du NAD+. Une autre approche, de cartographie par homozygotie à l'aide de puces SNP, a donc été tentée pour identifier d'autres gènes candidats. Patients : Les patients présentaient une encéphalopathie apparue dès la période néonatale, une dysmorphie faciale et une microcéphalie ainsi qu'une augmentation permanente du lactate et du pyruvate sanguins avec un rapport L/P normal. Ceci suggérait l'hypothèse d'un déficit en pyruvate deshydrogénase (PDH). Toutefois les mesures de la décarboxylation du pyruvate (1-14C) en <sup>14</sup>CO<sub>2</sub> à partir d'homogénats de lymphocytes ou de fibroblastes n'ont pas révélé de déficit en PDH ; alors que les mêmes mesures, effectuées à partir de fibroblastes perméabilisés par la digitonine pour permettre au pyruvate de traverser la membrane plasmique et d'arriver à la mitochondrie intacte, ont montré l'absence quasi totale de décarboxylation du pyruvate (1-C14) et l'absence de transformation du pyruvate (2-14C) en acétylcarnitine ou en dérivés du cycle de Krebs. Ces anomalies ont pu être reproduites chez des témoins, en utilisant un inhibiteur spécifique du transport mitochondrial du pyruvate, l'alpha-cyano-4-hydroxycinnamate. L'anomalie du transport mitochondrial du pyruvate a été recherchée au cours de 3 grossesses ultérieures dans l'une des 2 familles, en utilisant des amniocytes perméabilisés et retrouvée chez l'un des 2 fœtus d'une grossesse gémellaire. Matériel et Méthodes : Un cartographie par homozygotie a été réalisée à l'aide de puces à SNP 250K Affymetrix en utilisant l'ADN des 2 patients non apparentés et celui du fœtus atteint. Les régions d'homozygotie ont été définies par la présence de plus de 35 SNP homozygotes consécutifs et analysées grâce au logiciel HomoSNP ([plewniak@igbmc.u-strasbg.fr](mailto:plewniak@igbmc.u-strasbg.fr)). Résultats : Nous avons identifié quelques régions d'homozygotie et notamment une région commune de 37 SNPs homozygotes. Un gène candidat est à l'étude dans cette zone. Discussion : L'approche de cartographie par homozygotie se développe de plus en plus pour identifier les gènes responsables d'anomalies autosomiques récessives dans des familles consanguines. Elle permet une investigation, même s'il n'existe qu'un petit nombre de familles disponibles et de petite taille. Il serait intéressant de savoir si d'autres cas présumés d'anomalie du transport mitochondrial du pyruvate existent (contacter les auteurs).

**Mots-clés :** transport mitochondrial du pyruvate, cartographie par homozygotie, puce à SNP.

### ■P398. INSUFFISANCE CARDIAQUE AIGÛE FATALE AVEC DÉFICIT EN COENZYME Q10 CHEZ UN ENFANT ATTEINT D'ACIDÉMIE PROPIONIQUE

K. Fragaki (1, 2), A. Cano (3), C. Cochaud (1), A. Chaussenot (1), C. Rouzier (1, 2), S. Bannwarth (1, 2), C. Caruba (4), B. Chabrol (3), V. Paquis-Flucklinger (1, 2)

(1) *Service de Génétique Médicale, Centre de référence des pathologies mitochondriales, CHU de Nice, France* ; (2) *IGMRC, FRE CNRS/UNSA 3086, Université de Nice Sophia-Antipolis, France* ; (3) *Service de Neuropédiatrie, CHU de Marseille, France* ; (4) *Service de Biochimie, CHU de Nice, France*  
Contact : [k.fragaki@laposte.net](mailto:k.fragaki@laposte.net)

L'acidémie ou acidurie propionique est une affection métabolique, transmise sur un mode autosomique récessif, secondaire à des mutations portant sur les gènes des sous-unités alpha ou bêta de la propionyl-CoA-carboxylase. Le dysfonctionnement de cette enzyme provoque une « intoxication endogène », liée à l'accumulation dans le sang de propionyl-CoA, acide propionique, cétones et autres composés intermédiaires du métabolisme, exposant ainsi les patients à un risque de défaillance vitale. Outre les décompensations métaboliques aiguës, malgré les progrès diagnostiques et thérapeutiques des dernières décennies, les complications principales de l'acidémie propionique sont les atteintes du système nerveux, les myocardiopathies et les pancréatites aiguës. Le rôle d'un déficit de la chaîne respiratoire mitochondriale en tant que mécanisme secondaire à l'intoxication a été évoqué récemment. Nous rapportons pour la première fois un déficit en coenzyme Q10 (CoQ10) chez un enfant atteint d'acidémie propionique,



brutalement décédé à l'âge de 14 ans d'une insuffisance cardiaque aigüe, en l'absence de décompensation métabolique de sa maladie. Le déficit en CoQ10 est le seul désordre de la phosphorylation oxydative qui réponde favorablement à un traitement médicamenteux. Il est donc important d'obtenir rapidement une analyse biochimique de la chaîne respiratoire mitochondriale chez tout patient atteint d'acidémie propionique, dès l'apparition de signes cliniques évoquant un déficit énergétique, afin d'identifier très rapidement les possibles déficits secondaires en CoQ10. Il est vraisemblable que le traitement puisse améliorer, voire prévenir les complications cardiaques observées chez ces patients, si le diagnostic biochimique est réalisé à temps.

**Mots-clés :** acidémie propionique, déficit en coenzyme Q10, maladies mitochondriales.

**■P399. DÉPISTAGE MOLÉCULAIRE DE 980 CAS SUSPECTÉS DE NEUROPATHIE OPTIQUE HÉRÉDITAIRE ET PUBLICATION DE 77 NOUVELLES MUTATIONS DU GÈNE OPA1**

M. Ferre (1, 2, 3), D. Bonneau (1, 2, 3), D. Milea (4, 5), A. Chevrollier (1, 3), C. Verny (2, 6), H. Dollfus (7, 8, 9), C. Ayuso (10), S. Defoort (11, 12, 13), C. Vignal (14), X. Zanlonghi (14, 15), J.F. Charlin (16, 17), J. Kaplan (18, 19, 20), S. Odent (16, 21), C.P. Hamel (22, 23), V. Procaccio (2, 3, 24, 25), P. Reynier (1, 2, 3), P. Amati-Bonneau (1, 3)  
(1) INSERM, U694, Angers, France ; (2) Université d'Angers, Faculté de Médecine, Angers, France ; (3) CHU d'Angers, Département de Biochimie et Génétique, Angers, France ; (4) Glostrup Hospital, Department of Ophthalmology, Glostrup, Denmark ; (5) University of Copenhagen, Copenhagen, Denmark ; (6) CHU d'Angers, Département de Neurologie, Angers, France ; (7) INSERM, Équipe Avenir 3439, Strasbourg, France ; (8) Université Louis Pasteur-Strasbourg, Faculté de Médecine, Laboratoire de Génétique Médicale, Strasbourg, France ; (9) CHRU de Strasbourg, Service de Génétique Médicale, Strasbourg, France ; (10) Fundación Jiménez Díaz, Servicio de Genética, CIBERER, Madrid, Spain ; (11) CNRS, UMR 8160, Lille, France ; (12) Université de Lille 2, Lille, France ; (13) CHRU de Lille, Hôpital Roger Salengro, Service d'Explorations Fonctionnelles de la Vision, Lille, France ; (14) Fondation Rothschild, Département d'Ophthalmologie, Paris, France ; (15) Clinique Sourduille, Laboratoire d'Explorations Fonctionnelles de la Vision, Nantes, France ; (16) Université de Rennes 1, Faculté de Médecine, Rennes, France ; (17) CHU de Rennes, Service d'Ophthalmologie, Rennes, France ; (18) INSERM, U781, Unité de Recherches Génétique et Épigénétique des Maladies Métaboliques, Neurosensorielles et du Développement, Paris, France ; (19) Université Paris Descartes, Faculté de Médecine, Paris, France ; (20) AP-HP, Groupe Hospitalier Necker, Service de Génétique Médicale, Paris, France ; (21) CHU de Rennes, Département de Médecine de l'Enfant et de l'Adolescent, Rennes, France ; (22) CHRU de Montpellier, Montpellier, France ; (23) Université Montpellier1 et Montpellier2, Institut des Neurosciences, Montpellier, France ; (24) CNRS, UMR6214, Angers, France ; (25) INSERM, U771, Angers, France

Contact : MaFerre@chu-angers.fr

Nous rapportons les résultats du dépistage moléculaire de 980 patients adressés à notre laboratoire pour suspicion de neuropathie optique héréditaire. Parmi ces patients, 588 (60 %) avaient une histoire familiale d'atrophie optique héréditaire alors que les 392 autres patients (40 %) n'avaient pas d'antécédents familiaux évidents de la maladie. Chez tous les patients, les dix mutations primaires de l'ADN mitochondrial (ADNmt) causant la neuropathie optique héréditaire de Leber (NOHL) ont été recherchées et les séquences codantes complètes des gènes OPA1 et OPA3, les deux gènes actuellement identifiés dans l'atrophie optique autosomique dominante (AOAD), ont été examinées. Des causes moléculaires ont été identifiées chez 440 patients (45 % des patients examinés). Parmi eux, 295 patients (67 %) étaient porteurs d'une mutation d'OPA1, 131 patients (30 %) d'une mutation de l'ADNmt, et 14 patients (3 %), appartenant à trois familles non liées, avaient une mutation d'OPA3. Fait intéressant, une mutation d'OPA1 a été trouvée dans 157 (40 %) des 392 cas apparemment sporadiques d'atrophie optique. Désormais, la base de donnée spécifique du gène OPA1 contient un total de 204 mutations, en incluant les 77 nouvelles mutations d'OPA1 identifiées suite à cette étude. L'analyse statistique de ce vaste ensemble de mutations nous a conduit à proposer une stratégie diagnostique pour optimiser l'étude moléculaire des neuropathies optiques. Nos résultats soulignent l'importance de rechercher les mutations de l'ADNmt responsables de la NOHL ainsi que les mutations d'OPA1 et OPA3 dans les cas de neuropathie optique héréditaire suspectés, même en l'absence d'antécédents familiaux de la maladie.

**Mots-clés :** atrophie optique héréditaire, mitochondries, OPA1.

**■P400. A DE NOVO MUTATION IN THE ATPASE 8 GENE IN A PATIENT WITH MITOCHONDRIAL DISORDER**

E. Mkaouar-Rebai (1), F. Kammoun (2), I. Chamkha (1), N. Kammoun (1), I. Hsairi (2), C. Triki (2), F. Fakhfakh (1)

(1) Laboratoire de Génétique Moléculaire Humaine, Faculté de Médecine de Sfax, Tunisia ; (2) Service de Neurologie Infantile, CHU Hédi Chaker de Sfax, Tunisia

Contact : emna\_mkaouar@mail2world.com

Mitochondrial DNA defects were known to be associated with a wide spectrum of human diseases and patients might present wide range of clinical features in various combinations. In the present study, we described a patient with psychomotor and neurodevelopmental delay, mild hyperintensity of posterior periventricular white matter, generalized clonic seizures, leukodystrophy and congenital deafness. He also suffered from a tetraplegia, with central blindness and swallowing difficulty. Brain MRI showed involvement of the interpeduncular nucleus and central tegmental tract, white matter abnormalities and cerebellar atrophy. A whole mitochondrial genome screening revealed the presence of 19 reported polymorphisms and an undescribed A to G mutation at nucleotide 8411 (p.M16V) affecting a conserved region of the mitochondrial ATPase 8 protein. This *de novo* mutation was detected in heteroplasmic form (97 %) and was absent in 120 controls. Thus, the m.8411A>G mutation could strongly be associated to the disease in the tested patient.

**Mots-clés :** ATPase 8 gene, mitochondrial disorder, mtDNA.

**■P401. SPECTRE PHÉNOTYPIQUE DES PATIENTS AVEC ENCÉPHALOMYOPATHIE ET ACIDURIE MÉTHYLMALONIQUE PORTEURS D'UN DÉFICIT EN SUCCINYL-COENZYME A SYNTHÉTAISE (MUTATIONS DES GÈNES SUCLA2 ET SUCLG1)**

C. Haudry (1), V. Valayannopoulos (1), V. Serre (1), M. Barth (2), N. Boddaert (1), J.B. Arnoux (1), V. Cormier-Daire (1), M. Rio (1), D. Rabier (1), A. Vassault (1), A. Munnich (1), J.P. Bonnefont (1), P. De Lonlay (1), A. Rötig (1), A.S. Lebre (1)

(1) Université Paris Descartes, Hôpital Necker-Enfants Malades et Inserm U781 et U797, Départements de Génétique, de Radiologie pédiatrique, des Maladies Métaboliques et de Biochimie B, Paris, France ; (2) Université d'Angers, Hôpital d'Angers et Inserm U694, Département de Génétique, Angers, France

Contact : anne-sophie.lebre@nck.aphp.fr

La succinyl-Coenzyme A synthétase (SCS) est le complexe enzymatique qui catalyse la conversion du Succinyl-CoA en succinate. Chez les mammifères, il existe deux isoformes spécifiques de l'ATP (SCS-A) ou du GTP (SCS-G). Les deux isoformes SCS-A et G sont des protéines hétérodimériques constituées de la même sous-unité alpha mais de deux sous-unités bêta différentes. Le gène SUCLG1 code pour la sous-unité alpha commune. Les gènes SUCLA2 et SUCLG2 codent pour les sous-unités bêta des complexes SCS-A et SCS-G, respectivement. Des mutations des gènes SUCLG1 et SUCLA2 ont été décrites chez des patients avec encéphalomyopathie et acidurie méthylmalonique (MMAurie). Le premier patient rapporté dans la littérature avec mutations SUCLG1 présentait un phénotype anténatal très sévère avec une mortalité précoce. Les patients mutés SUCLA2 et les autres patients mutés SUCLG1 avaient des présentations moins sévères avec un syndrome « Leigh-like », une déplétion de l'ADN mitochondrial et une espérance de vie allant jusqu'à 21 ans. Dans cette étude, nous décrivons les données cliniques, radiologiques, biochimiques et génétiques concernant trois nouveaux patients avec mutations SUCLG1. Ces patients présentent une encéphalopathie, une hypotonie, une atrophie musculaire et une dystonie. Nous avons fait une étude de la littérature et avons comparé les phénotypes des patients SUCLA2 et des patients SUCLG1 déjà rapportés afin d'identifier un possible profil clinique et métabolique commun. Les patients porteurs de déficit en SCS ont un profil métabolique particulier (acidose lactique, présence d'acide méthylmalonique et de C4-dicarboxylic carnitine (C4-DC) dans les urines) et des lésions des ganglions de la base à l'IRM cérébrale. Une perte d'audition est observée dans les deux groupes de patients, mais est significativement plus observée chez les patients mutés SUCLA2. Tous les patients testés ont un déficit multiple de la chaîne respiratoire dans le muscle mais la déplétion de l'ADN mitochondrial n'est pas constante. Cette étude élargit le spectre phénotypique des mutations SUCLG1 et confirme la mise en évidence d'un profil métabolique caractéristique et d'une image très évocatrice en IRM cérébrale (lésions de ganglions de la base) dans les déficits en SCS. L'existence d'une déplétion de l'ADN mitochondrial dans le muscle n'est pas constante, ce qui permet de suggérer un mécanisme physiopathologique alternatif pour expliquer le déficit multiple de la chaîne respiratoire observé chez les patients.

**Mots-clés :** gène SUCLG1, acidurie méthylmalonique, déplétion de l'ADN mitochondrial.

#### ■P402. DIAGNOSTIC DIFFÉRENTIEL DES CYTOPATHIES MITOCHONDRIALES : ENCÉPHALOPATHIE AIGUË NÉCROSANTE LIÉE AUX MUTATIONS DE RANBP2

M. Rio (1), A.S. Lèbre (1), M. Mazuca (2), M. Willems (1), N. Brahimi (1), A. Kuster (3), M. Holder (4), A. Munnich (1), A. Rötig (1), P. De Lonlay (5), N. Boddaert (6)

(1) Département de Génétique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris ; (2) Service de Neuropédiatrie, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris ; (3) Service de Pédiatrie, CHU de Nantes, Nantes ; (4) Département de Génétique, Hôpital Jeanne-de-Flandre, Lille ; (5) Service de Métabolisme, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris ; (6) Département de Radiologie Pédiatrique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris  
Contact : marlene.rio@nck.aphp.fr

Affirmer le diagnostic de cytopathie mitochondriale chez l'enfant est un exercice difficile. En effet, si le diagnostic est fondé sur les résultats de l'investigation enzymologique de la chaîne respiratoire mitochondriale, il est malheureusement rarement affirmé par une étude moléculaire compte tenu de l'extrême hétérogénéité de ces maladies. Or, les signes cliniques, biologiques et radiologiques qui font suspecter le diagnostic sont souvent peu spécifiques et le diagnostic est finalement affirmé par le seul résultat de l'étude enzymologique. Toutefois, cette étude enzymologique n'affirme pas le diagnostic de cytopathie mitochondriale mais met en évidence un défaut de phosphorylation oxydative qui peut être primaire ou secondaire à une autre pathologie. Labellisé depuis 2005, le centre de Référence CARAMMEL (Centre de Référence pour les Maladies Mitochondriales de l'Enfant à l'Adulte) est régulièrement sollicité pour l'expertise de dossiers afin de valider avec certitude le diagnostic de maladie mitochondriale et répondre à la demande conseil génétique et de diagnostic prénatal de parents. Nous rapportons les observations de 3 patients français non apparentés ayant présenté plusieurs épisodes pseudo-encéphalopathiques aigus déclenchés par des épisodes fébriles. Le diagnostic de cytopathie mitochondriale avait été évoqué devant cette présentation clinique, d'autant que l'étude enzymologique de la chaîne respiratoire mitochondriale était anormale pour l'un des patients. Cependant, la rapidité de progression de l'atteinte neurologique, l'existence d'une hyperprotéinorrhachie, la récupération neurologique quasi complète entre deux épisodes pour un patient ont fait remettre en cause le diagnostic initialement suspecté. Notamment, l'atteinte symétrique des thalami sans atteinte des pallidi et des putamens associée à l'atteinte du tronc cérébral observée à l'IRM cérébrale, a conduit à discuter le diagnostic d'une encéphalopathie aiguë nécrosante (Acute Necrotizing Encephalopathy) en rapport avec une mutation du gène codant pour une protéine du pore nucléaire, RANBP2. L'étude du gène RANBP2 a permis de confirmer ce diagnostic en identifiant chez les 3 patients la mutation c.1880C>T à l'état hétérozygote dans l'exon 12, déjà rapportée comme récurrente dans la littérature. Ces trois observations confirment la nécessité d'une collaboration entre cliniciens, radiologues et biologistes pour l'expertise diagnostique des suspicions de cytopathies mitochondriales et soulignent l'importance de l'imagerie cérébrale qui, à l'instar de la dysmorphologie, permet d'orienter les études moléculaires avec pour corollaire l'établissement d'un diagnostic de certitude ouvrant la possibilité à formuler un conseil génétique et proposer un diagnostic prénatal.

**Mots-clés :** maladie mitochondriale, RANBP2, IRM.

#### ■P403. PARAPLÉGIE SPASTIQUE À TRANSMISSION MATERNELLE ASSOCIÉE À LA MUTATION MITOCHONDRIALE M.9176T>C ET À UN DÉFAUT D'ASSEMBLAGE DE L'ATP SYNTHASE

C. Verny (1), N. Guegen (2), V. Desquirit (2), A. Prudean (1), F. Dubas (1), A. Chevrollier (2), P. Amati-Bonneau (2), D. Bonneau (2), P. Reynier (2), V. Procaccio (2, 3)

(1) Département de Neurologie, CHU Angers, France ; (2) Département de Biochimie et Génétique, CHU Angers, France ; (3) UMR INSERM U771-CNRS6214, Université d'Angers, France  
Contact : viprocaccio@chu-angers.fr

Introduction : Les maladies mitochondriales dues à un déficit de la chaîne respiratoire sont une cause importante de pathologies neurologiques héréditaires. Les paraplégies spastiques se manifestent par une faiblesse musculaire progressive des membres inférieurs et une spasticité. Elles sont caractérisées par une très forte hétérogénéité sur le plan clinique et génétique. À ce jour, plus de 40 gènes responsables de paraplégies spastiques ont pu être localisés et/ou identifiés avec des formes dominantes, les plus communes mais aussi des formes autosomales récessives ou liées à l'X. Résultats : Nous présentons une famille dont 5 membres sont atteints de paraplégie spastique d'expressivité clinique variable, de forme pure ou associée à d'autres troubles neurologiques. La transmission compatible

avec une hérédité maternelle nous a amené à analyser le génome mitochondrial qui s'est révélé porteur de la mutation m.9176T>C située dans le gène codant la sous-unité 6 de l'ATP synthase. Cette mutation, classiquement associée au syndrome NARP (Neuropathie, Ataxie, Rétinite Pigmentaire) ou au syndrome de Leigh, en fonction de son taux d'hétéroplasmie, s'est révélée homoplasmique dans tous les tissus explorés chez les patients de cette famille. L'exploration fonctionnelle des fibroblastes des patients atteints a révélé un déficit de production d'ATP en relation avec un défaut d'assemblage de l'ATP synthase ainsi qu'une augmentation de stress oxydant mitochondrial. La sévérité de l'expression clinique était parfaitement corrélée à l'importance du défaut métabolique. Discussion-Conclusion : Cette première description d'une paraplégie spastique héréditaire due à une mutation de l'ADN mitochondrial illustre l'extrême diversité de la présentation clinique des maladies mitochondriales, une même mutation pouvant être à l'origine de syndromes parfaitement distincts. Le caractère homoplasmique de la mutation m.9176T>C dans cette famille est aussi très singulier et ne permet pas de corréler la sévérité de la maladie au taux de mutant comme cela est classiquement le cas dans les maladies de l'ADN mitochondrial. Au sein de cette famille, les hommes étaient plus sévèrement touchés que les femmes, ce qui pourrait suggérer l'implication de facteurs modulateurs de l'expression clinique, tels que les facteurs hormonaux. Plusieurs gènes nucléaires codant des protéines mitochondriales (paraplégine, HSP60 et REEP1) sont aussi à l'origine de paraplégies spastiques héréditaires ce qui souligne l'importance des anomalies de la conversion énergétique dans la physiopathologie de ces maladies. Notre observation indique l'intérêt de l'étude de l'ADN mitochondrial lorsque le mode de transmission de la maladie est compatible avec une transmission maternelle et aussi dans des phénotypes neurologiques incluant les paraplégies spastiques.

**Mots-clés :** mitochondrie, paraplégie spastique héréditaire, ADN mitochondrial.

#### ■P404. RECHERCHE DE MUTATIONS MITOCHONDRIALES CHEZ UNE FAMILLE ATTEINTE DE DIABÈTE MITOCHONDRIAL : MISE EN ÉVIDENCE DE LA MUTATION T14709C À L'ÉTAT HÉTÉROPLASMIQUE

F. Fakhfakh (1), N. Mezghani (1), E. Mkaouer-Rebai (1), S. Youssef (1), M. Mnif (2), N. Charfi (2), M. Abid (2)

(1) Laboratoire de Génétique Moléculaire Humaine, Faculté de Médecine de Sfax, Tunisie ; (2) Service d'Endocrinologie, CHU Hédi Chaker, Sfax, Tunisie

Contact : faiza.fakhfakh

Le diabète mitochondrial peut être associé à plusieurs signes donnant différents syndromes (MELAS, MERRF, MIDD, KSS, etc). Il est généralement associé à des mutations de l'ADN mitochondrial qui touchent essentiellement des ARNt mitochondriaux. Les mutations les plus impliquées dans le diabète mitochondrial sont la mutation A3243G au niveau du gène ARNtLeu(UUR) et la mutation T14709C au niveau du gène ARNtGlu. Notre étude a porté sur une famille Tunisienne atteinte de diabète mitochondrial chez laquelle nous avons étudié les deux gènes les plus souvent impliqués dans cette forme de maladie : MT-TL et MT-TQ. Cette famille comporte 2 patientes dont la mère présente en plus du diabète, une myopathie, une obésité et un syndrome pluri métabolique. L'étude moléculaire a été effectuée sur l'ADN génomique total extrait à partir du sang selon la méthode standard. La recherche de mutations ponctuelles a été effectuée par les méthodes PCR-RFLP, PCR-SSP et par séquençage automatique. Les résultats de la PCR-RFLP et du séquençage automatique ont montré l'absence de la mutation A3243G au niveau du gène ARNtLeu(UUR) chez les membres de la famille et la présence de la mutation T14709C au niveau du gène de l'ARNtGlu. Cette mutation a été retrouvée à l'état hétéroplasmique par PCR-SSP seulement chez la mère et ses 2 filles. Les résultats retrouvés sont en faveur de l'association de la mutation T14709C au niveau du gène de l'ARNtGlu avec le diabète mitochondrial chez cette famille.

**Mots-clés :** diabète mitochondrial, hétéroplasmie, T14709C.

#### ■P405. STRATÉGIE DIAGNOSTIQUE DANS LES DÉFICITS ISOLÉS EN COMPLEXE I DE LA CHAÎNE RESPIRATOIRE

Z. Assouline, N. Boddaert, C. Haudry, M. Jambou, M. Rio, V. Valayannopoulos, P. de Lonlay, J. Steffann, I. Desguerre, A. Munnich, J.P. Bonnefont, A. Rötig, A.S. Lebre

Université Paris Descartes, Hôpital Necker-Enfants Malades et Inserm U781 et U797, Départements de Génétique, de Radiologie pédiatrique, de Neurologie et des Maladies Métaboliques, Paris, France

Contact : anne-sophie.lebre@nck.aphp.fr

Les déficits isolés en complexe I (CI) de la chaîne respiratoire (CR) sont une cause fréquente de déficit de la CR chez l'enfant. Les présentations cliniques des patients avec déficits en CI sont variées (syndrome de Leigh, neuropathie optique de Leber, syndrome MELAS pour Mitochondrial Encephalomyopathy, Lactic Acidosis and Stroke-like episodes) et peuvent résulter de l'association d'une hypotonie, un retard psychomoteur, une épilepsie, une cardiomyopathie, une atrophie optique ou une rétinopathie. Le CI comprend sept sous-unités codées par l'ADN mitochondrial (ADNmt), 38 sous-unités codées par le génome nucléaire ainsi qu'un nombre croissant de facteurs d'assemblage. Jusqu'à présent, des mutations ont été identifiées dans douze gènes nucléaires (NDUFS1-4, NDUFS6-8, NDUFV1-2, NDUFA1-2 et NDUFA11), sept gènes codés par l'ADNmt et six gènes codant pour des facteurs d'assemblage (NDUFAF1-4, C8orf38 et C20orf7). Le diagnostic d'un déficit isolé en CI repose sur des arguments cliniques et des résultats d'examen histologique et enzymologique du tissu atteint. Ce diagnostic est complexe du fait de l'implication de deux génomes (nucléaire et mitochondrial) et du très grand nombre de gènes potentiellement impliqués. Toute anomalie d'une sous-unité de structure ou d'assemblage du CI va entraîner un déficit primaire en CI. La perturbation d'autres fonctions mitochondriales peut être à l'origine de déficits secondaires en CI. C'est donc l'identification de mutations qui permet de confirmer le diagnostic. La tâche est immense et les progrès dans le diagnostic des déficits en CI doivent venir de la mise en évidence de corrélations clinico-biologiques et d'une évolution technologique importante. La mise en évidence de corrélations clinico-biologiques vient du travail collectif des Centres de Référence avec la création de registres de patients mutés. Ainsi, en collectant des IRM cérébrales de patients mutés, nous avons pu identifier un pattern caractéristique des déficits primaires en CI. Au niveau moléculaire, la mise en place de techniques performantes sont indispensables pour progresser. Ainsi, l'étude exhaustive de l'ADNmt (16,5kb) est devenue possible avec la méthode Surveyor. La technique d'électrophorèse en gel non dénaturant (BN-PAGE) peut aussi être très utile. La présence de mutations dans un gène du CI peut résulter en un profil anormal avec l'accumulation d'intermédiaires d'assemblage. Ce profil peut aider dans le choix des gènes candidats à séquencer. Enfin, les progrès dans le diagnostic des déficits en CI doivent venir de l'accès à des techniques plus performantes comme le séquençage haut-débit des gènes nucléaires du CI. L'identification des bases génétiques des déficits en CI est une étape indispensable de la prise en charge des patients et leur famille, afin de proposer un conseil génétique fiable et la possibilité d'un diagnostic prénatal.

**Mots-clés :** maladies mitochondriales, complexe I, syndrome de Leigh.

**■P406. CONFUSION DIAGNOSTIQUE ENTRE DES TUMEURS DE LA PLAQUE TECTALE ET DES LÉSIONS LIÉES À DES MUTATIONS DU GÈNE MT-ND5 CODE PAR L'ADN MITOCHONDRIAL**

A.S. Lebre, M. Rio, P. de Lonlay, V. Valayannopoulos, C. Haudry, I. Desguerre, J. Kaplan, J.L. Dufier, C. Sainte-Rose, C. Treguier, F. Brunelle, A. Rötig, A. Munnich, N. Bodaert

Université Paris Descartes, Hôpital Necker-Enfants Malades et Inserm U781 et U797, Départements de Génétique, de Radiologie pédiatrique, de Neurologie, de Neuro-Chirurgie, d'Ophthalmologie et de Maladies Métaboliques, Paris, France

Contact : anne-sophie.lebre@nck.aphp.fr

Nous rapportons l'histoire médicale de trois patients vus initialement pour suspicion de tumeur de la plaque tectale. La patiente 1, âgée de 14 ans, a été initialement suivie pour altération de la vision et découverte fortuite à l'IRM cérébrale d'une anomalie de la plaque tectale qui a été prise pour une tumeur. Par la suite, sont apparues des difficultés scolaires, une atrophie optique, et des hypersignaux T2 au niveau du cervelet avec atrophie cérébelleuse progressive et pic de lactate à l'IRM cérébrale. Devant cette association inexplicable, l'hypothèse d'une maladie énergétique a été soulevée et a conduit à la réalisation d'une biopsie musculaire pour étude de la chaîne respiratoire mitochondriale. Cette étude a révélé l'existence d'un déficit en complexe I de la chaîne respiratoire dans le muscle. L'étude de l'ADN mitochondrial dans le muscle de la patiente 1 par la méthode Surveyor a permis d'identifier la mutation m.13513G>A à l'état hétéroplasmique dans le gène MT-ND5. Cette mutation, survenue *de novo*, permet d'expliquer l'association de l'atrophie optique et des anomalies constatées à l'IRM cérébrale. Le patient 2, âgé de 10 ans, a été pris en charge depuis l'âge de 4 ans pour un strabisme divergent avec amblyopie. L'IRM initiale avait montré un hypersignal périaqueducal et de la lame tectale pour lequel avait été suspectée une origine tumorale motivant un suivi radiologique qui n'avait pas montré d'évolutivité de cette image. Secondairement sont apparus une petite dyspraxie, une aggravation du strabisme avec apparition

d'un pic de lactate à l'IRM cérébrale. Du fait de la similitude de cette imagerie cérébrale avec celle de la patiente 1, l'hypothèse d'une maladie énergétique a été soulevée et une biopsie de muscle a été réalisée. Celle-ci n'a pas montrée d'anomalie de la chaîne respiratoire mitochondriale. Toutefois, devant la similitude des images radiologiques, l'étude du gène MT-ND5 a été réalisée et a permis d'identifier une mutation m.13514A>G à l'état hétéroplasmique. Cette mutation permet d'expliquer les difficultés praxiques, l'anomalie constatée à l'IRM cérébrale et la gêne visuelle. La patiente 3, âgée de 6 ans, est une jeune fille qui présente un décalage des acquisitions fixé, une hyperlactaturie et une IRM cérébrale avec anomalie de signal péri aqueducal. Du fait de la similitude de cette imagerie cérébrale avec celle des patients 1 et 2, l'étude du gène MT-ND5 a été réalisée et a permis d'identifier une mutation m.13513G>A à l'état hétéroplasmique dans le muscle. À l'examen clinique, ces trois patients présentaient une altération de la vision et des hypersignaux de la plaque tectale à l'IRM cérébrale. Cette association inexplicable doit faire rechercher une atrophie optique et une mutation du gène MT-ND5 codé par l'ADN mitochondrial.

**Mots-clés :** maladies mitochondriales, tumeur de la plaque tectale, gène MT-ND5.

**■P407. POLYNEUROPATHIE AMYLOÏDE FAMILIALE LIÉE À TTR : UN POLYMORPHISME MITOCHONDRIAL PEUT-IL EXPLIQUER LA DIFFÉRENCE DE PÉNÉTRANCE SELON L'ORIGINE PARENTALE DE LA MUTATION ?**

B. Bonaïti (1, 2), M. Olsson (3), U. Hellman (3), O. Suhr (3), C. Bonaïti-Pellié (2, 4), V. Planté-Bordeneuve (5, 6)

(1) INRA-GABI, Jouy-en-Josas, France ; (2) INSERM, U535, Villejuif, France ; (3) Department of Public Health and Clinical Medicine, Umeå University Hospital, Umeå, Sweden ; (4) Univ Paris-Sud, Villejuif, France ; (5) Département de Neurologie, CHU Henri Mondor-AP-HP, Créteil, France ; (6) Inserm U267, Institut Cochin, Paris, France

Contact : catherine.bonaïti@inserm.fr

La polyneuropathie amyloïde liée à la transthyréline avec mutation Val30Met (TTR-V30M-FAP) est la forme la plus fréquente d'amyloïdose familiale, avec une transmission autosomique dominante. Cette maladie grave présente d'importantes disparités dans l'âge de survenue et la pénétrance. Récemment, une différence de pénétrance selon le sexe du parent transmetteur a été mise en évidence dans différentes régions géographiques avec une pénétrance plus élevée en cas de transmission maternelle de la mutation (Hellman *et al.*, 2008 ; Bonaïti *et al.*, 2009). Par ailleurs, des différences dans la distribution des haplogroupes mitochondriaux selon l'âge de début de l'affection chez des patients porteurs d'une mutation TTR-V30M-FAP en Suède et en France ont été observées suggérant qu'un polymorphisme de l'ADN mitochondrial pourrait être un mécanisme sous-jacent de variation phénotypique (Olsson *et al.*, 2009). Nous avons testé cette hypothèse en modélisant la fonction de pénétrance avec un effet « origine parentale » et/ou l'effet d'un polymorphisme mitochondrial dans des échantillons de familles ayant une TTR-V30M-FAP : 33 familles portugaises et 78 familles suédoises dans lesquelles plusieurs individus avaient été testés pour les haplogroupes mitochondriaux. Cette analyse a montré que l'effet d'un polymorphisme mitochondrial était suffisant pour expliquer la différence de pénétrance observée selon le sexe du parent transmetteur dans l'échantillon portugais, alors que, dans l'échantillon suédois, il reste clairement un effet « origine parentale » résiduel. Cette étude est en faveur du rôle d'un polymorphisme mitochondrial qui induirait une plus forte pénétrance en cas de transmission maternelle de la maladie. En pratique clinique, ces résultats pourraient permettre de mieux diagnostiquer les individus les plus à risque et modifier de façon significative la prise en charge des patients et des personnes à risque. Hellman U, Alarcon F, Lundgren HE, Suhr OB, Bonaïti-Pellié C, Planté-Bordeneuve V. Heterogeneity of penetrance in familial amyloid polyneuropathy, ATTR Val30Met, in the Swedish population. *Amyloid* 2008 ; 15 : 181-6. Bonaïti B, Alarcon F, Bonaïti-Pellié C., Planté-Bordeneuve V. Parent-of-origin effect in Transthyretin related amyloid polyneuropathy. *Amyloid* 2009 ; 16 : 149-50. Olsson M, Hellman U, Planté-Bordeneuve V, Jonasson J, Lang K, Suhr OB. Mitochondrial haplogroup is associated with the phenotype of familial amyloidosis with polyneuropathy in Swedish and French patients. *Clin Genet* 2009 ; 75 : 163-8.

**Mots-clés :** polyneuropathie amyloïde, pénétrance, mitochondrie.

**■P408. GÈNES MODIFICATEURS ET EXPRESSION DE LA DRÉPANOCYTOSE : CARACTÉRISTIQUES DES PATIENTS SUIVIS AU CENTRE DE COMPÉTENCE DE BORDEAUX**

E. Klein (1), S. Dulucq (1), C. Ged (2, 3), F. Moreau-Gaudry (2, 3), H. De Verneuil (2, 3), C. Runel (4), Y. Perel (4), M. Micheau (1, 4)

(1) Laboratoire d'Hématologie, Hôpital Pellegrin, Bordeaux, France ; (2) Laboratoire de Biochimie et Biologie Moléculaire, Hôpital Pellegrin, Bordeaux, France ; (3) INSERM U876, Université V Segalen Bordeaux2, Bordeaux, France ; (4) Centre de compétences des maladies constitutionnelles du globule rouge et de l'érythrocytose, Hôpital Pellegrin, Bordeaux, France

Contact : cecile.ged@u-bordeaux2.fr

Bien que définie par une mutation unique, la drépanocytose se présente cliniquement de manière très variable selon les sujets, sa sévérité variant de formes létales précoces à des formes beaucoup mieux tolérées. Cette variabilité d'expression de la maladie est expliquée en partie par l'action de gènes modulateurs. Ce travail a pour but de caractériser les patients atteints d'un syndrome drépanocytaire majeur, suivis au Centre de Compétence des Maladies Constitutionnelles du globule rouge de Bordeaux. À titre rétrospectif, une population de 50 patients (nourissons, enfants et adultes) suivis au Centre de Compétence a été sollicitée pour participer à cette étude. Les analyses génétiques, réalisées après obtention d'un consentement éclairé auprès des sujets majeurs ou de leurs représentants légaux pour les mineurs, sont les suivantes : – détermination du polymorphisme de restriction XmnI (-158 C>T promoteur HBG2). – détermination des haplotypes classiques (Benin, Bantu, Cameroun, Senegal/Arab Indian) par analyse des polymorphismes Hind III (gènes HBG2 et HBG1) et Hinc II (gènes HBP1 et HBD) ou des SNP de la région amont du promoteur HBG2 (-1450 A>G ; -1280 G>A ; -1225G>A). – détermination du polymorphisme de répétition du promoteur du gène UGT1A1. – recherche de la présence d'une alpha-thalassémie. Les résultats de l'analyse de ces facteurs génétiques modulateurs seront mis en parallèle avec les paramètres clinico-biologiques des patients : fréquence des crises douloureuses vaso-occlusives, manifestations neurologiques, infections, syndrome thoracique aigu, ostéonécrose, lithiase vésiculaire, rétinopathie, priapisme, nombre de grossesses, taux d'hémoglobine et de leucocytes de base, taux d'hémoglobine foetale de base, activité en G6PD, bilirubine, traitement ou non par Hydrea. Cette étude a un double objectif. Dans un premier temps, dans une attitude observationnelle, de décrire la population drépanocytaire suivie au Centre de Compétence de Bordeaux. Dans un deuxième temps, la mise en application de ces analyses génétiques en pratique de routine fournirait aux médecins du Centre de Compétence un outil pronostique précieux pour le suivi de la maladie. Chaque patient pourrait ainsi bénéficier d'une étude approfondie de son profil génétique, en vue d'une amélioration de la prise en charge et de la gestion des risques de complications de la drépanocytose.

**Mots-clés** : drépanocytose, gènes modificateurs, haplotypes.

#### ■P409. ANALYSE DU GÈNE *ABCC6* DANS UNE COHORTE DE PATIENTS DRÉPANOCYTAIRES PRÉSENTANT DES LÉSIONS ÉVOCATRICES DE PSEUDOXANTHOMÉ ÉLASTIQUE

A.L. Fauret (1, 2), E. Sbidian (3), V. Nau (1), C. Travers (1), F. Galacteros (4), X. Jeunemaitre (1, 2), A. Cosnes (3)

(1) AP-HP, Hôpital Européen Georges-Pompidou, Département de Génétique, Paris, France ; (2) Université Paris Descartes, Faculté de Médecine, Paris, France ; (3) AP-HP, Hôpital Henri Mondor, Service de Dermatologie, Créteil, France ; (4) AP-HP, Hôpital Henri Mondor, Service d'Hématologie – unité fonctionnelle : maladies génétiques du globule rouge, Créteil, France.

Contact : anne-laure.fauret@egp.aphp.fr

**Introduction.** Le pseudoxanthome élastique (PXE), affection héréditaire autosomique récessive, se caractérise par la destruction des fibres élastiques. Son expression clinique est cutanée, oculaire et cardiovasculaire. 80 % des cas de PXE sont dus à des mutations du gène *ABCC6* codant pour un transporteur membranaire, *ABCC6* ou *MRP6*, dont le rôle précis est inconnu. Dans la population drépanocytaire, un nombre notable de patients développe un PXE similaire au PXE classique. L'hypothèse la plus souvent proposée est celle d'un processus acquis de destruction des fibres élastiques par des phénomènes oxydatifs mais aucun génotypage n'a été réalisé. **Objectif.** Tester par biologie moléculaire la possibilité d'authentiques PXE chez des patients drépanocytaires avec lésions évocatrices de la pathologie. **Patients et Méthodes.** Au sein de la cohorte drépanocytaire de l'hôpital Henri Mondor, 15 patients avec lésions de PXE ont été sélectionnés par croisement de fichiers photographique (n=4), anatomopathologique (n=2) et ophtalmologique (stries angioïdes n=5, drüsens n=4). Après signature du consentement et extraction de l'ADN génomique, les 31 exons du gène *ABCC6* ont été amplifiés puis les produits PCR analysés sur un séquenceur automatique. **Résultats.** L'âge moyen des patients drépanocytaires était de 39 ans. Sept présentaient des lésions cutanées typiques de PXE avec une histologie positive pour les 5 patients testés. Un seul présentait des stries angioïdes. Les 8 autres patients avaient une atteinte oculaire isolée (stries angioïdes

n = 4, drüsens n = 4) avec une atteinte histologique cutanée pour un des 5 sujets biopsiés. L'analyse moléculaire a révélé un patient hétérozygote composite avec lésions cutanées typiques sans atteinte oculaire : p.Leu522Pro et p.Arg887Cys non décrites dans la littérature. Trois patients présentaient une mutation hétérozygote qui a déjà été rapportée : p.Arg1314Trp pour un malade avec lésions cutanées isolées et p.Leu248Phe pour deux patients avec atteinte strictement oculaire. **Discussion.** En acceptant une prévalence de la maladie de 1/25 000 avec une fréquence allélique attendue de 1/158 et une transmission récessive, l'hypothèse d'un pseudo-PXE acquis dans la population drépanocytaire ne semble pas satisfaisante au regard de la fréquence allélique retrouvée dans cette étude, 16,7 %. Nous retrouvons 4 mutations dont 3 sont hétérozygotes n'éliminant pas le diagnostic. En effet, un défaut de la technique semble peu probable (sensibilité 97 %) et d'authentiques PXE ont été décrits chez des patients hétérozygotes pour *ABCC6*. L'hétérozygotie pour *ABCC6* pourrait favoriser l'expression clinique du PXE dans cette population déjà soumise à des processus oxydatifs liés à leur hémoglobinopathie. Une analyse moléculaire sur une grande cohorte avec population témoin de même origine est nécessaire.

#### ■P410. DÉFICIT EN ALPHA-1 ANTITRYPSINE ET GÈNES MODIFICATEURS

M.F. Odou (1, 2), M. Crépin (1), L. Fruit (1, 2), G. Lalau (3), F. Zerimech (1), J. Leclerc (3), E. Crème (1), N. Porchet (1, 4, 5), M. Balduyck (1, 2) (1) Laboratoire de biochimie et biologie moléculaire, homologie métabolisme nutrition oncologie, Centre de Biologie Pathologie, CHRU, Lille, France ; (2) Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, Lille, France ; (3) Laboratoire de biochimie, toxicologie, génopathies, Centre de Biologie Pathologie, CHRU, Lille, France ; (4) Faculté de Médecine, Lille, France ; (5) IMPRT IFR 114, Centre de Recherche JP Aubert INSERM, Lille, France

Contact : marie-francoise.odou@chru-lille.fr

Le déficit en alpha-1 antitrypsine (antiprotéase codée par le gène *SERPINA1*), est une maladie génétique autosomique récessive qui se traduit par une atteinte pulmonaire de type emphysème ou BPCO (broncho-pneumopathie chronique obstructive) et parfois par des troubles hépatiques voire pancréatiques. Il existe, pour cette antiprotéase (AAT), un polymorphisme génétique important. Plus de 100 allèles différents ont été caractérisés parmi lesquels les variants PIM sont les plus fréquents dans la population caucasienne et donnent lieu à un taux circulant d'AAT et une activité antiélastasique normaux. Les variants PIS et PIZ, caractérisés par un déficit en AAT pondéral et/ou fonctionnel, sont les variants déficitaires les plus courants tandis que les variants PINuls sont caractérisés par l'absence de synthèse hépatique d'AAT. Par ailleurs, chez les sujets déficitaires, il existe encore une grande variabilité d'expression clinique, suggérant que des gènes modificateurs pourraient jouer un rôle important dans l'expression de ces pathologies. Nous avons donc recherché l'existence d'un lien entre l'expression clinique du déficit en AAT et la présence de variants alléliques sur des gènes modificateurs candidats tels ceux codant pour l'IL-10 ou le CASR (récepteur sensible au calcium). Les patients ont été répartis en quatre groupes : un groupe témoin constitué de sujets ne présentant pas de déficit en AAT (n = 28, âge moyen 44 ans), un groupe de patients atteints d'emphysème, déficitaires en AAT PIZZ (n = 20, âge moyen 57 ans), un groupe de patients atteints d'emphysème, hétérozygotes et possédant un allèle déficitaire du gène *SERPINA1* (n = 16, âge moyen 47 ans), et un groupe de sujets jeunes atteints de pancréatite chronique et pour lesquels une susceptibilité génétique est évoquée (n = 15, âge moyen 23 ans). Le séquençage, effectué sur séquenceur Applied Biosystems 3130XL, a concerné l'ensemble des exons codants du gène *SERPINA1*, le promoteur et les exons codants du gène *IL10* et un fragment de l'exon 7 du gène *CASR*. Puis une étude ciblée de 3 SNPs du promoteur de l'IL-10 a été effectuée par une technique de SNaPshot®. Ce travail pourrait permettre de montrer une association entre les variants de l'AAT et les SNPs étudiés, en relation avec la sévérité des tableaux cliniques présentés. Les résultats préliminaires ne mettent pas en évidence de différences significatives dans la répartition de la fréquence des SNPs des différents groupes mais quelques tendances apparaissent, en particulier dans le groupe des patients atteints de pancréatite chronique. Ainsi, les variants alléliques de 2 SNPs de l'IL10 et 1 SNP du *CASR* sembleraient plus fréquemment retrouvés chez les patients atteints de pancréatite chronique que dans la population témoin. Ces résultats préliminaires nous incitent à poursuivre l'étude sur un nombre de patients plus important afin de mieux comprendre les facteurs génétiques impliqués dans ces pathologies.

**Mots-clés** : déficit en alpha-1 antitrypsine, gènes modificateurs, IL 10.



#### ■P411. RECHERCHE DE GÈNES MODIFICATEURS DANS UNE FAMILLE EMERY-DREIFUSS AVEC HÉTÉROGÉNÉITÉ PHÉNOTYPIQUE

B. Granger (1, 2), L. Gueneau (3, 4), V. Drouin-Garraud (4), V. Pedergrana (3, 4), R. Ben Yaou (3, 4), S. Tezenas du Montcel (1, 2), G. Bonne (3, 4, 6)

(1) Université Pierre-et-Marie-Curie Paris 06, ER4, Modélisation en Recherche Clinique, Paris, France ; (2) Unité de Biostatistiques et Informatique Médicale, Centre Hospitalo-universitaire Pitié-Salpêtrière, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Paris, France ; (3) Inserm, U974, Paris, France ; (4) Université Pierre-et-Marie-Curie-Paris 6, UMR-S974, CNRS, UMR7215, Institut de Myologie, IFR14, Paris, France ; (5) Département de génétique Médicale, Hôpital Charles Nicolle, Rouen, France ; (6) AP-HP, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, U.F. Cardiogénétique et Myogénétique, Service de Biochimie Métabolique, Paris, France

Contact : sophie.tezenas@psl.aphp.fr

Les gènes modificateurs se définissent comme des gènes modulant l'expression phénotypique d'un autre gène. Lors de la recherche de gènes modificateurs, le phénotype d'intérêt doit être un trait quantifiable de la variabilité clinique chez les personnes porteuses de la mutation du gène majeur. La dystrophie musculaire d'Emery-Dreifuss est une maladie génétique rare, de transmission autosomique (mutations du gène LMNA) ou liée à l'X (mutations des gènes EMD et FHL1) et caractérisée par une double atteinte musculaire squelettique et cardiaque. Il est connu qu'une hétéroogénéité phénotypique existe au sein des familles porteuses de mutations dans le gène LMNA, notamment dans la sévérité et l'âge d'apparition de l'atteinte musculaire. Les sujets atteints de la famille EMD1, tous porteurs de la même mutation LMNA p.Q6X, présentent une variabilité clinique : alors que tous les sujets présentent une atteinte cardiaque survenant vers l'âge de 20 ans, certains développent une atteinte musculaire d'âge d'apparition variable. Notre objectif était de rechercher dans la famille EMD1, un ou des gènes modificateurs de l'âge d'apparition du premier trouble de la marche (premier signe d'atteinte musculaire chez les patients) en relation avec la mutation dans le gène majeur. La famille EMD1 comporte 100 individus dont 19 sont porteurs de la mutation LMNA p.Q6X. Cinquante-neuf individus ont été génotypés à l'aide de 291 marqueurs microsatellites répartis uniformément le long du génome. Nous avons utilisé une analyse conjointe de ségrégation et de liaison basée sur des chaînes de Monte Carlo Markov à sauts réversibles implémentée dans le logiciel Loki<sup>®</sup>. Nous avons mis en évidence une région de liaison en lien avec l'âge d'apparition du premier trouble de la marche localisé sur le chromosome 2 entre les marqueurs D2S143 et D2S2244 avec un odd ratio de liaison a posteriori, évalué à l'aide d'un indicateur de type « facteur Bayésien » de 36,46 (p-value empirique à 0,00512). Le logarithme du ratio de liaison a posteriori, qui compare la probabilité de liaison a posteriori sur le vrai chromosome à celle sur des chromosomes simulés sous l'hypothèse nulle d'absence de liaison, a été évalué à 3,46. La fréquence de l'allèle mineur (allèle 2) était de 20 %. Les individus homozygotes pour l'allèle mineur (2/2) présentaient une atteinte musculaire plus précoce de 4 ans (médiane) que les individus homozygotes 1/1 pour l'allèle majeur et qu'une partie des individus hétérozygotes (effet récessif de l'allèle mineur). Par ailleurs, une partie des individus hétérozygotes présentaient une atteinte musculaire très précoce (médiane : 38 ans plus tôt que les homozygotes 1/1), traduisant un effet d'overdominance de l'allèle modificateur. Actuellement, des analyses moléculaires sont en cours afin d'identifier le gène modificateur se trouvant dans la zone de liaison et afin d'élucider les mécanismes moléculaires par lesquels ils influeraient l'âge d'apparition de l'atteinte musculaire.

**Mots-clés :** analyse de ségrégation-liaison, dystrophie musculaire, gène modificateur.

#### ■P412. MALADIE DE DANON : IMPORTANTE VARIABILITÉ PHÉNOTYPIQUE AU SEIN D'UNE FAMILLE PORTEUSE D'UNE NOUVELLE MUTATION DU GÈNE LAMP2

S.-L. Cottinet (1), A.M. Bergemer-Fouquet (2), A. Toutain (3), H. Blasco (4), F. Sabourdy (5), Z. Maakaroun-Vermesse (1), T. Levade (5), A. Chanterie (6), F. Labarthe (1, 7)

(1) Service de Pédiatrie R, CHU Clocheville, Tours, France ; (2) Service d'Anatomie Pathologique, CHU Bretonneau, Tours, France ; (3) Service de Génétique, CHU Bretonneau, Tours, France ; (4) Service de Biochimie, CHU Bretonneau, Tours, France ; (5) Laboratoire de Biochimie Métabolique et INSERM U858, CHU Purpan, Toulouse, France ; (6) Service de Pédiatrie A et Cardiologie Pédiatrique, CHU Clocheville, Tours, France ; (7) INSERM U921, CHU Bretonneau, Tours, France

Contact : toutain@med.univ-tours.fr

La maladie de Danon est une maladie de surcharge lysosomale rare, liée à l'X, due à des mutations du gène codant pour la protéine LAMP2 (Lysosomal-Associated Membrane Protein-2), et associant myopathie squelettique vacuolaire, myocardiopathie hypertrophique (MCH), et retard intellectuel. Nous rapportons une famille comportant 3 frères et demi-frères et leur mère atteints de façon variable de maladie de Danon en rapport avec une nouvelle mutation. Les trois garçons avaient une myocardiopathie hypertrophique s'accompagnant de troubles de conduction mais de révélation et sévérité variables, se traduisant par un décès par troubles du rythme chez l'aîné, une insuffisance cardiaque à 5 ans chez le plus jeune et l'absence de symptômes cliniques à 15 ans chez le troisième. Ils avaient des myalgies et une faiblesse musculaire variables avec des CK et des enzymes hépatiques élevées à 2 à 3 fois la normale. Les trois avaient un retard intellectuel léger ou modéré. La mère, à 40 ans, avait une atteinte limitée à une myocardiopathie hypertrophique infraclinique avec des contractions ventriculaires prématurées. La biopsie musculaire du cas index avec étude morphologique et immunohistochimie de la protéine LAMP2 a montré des fibres atrophiques avec des vacuoles intracytoplasmiques de surcharge glycogénique et l'absence de protéine LAMP2. L'étude moléculaire du gène LAMP2 a identifié une mutation d'épissage (IVS6+1delG) aboutissant à un skipping de l'exon 6, et ségrégeant avec la maladie dans l'ensemble de la famille. Cette famille porteuse d'une nouvelle mutation du gène LAMP2 illustre la variabilité phénotypique intrafamiliale de la maladie de Danon, et l'intérêt de l'immunomarquage pour le diagnostic de cette affection.

**Mots-clés :** maladie de Danon, LAMP2, variabilité phénotypique.

#### ■P413. PUCES À FAÇON CGH POUR LA DÉTECTION DE RÉARRANGEMENTS INTRAGÉNÉTIQUES : APPLICATION AUX GÈNES DES ALPHA-DYSTROGLYCANOPATHIES

C. Bouchet (1), S. Vuillaumier-Barrot (1), A. Eude-Claye (1), E. Charluteau (1), C. Besson (1), S. Quentin (2), L. Devisme (3), C. Lebizec (1), M. Chelbi (1), P. Landrieu (4), A. Goldenberg (5), K. Maincent (6), P. Loget (7), O. Boute (8), B. Gilbert-Dussardier (9), F. Razavi (10), M. Gonzales (11), N. Seta (1)

(1) APHP, Hôpital Bichat-Claude Bernard, Biochimie Métabolique, France ; (2) APHP, Hôpital Saint-Louis, Plate-forme Génomique IUH, France ; (3) CHR-U Lille, Anatomie Pathologique, Lille, France ; (4) APHP, Hôpital de Bicêtre, Neuropédiatrie, France ; (5) CHU de Rouen, Génétique Médicale, France ; (6) APHP, Hôpital Trousseau, Neuropédiatrie, France ; (7) CHG, Anatomie Pathologique, Le Mans, France ; (8) CHR-U Lille, Génétique médicale, Lille, France ; (9) CHU La milétrie, Génétique médicale, Poitiers, France ; (10) APHP Necker, Embryologie, France ; (11) APHP, Hôpital Armand-Trousseau, Génétique et Embryologie Médicale, France. Contact : celine.bouchet@bch.aphp.fr

Les alpha-dystroglycanopathies (alpha-DGpathies) sont des dystrophies musculaires de phénotypes très variés à transmission autosomique récessive, caractérisées par une anomalie de glycosylation de l'alpha-dystroglycan, protéine centrale du complexe dystrophine au niveau musculaire et neuronal. Les patients présentent une clinique de dystrophie musculaire congénitale (DMC) avec ou sans retard mental, ou de maladie des ceintures (LGMD) avec une apparition plus tardive des symptômes. Les cas les plus sévères (syndromes de Muscle-Eye-Brain Disease-MEBD et de Walker-Warburg) sont caractérisés par une lissencéphalie de type II (LISII). Ces derniers sont classiquement diagnostiqués en anténatal par échographie, suite à la découverte de l'hydrocéphalie associée à la LISII. Au moins 6 gènes différents : POMT1, POMT2, POMGNT1, FKTN, FKR1 et LARGE sont impliqués, sans relation simple avec le phénotype clinique. Dans ces syndromes géniques hétérogènes, le type de mutations est à l'origine de la sévérité clinique. Le diagnostic moléculaire de ces pathologies est donc long et coûteux. De plus, ces gènes sont sensibles à des remaniements intragéniques qui, notamment à l'état hétérozygote, ne sont pas révélés par le séquençage classique sur ADN. Seuls le séquençage du cDNA ou l'utilisation de PCR quantitative sur chacun des exons étaient jusqu'alors mis en œuvre. Nous avons configuré une puce CGH (Agilent 8x15K) dirigée contre ces 6 gènes, pour étudier ce type de réarrangement pour les cas d'alpha-DGpathies sans mutation identifiée par séquençage classique. Nous avons ainsi identifié, chez 3 fœtus LISII, issus de deux familles distinctes, des réarrangements intragéniques du gène LARGE (3 grandes délétions emportant respectivement 45, 105 et 122 Kb et une duplication des exons 2 à 4) et, chez 2 patients MEBD, la même délétion des 4 derniers exons de POMGNT1. Ce sont les premiers cas décrits de remaniements du gène POMGNT1. De plus, nous avons confirmé la présence de deux délétions intragéniques du gène POMT2, préalablement identifiées par l'étude du cDNA, chez 2 patients DMC. Des remaniements géniques ont maintenant été décrits dans trois gènes sur les 6 impliqués dans les



alpha-Dgpathies. Les puces CGH à façon sont donc très adaptées aux gènes des alpha-DGpathies : elles permettent de compléter le séquençage des différents gènes sur ADN<sub>g</sub> par la recherche de grands remaniements intragéniques simultanément sur l'ensemble des gènes, avec un gain certain en terme de coût et de temps.

**Mots-clés :** alpha-dystroglycanopathies, dystrophie musculaire congénitale, CGH array.

**■P414. MYOTONIE DE STEINERT : CAS DE DEUX FAMILLES PRÉSENTANT UNE EXPANSION DE TRIPLETS CTG NON AMPLIFIABLE PAR TP-PCR**

V. Roth (1), C. Philippe (1), S. Pere (1), F. Mourot (1), P. Kaminsky (2), S. Louis (3), A. Trombini (4), P. Jonveaux (1)

(1) *Laboratoire de Génétique Médicale, EA 4368, CHU de Nancy, Vandœuvre-lès-Nancy, France* ; (2) *Service de médecine interne Maladies Orphelines et Systémiques, CHU de Nancy, Vandœuvre-lès-Nancy, France* ; (3) *Service de Neurologie, Hôpital Central, CHU de Nancy, France* ; (4) *Montois la Montagne, France*  
Contact : v.roth@chu-nancy.fr

La maladie de Steinert est une affection d'hérédité autosomique dominante, dont l'anomalie moléculaire correspond à une amplification d'une répétition du trinucléotide CTG, située dans la région 3' non codante du gène DM1. Le diagnostic moléculaire repose sur la détermination du nombre de triplets CTG au locus DM1. Dans les cas où la première étape de PCR classique n'a pas permis de mettre en évidence deux allèles de taille normale, une seconde analyse par TP-PCR (pour Triplet Repeat Primed PCR1.) est alors réalisée. Deux types de profils peuvent alors être obtenus : un profil « dentelé » révélateur de la présence d'un allèle pathologique et au contraire un profil « plat », caractéristique dans la majorité des cas de l'absence de grande expansion et donc d'une homozygotie pour l'allèle caractérisé par PCR classique. Cependant, des cas exceptionnels de non amplification de l'allèle muté par TP-PCR ont été décrits, rendant alors indispensable une vérification par Southern Blot de toute mise en évidence de profil plat en TP-PCR. Nous avons étudié deux familles pour lesquelles nous avons mis en évidence une amplification de triplets CTG par la technique de Southern Blot alors que les profils obtenus suite aux réactions de TP-PCR étaient soit plats (identiques à ceux observés chez un patient homozygote normal) soit atypiques avec une interruption du profil dentelé sur une cinquantaine de bases sur électrophorogramme. Nous présentons les profils de TP-PCR obtenus dans les deux familles ainsi que la description clinique des différents individus porteurs d'une répétition de triplets CTG non amplifiable par TP-PCR. L'atteinte clinique de l'ensemble des patients que nous avons caractérisé comme porteurs d'une expansion de triplets CTG non amplifiable par TP-PCR semble modérée puisque ceux-ci ne présentaient que des signes discrets voire étaient asymptomatiques. Le séquençage de la région amplifiée permettrait d'identifier si une réelle interruption des répétitions de triplets pourrait être à l'origine de ce phénomène.

**Mots-clés :** Steinert, TP-PCR, amplification.

**■P415. AMYOTROPHIES SPINALES PROXIMALES : CORRÉLATION PHÉNOTYPE GÉNOTYPE**

K. Sifi (1, 2), Y. Sifi (2, 3), N. Abadi (1, 2), A. Hamri (2, 3), C. Benlatche (1, 2)

(1) *Laboratoire de biochimie, CHU Benbadis, Constantine, Algérie* ; (2) *Laboratoire de recherche de biologie et de génétique moléculaire, Faculté de Médecine université de Constantine, Algérie* ; (3) *Service de neurologie CHU benbadis, Constantine, Algérie*  
Contact : sifikarima@yahoo.fr

Introduction : Les amyotrophies spinales ou SMA, constituent un groupe de maladies neuromusculaires le plus souvent de transmission autosomique récessive. Cliniquement il s'agit d'affections très hétérogènes définies par l'âge de début allant de la période anténatale (type I) à l'âge adulte (type IV). Depuis son identification, le gène SMN est reconnu comme le gène responsable du phénotype SMA. Il est localisé dans la région 5q11-2, 5q13-3, qui contient quatre gènes dupliqués en miroir : le gène SMN (survival motor neuron), présent en deux copies hautement similaires (la copie télomérique ou SMNt et la copie centromérique ou (SMNc), le gène NAIP (Neuronal apoptosis inhibitory protein), le gène P44 et le gène H4F5. OBJECTIFS : L'objectif de notre travail était de rapporter les caractéristiques cliniques et génétiques des patients de phénotype SMA observés dans l'Est Algérien. PATIENTS ET MÉTHODE : Notre étude est du type descriptif retro et prospective réalisée au service de neurologie et laboratoire de biochimie du CHU de Constantine de Janvier 1998 à Juillet 2008. Elle a porté sur 92 patients appartenant à 57 familles répondant tous aux

critères définis par le consortium international. L'analyse des délétions des exons 7 et 8 du gène SMN, des exons 4 et 5 du gène NAIP a été effectuée à Constantine comme décrit par Lefebvre *et al.* Résultats : 20 de nos patients étaient de type I [21,7 %], 16 de type II [17,39 %], 53 de type III [57,60 %] et 03 de type IV [3,26 %]. Nous avons noté une variabilité phénotypique intrafamiliale dans deux familles. Les délétions homozygotes des exons 7, 8 ou 7 et 8 du gène SMNt étaient observées chez 38/57 familles (66,66 %) avec respectivement 71,42 % dans le type I, 70 % dans le type II, 67,74 % dans le type III et 50 % dans le type IV. L'analyse du gène NAIP a mis en évidence des délétions homozygotes des exons 4 et 5 chez 15 familles (26,31 %) avec la répartition suivante : 4/14 patients de type I (28,57 %), 2/10 patients de type II (20 %) et 9/31 familles de type III (15,78 %). DISCUSSION : Nos résultats concordaient avec les données de la littérature et l'analyse clinique de l'ensemble de nos patients était classique en dehors de 6 patients de type I avec survie prolongée au delà de 6 ans sans recours à une ventilation assistée. La variabilité phénotypique intrafamiliale était observée dans deux familles. La fréquence globale de délétion du gène SMN semblait basse par rapport à celle observée dans de nombreuses études (Chang *et al.* ; Lefebvre *et al.* ; Brahe *et al.*) mais proche de ceux rapportés par C.A. Kim *et al.*, Thompson *et al.* et R.M. Shawky *et al.* CONCLUSION : Il nous semble pertinent de prendre en compte considérablement des familles sans délétions dans le gène SMNt, ces patients pourraient porter d'autres délétions dans d'autres exons ou des mutations ponctuelles, comme il pourrait s'agir d'une hétérogénéité génétique.

**Mots-clés :** SMA, SMN, NAIP.

**■P416. MYOPATHIES CENTRONUCLÉAIRES : STRATÉGIES DIAGNOSTIQUES ET BASES UMD SPÉCIFIQUES MTM1, DNM2 ET BIN1**

E. Schaefer (1, 2), M. Bitoun (3), D. Hamroun (4), V. Humbertclaude (4), C. Beroud (4), J.L. Mandel (1, 5), J. Laporte (5), V. Biancalana (1, 2)

(1) *Laboratoire Diagnostic Génétique, Faculté de Médecine – CHRU, Strasbourg, France* ; (2) *EA3949, Faculté de Médecine – CHRU, Strasbourg, France* ; (3) *INSERM U974 – Institut de Myologie – Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France* ; (4) *Laboratoire de Génétique Moléculaire et INSERM U827, Montpellier, France* ; (5) *IGBMC, Département de Neurobiologie et Génétique, Illkirch, France*  
Contact : valerie.biancalana@chru-strasbourg.fr

Les myopathies (myotubulaires) centronucléaires (CNM) sont caractérisées par une faiblesse musculaire associée à la présence de noyaux centrés à la biopsie sans régénération excessive. Trois formes de mode de transmission différents ont été décrites. La forme récessive liée à au chromosome X est usuellement une forme néonatale sévère due à des mutations du gène MTM1. La forme autosomique dominante, généralement peu sévère et à début tardif, est liée à des mutations du gène Dynamine 2 (DNM2). Étonnamment, DNM2 est également impliqué dans une forme de neuropathie de Charcot-Marie-Tooth autosomique dominante (CMT type 2 et intermédiaire). Récemment, des mutations dans le gène amphiphysin 2 (BIN1) ont été identifiées dans 3 familles consanguines présentant une forme modérée autosomique récessive débutant à la naissance ou dans l'enfance. Nos laboratoires sont les seuls laboratoires en France à être impliqués dans l'étude moléculaire de ces 3 gènes au titre de la recherche ou du diagnostic, dans le cadre des myopathies centronucléaires. De cette expérience et des données de la littérature, nous proposons une stratégie de diagnostic moléculaire basée sur plusieurs points : 1/ le mode de transmission 2/ les données histopathologiques 3/ les données cliniques et notamment les formes de sévérité ou de début atypiques associées à des mutations particulières 4/ le spectre mutationnel de MTM1, DNM2 et BIN1. Enfin, nos laboratoires sont promoteurs de projets de bases UMD internationales pour les 3 gènes afin de faciliter la recherche d'informations sur les aspects épidémiologiques, le spectre des mutations, la corrélation génotype-phénotype et l'histoire naturelle de la maladie. Ces données serviront deux objectifs majeurs. L'un des objectifs est l'amélioration du diagnostic moléculaire en partie pour affiner l'arbre décisionnel de l'étude des 3 gènes, mais aussi pour permettre une meilleure prédiction de l'effet pathologique de variants rarissimes, notamment dans le gène MTM1. En effet, ces bases compileront les études génomiques, ARN et protéine dispersées au niveau international, et proposeront des outils UMD de prédiction d'effet pathologique notamment pour les mutations d'épissage et les mutations faux sens. L'autre objectif de ces bases est de faciliter les études de faisabilité de diverses approches thérapeutiques et le recrutement des patients dans des essais cliniques. À cette fin, les 3 bases partageront un tronc commun de données cliniques utilisant des items harmonisés avec ceux d'autres bases UMD et TREAT-NMD de myopathie congénitale. En conclusion, dans le cadre d'un projet d'amélioration du diagnostic et de la

prise en charge pour les patients atteints de myopathies centronucléaires, nous présentons des arbres décisionnels pour faciliter le diagnostic moléculaire, ainsi que les objectifs et l'état d'avancement de bases UMD pour les gènes MTM1, DNMT2 et BIN1.

**Mots-clés :** myopathie centronucléaire, stratégie diagnostique, base UMD.

#### ■P417. DYSTROPHINOPATHIES ET PROFIL D'INACTIVATION DE L'X : À PROPOS DE 24 CONDUCTRICES SYMPTOMATIQUES À L'ÂGE PÉDIATRIQUE

S. Mercier (1), A. Toussaint (2), C. Beugnet (2), C. De Barace (3), A. Toutain (4), M. Raynaud (4), P. Marcorelles (5), Leila Lazaro (1), L. Pasquier (1), R. Ben Yaou (2), F. Leturcq (2), J. Chelly (6), I. Desguerre (6, 7)  
(1) *Service de Génétique Clinique, CHU Hôpital Sud, UMR 6061 CNRS, Université Rennes 1, Rennes, France*; (2) *Laboratoire de Génétique et de Biochimie Moléculaire, Hôpital Cochin, APHP, Paris, France*; (3) *Service de Pédiatrie, CH de Saint-Brieuc, France*; (4) *Service de Génétique Médicale, CHU Hôpital Bretonneau, Université de Tours, Tours, France*; (5) *Service d'Anatomie Pathologique, Hôpital Morvan, Brest, France*; (6) *Département de Génétique et Développement, U567, UMR8104, Institut Cochin, Paris, France*; (7) *Service de Neuropédiatrie, Hôpital Necker-Enfants Malades, APHP, Paris, France*  
Contact : sandra.mercier@chu-rennes.fr

Les dystrophies musculaires de Duchenne (DMD) et de Becker (DMB) [MIM 310200] sont des maladies liées à l'X causées par des mutations dans le gène de la dystrophine. La fréquence des conductrices symptomatiques est estimée entre 3 % et 22 % de l'ensemble des conductrices. Nous rapportons la plus grande série décrite à ce jour à propos de 24 conductrices symptomatiques à l'âge pédiatrique dont le statut a été confirmé par l'étude moléculaire du gène DMD. Dans 30 % des cas, l'atteinte musculaire s'est manifestée initialement par une intolérance à l'effort voire une forme pseudométabolique avec des épisodes de rhabdomyolyse. Globalement, la sévérité de l'atteinte musculaire squelettique est corrélée à l'âge de début des symptômes. Une atteinte cardiaque à type de cardiomyopathie dilatée a été mise en évidence chez 25 % des conductrices âgées de plus de 30 ans. Nous mettons l'accent sur l'atteinte cognitive à type de déficience mentale ou difficultés d'apprentissage qui a été constatée dans près de 30 % des cas. Une élévation du taux de CPK était présente dans 100 % des cas. Un aspect dystrophique de la biopsie musculaire, un marquage spécifique en mosaïque de la dystrophine lié à l'inactivation de l'X, ainsi qu'une diminution de la quantité de dystrophine sur le Western-Blot ont été retrouvées dans plus de 80 % des cas. L'inactivation de l'X joue un rôle fondamental dans la symptomatologie des conductrices comme cela a été démontré précédemment, mais l'interprétation des profils d'inactivation de l'X sur le sang et/ou sur le muscle reste très délicate. En effet, dans notre étude, nous avons observé quasiment la même proportion de profils aléatoires que de biais significatifs d'inactivation de l'X. À l'échelle individuelle, il n'est pas possible d'établir un pronostic fonctionnel basé sur le profil d'inactivation de l'X. Des facteurs modificateurs encore indéterminés, environnementaux ou génétiques, participent très probablement à cette variabilité phénotypique ce qui doit amener à une certaine prudence pour le conseil génétique.

**Mots-clés :** DMD, conductrices symptomatiques, inactivation de l'X.

#### ■P418. L'IMPORTANCE DE LA CONVERSION GÉNIQUE ET D'AUTRES RÉARRANGEMENTS DE NOVO DU GÈNE SMN1 DANS LE DIAGNOSTIC MOLÉCULAIRE DE L'AMYOTROPHIE SPINALE

Z. Elhaffaf (1), B. Maranda (2), L. Simard (3), R. Gagné (2), S. Bélanger (4), G. Mitchell (1), Li Fan (1)  
(1) *Service de Génétique médicale et Laboratoire de Diagnostic Moléculaire, CHU Sainte-Justine, Université de Montréal, Montréal, QC, Canada*; (2) *Service de Génétique médicale, CHUL, Québec, QC, Canada*; (3) *Department of Biochem and Med Genet, University of Manitoba, Winnipeg, Manitoba, Canada*; (4) *Service de Neurologie, CHU Sainte-Justine, Université de Montréal, Montréal, QC, Canada*  
Contact : zelhaffaf@sympatico.ca

**INTRODUCTION :** L'amyotrophie spinale (AMS 5q), maladie autosomique récessive ayant un taux de porteur d'environ 1/40, est causée dans 95 % des cas par l'absence de l'exon 7 du gène SMN1 sur le chromosome 5q12-13. Un gène paralogue voisin et quasi identique, SMN2, diffère de SMN1 par la présence d'une mutation synonyme (840C>T) qui empêche l'épissage normal. La région SMN1/SMN2 est prédisposée à des événements de conversion génique et de duplication/duplication. La détermination du nombre de copies total chez un individu n'est pas discriminative entre une position en cis ou en trans des copies SMN1 ou SMN2. Donc

on peut avoir recours à l'analyse familiale de liaison afin de déterminer le statut des individus à risque d'être hétérozygote pour un allèle délété en SMN1. Nous décrivons deux exemples où une conversion génique a été démontré par la comparaison de données haplotypiques et par l'analyse du nombre de copie du gène SMN1. **MATÉRIEL ET MÉTHODES** La méthodologie diagnostique de quantification a évolué d'une analyse de PCR quantitative dans laquelle la distinction entre SMN1 et SMN2 dépendait d'une digestion de restriction (Famille A), à une analyse par RT-PCR quantitative avec des amplifications spécifiques de SMN1 et de SMN2 (Famille B). L'analyse des haplotypes dans la région de SMN1/2 a été motivé par différentes raisons diagnostiques dans deux familles non consanguines, l'une d'origine moyen orientale (Famille A, diagnostic prénatal) et l'autre, canadienne-française (Famille B, analyse pour conseil génétique). **RÉSULTATS** Dans la famille A, dans les amniocytes on retrouvait chez le fœtus le même haplotype que celui d'une sœur atteinte. Toutefois, une copie du SMN1 était présente, confirmée par différentes techniques et suggérant un état d'hétérozygote. La grossesse a été poursuivie et l'enfant est maintenant en bonne santé. Dans la famille B, l'analyse du nombre de copie ne permettait pas de déterminer le statut d'un frère non-atteint du probant. L'analyse haplotypique des parents et de la fratrie a révélé un haplotype identique chez le probant (SMN1:SMN2, 0:3) et chez un autre frère non-atteint (SMN1:SMN2, 1:2). **CONCLUSION** La conversion génique doit être considérée dans l'amyotrophie spinale 5q. Elle peut être critique pour le diagnostic moléculaire. Une discordance entre l'analyse haplotypique et l'analyse du nombre de copie SMN1 peut témoigner d'un phénomène de conversion génique ou d'un autre réarrangement génomique spontanée dans cette région. Pour cette raison, l'analyse diagnostique de l'AMS 5q par liaison doit être interprétée avec précaution.

**Mots-clés :** diagnostic moléculaire, amyotrophie spinale, conversion génique.

#### ■P419. MUTATIONS DANS LE GÈNE LPINI : UNE CAUSE MAJEURE DE RHABDOMYOLYSE SÈVÈRE DU JEUNE ENFANT

C. Michot (1), L. Hubert (1), M. Brivet (2), M. Jeanpierre (3), L. De Meirleir (4), R. Horvath (5, 6), P. Chinnery (6), A. Munnich (1), O. Elpeleg (7), Y. De Keyzer (1), P. De Lonlay (1)  
(1) *INSERM U-781, Université Paris-Descartes et Centre de Référence des Maladies Métaboliques, Paris, France*; (2) *Service de Biochimie, Hôpital du Kremlin-Bicêtre, France*; (3) *Département de Biochimie, Université Paris Descartes, Paris, France*; (4) *Neuropédiatrie – Maladies Métaboliques, Bruxelles, Belgique*; (5) *Friedrich-Baur-Institut, Universität Ludwig-Maximilians, Munich, Allemagne*; (6) *Mitochondrial Research Group, Institute for Aging and Health, Université de Newcastle, Newcastle upon Tyne, UK*; (7) *Département de Génétique et Maladies Métaboliques, Hadassah – Hebrew University Medical Center, Jerusalem, Israel*  
Contact : pascalle.delonlay@nck.aphp.fr

Les rhabdomyolyses récurrentes de l'enfant correspondent à la destruction de fibres musculaires striées squelettiques, dont la principale cause est un défaut d'oxydation des acides gras (OAG). La moitié des cas restent cependant sans cause identifiée. Récemment, le gène lipine 1 (LPIN1) a été impliqué comme une nouvelle étiologie de rhabdomyolyse, de transmission récessive autosomique. Nous avons étudié le gène LPIN1 dans une cohorte de 24 patients ayant présenté, depuis la petite enfance, un ou plusieurs épisodes de rhabdomyolyse sévère (créatine phosphokinase = CPK > 10 000 UI/L), et pour lesquels un déficit de l'OAG, une glyco-génose et une dystrophinopathie ont été éliminés. Les 24 patients (17 Eurocauciens, 6 Africains et 1 Asiatique) ont un examen clinique normal et un taux de CPK normal ou subnormal en dehors des accès, excepté un patient présentant un déficit musculaire modéré. Deux mutations du gène LPIN1 ont été identifiées chez 50 % de nos patients. Aucune mutation de novo n'a été observée. 7/12 patients mutés, tous Caucasiens, sont porteurs, à l'état homozygote (2/7) ou hétérozygote composite (5/7), d'une délétion récurrente emportant les exons 18 et 19 sur ADN complémentaire. L'étude de l'ADN génomique par PCR long range a confirmé l'existence d'un allèle plus court par rapport aux contrôles. Les 7 patients porteurs de la délétion présentent les mêmes points de cassure (du nucléotide +3371 de l'intron 17 au nucléotide +779 de l'intron 18, à 33 nucléotides en 5' de l'exon 19) et possèdent un haplotype commun de marqueurs microsatellites dans une petite région entourant la délétion. Ces résultats sont évocateurs d'un effet fondateur ancien. La fréquence de 50 % de mutations dans notre cohorte et l'existence d'une délétion récurrente de diagnostic rapide (PCR long range) incite à rediscuter la hiérarchie des investigations à réaliser devant les rhabdomyolyses sévères du petit enfant. Nous proposons que l'étude de LPIN1 soit réalisée après l'exclusion d'un déficit de l'OAG, mais avant toute biopsie musculaire, qui reste un acte invasif.

**Mots-clés :** rhabdomyolyse, lipine 1, effet fondateur.



#### ■P420. ASPECTS CLINIQUES ET MOLÉCULAIRES AU COURS DE L'AMYOTROPHIE SPINALE INFANTILE : ÉTUDE DE 12 PATIENTS DU SUD TUNISIEN

N. Belguith (1, 2), H. Kamoun (1, 2), B. Ben Rhouma (1), I. Chabchoub (3), F. Kamoun (4), R. Keskes (1), C.H. Triki (4), M. Hachicha (3), F. Fakhfakh (1)

(1) *Laboratoire de Génétique Moléculaire Humaine, Faculté de Médecine de Sfax, Tunisie* ; (2) *Service de Génétique Médicale, Hôpital Hédi Chaker, Sfax, Tunisie* ; (3) *Service de Pédiatrie Hôpital Hédi Chaker, Sfax, Tunisie* ; (4) *Service de Neurologie de l'enfant et de l'adolescent, Hôpital Hédi Chaker, Sfax, Tunisie*

Contact : [hassen.kamoun@rns.tn](mailto:hassen.kamoun@rns.tn)

L'amyotrophie spinale (AMS) est une maladie neuromusculaire, à transmission autosomique récessive. Elle est due à la dégénérescence du motoneurone de la corne antérieure de la moelle épinière. Le type I ou maladie de Werdnig-Hoffman est la forme fatale débutant avant l'âge de six mois. Le gène SMN responsable de l'AMS est localisé sur le chromosome 5 en 5q12-q13, dans une région dupliquée. 95 % des anomalies génétiques de l'AMS sont dues à la délétion des exons 7 et/ou 8 de sa copie télomérique (SMN1). Nous rapportons 12 patients présentant une hypotonie, un retard ou une régression des acquisitions psychomotrices et ayant à l'examen une abolition des réflexes. L'âge de début variant de 1 à 6 mois. Les données électromyographiques en faveur d'une atteinte neurogène ont fait suspecter l'AMS type I. Un seul patient est encore vivant et âgé de 2ans et demi ; il présente un retard psychomoteur sans troubles respiratoires. Les autres patients sont décédés dans un tableau d'insuffisance respiratoire au bout de quelques mois. Après extraction de l'ADN génomique à partir des prélèvements sanguins, une amplification par PCR moyennant des amorces flanquants les exons 7 et 8 du gène SMN a été réalisée suivie d'une digestion enzymatique *via* les enzymes de restriction DraI et DdeI respectivement. Nos résultats ont confirmé la délétion des deux exons 7 et 8 de la copie télomérique chez 10 patients et de l'exon 7 uniquement chez les deux autres. Ces données offrent ainsi un grand intérêt pour le diagnostic, soulignant le rôle important de l'électromyogramme, et permettant de donner un conseil génétique et de proposer à temps un diagnostic prénatal. D'autre part nous constatons l'absence de corrélation génotype phénotype déjà rapportée dans la littérature. De plus nous confortons l'idée que la délétion de l'exon 7 à elle seule peut engendrer le phénotype grave. Par ailleurs le phénotype modéré que présente l'un de nos patients, présentant la délétion des deux exons, peut s'expliquer par un nombre de copies SMN2 élevé pouvant jouer un rôle dans la modulation de l'expression clinique ; hypothèse à vérifier en perspectives.

**Mots-clés** : amyotrophie spinale infantile, gène SMN, corrélation génotype phénotype.

#### ■P421. DOMINANT AND RECESSIVE MUTATIONS CAUSING EARLY ONSET COLLAGEN VI-RELATED MUSCLE DISORDERS WITH VARIABLE SEVERITY: CORRELATION WITH TRANSCRIPT STABILITY AND CLINICAL PHENOTYPE

L. Briñas (1), P. Richard (2, 3), S. Quijano-Roy (1, 4), C. Gartioux (1), C. Ledeuil (2, 3), S. Makri (5), A. Ferreira (4, 6, 7), S. Maugen (8), H. Topaloglu (9), G. Haliloglu (9), I. Pénisson-Besnier (10), P.-Y. Jeannot (11), L. Merlini (12, 13), C. Navarro (14), A. Toutain (15), D. Chaigne (16), I. Desguerre (17, 18), C. de Die-Smulders (19), M. Dunand (20), B. Echenne (21), B. Eymard (7), T. Kuntzer (20), K. Maincent (22), M. Mayer (22), G. Plessis (23), F. Rivier (21), F. Roelens (24), T. Stojkovic (1, 7), A.L. Taratuto (25), F. Lubieniecki (26), S. Monges (27), C. Tranchant (28), L. Viollet (4, 29), N.B. Romero (1), B. Estournet (4), P. Guicheney (8), V. Allamand (1)

(1) *Inserm U974-UPMC Paris 6 UMR\_S974-CNRS UMR7215-Institut de Myologie, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France* ; (2) *Inserm US956, CHU Pitié-Salpêtrière, Paris, France* ; (3) *AP-HP, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, UF Cardiogénétique et Myogénétique, Service de Biochimie Métabolique, Paris, France* ; (4) *AP-HP, Service de Pédiatrie, Centre de Référence Maladies Neuromusculaires (GNMH) Hôpital Raymond-Poincaré, Garches, France* ; (5) *Service de Neurologie, Établissement Hospitalier Spécialisé Ali Ait Idir, Alger, Algeria* ; (6) *Inserm U787-Institut de Myologie, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France* ; (7) *Centre de Référence Neuromusculaire Paris-Est, Institut de Myologie, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France* ; (8) *Inserm US956, CHU Pitié-Salpêtrière, Paris, France* ; (9) *Section of Neurology, Department of Paediatrics, Hacettepe Children's Hospital, Ankara, Turkey* ; (10) *Centre de Référence Maladies Neuromusculaires, Département de Neurologie, Centre Hospitalier Universitaire, Angers, France* ; (11) *Unité de Neuropédiatrie, CHUV – BH11, Lausanne, Switzerland* ;

(12) *Laboratorio di Miologia, Servizio di Genetica Medica Ospedale S. Anna, Ferrara, Italy* ; (13) *Laboratorio di Biologia, IOR-IRCCS, Bologna, Italy* ; (14) *Servicio de Anatomía Patológica, Hospital Meixoeiro, Complejo Hospitalario Universitario de Vigo (CHUVI), Vigo, Spain* ; (15) *Service de Génétique, Centre Hospitalier Universitaire Bretonneau, Tours, France* ; (16) *Clinique Sainte-Odile, Strasbourg, France* ; (17) *APHP, Département de Neuropédiatrie, Centre de référence des maladies neuromusculaires « Garches-Necker-Mondor-Hendaye », Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France* ; (18) *Département de Neurosciences, Équipe 10, Inserm U841, Institut Mondor de recherche biomédicale, Paris XII, Créteil, France* ; (19) *Department of Clinical Genetics, University Hospital Maastricht, Maastricht, The Netherlands* ; (20) *Unité Nerf-Muscle, Service de Neurologie, BH07/309, Centre Hospitalier Universitaire Vaudois, Lausanne, Switzerland* ; (21) *CHU Montpellier, Service de Neuropédiatrie-Centre de référence Maladies Neuromusculaires Grand Sud Ouest, Hôpital Gui de Chauliac, Montpellier, France* ; (22) *Hôpital Armand-Trousseau, Service de Neuropédiatrie, Consultation Maladies Neuromusculaires, Paris, France* ; (23) *Service de génétique médicale, DGR, CHU Clémenceau, Caen Cedex 9, France* ; (24) *Dominiek Savio Instituut Gits, Roeselare, Belgium* ; (25) *Department of Neuropathology/FLENI, Institute for Neurological Research, Buenos Aires, Argentina* ; (26) *Department of Pathology, Garrahan National Pediatric Hospital, Buenos Aires, Argentina* ; (27) *Department of Neuropediatrics, Garrahan National Pediatric Hospital, Buenos Aires, Argentina* ; (28) *Service de Neurologie, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France* ; (29) *Inserm U781, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France*  
Contact : [l.brinas@institut-myologie.org](mailto:l.brinas@institut-myologie.org)

**Objective** : Ullrich Congenital Muscular Dystrophy (UCMD), caused by mutations in the genes encoding collagen VI (COL6), is the archetype of early onset COL6-related myopathies. The great heterogeneity of clinical severity and molecular spectrum complicates the diagnosis and the establishment of genotype-phenotype correlations. Here we extensively characterized, at the clinical, cellular and molecular levels, 49 patients classified according to the severity and progression of their symptoms in order to infer genotype-phenotype correlations. **Methods** : Patients were classified in three groups : early severe (18 %), moderate progressive (53 %) and mild (29 %). COL6 secretion was analyzed on patient-derived skin fibroblasts. Chain-specific transcript levels were quantified by RT-PCR, and mutation screening was performed by sequencing of cDNA. **Results** : COL6 secretion was altered in all but one fibroblast cultures studied. We identified 56 mutations, mostly novel, private, and dominant *de novo*. We showed that mutations causing premature termination codons (PTC) or in-frame insertions strikingly destabilize the corresponding transcripts. Homozygous PTC-causing mutations in the triple helix domains led to the most severe phenotypes (ambulation never achieved). Dominant *de novo* splice mutations leading to in-frame exon skipping also cause severe clinical phenotypes (loss of ambulation at about 10 years). **Interpretation** : This work emphasizes the complexity of the diagnosis of early onset COL6-related myopathies, and demonstrates that quantitative RT-PCR is a helpful tool for the identification of the mutation-bearing genes in the case of PTCs or in-frame insertions. Some genotype-phenotype correlations clearly appeared, providing important clues for the diagnosis and management of patients and the development of future clinical trials.

**Mots-clés** : collagène VI, matrice extracellulaire, corrélation génotype-phénotype.

#### ■P422. DYSTROPHINOPATHIES : UN DÉFAUT PEUT EN CACHER UN AUTRE !

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

(1) *Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHU Montpellier, Montpellier, France* ; (2) *INSERM U827, Montpellier, France* ; (3) *Université Montpellier I, Montpellier, France*

Contact : [p-khau\\_van\\_kien@chu-montpellier.fr](mailto:p-khau_van_kien@chu-montpellier.fr)

Le diagnostic moléculaire des dystrophies musculaires de Duchenne et de Becker (DMD/B) est particulièrement complexe du fait de la grande taille du gène DMD, de la grande diversité des lésions moléculaires et de leurs effets sur l'expression du gène. Le choix des stratégies mises en œuvre tient compte de différents paramètres dont la connaissance approfondie du spectre de mutations, de leurs fréquences et du pedigree (cas sporadique/familial). Dans les situations de cas apparemment sporadiques, le dosage de créatine phosphokinase (CK) chez les apparentés est utile à l'analyse du pedigree. Nous rapportons ici 5 cas où la connaissance du défaut génétique a été essentielle pour clarifier la situation diagnostique, le statut des différentes apparentées de la famille et formuler un conseil génétique fiable. – Cas n° 1 : cas sporadique, décédé de myopathie de Duchenne



(DMD) sans prélèvement disponible. Dans cette famille, la tante maternelle du cas index présente des CK élevées (trois dosages indépendants et absence de facteur élévateur favorisant connu). Ceci oriente vers une transmission familiale et indique que la mère du cas index est par extension conductrice obligatoire. L'étude d'haplotypes des deux sœurs nous montre qu'elles sont génoïdiques au locus dystrophine. Pourtant une mutation non-sens identifiée chez la mère du cas index n'est pas retrouvée sur le prélèvement de la tante. La cause de l'élévation des CK chez cette apparentée reste indéterminée. – Cas n° 2 : survenue d'une dystrophie musculaire congénitale mérosine négative (DMC1A) dans un pedigree présentant deux cas de DMD. La détermination des mutations dans le gène LAMA2 a permis de redresser le diagnostic initial, faussement orienté vers une DMD compte tenu de l'histoire familiale. – Cas n° 3 et 4 : survenue dans un même pedigree de deux mutations indépendantes dans le gène DMD (deux familles non apparentées). – Cas n° 5 : cardiomyopathie mitochondriale de révélation néonatale révélant une DMD chez un nourrisson. Une élévation importante des CK est découverte chez un nourrisson consanguin présentant un ventricule gauche non compacté et une décompensation cardiaque. L'analyse d'une biopsie de muscle objective un déficit de la chaîne respiratoire mitochondriale et un déficit total en dystrophine. L'analyse du gène DMD a permis de mettre en évidence une mutation non-sens héritée de la mère. Toutefois, le conseil génétique ne peut être formulé que pour la DMD dans cette famille dans l'attente du défaut moléculaire responsable de la cardiopathie mitochondriale. Ces données illustrent l'importance de réaliser des analyses exhaustives dans chaque famille ; chaque apparenté et chaque cas doivent être génotypés afin de sécuriser le diagnostic, d'aboutir à une prise en charge adaptée des patients et à un conseil génétique fiable.

**Mots-clés :** dystrophine, pièges diagnostiques, conseil génétique.

#### ■P423. RECHERCHE DE MUTATION DANS LE GÈNE THAP1 (LOCUS DYT6) DANS UNE SÉRIE DE 117 PATIENTS ATTEINTS DE DYSTONIE PRIMAIRE

F. Clot (1), D. Grabli (2, 3), P. Burbaud (4), P. Damier (5), P. Krystkowiak (6), A. Mendes (7), P. Pollak (8), C. Sãn (1), E. Roze (2), M. Vidailhet (2, 3), A. Durr (1, 3), A. Brice (1, 3)

(1) AP-HP, Département de Génétique et Cytogénétique, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France ; (2) AP-HP, Département de Neurologie, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France ; (3) CRICM INSERM UMR975, Paris, France ; (4) Service de Neurophysiologie Clinique, CHU de Bordeaux, Pessac, France ; (5) CHU Nantes, INSERM, CIC0004, Nantes, France ; (6) Service de Neurologie, CNRS UMR 8160, CHU d'Amiens, France ; (7) Hospital Geral Santo Antonio, Porto, Portugal ; (8) Service de Neurologie, CHU de Grenoble, France  
Contact : fabienne.clot@pnl.aphp.fr

La dystonie est une maladie rare, caractérisée par des contractions musculaires involontaires et prolongées. C'est une maladie très hétérogène sur le plan clinique et génétique. Récemment des mutations du gène THAP1, au locus DYT6, codant pour la protéine « thanatos associated protein », ont été identifiées dans les dystonies primaires de transmission autosomique dominante avec une pénétrance réduite de 60 %. À ce jour 12 mutations ont été rapportées dans la littérature. Il s'agit de mutations faux-sens ou de délétions entraînant la prédiction d'un codon stop prématurée de la protéine. Les dystonies décrites sont fréquemment généralisées et débutent au niveau des muscles brachiaux, cervicaux ou céphaliques. La moyenne d'âge de début des premiers symptômes est de 13 ans. Afin de préciser le spectre clinique des patients porteurs de mutations du gène THAP1, nous avons séquencé le gène dans une série de 117 patients dont 22 avec une histoire familiale de dystonie, d'origine caucasienne et exclus pour le gène DYT1. Ces patients présentaient des dystonies généralisées, segmentaires ou focales et avaient débutés leurs premiers symptômes avant 26 ans. Nous avons identifiés 5 patients porteurs de nouvelles mutations. Deux mutations sont des mutations faux sens (p.Ser6Pro et p.Leu72Arg) et 3 sont des délétions entraînant soit la perte d'un acide aminé très conservé (p.Asn69del), soit l'apparition d'un codon stop (p.Ala71GluX23 et Arg146AspX9). Excepté la mutation Arg146AspX9, présente dans le signal de localisation nucléaire, les autres mutations sont localisées dans le domaine de liaison à l'ADN, comme la plupart des mutations identifiées dans la littérature. Parmi ces 5 cas index porteurs d'une mutation du gène THAP1, 3 n'ont pas d'histoire familiale de la maladie et 2 cas sont familiaux. Au total, 6 patients sont porteurs d'une mutation. L'âge de début moyen de la maladie est de 14 ans +/- 4,7 (9 à 20 ans) et le premier symptôme le plus fréquemment présent est une dystonie cervicale (4/6). Le type de dystonies observées sont soit généralisées (4), soit segmentaires (1), soit focales (1). Les parties du corps les plus touchées sont le cou et/ou les membres supérieurs (5/6), le larynx et/ou les membres inférieurs (4/6).

D'autre part, 2 patients sur 6 présentent des myoclonies. Les patients sans mutation ont un âge moyen de début de la maladie similaire aux patients mutés (12,5 vs 14 ans). En revanche, seulement 29 % des patients sans mutation ont débuté leurs premiers symptômes au niveau du cou. Dans notre série de patients, seulement 4 % sont porteurs d'une mutation du gène THAP1. L'expressivité de la maladie est variable, allant d'une dystonie focale à une dystonie généralisée. La dystonie débute dans la partie supérieure du corps (en particulier le cou) chez l'adolescent ou le jeune adulte. Enfin, la recherche de mutations dans les cas apparemment sporadiques ne doit pas être écartée.

**Mots-clés :** dystonie, DYT6, THAP1.

#### ■P424. RECHERCHE DE DUPLICATION DU GÈNE LAMIN B1 DANS UNE COHORTE DE 70 PATIENTS PRÉSENTANT UNE LEUCODYSTROPHIE DE CAUSE INDÉTERMINÉE DE DÉBUT ADULTE (ADLD)

E. Eymard-Pierre (1, 2), P. Labauge (3), P. Vago (1), J.L. Venaise (4), S. Vukusic (5), C. Confavreux (5), O. Dereeper (6), M. Clanet (7), O. Boespflug-Tanguy (2, 8)

(1) Laboratoire de cytogénétique médicale, Clermont-Ferrand, France ; (2) INSERM UMR 931 CNRS 6647 Clermont University, GRdD, Clermont-Ferrand, France ; (3) Service de Neurologie, CHU de Nîmes, France ; (4) Service de Neurologie, CHU d'Angoulême, France ; (5) Service de Neurologie, CHU de Lyon, France ; (6) Service de Neurologie, CHU de Calais, France ; (7) Service de Neurologie, CHU de Toulouse, France ; (8) Service de Neuropédiatrie, Hôpital Robert-Debré, Paris, France  
Contact : e\_pierre@chu-clermontferrand.fr

Les maladies génétiques, touchant primitivement et préférentiellement la substance blanche du système nerveux central (SNC) ou leucodystrophies, représentent un groupe très hétérogène de maladies « rares ». Les nombreuses formes sans marqueur biochimique ont bénéficié de l'identification de plus d'une dizaine de gènes mais l'expression phénotypique de ces différentes mutations reste encore mal connue en particulier chez l'adulte. Des duplications contenant une région comprenant le gène lamin B1 (LMNB1), ont été décrites comme étant à l'origine d'une forme de leucodystrophie autosomique dominante démyélinisante de début adulte (LADA) ou ADLD (Adult-onset autosomal dominant leukodystrophy) [Padiath et al., 2006]. Le début se situe classiquement dans la quatrième ou cinquième décennie par des signes cérébello-spastiques associés à des troubles dysautonomiques (dysurie en particulier). L'existence d'une démyélinisation confluyente du SNC peut chez certains patients faire porter le diagnostic de forme chronique progressive de sclérose en plaques (SEP). Nous avons recherché une duplication du gène de la lamin B1 dans une cohorte de 70 patients présentant un phénotype d'ADLD par une technique de PCR quantitative multiplex fluorescente (QMPSF). Cette quantification génique explore les exons 2 et 4 du gène lamin B1 en parallèle avec deux gènes contrôles l'un situé sur le chromosome X (contrôle du sexe) et l'autre sur l'exon 4 du gène CFTR (gène pour la normalisation dans le calcul des ratios). Une duplication du gène lamin B1 a été mise en évidence chez 5 patients, 3 étant des formes sporadiques et 2 patients appartenant à la même famille (mère et fils). Deux groupes phénotypiques se dégagent à la fois chez les patients porteurs d'une duplication lamin B1 et ceux sans duplication : un groupe avec un tableau clinique et IRM de leucodystrophie (paraparésie spastique et ataxie d'évolution progressive, atteinte symétrique en IRM de la substance blanche) et un autre groupe avec un tableau clinique, biologique et IRM de pseudo SEP. Au total, les ADLD représente un groupe clinique et génétique très hétérogène. Les duplications du gène lamin B1 y sont rarement retrouvés (environ 7 % des cas). Les patients dupliqués n'ont pas de spécificité phénotypique permettant de les individualiser des patients non dupliqués.

**Mots-clés :** leucodystrophie, duplication, lamin B1.

#### ■P425. SYNDROME DE MOHR-TRANEBJAERG DANS UNE FAMILLE ANTILLAISE

M. Lackmy Port-Lis (1), H. Bataille (2), D. Bouamama (2), A. Verloes (3)  
(1) Unité de Génétique Médicale, CHU Pointe à Pitre-Abymes, Guadeloupe ; (2) Service de Pédiatrie, CHU Pointe à Pitre-Abymes, Guadeloupe ; (3) Département de Génétique, AHP-Hôpital Robert DEBRÉ, Paris, France

Contact : alain.verloes@rdb.aphp.fr

Le syndrome de Mohr-Tranebjaerg (MTS) ou Deafness-Dystonia Syndrome (DDS) est une maladie neurodégénérative récessive liée à l'X, débutant par une surdité neurosensorielle apparaissant dans l'enfance, généralement avant 10 ans. Elle se complique progressivement de dystonie, de troubles du comportement, de troubles visuels et d'une régression ou d'un



retard mental. L'évocation du diagnostic de MTS chez un garçon de 10 ans d'origine afro-caribéenne nous a conduits à étudier sa famille. Trois sujets symptomatiques ont été identifiés : le garçon de 10 ans et ses 2 oncles maternels âgés de 34 et 41 ans. L'enfant est décédé à 13 ans dans un tableau de dystonie généralisée et sévère avec complication asphyxique. Une nouvelle mutation faux-sens Trp44Cys du gène TIMM8A a été identifiée chez les 3 sujets atteints. La perte de fonction du gène TIMM8A (Translocase of Inner Mitochondrial Membrane 8A), situé en Xq22, entraîne un dysfonctionnement indirect de la chaîne respiratoire mitochondriale. En 2007, onze mutations étaient rapportées dans 15 familles. La variabilité phénotypique au sein d'une même famille est rapportée dans la littérature. Les facteurs de cette variabilité pourraient être d'ordre environnemental, ou liés à une hérédité de type oligogénique ou en rapport avec une interaction entre les différentes protéines interagissant au sein de la membrane mitochondriale.

**Mots-clés** : surdité, TIMM8A.

#### ■P426. NOUVELLE MUTATION P.GLU810X DANS LE GÈNE *ATP7B* RESPONSABLE DE LA MALADIE DE WILSON DANS UNE FAMILLE TUNISIENNE

R. Bhourri (1), M. Gribaa (1), N.S. Abroug (2), A. Mili (1), I. Ben Charfeddine (1), D. H'mida (1), L. Adela (1), O. Mamai (1), T. Belazreg (1), M. Bost (3), A. Saad (1)

(1) *Laboratoire de Cytogénétique, de Génétique Moléculaire et de Biologie de la Reproduction Humaines, CHU Farhat Hached, Sousse, Tunisie*; (2) *Service de Pédiatrie, CHU Sahloul, Sousse, Tunisie*; (3) *Centre de Biologie et Pathologie Est – Laboratoire de Neurogénétique Moléculaire et Réseau des Maladies Héréditaires du Métabolisme, Centre de Biologie et Pathologie, Bron, France*

Contact : r.bhourri@gmail.com

La maladie de Wilson est une maladie génétique caractérisée par une accumulation toxique de cuivre dans le foie et le système nerveux central. C'est une maladie héréditaire rare à transmission autosomique récessive en rapport avec la mutation du gène *ATP7B*. Le gène *ATP7B* est localisé sur le chromosome 13 en 13q14.3. Il code pour l'ATPase 7B qui est un transporteur de cuivre. La perte de sa fonction est à l'origine d'une accumulation de cuivre. Environ 320 mutations ont été décrites dont les plus récurrentes sont la H1069Q et la R778L avec une fréquence notable d'hétérozygotes composites. Nous avons étudié dans notre service le cas de trois sœurs âgées de 11, 17 et 26 ans originaire de Sousse en Tunisie. Elles sont issues de parents consanguins et présentent des manifestations cliniques et biologiques évocatrices de la Maladie de Wilson. Le séquençage direct des 21 exons du gène *ATP7B* chez les trois sœurs a retrouvé une mutation homozygote ; c.2428G>T (p.Glu810X), de l'exon 9 du gène *ATP7B*. Cette mutation n'a jamais été décrite dans la littérature. L'étude de cette mutation sur 200 témoins n'a pas retrouvé de polymorphisme. Le séquençage direct de l'ADN génomique des parents a retrouvé la mutation p.Glu810X à l'état hétérozygote chez les deux parents. Ce diagnostic a été confirmé par la suite grâce à l'analyse d'haplotypes réalisés à l'aide des marqueurs microsatellites D13S296, D13S301, D13S314 et D13S4736. Différentes mutations de l'exon 9 sont fréquemment décrites en Europe méditerranéenne mais nullement rapportées dans la région de l'Afrique du nord ni du Moyen Orient. Une nouvelle mutation s'ajoute donc aux 320 mutations décrites pour le gène *ATP7B* responsable de la maladie de Wilson et devrait être ciblée par l'analyse moléculaire des patients atteints et de leurs familles notamment dans la région méditerranéenne et nord Africaine.

**Mots-clés** : Wilson, *ATP7B*, mutation.

#### ■P427. INSERTION DE NOVO D'UNE SÉQUENCE LINE-1 DANS LE GÈNE *ATP7A* CHEZ UN PATIENT ATTEINT DE MALADIE DE MENKES

M.P. Moizard (1, 2), N. Ronce (1, 2), B. Dessay (1), N. Marmin (1), A. Mallet (3), D. Heron (3), N. Horn (4), M. Raynaud (1, 2)

(1) *Service de Génétique, CHRU, Tours, France*; (2) *INSERM U 930, Tours, France*; (3) *Département de Génétique, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France*; (4) *Kennedy Center, Glostrup, Danemark*

Contact : mp.moizard@chu-tours.fr

Les mutations de la séquence codante du gène *ATP7A* sont à l'origine de la maladie de Menkes, pathologie sévère du métabolisme du cuivre de transmission récessive liée à l'X, dont l'incidence est estimée à 1/250 000 naissances. La pathologie se caractérise cliniquement dès les premiers mois de vie par un retard de croissance et une détérioration neurologique progressive associés à un aspect caractéristique de la peau et des cheveux. Sur le plan biologique, le dosage du cuivre sérique et de la céruloplasmine

montre des taux effondrés. Le décès survient dans la majorité des cas avant l'âge de 3 ans. Les mutations à l'origine de la pathologie rapportées à ce jour sont essentiellement des mutations ponctuelles, de tout type, ainsi que des réarrangements impliquant un à plusieurs exons du gène. Quelques anomalies chromosomiques ont également été décrites. Nous décrivons ici le cas d'un patient atteint de maladie de Menkes et porteur de l'insertion *de novo* d'une séquence d'environ 490 pb, survenue dans l'exon 9 du gène. L'élément inséré correspond à la partie 3'd'un rétrotransposon de type LINE-1 (Long-interspersed-element-1) incluant une partie de la queue poly(A) et orienté dans l'antisens par rapport au gène *ATP7A*. L'insertion génère la duplication d'un site cible de 16 nucléotides, caractéristique de ce type d'évènement. Nous rapportons pour la première fois l'insertion d'un élément LINE-1 dans le gène *ATP7A* comme mutation causale chez un patient atteint de maladie de Menkes. Ce résultat élargit le spectre des mutations déjà décrites dans cette pathologie.

**Mots-clés** : *ATP7A*, Maladie de Menkes, LINE-1.

#### ■P428. LES GÈNES *CACNA1A* ET *ATP1A2* SONT FRÉQUEMMENT MUTÉS DANS LA MIGRAINE HÉMIPLÉGIQUE SPORADIQUE À DÉBUT PRÉCOCE

F. Riant (1, 2, 4), A. Ducros (2, 3, 4), C. Ploton (1), C. Barbance (1), C. Depienne (5, 6), E. Tournier-Lasserre (1, 2, 4)

(1) *Laboratoire de Génétique moléculaire, Hôpital Lariboisière, Paris, France*; (2) *INSERM U 740, Paris, France*; (3) *Service de Neurologie, Hôpital Lariboisière, Paris, France*; (4) *CERVCO, APHP, Hôpital Lariboisière, Paris, France*; (5) *Département de Génétique, Cytogénétique et Embryologie, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France*; (6) *INSERM UMR S 679 Neurologie & Thérapeutique Expérimentale, GH Pitié-Salpêtrière, Paris, France*

Contact : florence.riant@lrp.aphp.fr

Introduction : La migraine hémiplégique est un rare type de migraine avec aura qui peut se présenter sous forme familiale (MHF) ou sporadique (MHS). L'analyse des gènes de la MHF dans de précédentes séries de MHS a mis en évidence une faible proportion de patients mutés. Objectif : analyser les gènes de la MH chez des patients présentant une forme sporadique à début précoce (avant 16 ans). Patients et méthode : 25 patients caucasiens ont été inclus. Chacun d'eux ainsi que leurs 2 parents ont été prélevés. L'âge moyen au moment du diagnostic était de  $14,7 \pm 8,2$  et l'âge moyen de la 1<sup>re</sup> crise de migraine hémiplégique était de  $7,5 \pm 3,5$ . Le séquençage de *CACNA1A* et *ATP1A2* a été réalisé chez chaque proband et les variants identifiés ont été recherchés chez les parents respectifs. *SCN1A* a été séquencé chez les patients sans mutation *de novo* dans *CACNA1A* ou *ATP1A2*. Résultats : Vingt trois différents variants ont été identifiés chez 23 patient (92 %) dont 18 nouveaux. Ces variants sont apparus *de novo* chez 19 patients (76 %), ce qui est en faveur de leur caractère délétère. L'analyse du gène *SCN1A* n'a pas mis en évidence de mutation. Sur les 23 patients mutés, 6 avaient une MHF pure et 17 avaient une FHM associée à des signes neurologiques de type ataxie, épilepsie ou difficultés intellectuelles. Conclusion : l'analyse des gènes FHM est indiquée dans les cas à début précoce, en particulier en présence de signes neurologiques associés. L'identification de 14 nouvelles mutations *de novo* est d'autre part une aide pour l'interprétation des test moléculaires en pratique diagnostique.

**Mots-clés** : migraine hémiplégique sporadique, *ATP1A2*, *CACNA1A*.

#### ■P429. LES MUTATIONS CONVENTIONNELLES SONT ASSOCIÉES À UN PHÉNOTYPE MOINS SÉVÈRE QUE LES EXPANSIONS TRINUCLÉOTIDIQUES DANS LES ATAXIES SPINOCÉRÉBELLEUSES

A. Durr (1, 2), S. Forlani (1), C. Cazeneuve (2), C. Cagnoli (3), K.P. Figueroa (4), D. Lorenzo (5), J. Johnson (6), J. Van de Leemput (6), C. Zaros (2), M. Viemont (2), A. Camuzat (1), S. Benaich (1), A. Singleton (6), L. Ranum (5), S. Pulst (4), A. Brusco (3), E. Leguern (2), A. Brice (1, 2), G. Stevanin (1, 2)

(1) *INSERM/UPMC/NEB, UMR\_S975, Génétique des affections neurodégénératives du système nerveux central, Centre de Recherche Institut du Cerveau et de la Moelle, Paris, France*; (2) *APHP, Département de Génétique et Cytogénétique, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France*; (3) *Department of Genetics, Biology and Biochemistry, University of Torino, Italy*; (4) *Cedars-Sinai Medical Center, Los Angeles, CA, USA*; (5) *University of Minnesota, Minneapolis, MN, USA*; (6) *National Institute on Aging, NIH, Bethesda, MD, USA*

Contact : alexandra.durr@upmc.fr

Les ataxies cérébelleuses autosomiques dominantes forment un groupe hétérogène de pathologies du système nerveux central, aussi bien du point de vue clinique et neuropathologique que génétique. Au moins 30 loci

(SCAn) ont été localisés. Des répétitions trinuécléotidiques CAG ont été incriminées dans 9 gènes et conduisent à des expansions de polyglutamine dans le cas des gènes SCA1, 2, 3, 6, 7 et 17. Plus récemment, des mutations conventionnelles et des réarrangements ont été identifiés dans 8 gènes : SPTBN2/SCA5, TTBK2/SCA11, KCNC3/SCA13, PRKCG/SCA14, ITPR1/SCA15/16, FGF14/SCA27, AFG3L2/SCA28 ainsi que dans le gène codant pour la puratrophine. Nous avons étudié 826 cas index de familles présentant une ataxie cérébelleuse de transmission dominante, collectées entre 1990 et 2008 au sein du groupe hospitalier Pitié-Salpêtrière (Paris) et au sein du réseau clinico-génétique SPATAX (coordinateur : Alexandra Durr). Les gènes retrouvés le plus fréquemment mutés sont ceux associés à des expansions trinuécléotidiques CAG codantes : SCA3 (20,4 %), SCA2 (9,7 %), SCA1 (7,7 %), SCA7 (5,7 %) et SCA6 (1,8 %). Des mutations faux-sens dans les gènes SCA14 (1,8 %), SCA28 (1,6 %), SCA13 (1,2 %) et SCA5 (0,8 %) sont moins fréquentes. Les autres formes sont soit plus rares, comme SCA17 (0,2 %) et SCA12 (0,2 %), voire absentes de notre cohorte, comme SCA10, SCA27 et le gène codant pour la puratrophine. Dans des séries plus restreintes de patients présentant des formes pures d'ataxie cérébelleuse, des délétions hétérozygotes ont été retrouvées dans 4 cas sur 76 dans le gène SCA15/16 et une mutation non-sens a été retrouvée dans une famille sur 77 dans le gène SCA11. L'étude du phénotype présent chez les patients montre que les expansions CAG ont en commun une progression rapide et sévère de la maladie tandis que les mutations conventionnelles sont associées à un phénotype très lentement progressif, moins sévère avec plus souvent des troubles cognitifs et une atrophie plus marquée du cervelet à l'IRM. Il est donc possible de distinguer cliniquement le type de mutation impliquée au sein de ces pathologies très hétérogènes.

**Mots-clés :** polyglutamine, ataxie, expansions trinuécléotidiques.

#### ■P430. IDENTIFICATION D'UN NOUVEAU GÈNE D'ATAxie RÉCESSIVE LENTEMENT PROGRESSIVE PAR L'ANALYSE D'UN EFFET FONDATEUR EN ALGÉRIE

D. H'mida-Ben Brahim (1, 2), A. M'zahem (3), N. Drouot (1), M. Assoum (1), J. Zimmerman (4), L. Ali-Pacha (5), C. Lagier-Tourenne (1), T. Klockgether (4), A. Hamri (3), M. Tazir (5), M. Koenig (1)

(1) Institut de Génétique et de Biologie Moléculaire et Cellulaire, Illkirch, France ; (2) Laboratoire de Génétique Moléculaire, de Cytogénétique et de Biologie de la Reproduction Humaines, Hôpital Universitaire Farhat Hached Sousse, Tunisie ; (3) Centre Hospitalo-Universitaire Ben Badis, Constantine, Algérie ; (4) Klinik und Poliklinik für Neurologie, Universitätsklinikum Bonn, Germany ; (5) Service de Neurologie, Centre Hospitalo-Universitaire Mustapha, Alger, Algérie  
Contact : dorrahmida@yahoo.fr

Le diagnostic des pathologies héréditaires rares devient de plus en plus difficile à cause de leur origine multigénique. Cette multigénicité est très bien illustrée par les ataxies autosomiques récessives. À ce jour 14 gènes responsables d'ataxies autosomiques récessives ainsi que plusieurs loci ont été identifiés. Cependant plusieurs gènes restent à découvrir. Nous avons dans ce travail adopté une stratégie de clonage positionnel, et plus précisément de cartographie par homozygotie utilisant les puces de génotypage SNP à la recherche de nouveaux gènes impliqués dans les ataxies récessives. Nous avons identifié 12 familles, dont 10 sont d'origine algérienne, homozygotes pour une large région chevauchante sur le chromosome 20. Seules 5 familles avaient deux ou trois enfants atteints et montraient une liaison significative à ce locus (LOD score  $\geq 1,8$ , une seule famille avait un LOD score de 3.0). L'analyse détaillée des haplotypes avec des marqueurs microsatellites puis avec des puces SNP à très haute densité (Affymetrix 6.0), nous a permis d'identifier un petit haplotype fondateur partagé par 4 familles originaires de la région de Sétif dans le nord-est algérien, confirmant ainsi la liaison de ces 4 familles à ce locus du chromosome 20. Le séquençage des gènes de la région critique a permis d'identifier la mutation fondatrice, qui entraîne un décalage du cadre de lecture, et une délétion de l'exon 1 dans la grande famille avec LOD score = 3, originaire des Émirats Arabes Unis. Les autres familles n'ont pas révélé de mutation dans ce gène, y compris une famille avec un LOD score de 2,6 en faveur de la liaison à ce locus. Deux loci d'ataxie récessive ont déjà été rapportés sur cette région du chromosome 20, SCAR6 (spinocerebellar ataxia recessive 6) et PHARC (Polyneuropathy, Hearing loss, Ataxia, Retinitis pigmentosa and Cataract) qui correspond mieux cliniquement aux 4 familles algériennes et à la famille émiratie. Il est maintenant possible de tester s'il s'agit d'une seule ou de deux entités génétiques.

**Mots-clés :** ataxie récessive, cartographie par homozygotie, haplotype fondateur.

#### ■P431. LE RÉSEAU SPATAX DANS L'ÉTUDE DES DÉGÉNÉRESCENCES SPINOCÉRÉBELLEUSES

C. Zaros (2), S. Forlani (1), A. Brice (1, 2), M. Koenig (3), G. Stevanin (1, 2), A. Dürr (1, 2) et les membres du réseau Spatax  
(1) INSERM/UPMC/NEB, UMR\_S975, Génétique des affections neurodégénératives du système nerveux central, Centre de Recherche de l'Institut du Cerveau et de la Moelle Épinrière, Paris, France ; (2) APHP, Département de Génétique et Cytogénétique, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France ; (3) IGBMC, Illkirch, France  
Contact : cecile.zaros@upmc.fr

Les ataxies cérébelleuses et les paraparésies spastiques (PS) sont deux groupes de pathologies génétiques rares qui résultent d'altérations entraînant des dysfonctionnements de la moelle épinière et/ou du cervelet, et qui sont souvent associées dans leurs formes complexes. Elles sont donc diagnostiquées dans les mêmes centres cliniques et sont étudiées selon des protocoles de recherche similaires. C'est pour cela qu'en 2001, les Drs. Alexandra DÜRR (Paris) et Chantal TALLAKSEN (Oslo), ont créé le réseau SPATAX (Spastic PARaplegia and cerebellar ATAXia) pour rassembler et coordonner les forces et les moyens de recherche au sein du premier réseau international sur ces maladies rares. Le réseau SPATAX compte aujourd'hui 28 équipes de cliniciens et de scientifiques réparties dans 6 pays d'Europe (France, Italie, Portugal, Norvège, Danemark, Grande-Bretagne), 6 pays d'Afrique du Nord et du Proche et Moyen Orient (Algérie, Maroc, Tunisie, Liban, Israël et Arabie Saoudite) et un pays du continent sud-américain (Colombie). Grâce à une collaboration très active, les équipes membres ont pu rassembler le plus grand nombre au monde de familles et cas sporadiques présentant ces pathologies, avec une description très précise des symptômes selon une fiche de diagnostic clinique mise au point au sein du réseau. Ceci a permis d'importants progrès dans la connaissance de ces pathologies très complexes. Depuis 2003, le SPATAX a décrit 4 nouveaux loci génétiques pour les paraparésies spastiques récessives (SPG28, SPG30, SPG32, SPG46), 1 nouveau locus pour les paraparésies dominantes (SPG37), deux dans les ataxies dominantes (SCA25 et SCA31) et 4 pour les ataxies récessives (SAX2, ataxie+épilepsie, MSS et JBTS3). Un travail collaboratif efficace au sein du réseau a permis de découvrir simultanément deux nouveaux gènes pour la forme de paraparésie spastique récessive associée à l'IRM à une réduction caractéristique du corps calleux : les gènes SPG11 et SPG15. De même, dans les ataxies récessives, après l'identification du gène AOA2, responsable comme AOA1, de cas associant une ataxie et une apraxie oculaire, une forme associée à une réduction du coenzyme Q10 a été trouvée mutée dans le gène ADCK3. Ainsi les efforts continus du réseau, afin de rendre accessible le diagnostic génétique au maximum de patients, se sont avérés payants ces dernières années.

**Mots-clés :** ataxies cérébelleuses, paraparésies spastiques, réseau.

#### ■P432. ÉTUDE GÉNÉTIQUE ET MOLÉCULAIRE DE L'ATAxie PAR DÉFICIENCE EN VITAMINE E ET DE L'ATAxie DE FRIEDREICH CHEZ DES PATIENTS MAROCAINS

H. Dehbi (1), H. Bellayou (1), M.A. Rafai (2), M. Bourezgui (2), I. Slassi (2), S. Nadifi (1)

(1) Laboratoire de Génétique Médicale, Faculté de Médecine et de Pharmacie de Casablanca, Maroc ; (2) Service de neurologie, CHU Ibn Rochd, Casablanca, Maroc  
Contact : hind500@yahoo.fr

L'ataxie par déficience en vitamine E (AVED) est une maladie dégénérative autosomique récessive, nettement plus fréquente en Afrique du Nord qu'en Europe. Sur le plan clinique elle est très similaire à l'ataxie de Friedreich (FA) d'où l'autre dénomination « ataxie Friedreich-like », elle pose un vrai problème de diagnostic différentiel. Le diagnostic moléculaire devient particulièrement indispensable, d'abord pour étayer le diagnostic, puis pour détecter au sein de la fratrie les éventuels porteurs sains. Grâce à ce test génétique, l'AVED reste la seule ataxie héréditaire curable par supplémentation en vitamine E. La présente étude a concerné 36 individus, dont 20 probandus et 16 apparentés recrutés dans le cadre de l'enquête familiale. Tous les patients ont été adressés au Laboratoire de Génétique et de Pathologie Moléculaire par le service de neurologie du CHU Ibn Rochd de Casablanca, pour suspicion d'ataxie de Friedreich ou d'AVED. La recherche de la mutation 744delA impliquée dans l'AVED, a été réalisée chez tous les probandus par PCR-RFLP, alors que la recherche de l'expansion GAA retrouvée dans la maladie de Friedreich n'a concerné que les probandus négatifs pour la mutation 744delA, et a été faite par Southern Blot, les résultats ont été confirmés par séquençage. Nos résultats ont ainsi confirmé pour 3 familles une AVED, par détection de la mutation 744delA, et une ataxie de Friedreich chez deux autres familles avec un nombre anormal de GAA. Grâce à cette étude génétique, 4 patients

ont été traités par une supplémentation en vitamine E, avec stabilisation et légère amélioration de leur symptomatologie, un conseil génétique avec enquête familiale ont été réalisés. Pour les familles restantes l'étude se poursuit par la recherche des autres mutations, éventuellement d'autres ataxies (télangiectasie, abétalipoprotéinémie...).

**Mots-clés :** ataxie, mutation 744delA, répétitions GAA.

**■P433. UNE HAPLOINSUFFISANCE DU GÈNE DE L'ATAXINE 10 HUMAINE N'EST PAS RESPONSABLE D'ATAXIE SPINO-CÉRÉBELLEUSE DE TYPE 10**

P. Leite (1), A. Jacquette (1), B. Keren (1, 2), C. Depienne (1, 2), A. Durr (1, 2), W. Carpentier (3), B. Benyahia (1), G. Ponsot (4), F. Soubrier (1, 3), A. Brice (1, 2), D. Héron (1)

(1) Département de Génétique et Cytogénétique, CGMC, GH Pitié-Salpêtrière, AP-HP, France ; (2) CRICM, Inserm UMR S975, upmc, GH Pitié-Salpêtrière, France ; (3) Plateforme Post-génomique de la Pitié-Salpêtrière, Inserm, upmc, GH Pitié-Salpêtrière, France ; (4) Service de Neuropédiatrie et Pathologie du Développement, Hôpital Armand-Trousseau, APHP, France

Contact : patricia.leite@psl.aphp.fr

Nous présentons une translocation familiale (2;22)(p25.2;q13.31) concernant 3 sœurs nées de parents non apparentés. La 1<sup>re</sup> et la 3<sup>e</sup> présentent un retard mental et un syndrome malformatif liés aux monosomie 22qter et trisomie 2pter. La 2<sup>e</sup> sœur et le père sont porteurs de la translocation à l'état équilibré. Les points de cassure ont été caractérisés précisément par puce ADN et séquençage : aucun gène n'est touché sur le chromosome 2, mais sur le chromosome 22, le point de cassure est localisé au niveau du 2<sup>e</sup> intron du gène de l'ataxine 10, seuls les 2 premiers exons restant sur le dérivé 22. L'ataxine 10 est le gène de l'ataxie spinocérébelleuse de type 10 (SCA10), maladie neurodégénérative autosomique dominante caractérisée par un syndrome cérébelleux apparaissant entre 20 et 50 ans et dans quelques cas, une épilepsie. L'expansion en tandem à l'état hétérozygote d'un pentanucléotide (ATTCT)<sub>n</sub> situé dans l'intron 9 est responsable de la maladie quand n > 800. La fonction exacte de la protéine n'est pour le moment pas connue et le rôle physiopathologique de l'expansion incertain. Des études réalisées chez le rat ont montré qu'un knock down par ARN interférence provoquait une dégénérescence des neurones cérébelleux ce qui serait en faveur d'un mécanisme type perte de fonction chez les patients SCA10 (J Biol Chem 279 : 35542-50) A l'inverse des études chez des souris null hétérozygotes n'ont montré aucun phénotype clinique et anatomo-pathologique ce qui serait en défaveur d'un mécanisme type perte de fonction chez les patients SCA10 (Neurology 67 : 607-13). Dans notre famille, le père et la 2<sup>e</sup> fille ont une déficience de l'ataxine 10 à l'état hétérozygote mais ont un examen neurologique normal. Une apparition plus tardive de l'ataxie ne peut être exclue chez la fille âgée de 23 ans, mais est par contre très improbable chez le père âgé de 57 ans étant donné la survenue antérieure à 50 ans dans les cas décrits. Cette observation est donc en défaveur d'une haploinsuffisance de l'ataxine 10 humaine provoquée par l'expansion du pentanucléotide (ATTCT)<sub>n</sub> chez les patients SCA10.

**Mots-clés :** ataxie spino cérébelleuse, ATXN10, puces SNP.

**■P434. GENOME SCANS IN AUTOSOMAL DOMINANT CEREBELLAR ATAXIAS IDENTIFY NEW LOCI**

G. Stevanin (1, 2), E. Di Gregorio (3), S. Forlani (1), J. Koht (5), M. Turcotte Gauthier (4), E. Mundwiller (1), C. Tesson (1), B. Van De Warrenburg (6), A. Filla (7), B. Borroni (8), W. Carpentier (9), D. Zelenika (10), A. Durr (1, 2), C. Tallaksen (5), P. Cossette (4), A. Brice (1, 2), A. Brusco (3) and the EUROSCA consortium

(1) INSERM/UPMC/NEB, UMR\_S975, Génétique des affections neurodégénératives du système nerveux central, Centre de Recherche de l'Institut du Cerveau et de la Moelle Épinrière, Paris, France ; (2) APHP, Département de Génétique et Cytogénétique, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France ; (3) Department of Genetics, Biology and Biochemistry, University of Turin, Italy ; (4) Research center of the CHUM, Hôpital Notre-Dame, Centre of Excellence in Neuromics of the Montréal University, Québec, Canada ; (5) Oslo University Hospital, Ullevaal, Oslo, Norway ; (6) University Nijmegen Medical Centre, the Netherlands ; (7) Federico II University, Naples, Italy ; (8) Department of Neurology, University of Brescia, Italy ; (9) Plateforme P3S, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France ; (10) Centre National de Génotypage, Évry, France

Contact : giovanni.stevanin@upmc.fr

In order to identify new loci/genes in autosomal dominant cerebellar ataxias (ADCA), members of the EUROSCA consortium collected DNA and

clinical information of 31 families with at least 5 affected patients. Only two families presented with a theoretical LOD score of +3 independently. Genome scans were performed at the Centre National de Génotypage or in our local platform (P3S) using 6K Illumina SNP arrays. Linkage was evaluated with the MERLIN software using an incomplete penetrance set at 80 %. As expected, only two families generated a significant multipoint LOD score > +3 at two new candidate regions: 1) a Norwegian family showing early-onset cerebellar ataxia with spasticity (Z<sub>max</sub> = 3.7) and 2) an Italian family with pure ADCA (SCA31, Z<sub>max</sub> = 3.4). Three additional EUROSCA families were also found putatively linked to the SCA31 locus. In addition, this locus was mapped independently in one Canadian ADCA kindred with erythrokratoderma (Z<sub>max</sub> = 5.3). Twelve other families presented with maximal multipoint LOD scores ranging from 1.5 to 2.8 to single or multiple regions on the genome. Systematic analysis of microsatellites markers in the positive regions in these 12 most informative families, allowed, in most cases, to either exclude several of these regions or to reduce their size. The initial hypothesis of a major new ADCA locus has been ruled out by the fact that most of the identified candidate intervals do not overlap but SCA31 might account for up to 4 out of 31 of our collected families.

**Mots-clés :** ataxie, SCA31, cerebellum.

**■P435. SCA3 HÉTÉROZYGOTE COMPOSITE, PHÉNOTYPE CLINIQUE ET HYPOTHÈSES PHYSIOPATHOLOGIQUES**

P. Charles (1, 2, 3), C. Cazeneuve (4), C. Jardel (5), F. Salachas (3), C. Fauchard (6), A. Dürr (1, 3)

(1) APHP, Département de Génétique et Cytogénétique, UF de Génétique Clinique, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France ; (2) INSERM/UPMC/NEB, UMR\_S975, Génétique des affections neurodégénératives du système nerveux central, Centre de Recherche Institut du Cerveau et de la Moelle, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France ; (3) Fédération des maladies du système nerveux, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France ; (4) APHP, Département de Génétique et Cytogénétique, UF de Neurogénétique Moléculaire et Cellulaire, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France ; (5) APHP, Service de Biochimie Métabolique, Biochimie Endocrinienne et Oncologique, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France ; (6) Consultation de Neurologie, Hôpital de Mantes, Mantes La Jolie, France

Contact : charles.perrine@psl.aphp.fr

Une patiente âgée de 48 ans a été adressée pour des troubles de l'équilibre d'aggravation progressive depuis l'âge de 37 ans. Les antécédents familiaux étaient compatibles avec une transmission récessive sans censure dans une fratrie issue d'une union consanguine. L'examen neurologique montrait un syndrome cérébelleux statique et cinétique, une ophtalmoplégie complexe avec un nystagmus dans les regards latéraux, une amyotrophie distale, des ROT vifs sans signe de Babinski, une hypopallessthésie distale, des fasciculations de la langue. Le score d'ataxie SARA (Scale for the Assessment and Rating of Ataxia) était à 25/40 en 2008. L'IRM cérébrale montrait une atrophie à prédominance vermiennne, l'EMG une polyneuropathie axonale sensitive avec des signes neurogènes moteurs proximaux. Le bilan étiologique d'ataxie récessive s'est révélé négatif (AF, AOA1, AOA2, AVED) de même que le bilan métabolique. Compte tenu du phénotype clinique, une analyse moléculaire des principaux gènes responsables des ataxies cérébelleuses autosomiques dominantes (SCA1, 2, 3, 6, 7 et 17) a été réalisée, et a montré une expansion pathologique de triplets CAG (respectivement 63 et 65 CAG) sur les deux allèles au locus SCA3/MJD, une situation exceptionnellement rapportée dans la littérature. Une biopsie musculaire réalisée dans le bilan métabolique a montré un déficit en complexe III de la chaîne respiratoire. Le séquençage du gène du cytochrome B seul gène mitochondrial codant pour une sous unité du complexe III était négatif. En conclusion, les sujets homozygotes pour une expansion de CAG dans le gène SCA3 ont un phénotype clinique proche de celui des hétérozygotes avec un âge de début similaire et un phénotype clinique proche de celui décrit pour les grandes expansions CAG avec notamment une atteinte du motoneurone. Le mécanisme du déficit en complexe III de la chaîne respiratoire mitochondriale (primitif ou secondaire) reste à étudier et ouvre des perspectives dans la physiopathologie de ces affections neurodégénératives.

**Mots-clés :** SCA3, hétérozygote composite, phénotype clinique.

**■P436. SCA15 LIÉE AUX DÉLÉTIONS DU GÈNE ITPRI : FRÉQUENCE ET PHÉNOTYPE DANS UNE COHORTE DES FAMILLES AVEC ATAXIE DOMINANTE**

C. Marelli (1, 2, 3), J. Johnson (4), J. Van De Leemput (5), C. Thauvin-Robinet (6), F. Tison (7), F. Picard (8), B. Huttin (9), C. Marescaux (10), C. Tranchant (10), J. Boulliat (11), N. Vandenberghe (12), S. Brique (13),





H. Dollfus (14), E. Ollagnon (15), J. Hardy (4), G. Stevanin (1, 2, 3, 16), A. Singleton (5), A. Dürr (1, 2, 3, 16), A. Brice (1, 2, 3, 16)

(1) Université Pierre-et-Marie-Curie, Paris6, Centre de Recherche de l'Institut du Cerveau et de la Moelle Épineuse, UMR-S975, Paris, France ; (2) Inserm, U975, Paris, France ; (3) AP-HP, Hôpital de la Salpêtrière, Service de Génétique et Cytogénétique, Paris, France ; (4) Department of Molecular Neuroscience, Institute of Neurology, UCL, London, UK ; (5) Molecular Genetics Unit, National Institute of Aging, NIH, Bethesda, USA ; (6) Service de Génétique, CHU Dijon, France ; (7) Service de Neurologie, Hôpital du Haut Lévêque, Université Bordeaux 2, Pessac, France ; (8) Service de Neurologie, UHMS, Geneva, Suisse ; (9) Service de Neurologie, Centre Hospitalier Jean-Monnet, Épinay, France ; (10) Service de Neurologie, CHRU Strasbourg, France ; (11) Service de Neurologie, Hôpital de Fleury, Bourg-en-Bresse, France ; (12) Service de Neurologie, CHU Lyon, France ; (13) Clinique Convert, Bourg-en-Bresse, France ; (14) Laboratoire de Physiopathologie des Syndromes Rares Hérités, AVENIR-Inserm, EA3949, Université Louis Pasteur, Strasbourg, France ; (15) Service de Génétique, Hôpital de la Croix Rousse, Lyon, France ; (16) CNRS, UMR 7225, Paris, France  
Contact : alexandra.durr@upmc.fr

Background : SCA15 est une forme d'ataxie cérébelleuse autosomique dominante (ADCA) récemment identifiée et liée à des anomalies dans le gène ITPR1, qui code pour le récepteur type 1 de l'inositol-triphosphate. Dans la plupart des cas il s'agit de délétion de taille variable, une seule famille SCA15 avec une mutation faux sens a été décrite. Objectif : déterminer la fréquence et le phénotype des patients SCA 15. Patients : 333 familles avec ADCA, exclues pour les ataxies avec expansions de trinucleotides CAG (SCA1, 2, 3, 6, 7, 17), et pour les mutations conventionnelles responsable de SCA5 (232 cas index), SCA11 (61 cas index), SCA14 (197 cas index), SCA13 (202 cas index), SCA28 (238 cas index), et puratrophine (232 cas index) ont été analysées. Méthodes : recherche des délétions dans le gène ITPR1 par PCR quantitative (258 cas index) or par puces SNP à haute densité (75 cas index). Résultats : une délétion partielle d'ITPR1 à l'état hétérozygote a été retrouvée dans 5/333 familles (1,5 %), correspondant à 11 patients. L'âge de début allait de 18 à 66 ans (en moyenne 33 ± 15 ans) ; la durée de maladie était comprise entre 3 et 43 ans (en moyenne 22 ± 14 ans). Le symptôme de début était principalement une ataxie de la marche ; seulement un patient débutait avec un tremblement intentionnel des membres supérieurs. Le phénotype des patients SCA15 était une ataxie cérébelleuse axiale et des membres très lentement progressive avec dysarthrie cérébelleuse. Les mouvements oculaires étaient caractérisés par une poursuite saccadique et un nystagmus, surtout horizontal et dans les regards latéraux. Un seul patient avait un syndrome pyramidal réflexe des membres inférieurs. Deux patients présentaient des troubles de la déglutition. La progression était lente car seulement deux patients, avec une durée de la maladie > 40 ans, nécessitaient une aide pour la marche. L'IRM cérébrale montrait une atrophie cérébelleuse globale ou à prédominance vermine. Conclusions : les délétions d'ITPR1 sont rares et représentent < 1 % de l'ensemble des ADCA mais environ 4,5 % de l'ensemble des formes pures. Le phénotype SCA15 est une ataxie cérébelleuse pure, à évolution très lentement progressive mais avec un âge de début très variable.

**Mots-clés :** Ataxie Cerebelleuse Dominante (ADCA), SCA15, ITPR1.

#### ■P437. FREQUENCY, PHENOTYPE AND MUTATIONAL SPECTRUM OF ARSACS

I. Coupry (1), E. Maurat (1), C. Blanchard (1), S. Forlani (2), C. Zarus (2), M. Anheim (2), A. Durr (2), A. Brice (2), B. Arveiler (1), G. Stevanin (2), C. Goizet (1)

(1) Laboratoire de Génétique Humaine, Université Bordeaux 2, Bordeaux, France ; (2) INSERM/UPMC UMR\_S975, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France

Contact : isabelle.coupry@u-bordeaux2.fr

Autosomal recessive spastic ataxia of Charlevoix-Saguenay (ARSACS : MIM 270550) is a neurodegenerative disorder characterized by early-onset cerebellar ataxia with spasticity and peripheral neuropathy. This disorder was first described in the isolated Charlevoix-Saguenay region of Quebec, but nowadays, it is known to occur worldwide. This study presents the identification of ARSACS in patients recruited from the SPATAX network. Material and Methods: To determine the frequency of ARSACS among the patients, we included in this study patients with spastic ataxia, early-onset before the age of 25 and for whom Friedreich's ataxia was previously excluded through DNA mutation analysis. Molecular analysis were performed on 92 patients, by PCR amplification and direct sequencing of all the 9 coding exons and the intron-exon boundaries of the SACS gene. Results: 34 mutations were found in 26 patients. Sequence analysis

revealed 4 patients with homozygous mutations (one missense, two non sense and one frameshift mutation), and 7 with compound heterozygous mutations. The remaining 14 patients were presenting only one mutation. Discussion: Among the 92 selected patients, only 11 could be found to carry two SACS mutations (12 %). Even if the missense mutations concerned evolutionnary highly conserved aminoacids and were not found in 200 control chromosomes, their real pathogenicity remain uncertain until confirmation with DNA from affected siblings or relatives. Concerning the 14 patients with a unique SACS mutation, we cannot exclude that the second one remained undetected because it resides in parts of the gene that have not been analyzed (regulatory regions upstream of the gene, introns), or because it results from a partial deletion of the gene. Finally, the absence of mutations might be due to genetic heterogeneity for the spastic ataxia phenotype, and the involvement of other loci like SPAX2 or SPAX3/ARSAL.

**Mots-clés :** spastic ataxia, SACS.

#### ■P438. ARBRES DÉCISIONNELS POUR LES ANALYSES DE GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE DANS LE CADRE DES ATAXIES CÉRÉBELLEUSES AUTOSOMIQUES DOMINANTES

Réseau des Laboratoires de Diagnostic Moléculaire des Maladies Génétiques Neurologiques, Musculaires, Neurosensorielles et Retards Mentaux, M. Viémond (1), A. Dürr (2, 3, 4), E. Leguern (1, 2), C. Cazeneuve (1)

(1) Unité Fonctionnelle de Neurogénétique Moléculaire et Cellulaire, Département de Génétique et Cytogénétique, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Assistance Publique, Hôpitaux de Paris, Paris, France ; (2) Inserm UMR\_S975, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France ; (3) Centre de Référence des Maladies Neurogénétiques, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Assistance Publique, Hôpitaux de Paris, Paris, France ; (4) Unité Fonctionnelle de Génétique Clinique, Département de Génétique et Cytogénétique, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Assistance Publique, Hôpitaux de Paris, Paris, France  
Contact : cecile.cazeneuve@psl.aphp.fr

L'élaboration d'arbres décisionnels pour les analyses de génétique moléculaire et pour les prérequis cliniques amenant à la prescription de ces analyses constitue une démarche indispensable pour les laboratoires de génétique moléculaire afin d'améliorer la qualité du service rendu tout en tenant compte de la limitation des moyens humains et des moyens de fonctionnement dont ils disposent. Un des objectifs du réseau des laboratoires de diagnostic moléculaire des maladies génétiques neurologiques, musculaires, neurosensorielles et retards mentaux est de rédiger ces arbres décisionnels, action favorisée pour les aspects analytiques par le rapprochement des acteurs des différents laboratoires de génétique moléculaire et, pour l'établissement des prérequis cliniques, par une collaboration avec les centres de référence maladies rares. Les ataxies spinocérébelleuses autosomiques dominantes, cliniquement et génétiquement hétérogènes, sont caractérisées par une ataxie progressive de la marche, de la posture et des extrémités, une dysarthrie et/ou des troubles oculomoteurs, en relation avec une dégénérescence cérébelleuse visible à l'IRM. La prévalence est d'environ 1/50000. Les mutations des gènes les plus fréquemment impliqués (SCA1, SCA2, SCA3, SCA6, SCA7, SCA17, DRPLA, impliqués dans environ 50 % des cas) consistent en des expansions de triplets CAG. Il existe une corrélation inverse entre le nombre de répétitions et l'âge de début de la maladie, qui se situe le plus souvent entre 30 et 50 ans. L'instabilité des répétitions est à l'origine d'un phénomène d'anticipation qui explique, à l'extrême, les rares formes juvéniles voire infantiles dues à la présence de grandes ou très grandes expansions. Il existe par ailleurs d'autres formes d'ataxies cérébelleuses : les ataxies autosomiques récessives, liées à d'autres gènes (notamment FRDA, AOA1, AOA2) ; les formes non génétiques d'ataxies, notamment d'origine toxique ou métabolique, s'accompagnant ou non d'une atrophie cérébelleuse. Compte tenu des différentes étiologies (génétiques ou non) et, pour les formes familiales, de l'hétérogénéité génétique, l'établissement de prérequis cliniques pour la prescription des analyses de génétique moléculaire est particulièrement nécessaire. Compte tenu des données cliniques et des résultats des études moléculaires princeps, des critères de décisions simples, basés sur le mode de transmission, sur la présence d'une atrophie cérébelleuse à l'IRM et sur l'âge de début, ont permis d'élaborer des prérequis cliniques pour la demande d'analyses génétiques. De même, la pathologie moléculaire des gènes impliqués a conduit à l'élaboration de stratégies diagnostiques. La confrontation de ces arbres décisionnels avec l'expérience d'un laboratoire ayant testé plus de 1 000 patients appartenant à plus de 850 familles différentes a permis leur validation a posteriori, montrant notamment que la transmission dominante du phénotype est un critère essentiel.

**Mots-clés :** arbre décisionnel, ataxie dominante.

#### ■P439. GENETIC HETEROGENEITY IN KARAK SYNDROME DEMONSTRATED BY LINKAGE ANALYSIS AND MUTATION SCREENING IN PANK2 AND PLA2G6 GENES IN 8 CASANGUINEOUS SAUDI ARABIAN FAMILIES

H. Azzedine (1), Mundwiller (1), A. Khan (2), E.A. Aldriss (3), S.A. Elmalik (3), M.M. Kabiraj (4), M.A.M. Salih (5), G. Stevanin (1)  
 (1) INSERM/UPMC UMRS 975, Hôpital de la Pitié-Salpêtrière, Paris, France ; (2) King Khaled Eye Specialist Hospital, Riyadh, Saudi Arabia ; (3) Department of Physiology, College of Medicine, King Saud University, Riyadh, Saudi Arabia ; (4) Division of Clinical Neurophysiology, Department of Neuroscience, military Hospital, Riyadh, Saudi Arabia ; (5) Division of Pediatric Neurology, College of Medicine, King Saud University, Riyadh, Saudi Arabia  
 Contact : azzedine.hamid@yahoo.fr

A heterogeneous group of severe neurological disorders like Aceruloplasminemia, Neuroferritinopathy, Hallervorden-Spatz syndrome, HARP syndrome, and Friedreich ataxia involves excess brain iron accumulation. The "eye of the tiger" sign is a common neuroradiological finding in neurodegeneration with iron brain accumulation type 1 and 2 (NBIA1, 2), infantile neuroaxonal dystrophy (INAD) as well as in Karak syndrome (KS). Mutations in PANK2 and PLA2G6 genes were implicated in NBIA, INAD and KS disorders. We describe 8 consanguineous Saudi families with Karak syndrome. These consisted of 13 affected individuals (6 males and 7 females, aged 19 Months-24 years). Onset ranged between about 8 months and 7 years with difficulty in walking or progressive cerebellar ataxia and spasticity associated, later, with extrapyramidal signs, intellectual decline and axonal form of Charcot-Marie-Tooth disease (CMT2). Ambulation was lost between 4 1/2 and 15 years. One male patient died at 24 years. Ophthalmic evaluations revealed abnormal vertical saccades and pursuit. Brain MRI showed iron deposition in the putamen in all patients aged more than 4 years. Five of these families were genotyped for PANK2 and PLA2G6 loci using 10 microsatellite markers. PANK2 locus was excluded in all the families while assignment of the families to the PLA2G6 locus was established by homozygosity mapping in 4 of them. Using direct sequencing of the PLA2G6 gene we identified, at a homozygous state, 3 novel mutations and one other already reported in the 4 linked families. One of these 5 families was neither linked to PLA2G6 nor to PANK2 genes demonstrating further genetic heterogeneity. Three new other consanguineous families with the same phenotype and belonging to the same country are under investigation. The final results will be presented during the meeting.

**Mots-clés :** KARAK Syndrome, PANK2, PLA2G6.

#### ■P440. MUTATIONS DE TARDBP DANS LES DÉMENCES FRONTO-TEMPORALES ASSOCIÉES À UNE SCLÉROSE LATÉRALE AMYOTROPHIQUE (DFT-SLA)

L. Guillot-Noël (1), L. Benajiba (1), A. Camuzat (1), I. Le Ber (1, 2, 3), M. Lacoste (4), C. Thomas-Anterion (5), V. Golfier (8), P. Couratier (4), S. Legallic (6), S. Millicamps (1), L. Lacomblez (3, 5, 7), F. Salachas (3), D. Campion (6), V. Meininger (3), A. Brice (1, 2, 3, 7, 9, 10), and the French clinical and genetic research network on FTD/FTD-MND  
 (1) CRICM INSERM UMR S 975, Hôpital de la Salpêtrière, Paris, France ; (2) Centre de référence des démences rares, Hôpital de la Salpêtrière, Paris, France ; (3) Fédération des Maladies du système nerveux, Hôpital de la Salpêtrière, Paris, France ; (4) Service de neurologie, CHU, Limoges, France ; (5) Service de Neurologie, CHU Bellevue, Saint-Étienne, France ; (6) INSERM U614 & Département de Neurologie, CHU Charles-Nicolas, Rouen, France ; (7) Université Pierre-et-Marie-Curie, Paris, France ; (8) Service de Neurologie, CHU, Rennes, France ; (9) INSERM U610, Hôpital de la Salpêtrière, Paris, France ; (10) Département de Génétique, Cyto-génétique et Embryologie, Hôpital de la Salpêtrière, Paris, France  
 Contact : lena.guillot-noel@upmc.fr

Les démences fronto-temporales (DFT) sont des pathologies neurodégénératives rares conduisant à des troubles du comportement et du langage. Elles peuvent être associées à une sclérose latérale amyotrophique (DFT-SLA). Plusieurs études ont montré l'implication du gène TARDBP, codant pour la protéine TDP-43, comme responsable de la maladie chez certains patients atteints de SLA sans démence. TDP-43 est une ribonucléoprotéine de 43k Da impliquée dans l'épissage des ARN et la régulation de la transcription. Cette protéine est le composant majeur des inclusions neuronales observées dans les SLA, DFT et les DFT-SLA. À ce jour on compte une vingtaine de mutation de l'exon 6 du gène TARDBP correspondant au domaine hnRNP de TDP-43 dans des formes pures de SLA. Nous avons séquencé cet exon sur 199 patients atteints de DFT-SLA dont 102 avec une forme familiale de la pathologie et 97 avec une forme sporadique.

Nous avons également analysé 569 contrôles pour valider nos résultats. Une recherche de réarrangements a été réalisée chez 58 patients par QMPSP. Nous avons identifié trois mutations faux-sens de l'exon 6 du gène TARDBP par séquençage. Une mutation faux-sens hétérozygote Gly295Ser a été identifiée chez deux patients, l'un atteint d'une DFT-SLA familiale et l'autre d'une DFT-SLA sporadique. L'analyse des haplotypes au locus TARDBP a mis en évidence un effet fondateur dans ces deux familles. Une mutation faux-sens homozygote I383V a été identifiée chez un patient atteint d'une forme familiale de DFT-SLA. Cette dernière avait déjà été mise en évidence mais à l'état hétérozygote chez un patient atteint d'une SLA familiale. Le tableau clinique (phénotype : âge de début) ne se distingue pas du tableau habituellement observé chez des patients porteurs de mutations hétérozygotes. Par ailleurs aucun réarrangement n'a été détecté par QMPSP, ce qui suggère que s'ils existent ces événements sont rares. Il s'agit de la première étude mettant en évidence l'implication de ce gène dans certaines formes de DFT. La fréquence des mutations est comparable à celle des SLA pures soit 1,3 %. Par cette étude nous montrons l'existence de nouvelles mutations impliquant le gène TARDBP dans les DFT-SLA.

**Mots-clés :** démences fronto-temporales, DFT-SLA, TARDBP.

#### ■P441. ANALYSE DU GÈNE PGRN ET DOSAGE PLASMATIQUE DE LA PROGRANULINE DANS LES DÉGÉNÉRESCENCES LOBAIRES FRONTOTEMPORALES

A. Camuzat (1), F. Lamari (2), F. Clot (3, 7), C. Jardel (2), D. Hannequin (4), D. Campion (4), F. Pasquier (5), V. Deramecourt (5), C. Duyckaerts (1), A. Laquerrière (6), B. Dubois (7), I. Le Ber (1, 7), A. Brice (1)  
 (1) CRICM INSERM UMRS975, Paris, France ; (2) Service de biochimie métabolique, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France ; (3) Département de génétique, cytogénétique et embryologie, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France ; (4) INSERM U614, Rouen, France ; (5) Service de neurologie, CHU, Lille, France ; (6) Service de neuropathologie, CHU, Rouen, France ; (7) Centre de Références des démences rares, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France  
 Contact : agnes.camuzat@upmc.fr

Les dégénérescences lobaires frontotemporales (DLFT) sont des maladies neurodégénératives rares de l'adulte se manifestant par des troubles comportementaux et du langage. 30 à 50 % des DLFT sont autosomiques dominantes. À ce jour, 4 gènes sont impliqués dans cette pathologie (MAPT, PGRN, VCP et CHMP2B), MAPT et PGRN expliquant environ 20 à 30 % des formes monogéniques. Le gène PGRN est situé sur le bras long du chromosome 17 (17q21-22) et est composé de 13 exons. Il code pour la progranuline qui est le précurseur des granulines. C'est un facteur de croissance qui joue un rôle dans la réparation tissulaire, la réponse inflammatoire et la tumérogenèse. Nous avons analysé ce gène par séquençage et QMPSP chez 622 patients atteints de DLFT (404 sporadiques, 218 familiaux). Nous avons identifié 25 mutations chez 34 patients. Ce sont des mutations non-sens, des mutations situées dans les sites d'épissage ou bien des mutations qui entraînent un décalage du cadre de lecture. Elles aboutissent toutes à la synthèse d'ARNs messagers possédant un codon stop prématuré qui sont alors dégradés par le mécanisme de dégradation des ARN non-sens. Les mutations du gène PGRN entraînent donc une haploinsuffisance et la progranuline est ainsi exprimée à 50 % seulement de son taux normal. De récentes études ont montré que cette diminution d'expression entraînait une diminution d'environ 1/3 du taux de progranuline dans le sang chez les individus porteurs d'une mutation du gène PGRN. Nous avons réalisé un dosage plasmatique par la technique ELISA chez 9 individus porteurs de mutations PGRN, 13 témoins (2 individus DLFT porteurs d'une mutation dans le gène MAPT, 4 patients atteints de maladie d'Alzheimer, 3 individus DLFT dont la cause est inconnue et 4 contrôles). Seuls les patients porteurs d'une mutation PGRN montrent une diminution importante du taux plasmatique avec une valeur autour de 50 ng/ml alors que le taux normal varie entre 146 et 300 ng/ml (seuil à 100ng/ml). Le dosage de la progranuline plasmatique est donc une bonne méthode pour détecter des patients DLFT porteurs d'une mutation PGRN et représente un moyen rapide et peu onéreux pour orienter vers l'analyse de ce gène.

**Mots-clés :** DLFT, PGRN, mutations.

#### ■P442. DÉMENCE TARDIVE DE TYPE ALZHEIMER DUE À UNE NOUVELLE VARIATION DANS LA RÉGION LINKER DE LA PROTÉINE TWINKLE

A. Echaniz-Laguna (1), J.B. Chanson (1), J.M. Wilhelm (2), F. Sellal (3), M. Chassagne (4), M. Mayençon (4), M. Mohr (5), C. Tranchant (1), B. Mousson de Camaret (4)  
 (1) Département de Neurologie, Hôpital Civil, Strasbourg, France ; (2) Service de Médecine Interne, Centre Hospitalier Régional, Altkirch,

France ; (3) Service de Neurologie, Centre Hospitalier Régional, Colmar, France ; (4) Service des Maladies Héritaires du Métabolisme, Centre de Biologie et de Pathologie Est, CHU Lyon, Bron, France ; (5) Département d'Anatomo-Pathologie, Hôpital de Hautepierre, Strasbourg, France

Contact : benedictte.mousson-de-camaret@chu-lyon.fr

Les variations dans le gène PEO1 codant pour l'hélicase mitochondriale Twinkle sont habituellement la cause d'une ophtalmoplégie progressive externe de transmission autosomique dominante (adPEO) associée à des délétions multiples de l'ADN mitochondrial (ADNmt). Nous décrivons cinq patients issus de deux familles alsaciennes non apparentées qui ont présenté une affection complexe d'évolution progressive, de transmission autosomique dominante, associant PEO, surdité, myopathie, dysphonie, dysphagie, neuropathie sensorielle puis démence tardive de type Alzheimer. L'analyse moléculaire des biopsies de muscle par PCR longue a révélé des délétions multiples de l'ADNmt. Une nouvelle variation (p.Arg374Trp) du gène PEO1 a été mise en évidence chez ces patients, dans la région linker de la protéine Twinkle, indispensable à la réplication de l'ADNmt. Cette variation affecte le codon 374, strictement conservé à travers les espèces, et induit un changement sévère dans la structure de la région linker, d'une importance capitale pour l'activité hélicase de la protéine Twinkle. Ces observations démontrent pour la première fois qu'une variation de Twinkle est suffisante pour détériorer les fonctions cérébrales et soulignent le rôle central des altérations de l'ADNmt dans la physiopathologie des syndromes démentiels. Echaniz-Laguna A. et al. Neurogenetics 2009, in press

**Mots-clés :** démence tardive, Twinkle, ADN mitochondrial.

#### ■P443. ANALYSE DU GÈNE FUS DANS LES DÉMENCES FRONTOTEMPORALES ASSOCIÉES OU NON À UNE SCLÉROSE LATÉRALE AMYOTROPHIQUE

I. Le Ber (1, 2, 3), O. Broustal (1), A. Camuzat (1), L. Guillot-Noël (1), S. Millecamps (1), N. Guy (4), F. Salachas (2), D. Hannequin (5), L. Lacomblez (2), D. Campion (5), V. Meininger (3), B. Dubois (2, 3, 6), A. Brice (1, 2, 7)

(1) CR-ICM INSERM UMRS\_975, Hôpital de la Pitié-Salpêtrière, Paris, France ; (2) Fédération des maladies du système nerveux, Hôpital de la Pitié-Salpêtrière, Paris, France ; (3) Centre de Référence des Démences Rares, Hôpital de la Pitié-Salpêtrière, Paris, France ; (4) Service de neurologie, CHU Clermont-Ferrand, France ; (5) INSERM U614 & Département de Neurologie, CHU Charles Nicolle, Rouen, France ; (6) INSERM U610, Hôpital de la Salpêtrière, Paris, France ; (7) Département de Génétique, Cytogénétique et Embryologie, Hôpital de la Salpêtrière, Paris, France

Contact : isabelle.leber@upmc.fr

Les démences frontotemporales (DFT) sont des maladies dégénératives de l'adulte se manifestant par des troubles comportementaux. Elles peuvent être associées à une sclérose latérale amyotrophique (SLA) entraînant une faiblesse des membres, des troubles respiratoires et de la déglutition (DFT-SLA). En 2009, des mutations du gène FUS ont été identifiées chez des patients atteints de SLA sans démence. FUS est une RNA-binding protein impliquée dans la régulation de la transcription, l'épissage et le transport des ARNm. La majorité des mutations sont localisées dans l'exon 15 qui code pour le domaine C-terminal riche en glycines de la protéine. Récemment, il a été montré que certaines formes de DFT (10 %) sont caractérisées par la présence d'inclusions neuronales FUS-positives, suggérant que ce gène pourrait être aussi impliqué directement dans les DFT. Nous avons séquencé les 15 exons du gène FUS chez 318 patients atteints de DFT pure (n = 145), ou de DFT-SLA (n = 173). Des mutations des gènes MAPT, GRN, CHMP2B, VCP (responsables de DFT pure) et de SOD1, ANG, TARDBP (responsables de SLA pure) avaient été préalablement exclues par séquençage. Nous avons identifié deux variants exoniques présents à l'état hétérozygote chez deux patients. Une mutation faux-sens (c.1562G>A, p.R521H) a été identifiée dans l'exon 15 chez un patient atteint de DFT-SLA autosomique dominante. Cette mutation a été identifiée dans d'autres études chez des patients atteints de SLA pure. Le proposant a débuté la maladie par des troubles comportementaux (désinhibition, jovialité, indifférence émotionnelle, stéréotypies) à l'âge de 71 ans. Des symptômes moteurs de SLA sont apparus quelques mois plus tard. Un nouveau variant faux-sens (c.1369G>C, p.G457R) a été identifié dans l'exon 13 du gène FUS chez un patient présentant une forme pure de DFT (sans SLA) et ayant des antécédents familiaux de DFT. Ce variant, qui n'est pas présent chez les témoins, touche une glycine conservée au cours de l'évolution, localisée dans le domaine G-riche de FUS. Aucune mutation n'a été identifiée chez des patients sans histoire familiale, montrant que la pénétrance est plus élevée que pour les mutations TARDBP. La fréquence

des mutations est peu élevée dans cette série (0,3 %), de même que dans le sous-groupe des patients avec DFT-SLA (0,6 %). Elle est comparable à une autre étude portant sur des patients d'origine française atteints de SLA (0,8 %). Des progrès récents ont été faits dans le domaine de la génétique des DFT et des SLA avec l'identification récente de nouveaux gènes dans ces deux pathologies. L'identification de mutations du gène FUS dans les DFT montre qu'il existe un overlap entre les causes génétiques des DFT et des SLA, et suggère un rôle probable de la protéine FUS au niveau des neurones du cortex frontotemporal. Les mécanismes par lesquels elle est impliquée dans la dégénérescence neuronale restent cependant à établir.

**Mots-clés :** démence frontotemporale, FUS, sclérose latérale amyotrophique.

#### ■P444. FORMES GÉNÉTIQUES DES MALADIES À PRIONS : DEUX MUTATIONS DU RÉSIDU 211 DE LA PROTÉINE PRION CONDUISENT À DEUX MALADIES DISTINCTES

K. Peoc'h (1), E. Levavasseur (2), E. Delmont (3), A. De Simone (4), I. Laffont-Proust (2), N. Privat (2), Y. Chebaro (5), J.P. Brandel (6, 7), E. Morain (6), J.J. Hauw (8), S. Chasseigneaux (1), P. Derreumaux (5), J.L. Laplanche (1\*), S. Haïk (2, 7, 8)

(1) AP-HP, Service de Biochimie et Biologie Moléculaire associé au CNR « ATNC », Hôpital Lariboisière Paris, France et EA 3621 Université Paris Descartes, Paris, France ; (2) Centre de Recherche de l'Institut du Cerveau et de la Moelle épinière, UMR-S975 et Université Pierre-et-Marie-Curie, Paris, France ; (3) Centre référent en Pathologies Neuromusculaires et SLA, Hôpital Archet 1, Nice, France ; (4) Department of Chemistry University of Cambridge, Cambridge, United Kingdom ; (5) Laboratoire de Biochimie Théorique, UPR 9080 CNRS et Université Paris-Diderot Paris, France ; (6) CNRS, UMR 7225, Paris, France ; (7) Cellule Nationale de référence des Maladies de Creutzfeldt Jakob, France ; (8) AP-HP, Laboratoire de Neuropathologie R. Escourolle, G.H. Pitié-Salpêtrière, Paris, France

Contact : jean-louis.laplanche@lrp.aphp.fr

Les maladies à prion humaines constituent un groupe de maladies neuro-dégénératives hétérogènes, caractérisées par l'accumulation dans le système nerveux d'une forme anormalement conformée de la protéine prion (PrP) endogène associée à une perte neuronale et une astrocytose. La plus fréquente de ces maladies rares est la maladie de Creutzfeldt-Jakob (MCJ) qui existe sous une forme sporadique, génétique ou acquise et se caractérise par une démence précoce d'évolution rapide. Le syndrome de Gertsman-Straussler-Scheinker (GSS) et l'insomnie familiale fatale sont également des formes génétiques très rares. Ces formes génétiques, de transmission autosomique dominante, concernent 15 % des patients. Les différents phénotypes typiques sont associés à différentes mutations du gène PRNP (MIM#176640), qui code la protéine prion. Plus d'une cinquantaine de mutations ponctuelles ou d'insertions ont été répertoriées à ce jour. Nous décrivons un exemple original de variabilité phénotypique de ces maladies sous la forme de deux mutations distinctes affectant le résidu 211, situé dans le domaine C-terminal de PrP, et responsables de deux maladies phénotypiquement différentes sur les plans clinique, neuropathologique et biochimique. Nous présentons les cas d'un patient porteur de la mutation p.Glu211Asp associée à un GSS, ainsi que de deux patients non apparentés présentant la mutation p.Glu211Gln et atteint de MCJ. Par modélisation moléculaire, nous avons mis en évidence le fait que ces deux substitutions d'un résidu très conservé pouvaient modifier différemment la stabilité des protéines mutées. L'étude biochimique des protéines accumulées dans le système nerveux central montrent des propriétés physico-chimiques bien distinctes pouvant être reliées aux différences cliniques, biochimiques et neuropathologiques observées. Ces résultats sont en accord avec l'hypothèse protéique qui propose qu'un changement conformationnel de la protéine prion soit l'élément clé du développement de ces maladies.

**Mots-clés :** prion, Creutzfeldt Jakob, syndrome de Gertsman Straussler Scheinker.

#### ■P445. LOCALISATION DU 3<sup>e</sup> LOCUS IMPLIQUÉ DANS LE TREMBLEMENT MYOCLONIQUE CORTICAL FAMILIAL AVEC ÉPILEPSIE SUR LE CHROMOSOME 5P

D. Bouteiller (1), E. Magnin (3), G. Stevanin (1), C. Saint-Martin (1), M. Vidailhet (4, 2), E. Apatris (5), E. LeGuern (1, 2), P. Labauge (6), L. Rumbach (3), C. Depienne (1, 2)

(1) Inserm, UMR\_S975, Université Pierre-et-Marie-Curie-Paris6, CNRS 7225, Centre de Recherche, Institut du Cerveau et de la Moelle, Paris, France ; (2) AP-HP, Assistance Publique Hôpitaux de Paris, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Département de Génétique et Cytogénétique, U.F. de Neurogénétique Moléculaire et Cellulaire, Paris, France ; (3) Département de Neurologie, CHU Jean Minjot, Besançon, France ; (4)

Fédération de Neurologie, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France ; (5) Département de Physiologie, Hôpital Saint-Antoine, Paris, France ; (6) Département de Neurologie, CHU Nîmes, France  
Contact : delphine.bouteiller@upmc.fr

Le tremblement myoclonique cortical familial avec épilepsie (TMCFE) est un syndrome autosomique dominant rare caractérisé par des myoclonies corticales associées chez 40 % des patients à une épilepsie. Le tremblement cortical est le premier signe à apparaître, généralement à l'âge adulte. Deux loci, sur les chromosomes 8q23.3-q24.11 et 2p11.1-q12.2, ont été décrits pour le TMCFE mais aucun gène n'a été identifié à ce jour. Dans cette étude, nous rapportons une grande famille d'origine française avec TMCFE, pour laquelle les deux loci connus ont été exclus. Les patients présentent : 1) des crises généralisées tonico-cloniques précédant les myoclonies corticales (31 % des cas) ; 2) des crises partielles (31 %) et 3) des migraines avec auras visuelles (37 %). Un tour du génome incluant 14 membres de la famille a été effectué à l'aide de puces SNP 6K (Illumina). Le calcul LOD-score multipoint a montré une seule région positive en 5p15.31-p15.1 avec un LOD-score maximal de 3,66. Le génotypage des 45 membres de la famille disponibles à l'aide de 13 marqueurs microsatellite a permis de définir une région de 9,31Mb entre les marqueurs D5S580 et D5S2096, les LOD scores bi-points atteignant 6,3 et 6,2 à theta égal 0 pour D5S486 et D5S1380. Cet intervalle contient 23 gènes, dont la plupart sont exprimés dans le cerveau mais aucun ne code pour un canal ionique. Deux gènes candidats, SEMA5A et CTNND2, ont été analysés par séquençage direct mais aucune mutation n'a été identifiée. L'identification de ce troisième locus ouvre la perspective d'identifier le premier gène en cause dans cette pathologie hétérogène génétiquement.

**Mots-clés :** tremblements corticaux, épilepsie, chromosome 5p.

#### ■P446. ÉTUDE D'UNE COHORTE DE PATIENTS RENNAIS PRÉSENTANT DES ANOMALIES DE MIGRATION NEURONALE : DIAGNOSTIC CLINIQUE ET STRATÉGIES DE GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE

C. Quélin (1), L. Pasquier (1), P. Loget (2), S. Jaillard (3), C. Dubourg (4), S. Mercier (1), C. De la Rochebrochard (1), C. Tréguier (5), C. Fallet-Bianco (6), C. Beldjord (7), J. Chelly (7), N. Bahi-Buisson (8), S. Odent (1)

(1) Service de génétique clinique, Rennes, France ; (2) Service d'anatomie et cytologie pathologiques, Rennes, France ; (3) Service de cytogénétique et biologie cellulaire, Rennes, France ; (4) Service de biochimie et génétique moléculaire, Rennes, France ; (5) Service de radiologie et imagerie médicale, Rennes, France ; (6) Service d'anatomie pathologique, Hôpital Saint-Anne, Paris, France ; (7) Service de biochimie et génétique moléculaire, Hôpital Cochin, Paris, France ; (8) Service de neurologie pédiatrique, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris, France  
Contact : chloe1512@yahoo.fr

Les anomalies de migration neuronale appartiennent au spectre des dysgénésies corticales, pathologies développementales liées à un trouble de la mise en place du cortex et des circonvolutions cérébrales, dont les causes sont très diverses (génétiques et environnementales). Elles sont responsables d'un retard psychomoteur et d'une encéphalopathie de sévérité variable, associées à une épilepsie souvent pharmaco-résistante, et peuvent être ou non accompagnées d'anomalies des autres structures cérébrales. Elles regroupent principalement les lissencéphalies ou spectre agyrie/pachygyrie/hétérotopies laminaires sous-corticales, les hétérotopies neuronales et les polymicrogyries. Certaines des ces anomalies sont de mieux en mieux caractérisées sur le plan moléculaire. En effet, des mutations dans différents gènes codant pour des protéines tubulines (TUBA1A et TUBB2B) ont très récemment été impliquées chez des patients présentant des dysgénésies corticales diverses (pachygyrie ou polymicrogyrie) mais associant des caractéristiques communes, renforçant l'hypothèse d'un rôle des microtubules dans la migration neuronale. Aux vues de ces récentes découvertes, il nous a paru intéressant de faire le point sur ces pathologies par l'étude de 36 dossiers du CHU de Rennes et des données de la littérature, afin de revoir les aspects cliniques, radiographiques ou anatomopathologiques, nosologiques et génétiques des dysgénésies corticales. Parmi ces sujets, on distingue 12 fœtus (issus d'interruptions médicales de grossesse) et 24 patients nés vivants. L'ensemble de ces sujets (ou leurs parents) ont été vus au moins une fois à la consultation de génétique du CHU. On retient de cette étude une grande hétérogénéité clinique et génétique. En effet, parmi les sujets, 50 % ont une pachygyrie, 33 % polymicrogyrie et 19 % ont des hétérotopies neuronales. Ces anomalies peuvent être associées chez un même patient et la majorité (64 %) à d'autres malformations neurologiques. Sur le plan génétique, des anomalies ont été mises en évidence dans 25 % des cas, et impliquent 4 gènes : LIS1, DCX, TUBA1A et TUBB2B. Cette étude a de plus permis de poursuivre les

études moléculaires chez certains sujets mais il apparaît que les causes de ces malformations corticales sont encore souvent inconnues et que des progrès sont à faire dans leur compréhension. Par ailleurs, nous proposons, en accord avec les données de la littérature, une stratégie de diagnostic génétique devant un trouble de migration neuronale, différente selon le type de malformations. Enfin, cette étude nous permet de préciser le conseil génétique et de discuter de l'importance de l'imagerie anténatale, en particulier de l'IRM cérébrale fœtale, dans le dépistage des anomalies de gyration et l'évaluation de leur gravité.

**Mots-clés :** retard mental, dysgénésie corticale, migration neuronale.

#### ■P447. PATHOLOGIE MOLÉCULAIRE DE LA MALADIE DE LAFORA (EPM2) EN FRANCE

G. Lesca (1), N. Boutry-Kryza (1), B. De Toffol (2), M. Milh (3), D. Steschenko (4), M. Lemesle-Martin (5), L. Maillard (6), G. Foletti (7), G. Rudolf (8), J. Mancini (3), C. Thauvin (9), E. Hirsch (8), A. Calender (1), P. Genton (10)

(1) Service de génétique moléculaire et médicale, hôpital Édouard-Herriot et Université Claude Bernard Lyon 1, Lyon, France ; (2) Service de neurologie, CHU Bretonneau, Tours, France ; (3) Service de neurologie pédiatrique, hôpital Timone-enfants, Marseille, France ; (4) Médecine infantile, hôpital Davigney, Lavigny, Suisse ; (5) Service de neurologie, Hôpitaux universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France ; (6) Centre de génétique, hôpital ???

Contact : gaetan.lesca@chu-lyon.fr

Introduction – La maladie de Lafora (ML) ou EPM2 est une maladie neurodégénérative à transmission autosomique récessive débutant dans l'enfance ou l'adolescence. Elle est caractérisée par un syndrome myoclonique d'aggravation progressive, des crises généralisées ou partielles, en particulier occipitales, un déclin cognitif et une évolution fatale en 5 à 10 ans. La ML est causée par les mutations d'au moins deux gènes : EPM2A et NHLRC1, situés sur des bras différents du chromosome 6. Nous rapportons la première série de patients étudiés sur le plan génétique en France. Matériel et méthodes – L'ADN de 36 patients provenant de différents centres français a été étudié entre 2005 et 2009. Les gènes EPM2A et NHLRC1 ont été étudiés par séquençage des régions exoniques et recherche de grands réarrangements par qPCR. Pour la mutation d'épissage, c.101-2G>A, L'étude de l'ADNc du gène EPM2A a été effectuée par RT-PCR et séquençage. Plusieurs microsatellites intra- ou juxta-géniques ont été étudiés chez les patients présentant des mutations communes. Résultats – Le diagnostic moléculaire a été confirmé chez 10 (27 %) des cas index, dont 7 EPM2A et 3 EPM2B. Aucune consanguinité n'était rapportée dans ces familles. Tous les patients sauf 2 sont hétérozygotes composites. Concernant le gène EPM2A, 5/6 patients d'origine française sont porteurs d'au moins 1 exemplaire de la mutation p.Arg241X qui est présente sur 50 % des allèles. Tous les patients porteurs de cette mutation sauf 1 partagent le même haplotype. Quatre mutations de ce gène n'ont jamais été rapportées, dont la mutation, c.101-2G>A, qui conduit à un épissage anormal de l'exon 2. Concernant le gène NHLRC1, 2 patients sont porteurs de la mutation p.Prof69Ala qui est associée à des haplotypes différents. Une autre mutation n'a jamais été rapportée. Discussion – Nous retrouvons, chez les patients français, la grande hétérogénéité allélique classique de la ML, toutefois quelques mutations sont largement prédominantes. Notre étude montre que contrairement à ce qui était admis dans la littérature, la forme EPM2A est plus fréquente que la forme EPM2B en France. Ceci semble principalement lié à la prévalence de la mutation p.Arg241X, qui est également très fréquente en Espagne. La seule patiente de la série qui était originaire de l'étranger (Afrique du Nord) étaient porteuses de deux mutations privées du gène EPM2A. Tous les patients chez lesquels nous avons retrouvé des mutations présentaient une forme classique de ML. Nous n'avons pas retrouvé de différence évidente en termes de sévérité entre les patients EPM2A et EPM2B. Une patiente atteinte d'EPM2B a présenté une évolution particulièrement rapide avec décès au bout de 2 ans.

**Mots-clés :** lafora, épilepsie myoclonique progressive, EPM2.

#### ■P448. THE FIRST GENOME-WIDE SCAN IN A TUNISIAN FAMILY WITH GENERALIZED EPILEPSY WITH FEBRILE SEIZURE PLUS (GEFS+)

N. Fendri-Kriaa (1), N. Louhichi (1), F. Kammoun (2), G. Chabchoub (1), A. Rebai (3), C. Triki (2), F. Fakhfakh (1)

(1) Laboratoire de Génétique Moléculaire Humaine, Faculté de Médecine de Sfax, Tunisia ; (2) Unité de Neuropédiatrie de Sfax, Faculté de Médecine de Sfax, Tunisia ; (3) Unité de Bioinformatique et de Biostatistique, Centre de Biotechnologie de Sfax, Tunisia

Contact : fnourhene@yahoo.fr



Generalized Epilepsy with Febrile Seizure plus (GEFS+) is an autosomal dominant disorder characterized by the association of febrile and afebrile seizures. Five responsible genes of GEFS+ were identified: SCN1B, SCN1A, SCN2A, GABRG2 and GABRD respectively on 19q13.1, 2q21-33, 2q24, 5q34 and 1p36.3 chromosomes. Two novel susceptibility loci for GEFS+ at 2p24 and 8p23-p21 were also reported indicating the genetic heterogeneity of this disorder. The aim of this report is to identify the loci responsible for GEFS+ in a large Tunisian family by performing a 10cM density genome-wide scan. The highest multipoint LOD score (1.04) was found for D5S407 in the absence of recombination. Two other interesting regions were found around marker D19S210 (LOD = 0.799) and D7S484 (LOD = 0.61) markers. For fine mapping, additional markers in two regions on 5q13.3 and 7p14.2 were analyzed and positive LOD scores for both loci were obtained. Sequencing of SCN1B, which is the candidate gene for FS and epilepsy localized in the chromosome 19q13.1, showed the absence of any causal mutation. Our findings emphasized the genetic heterogeneity of febrile seizures. Furthermore, epilepsy in association with febrile seizures might occur in this Tunisian family owing to an interaction between at least two genes.

**Mots-clés :** GEFS+, genome scan, febrile seizures.

**■P449. ÉPIDÉMIOLOGIE MOLÉCULAIRE DU GÈNE *HTT* : L'EXPÉRIENCE DU LABORATOIRE DE NEUROGÉNÉTIQUE DU GROUPE HOSPITALIER PITIÉ-SALPÊTRIÈRE DANS LE CADRE DU DIAGNOSTIC MOLÉCULAIRE DE LA MALADIE DE HUNTINGTON**

S. Noël (1), O. Russaouen (1), M. Viéumont (1), E. Leguern (1, 2), A. Dürr (2, 3), C. Cazeneuve (1)

(1) *Unité Fonctionnelle de Neurogénétique Moléculaire et Cellulaire, Département de Génétique et Cytogénétique, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Assistance Publique – Hôpitaux de Paris, Paris, France ;* (2) *Inserm UMR\_S975, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France ;* (3) *Unité Fonctionnelle de Génétique Clinique, Département de Génétique et Cytogénétique, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Assistance Publique – Hôpitaux de Paris, Paris, France*  
*Contact : cecile.cazeneuve@psh.aphp.fr*

La maladie de Huntington est une affection neurodégénérative touchant environ 1/10 000 personnes en France. Elle est liée dans 99 % des cas à une amplification pathologique de triplets CAG dans l'exon 1 du gène *HTT*. En fonction du nombre de CAG (*n*), on distingue : les allèles non associés à la pathologie, sans risque ( $n \leq 26$ ) ou à risque ( $27 \leq n \leq 35$ ) d'instabilité méiotique ; les allèles associés à la pathologie, avec pénétrance incomplète ( $36 \leq n \leq 39$ ) ou complète ( $n \geq 40$ ). Il existe une corrélation entre le nombre de triplets et l'âge d'apparition des premiers signes cliniques. Par ailleurs, les amplifications de grande taille, rares, sont associées à des formes juvéniles, sévères et d'évolution rapide de la maladie. Nous rapportons ici la distribution de 1 667 allèles du gène *HTT* selon l'expérience de notre laboratoire qui réalise le diagnostic moléculaire de la maladie de Huntington depuis fin 2004 pour des indications de confirmation de diagnostic (DC), diagnostic présymptomatique (DPS) et diagnostic prénatal (DPN). Nous avons étudié 719 familles, soit 896 individus, dont 509 adressés pour un DC, 342 pour un DPS et 45 conjoints. Ces personnes représentent un total de 1 667 allèles indépendants. 48 DPN ont également été réalisés.  $n \leq 26$ . L'allèle portant 17 CAG est le plus fréquent (33 %) des 1209 allèles normaux. Nous avons identifié 20 allèles portant 17 triplets dont l'avant dernier est un CAA (6 % des allèles portant 17 triplets).  $27 \leq n \leq 35$ . Cinquante-sept allèles à risque d'instabilité méiotique ont été identifiés. Pour 38 individus, le second allèle est normal ( $n \geq 26$ ) alors que 19 portent un second allèle pathologique ( $n \geq 36$ ). Trois transmissions d'allèles potentiellement instables (27 ou 29 CAG) ont été recensées à l'occasion de DPN. Dans les trois cas, les allèles ont été transmis sans instabilité par le père.  $36 \leq n \leq 39$ . Un allèle à 38 CAG a été identifié chez un patient et 3 allèles à 39 répétitions ont été identifiés dont 2 à l'occasion d'un DPS.  $n \geq 40$ . L'allèle le plus fréquent ( $n = 43$ ) représente 17 % des 397 allèles recensés. 94,5 % des allèles portent de 40 à 50 répétitions, 17 allèles portent de 51 à 60 triplets (4,3 %). Cinq allèles portent plus de 60 CAG : dans quatre cas ( $n = 62, 62, 66, 70$ ), les patients présentent un âge de début dans l'adolescence ; pour un patient ayant débuté la maladie à l'âge de 4 ans, le nombre de triplet est supérieur à 120. Quarante-six transmissions d'allèles pathologiques (parent-enfant étudiés dans notre laboratoire) ont été dénombrées. Les observations sont conformes à ce qui est rapporté dans la littérature : l'instabilité est d'autant plus fréquente et plus ample que le nombre de triplets chez le parent porteur est élevé et que le parent porteur est un homme. Un seul cas de très grande instabilité a été observé : un père portant 49 triplets a transmis un allèle portant plus de 120 CAG. Au total, ce travail présente l'épidémiologie

moléculaire du gène *HTT* sur un échantillon représentatif de la population française.

**Mots-clés :** Huntington, *HTT*, épidémiologie.

**■P450. ÉVALUATION DE LA MESURE DE L'ACTIVITÉ GEF DU FACTEUR EIF2B COMME OUTIL D'AIDE AU DIAGNOSTIC DES EIF2B-PATHIES**

A. Huyghe (1, 2), L. Horzinski (1, 2), R. Schiffmann (3), M.C. Cardoso (1, 2, 4), P. Blanc (1, 2, 4), C. Gonthier (1), O. Boespflug-Tanguy (1, 2, 5), A. Fogli (1, 2, 4)

(1) *INSERM U931 CNRS 6247 Génétique Reproduction et Développement (GrED), Faculté de Médecine, Clermont-Ferrand, France ;* (2) *Université Clermont1, UFR Médecine, Clermont-Ferrand, France ;* (3) *Institute of Metabolic Disease, Baylor Research Institute, Dallas, Texas, United States ;* (4) *Service de Biochimie Médicale et Biologie Moléculaire, CHU de Clermont-Ferrand, Clermont-Ferrand, France ;* (5) *Service de Génétique Médicale, Centre de Référence Leucodystrophies, CHU de Clermont-Ferrand, Hôpital Hôtel-Dieu, Clermont-Ferrand, France.*

*Contact : anne.fogli@inserm.u-clermont1.fr*

Des mutations dans les cinq gènes EIF2B1-5 codant les sous-unités du facteur eucaryote d'initiation de la traduction 2B (eIF2B) ont été mises en cause dans un groupe hétérogène de leucodystrophies, les eIF2B-pathies. Le phénotype de ces pathologies est très variable : allant de formes sévères congénitales à des formes modérées avec un début de la maladie à l'âge adulte et une détérioration neurologique lente ou absente. La sévérité est corrélée à l'âge de début de la maladie et trois formes ont été décrites : la forme sévère infantile précoce (âge de début < 2 ans), la forme classique infantile tardive (âge de début entre 2 et 5 ans), et la forme juvénile/adulte modérée (âge de début > 5 ans). La plus fréquente est la forme classique initialement décrite, appelée syndrome CACH/VWM (Childhood ataxia with central hypomyelination/vanishing white matter disorder). L'imagerie par résonance magnétique (IRM) révèle un profil spécifique servant au diagnostic avec une atteinte diffuse et symétrique de la substance blanche (SB) cérébrale, cavitaire. À ce jour, la sélection des patients pour le séquençage long et coûteux des gènes EIF2B1-5 se fait sur des critères clinico-IRM. Le facteur eIF2B active le facteur eIF2 grâce à son activité d'échange de guanine (GEF). Nous avons montré une diminution de cette activité GEF dans les lymphoblastes de patients porteurs de mutations EIF2B1-5 en comparaison de patients contrôles, cette diminution étant corrélée à l'âge de début de la maladie. Afin d'évaluer la valeur diagnostique et pronostique de la mesure de cette activité GEF dans ces pathologies, nous avons effectué le test dans les cellules de 63 patients porteurs de mutations EIF2B1-5 en comparaison de 18 patients contrôles sains, de 19 patients avec un tableau clinico-IRM compatible avec le syndrome CACH/VWM mais non porteurs de mutations eIF2B (CACH/VWM-like), et de 19 patients porteurs d'autres leucodystrophies identifiées. Nos résultats montrent une diminution de l'activité GEF dans les cellules des patients mutés avec une spécificité de 100 % lorsque la valeur seuil est fixée < 77,5 %. Pour les patients avec leucodystrophie et avec une activité GEF > 77,5 %, des mutations dans les gènes EIF2B1-5 sont retrouvées dans 15 % des cas, ce chiffre s'élève à 27 % si les patients ont un tableau clinico-IRM CACH/VWM-like. Ainsi, le séquençage des gènes EIF2B1-5 est indiqué pour les patients cliniquement CACH/VWM avec une activité GEF > 77,5 %, principalement pour les formes modérées. La corrélation trouvée initialement entre la sévérité et la diminution de l'activité GEF est restreinte au groupe de patients sévèrement atteints avec un âge de début < 1,5 ans, et dont l'activité GEF mesurée est toujours < 55 % (marqueur pronostique). Pour les autres formes de sévérité, d'autres facteurs doivent probablement moduler l'effet des mutations sur le phénotype. Nos résultats permettent de valider ce test rapide comme un outil d'aide au diagnostic et au pronostic des eIF2B-pathies.

**Mots-clés :** leucodystrophies, diagnostic, pronostic.

**■P451. SYNDROME D'AICARDI-GOUTIÈRES : EXPÉRIENCE DU LABORATOIRE DE RÉFÉRENCE POUR LE DIAGNOSTIC MOLÉCULAIRE DES LEUCODYSTROPHIES (CHU DE CLERMONT-FERRAND)**

C. Nachury (1), P. Blanc (1, 2), A. Dion (1), I. Creveaux (1, 2)

(1) *Laboratoire de Biochimie et Biologie Moléculaire, Faculté de Médecine, CHU de Clermont-Ferrand, France ;* (2) *CNRS, UMR 6247 ; Clermont Université ; INSERM, U931, Faculté de Médecine, GrED, Clermont-Ferrand, France*

*Contact : pblanc@chu-clermontferrand.fr*

Le syndrome d'Aicardi-Goutières est une maladie rare à transmission autosomique récessive (exceptionnellement dominante). Les formes



d'apparition prénatale ou néonatale peuvent mimer les infections congénitales de type TORCH. Elles se manifestent par une encéphalopathie subaiguë associée à une épilepsie (53 %), des engelures des extrémités (43 %) et des épisodes aseptiques fébriles (40 %) et évoluent en quelques mois vers une déficience intellectuelle, une microcéphalie et un syndrome pyramidal. Les formes plus tardives, débutant après 1 an, sont de sévérité moindre : absence de microcéphalie, fonctions cognitives relativement préservées, survie au-delà de 10 ans. Le diagnostic repose sur l'aspect de leucodystrophie kystique associée à des calcifications des noyaux gris centraux et de la substance blanche à l'IRM, ainsi que sur la lymphocytose et l'élévation transitoire de l'INF alpha dans le LCR. Cinq gènes ont été identifiés comme porteurs de mutations responsables de ce syndrome : TREX1, RNASEH2A, RNASEH2C (formes plutôt précoces), RNASEH2B (formes plutôt tardives) et plus récemment SAMHD1. Depuis 2007, 34 patients ont été analysés au Laboratoire de Référence de diagnostic moléculaire des leucodystrophies et 12 identifiés comme porteurs de mutations dans l'un des 4 gènes étudiés (TREX1, RNASEH2A, B, C). La majorité de ces mutations (16/22 soit 73 %, versus 47 % selon Rice *et al.*, 2007) impliquent le gène RNASEH2B avec une forte récurrence de la mutation p.Ala177Thr dans l'exon 7 (15/22 soit 68 %, versus 29 %) pour laquelle 6 patients sont homozygotes. Trois patients sont porteurs de mutations dans TREX1 (soit 25 % des patients versus 30 %). À ce jour, nous n'avons identifié aucune mutation dans les gènes RNASEH2A et C. Toutefois, l'implication de RNASEH2A est rare (4 % des mutations décrites) et les mutations de RNASEH2C ont été décrites surtout chez des familles pakistanaises. Un des problèmes diagnostiques est l'identification d'une seule mutation à l'état hétérozygote, en l'occurrence la mutation récurrente p.Ala177Thr, héritée d'un parent lui-même indemne, ce qui suggère un défaut de détection de la seconde mutation en trans. Dans les 2 cas observés, aucune autre mutation n'a été retrouvée dans les régions analysées du gène RNASEH2B et nos résultats préliminaires indiquent que les transcrits correspondant à l'allèle non porteur de p.Ala177Thr sont de taille et de séquence normales, donc que la seconde mutation, si elle existe, n'affecte pas l'épissage. Nous n'observons pas de corrélations génotype-phénotype notables. En particulier, sur 7 enfants présentant une forme précoce, 6 sont mutés dans RNASEH2B, tandis que sur 5 enfants atteints d'une forme tardive, 3 sont mutés dans RNASEH2B. Il semble donc prioritaire de rechercher la mutation récurrente p.Ala177Thr, puis de séquencer le gène RNASEH2B, quelle que soit la forme clinique. Tous les patients mutés ont une présentation clinique conforme à la description de Rice *et al.*, 2007.

**Mots-clés :** syndrome d'Aicardi-Goutières, gènes TREX1 et complexe RNASEH2, leucodystrophie.

#### ■P452. LES MUTATIONS DE SPG11 SONT RARES DANS LES LEUCODYSTROPHIES DE CAUSE INDÉTERMINÉE

I. Coupry (1), E. Pierre (2, 3), C. Vaur-Barrière (2), E. Kaphan (4), B. Arveiler (1, 7), O. Boespflug-Tanguy (2, 6), G. Stevanin (5), C. Goizet (1, 7)

(1) Laboratoire de Génétique Humaine, Université Victor-Segalen Bordeaux 2, Bordeaux, France ; (2) INSERM UMR931 CNRS 6647, Clermont University, GReD, Clermont-Ferrand, France ; (3) Laboratoire de Cytogénétique Médicale, Clermont-Ferrand, France

(4) Service de Neurologie, Hôpital de la Timone, Marseille, France ; (5) INSERM/UPMC UMR\_S975, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France ; (6) Service de Neuropédiatrie, Hôpital Robert Debré, Paris, France ; (7) Service de Génétique Médicale, CHU Bordeaux, Bordeaux, France

Contact : cyril.goizet@chu-bordeaux.fr

Les paraplégies spastiques héréditaires sont des affections très hétérogènes caractérisées par une spasticité progressive, une faiblesse musculaire et des troubles de la sensibilité profonde des membres inférieurs. Les formes autosomiques récessives (PSAR) sont encore mal connues et seulement 6 gènes parmi les 14 loci identifiés. Une entité clinique fréquente parmi les PSAR associe une atteinte cognitive, une atrophie du corps calleux (ACC) et des anomalies de la substance blanche (PSAR-ACC). SPG11 est la forme la plus fréquente de PSAR-ACC. Nous avons recherché des mutations du gène KIAA1840/SPG11, codant pour la spatatine, par séquençage direct des 40 exons codants et des jonctions intron-exon dans une série de 35 malades atteints d'anomalies de la substance blanche ayant fait porter le diagnostic de leucodystrophie de cause indéterminée. Nous avons identifié trois mutations délétères de KIAA1840/SPG11 chez 2/35 malades. Il s'agit de mutations tronquantes : deux correspondent à des petites insertions/délétions déjà décrites dans la littérature aboutissant à un décalage du cadre de lecture, et la troisième à une nouvelle mutation d'épissage. Dans les deux cas mutés, une ACC et une paraplégie spastique d'aggravation progressive venaient compléter le tableau clinique. Les mutations

de KIAA1840/SPG11 peuvent donc rarement expliquer des phénotypes étiquetés leucodystrophies. La fréquence de SPG11 est d'environ 6 % dans notre série de 35 malades. Les anomalies de la substance blanche évocatrice d'une leucodystrophie sont cependant associées dans les deux cas à une ACC qui doit orienter vers l'analyse du gène KIAA1840/SPG11.

**Mots-clés :** SPG11, leucodystrophie, spasticité.

#### ■P453. CRIBLAGE DES GÈNES PARK DANS LES FORMES PRÉCOCES DE LA MALADIE DE PARKINSON

A. Honoré (1, 2), C. Dupuits (1, 2), C. Condroyer (1, 2), E. Lohmann (1, 2), C. Cazeneuve (3), A. Troiano (1, 2), S. Lesage (1, 2), A. Dürr (1, 2, 3), A. Brice (1, 2, 3) et le réseau PDG

(1) INSERM, UMR\_S975 (exUMR\_S679), Paris, France ; (2) Université Pierre-et-Marie-Curie-Paris6, UMR\_S975 CRicm, Pitié-Salpêtrière, Paris, France ; (3) AP-HP, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Département de Génétique et Cytogénétique, Paris, France  
Contact : alexis.brice@upmc.fr

Introduction : La maladie de Parkinson (MP) est une maladie neurodégénérative, la 2<sup>e</sup> la plus fréquente, après la maladie d'Alzheimer, avec une prévalence d'environ 2 % chez les personnes âgées de plus de 65 ans. La MP se manifeste cliniquement par la triade : akinésie, rigidité et tremblement de repos avec une bonne réponse à la L-Dopa. Ce désordre est dû à la perte de neurones dopaminergiques de la substance noire. Depuis une dizaine d'années, au moins 13 loci et 9 gènes sont associés aux rares formes monogéniques de la MP, dont 5 gènes validés par de nombreuses études génétiques : 3 gènes sont plutôt associés aux formes autosomiques récessives [Parkine (PARK2), PINK1 (PARK6) et DJ-1 (Park7)] et 2 autres, aux formes autosomiques dominantes [SNCA (PARK1/4) et LRRK2 (PARK8)]. But du travail : Estimer la fréquence relative des mutations dans les gènes de la Parkine, PINK1, DJ-1, SNCA et LRRK2 dans une série de formes précoces de la MP (âge de début de la maladie ≤ 45 ans), d'origine européenne, plus particulièrement française et nord-africaine.

**Patients et Méthodes :**

Patients : 203 cas familiaux et 345 cas isolés avec au moins un atteint ayant un âge de début de la maladie ≤ 45 ans, d'origine européenne, plus particulièrement française et nord-africaine.

Méthodes : -Séquençage des 12 exons et région promotrice de la Parkine, 8 exons de PINK1, 7 exons de DJ-1 et l'exon 41 de LRRK2 contenant la mutation fréquente G2019S, sur séquenceur automatique (ABI 3730, Applied Biosystems) et analyse des données avec le logiciel SeqScape v2.6. - Recherche de réarrangements exoniques (délétions ou multiplications) par dosage semi-quantitatif (kits SALSA MLPA Parkinson, P051/P052, MRC Holland) puis analyse des données par le logiciel GeneMapper v4.0. Résultats : - Parmi les 203 cas familiaux, 65 familles ont au moins une mutation dans la Parkine (5 sont hétérozygotes et 60 ont 2 mutations dont 1 famille avec aussi la mutation G2019S dans LRRK2), 7 ont 2 mutations dans PINK1, aucune famille n'a de mutation dans DJ-1, 8 sont hétérozygotes pour la mutation G2019S et 1 famille porte une duplication de SNCA. - Parmi les 345 cas isolés, 51 familles ont au moins une mutation dans la Parkine (17 sont hétérozygotes et 34 ont 2 mutations dont 2 cas avec aussi la mutation G2019S dans LRRK2), 1 cas porte 2 mutations dans PINK1, aucun cas n'a de mutation dans DJ-1, 12 sont hétérozygotes pour la mutation G2019S et 1 cas porte une duplication de SNCA. Conclusion : Dans cette étude, les mutations dans les gènes associés à la MP représentent ~ 40 % des formes familiales précoces et ~ 20 % des cas isolés atteints de la MP.

**Mots-clés :** Parkinson, âge de début précoce, gènes PARK.

#### ■P454. ARBRES DÉCISIONNELS POUR LES ANALYSES DE GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE DES FORMES FAMILIALES DE LA MALADIE DE PARKINSON

Réseau des Laboratoires de Diagnostic Moléculaire des Maladies Génétiques Neurologiques, Musculaires, Neurosensorielles et Retards Mentaux, C. Sân (1), A. Dürr (2, 3, 4), E. Leguern (1, 2), C. Cazeneuve (1)

(1) Unité Fonctionnelle de Neurogénétique Moléculaire et Cellulaire, Département de Génétique et Cytogénétique, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Assistance Publique – Hôpitaux de Paris, Paris, France ; (2) Inserm UMR\_S975, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France ; (3) Centre de Référence des Maladies Neurogénétiques, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Assistance Publique – Hôpitaux de Paris, Paris, France ; (4) Unité Fonctionnelle de Génétique Clinique, Département de Génétique et Cytogénétique, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Assistance Publique – Hôpitaux de Paris, Paris, France

Contact : cecile.cazeneuve@psl.aphp.fr

L'élaboration d'arbres décisionnels pour les analyses de génétique moléculaire et pour les prérequis cliniques amenant à la prescription de ces

analyses constitue une démarche indispensable pour les laboratoires de génétique moléculaire afin d'améliorer la qualité du service rendu tout en tenant compte de la limitation des moyens humains et des moyens de fonctionnement dont ils disposent. Un des objectifs du réseau des laboratoires de diagnostic moléculaire des maladies génétiques neurologiques, musculaires, neurosensorielles et retards mentaux est de rédiger ces arbres décisionnels, action favorisée pour les aspects analytiques par le rapprochement des acteurs des différents laboratoires de génétique moléculaire et, pour l'établissement des prérequis cliniques, par une collaboration avec les centres de référence maladies rares. La maladie de Parkinson est caractérisée cliniquement par la triade bradykinésie, rigidité, tremblement de repos, dus à la perte des neurones dopaminergiques de la substance noire. La réponse positive à un traitement par L-Dopa est un critère essentiel. Touchant environ 1 % de la population de plus de 60 ans, c'est la plus fréquente des maladies neurodégénératives associées à des mouvements anormaux. La très grande majorité des cas est sporadique. Les formes familiales de la maladie, autosomiques récessives ou dominantes, représentent 5 à 15 % des cas, généralement associées à un âge de début plus précoce. Actuellement 8 gènes ont été identifiés dont 4 responsables de formes autosomiques dominantes. Compte tenu du grand nombre de personnes atteintes et de l'hétérogénéité génétique, l'établissement de prérequis cliniques pour la prescription des analyses de génétique moléculaire est particulièrement critique. Compte tenu des données cliniques et des résultats des études moléculaires princeps, des critères de décisions simples, basés sur le mode de transmission, sur l'âge de début et sur l'origine géographique des patients, ont permis d'élaborer des prérequis cliniques pour la demande d'analyses génétiques. De même, la pathologie moléculaire des gènes impliqués a conduit à l'élaboration de stratégies diagnostiques. La confrontation de ces arbres décisionnels avec l'expérience d'un laboratoire ayant testé plus de 350 patients pour les gènes PARK2, SNCA ou LRRK2 a permis leur validation *a posteriori*.

**Mots-clés :** arbre décisionnel, Parkinson, critères cliniques.

#### ■P455. DIAGNOSTIC MOLÉCULAIRE DES FORMES HÉRÉDITAIRES DE LA MALADIE DE PARKINSON

C. Cazeneuve (1), C. Sâh (1), E. Leguern (1, 2), A. Dürr (2, 3), A. Brice (2, 3), et le groupe Parkinson Disease Genetics

(1) *Unité Fonctionnelle de Neurogénétique Moléculaire et Cellulaire, Département de Génétique et Cytogénétique, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Assistance Publique – Hôpitaux de Paris, Paris, France*; (2) *Inserm UMR\_S975, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France*; (3) *Unité Fonctionnelle de Génétique Clinique, Département de Génétique et Cytogénétique, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Assistance Publique – Hôpitaux de Paris, Paris, France*  
Contact : [cecile.cazeneuve@ppl.aphp.fr](mailto:cecile.cazeneuve@ppl.aphp.fr)

La maladie de Parkinson est caractérisée par la triade bradykinésie, rigidité, tremblement de repos et par une bonne sensibilité à la L-Dopa. Touchant environ 1 % de la population de plus de 60 ans, c'est la plus fréquente des maladies neurodégénératives associées à des mouvements anormaux. La grande majorité des cas est sporadique. Les formes familiales de la maladie représentent 5 à 15 % des cas, souvent associées à un âge de début précoce. Huit gènes ont été identifiés dont 4 responsables de formes autosomiques dominantes, dont les gènes LRRK2 et SNCA. Le gène PARK2 est le plus fréquemment en cause dans la forme juvénile autosomique récessive de la maladie de Parkinson. Nous présentons ici le résultat de l'analyse de 363 familles (1 ou plusieurs atteints par famille) ayant un diagnostic clinique de maladie de Parkinson et adressées pour étude du gène PARK2 (229 familles) et/ou des gènes SNCA et/ou LRRK2 (134 familles). La recherche de réarrangement (gènes PARK2 et SNCA) a été réalisée par Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification (MLPA kits P051/P052, MRC-Holland) ; les mutations ponctuelles du gène PARK2 et la mutation p.Gly2019Ser du gène LRRK2 ont été recherchées par séquençage. Au total, 2 mutations de PARK2 ont été identifiées dans 46 % (13/28) des familles avec transmission autosomique récessive ; le pourcentage chute à 13 % (17/128) pour les cas sporadiques avec un âge de début  $\leq$  40 ans ; un seul patient cas isolé avec un âge de début à 45 ans porte 2 mutations. Les réarrangements représentent 59 % (40/68) des allèles indépendamment mutés ; les mutations ponctuelles sont des mutations faux-sens (n = 10), frameshift (n = 16), non-sens (n = 1) ou conduisant à l'insertion d'un acide aminé (n = 1). Parmi les porteurs de 2 mutations, l'âge de début ne diffère pas significativement selon que les patients portent 0, 1 ou 2 réarrangements ou selon le nombre d'allèle muté conduisant a priori à une protéine tronquée. Dix patients portent une seule mutation identifiée, dont 2 portent également la mutation p.Gly2019Ser (gène LRRK2). L'âge de début moyen chez les porteurs de 2 mutations est inférieur à celui des patients ne portant pas de mutation (27,4 vs 35,4,  $p < 0,001$ ). Le gène

SNCA a été étudié dans 65 familles et la seule mutation p.Gly2019Ser du gène LRRK2 a été recherchée dans 69 familles. Une duplication du gène SNCA a été identifiée chez 2 patients, dont l'un se présente comme un cas isolé. La mutation p.Gly2019Ser a été identifiée dans 31 familles, dont une fois à l'état homozygote, 26 de ces familles étant originaires du Maghreb. Une nouvelle mutation du gène LRRK2 (c.5957A>C – p.His1986Pro) a été identifiée dans une famille dominante caucasienne. Au total, ces résultats montrent la nécessité de suivre les arbres décisionnels établis pour les analyses de génétique moléculaire des formes familiales de la maladie de Parkinson et élaborés conjointement par les centres de référence maladies rares et les laboratoires de génétique moléculaire.

**Mots-clés :** Parkinson, diagnostic moléculaire, critères cliniques.

#### ■P456. MALADIE DES GANGLIONS DE LA BASE SENSIBLE À LA BIOTINE : IDENTIFICATION DE DEUX NOUVELLES MUTATIONS DE SLC19A3 DANS UNE FAMILLE PORTUGAISE

A. Rastetter (2, 3), C. Depienne (2, 3, 4), R. Debs (1, 2), C. Jardel (4), B. Keren (4), A. Brice (2, 3, 4), F. Sedel (1, 2)

(1) *Fédération des maladies du système nerveux, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Hôpital de la Salpêtrière, Paris, France*; (2) *Université Pierre-et-Marie-Curie6, Paris, France*; (3) *INSERM UMR\_S975 (EX-U679), Paris, France*; (4) *AP-HP, Département de génétique et cytogénétique, Fédération de Génétique, Hôpital de la Salpêtrière, Paris, France*  
Contact : [christel.depienne@upmc.fr](mailto:christel.depienne@upmc.fr)

La maladie des ganglions de la base répondant à la biotine est une maladie autosomique récessive rare qui a été décrite en 1998 dans huit familles Saoudienne, syriennes et yéménites. La maladie se présente avec des épisodes d'encéphalopathie aiguë qui peut conduire à une invalidité permanente (motrice et cognitive), voire au coma et à la mort si elle reste non traitée. Entre ces épisodes, prédominent des symptômes extrapyramidaux. L'IRM cérébrale présente spécifiquement des lésions bilatérales de la tête du noyau caudé, et perte partielle ou complète du putamen. L'administration de fortes doses de biotine conduit à une amélioration partielle ou totale des symptômes extrapyramidaux en quelques jours ou quelques mois, tandis que l'interruption du traitement à la biotine conduit à la réapparition des symptômes. En 2005, le gène causal a été cartographié en 2q36.3 et deux mutations faux-sens ont été identifiées dans le gène SLC19A3, codant pour hTHTR2, deuxième protéine transporteur de la thiamine. Toutefois, la biotine ne semble pas être un substrat de hTHTR2 et l'interaction entre la biotine et ce transporteur de thiamine ainsi que le mécanisme précis par lequel la biotine rétablit, au moins partiellement, le phénotype clinique demeurent inconnues. Jusqu'à présent, la maladie n'avait jamais été observée en dehors du Moyen-Orient. Dans cette étude, nous rapportons une famille portugaise avec deux patients adultes présentant des symptômes évocateurs de la maladie des ganglions de la base sensible à la biotine. Le premier patient a répondu à une dose élevée de biotine, alors que pour le second, l'ajout de thiamine a été nécessaire, suggérant ainsi un rôle majeur du transporteur de la thiamine dans la physiopathologie de cette maladie. Le séquençage du gène SLC19A3 chez ces patients à partir d'ADN génomique extrait de lymphocytes du sang périphérique a permis d'identifier deux nouvelles mutations hétérozygotes composites. La première est la duplication d'une thymine dans l'exon 2 (c.74dupT/p.Ser26LeufsX19) entraînant un décalage du cadre de lecture et créant un codon stop prématuré. La seconde est la substitution intronique d'un nucléotide, 14 bases en amont de l'exon 4 (c.980-14 A>G) créant un nouveau site accepteur d'épissage. L'étude de l'ARN messenger extrait à partir de fibroblastes a ainsi montré que la mutation intronique conduit à un saut de l'exon 4. Ces résultats montrent que cette maladie est également présente en Europe et suggère que les mutations dans SLC19A3 causent une perte de fonction de la protéine hTHTR2.

**Mots-clés :** SLC19A3, biotine sensible, maladie métabolique.

#### ■P457. NEURO-DÉGÉNÉRESCENCE AVEC ACCUMULATION DE FER DANS LE CERVEAU : UNE ÉTUDE GÉNÉTIQUE DE 6 FAMILLES

E. Mundwiller (1), S. Assami (2), A. Dürr (1, 3), H. Azzedine (1), S. Mahoiu (2), S. Belardi (2), A. Brice (1, 3), M. Tazir (2), G. Stevanin (1, 3)

(1) *INSERM/UPMC UMR\_S975, CNRS 7225, Centre de Recherche de l'Institut du Cerveau et de la Moelle Épineuse, NEB, GHU Pitié-Salpêtrière, Paris, France*; (2) *Département de Neurologie, CHU MUSTAPHA, Alger, Algérie*; (3) *APHP, Dpt de Génétique et Cytogénétique, GHU Pitié-Salpêtrière, Paris, France*  
Contact : [emeline.mundwiller@upmc.fr](mailto:emeline.mundwiller@upmc.fr)

Objectifs : Notre étude a consisté en la recherche de mutations et de réarrangements dans le gène codant pour la pantothénate kinase 2 (PANK2)



dans 6 familles présentant des signes caractéristiques d'une neuro-dégénérescence avec accumulation de fer dans le cerveau. Introduction : Il s'agit d'une maladie neuro-dégénérative rare à hérédité autosomique récessive qui se déclare dans l'enfance. Elle est caractérisée principalement par une dystonie progressive et une accumulation de fer dans les noyaux gris. Cette accumulation se traduit sur l'IRM cérébrale par un hypersignal T2 du pallidum associé à un hypersignal T2 du pallidum interne avec l'aspect caractéristique en « œil de tigre ». Plusieurs études ont montré la liaison entre cet aspect d'« œil de tigre » et le gène codant pour la pantothénate kinase 2 (PANK2) localisé sur le chromosome 20p13. Cette enzyme mitochondriale est un régulateur clé dans la voie de synthèse du Coenzyme A. Un déficit en PANK2 entraîne une accumulation de cystéine qui chélate le fer traduisant cet aspect typique à l'IRM. Méthodes : Séquençage et recherche de réarrangements par la technique de MLPA dans le gène PANK2 dans 6 familles dont 4 avec un phénotype typique. L'IRM n'était pas disponible pour les patients des 2 autres familles. Résultats : Les 6 familles étudiées présentent des mutations dans le gène PANK2. Deux mutations tronquantes homozygotes ont été identifiées dans 2 familles d'origine algérienne. Une des ces 2 mutations a été retrouvée à l'état hétérozygote dans une troisième famille algérienne co-ségrégant avec 2 variations faux-sens absentes chez des contrôles caucasiens et nord-africains. Les effets délétères de ces 2 variations faux-sens restent à déterminer. Dans les 3 autres familles d'origine française, 1 mutation tronquante hétérozygote et 4 variations faux-sens hétérozygotes ont été observées. Ces dernières sont absentes chez des contrôles caucasiens et concernent des acides aminés conservés au cours de l'évolution. Parmi ces 4 variations faux-sens, une (p.G521R) a déjà été impliquée dans plusieurs familles et est associée à une diminution d'activité de l'enzyme. Conclusions et perspectives : Tous les patients atteints des 6 familles analysées s'avèrent mutés dans le gène PANK2. Parmi les familles pour lesquelles l'IRM était disponible, nous confirmons le lien entre la présence d'un « œil de tigre » et des mutations dans PANK2.

**Mots-clés :** neuro-dégénérescence, œil de tigre, PANK2.

#### ■P458. DÉFICIT EN GLUT1 (MALADIE DE VIVO) : 23 CAS DIAGNOSTIQUES EN FRANCE

S. Vuillaumier-Barrot (1, 2), C. Le Bizec (1), T. Dupré (1, 2), G. Louis (1), N. Bahi-Buisson (3), S. Odent (4), M. Mayer (5), D. Chaigne (6), S. Bekri (7), V. Drouin-Garraud (8), A. Goldenberg (8), E. Flori (9), E. Raffo (10), J. Mancini (11), S. Julia (12), A. Roubertie (13), A. Roubertie (14), D. Doummar (15), K. Maincent (15), J.M. Pedespan (16), V. Des Portes (17), M.A. Courmelle (18), A. Le Bihannic (19), D. Heron (20), F. Dubois-Teklali (21), P. De Lonlay (22), N. Seta (1)  
 (1) AP-HP, Biochimie, Hôpital Bichat, Paris, France ; (2) INSERM U773 CRB3, Paris, France ; (3) APHP, Hôpital Necker, Neuropédiatrie, Paris, France ; (4) Génétique Médicale, CHU de Rennes, France ; (5) APHP, Hôpital Saint-Vincent-de-Paul, Neuropédiatrie, Paris, France ; (6) Neuropédiatrie, CH Marie Madeleine, Forbach, France ; (7) Biochimie Médicale, CHU de Rouen, France ; (8) Génétique, CHU de Rouen, France ; (9) Génétique Médicale, Hôpital de Haute-pierre, Strasbourg, France ; (10) Médecine infantile3 et Génétique Médicale, CHU de Nancy, France ; (11) Neurologie Pédiatrique, CHRU de Marseille, France ; (12) Génétique Médicale, Hôpital Purpan, CHU de Toulouse, France ; (13) Neuropédiatrie, CHRU de Montpellier, France ; (14) Neurologie, Hôpital Saint Antoine, France ; (15) Neuropédiatrie, Hôpital Trousseau, France ; (16) Pédiatrie, CHU de Bordeaux, France ; (17) Neuropédiatrie, Hôpitaux de Lyon, France ; (18) Pédiatrie, Centre hospitalier du pays d'Aix, France ; (19) Pédiatrie, Centre Hospitalier de Saint-Brieuc, France ; (20) APHP, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Centre de Référence « Déficiences intellectuelles » Département de Génétique et Cytogénétique, Paris, France ; (21) CHU de Grenoble, Neuropédiatrie, France ; (22) APHP, Hôpital Necker, Maladies Métaboliques, Paris, France  
 Contact : sandrine.vuillaumier@bch.aphp.fr

Le syndrome de déficit en transporteur du glucose de type 1 (GLUT-1, OMIM 606777), décrit en 1991 par De Vivo, de transmission autosomique dominante, est lié à un défaut de transport du glucose au niveau de la barrière hémato-encéphalique (environ 100 cas dans le monde publiés). Il se manifeste par une encéphalopathie comportant une épilepsie pharmacorésistante, une microcéphalie acquise, un retard du développement psychomoteur, une ataxie intermittente et d'autres troubles neurologiques paroxystiques (mouvements anormaux). Le diagnostic, orienté par la clinique et une hypoglycorachie (glycorachie/glycémie < 0,4), repose sur la mise en évidence d'une mutation hétérozygote sur le gène SLC2A1, le plus souvent de novo. La recherche de mutations sur SCL2A1 se fait par séquençage des 10 exons et des régions introniques flanquantes, puis, en cas d'absence de mutation, par la recherche d'une hémizygotie par PCR en temps réel et par MLPA (MRC-Holland). La causalité des mutations

faux-sens est vérifiée par un test phénotypique de captation par les globules rouges de déoxy-D-glucose marqué au carbone 14. Au cours des 4 dernières années, 65 demandes de diagnostic nous ont été adressées, parmi lesquelles nous avons mis en évidence une mutation dans 23 cas (35 % des cas étudiés) (âge médian de diagnostic : 9 ans) dont 17 sont nouvellement décrites : 6 décalages du cadre de lecture [c.737\_740del AAGA ; c.32\_33del GC ; c.970insA(+c.970\_972+3delTCGGTG ; c.21delG (p.Lys7AsnfsX2) ; c.1365dupT], 1 petite délétion [c.493\_504del12 (p.Val165Ile168Del)], 1 mutation d'épissage [c.1257C> T (p.Gly419AlafsX28)] et 4 mutation non-sens [c.338C> A (p.Ser113X) ; c.143G> A (p.trp48X) ; c.121G> T (p.Glu41X) ; c.349A>T p.Lys117X]. Enfin, les 6 faux-sens [c.68C> T (p.Ser23Phe) ; c.409A> G (p.Thr127Ala) ; c.388G> A (p.Gly130Ser) ; c.443C>T (p.Ser148Leu) ; c.425T>A p.Met142Lys ; c.94G>C p.Val34Leu] sont données comme pathogènes par l'analyse in silico. Les 5 mutations restantes [c.436G> A ; p.Glu146Lys ; c.884C>T p.Thr 295 Met ; c.376C>T p.Arg126Cys ; c.988C>T p.Arg330X] et une délétion du gène entier retrouvée chez 2 patients (en cours de bornage par puce CGH Agilent 15K) avaient été décrites précédemment. L'exon 4 semble particulièrement impliqué (9/23 mutations). Trois cas sont familiaux où les 3 parents sont peu symptomatiques (épilepsie isolée dans l'enfance). Le test phénotypique, diminué de 50 % chez une famille porteuse d'une délétion de 4 acides aminés (père et enfant), a permis de confirmer le caractère pathogène de la mutation. Dans notre série, les signes cliniques sont dominés par l'épilepsie (87 %), les troubles moteurs (70 %), et un léger retard mental plus important en présence de mutations sévères. Le diagnostic de déficit GLUT1, certainement sous-diagnostiqué ou encore tardivement évoqué, doit être plus souvent demandé, d'autant qu'il existe une possibilité de traitement par un régime cétogène.

**Mots-clés :** GLUT1, de vivo, épilepsie.

#### ■P459. HYPEREXPLEXIA : ASPECTS CLINIQUES ET GÉNÉTIQUES D'UNE FAMILLE

V. Barre-Dezellus (1, 3), J.C. Netter (2), B. Tauzin (2), S. Marret (3) J.F. Vanbellinghen (4)

(1) Service de pédiatrie, Centre hospitalier du Belvédère, Mont-Saint-Aignan, France ; (2) Service de pédiatrie, Hôpital de Tarbes, France ; (3) Service de médecine néonatale, CHU de Rouen, France ; (4) Laboratoire de biologie moléculaire, CHU Sart Tilman, Liège, Belgique  
 Contact : veronique.barre@ch-belvedere.fr

Résumé : L'hyperexplexia est une maladie neurologique d'expression néonatale caractérisée par une hypertonie marquée associée à des manifestations paroxystiques non épileptiques déclenchées par des stimuli auditifs, visuels, ou des manipulations. Le risque de mort subite est réel la première année, l'hypertonie axiale disparaît en 2 à 3 ans mais des anomalies de psychomotrices persistent toute la vie. Nous rapportons l'observation de Damien présentant dès la naissance une hypertonie majeure disparaissant lors du sommeil et une hyperexcitabilité avec difficultés d'alimentation faisant suspecter un syndrome de sevrage aux morphiniques. Les difficultés d'alimentation avec pleurs incessants vont être compliquées d'une exceptionnelle hernie ombilicale étranglée et de hernies inguinales. L'hypertonie sera majeure jusqu'à l'âge de 2 ans associée à des accès de panique lors de certains bruits et des troubles du sommeil. À 6 ans, l'enfant a une intelligence normale mais une rééducation orthophonique pour dysarthrie et une rééducation en psychomotricité pour une dyspraxie gênant l'apprentissage de l'écriture. Il présente des impériosités mictionnelles nécessitant un traitement et un aménagement scolaire. Sa maman présentait des pieds bots varus équinés à la naissance et n'a marché qu'à l'âge de 7 ans. Elle a été hospitalisée de façon récurrente pour des problèmes neurologiques mal expliqués jusqu'à l'âge de 3 ans. Elle a deux premiers enfants bien portants. Elle prépare un diplôme d'aide soignante. Sacha est le cousin germain de Damien. Il est hospitalisé à j3 pour suspicion de convulsions, présente des accès d'hypertonie en opisthotonos et des sursauts à la moindre stimulation. À un an, son tonus est typique du stiffbaby syndrome, il présente des apnées du sommeil. L'étude génétique a mis en évidence une substitution c838>A au niveau de l'exon 7 du gène GLRA1 chez Damien et sa mère et chez Sacha et sa mère, sœur de la maman de Damien. Le gène GLRA1 est localisé en 5q33-35. Les mutations du gène GLRA1 (dominante ou récessive) et du gène SLC6A5 ne permettent d'expliquer que 30 à 40 % des cas d'hyperexplexia Cette affection probablement sous-diagnostiquée du fait de l'hétérogénéité clinique mérite d'être mieux reconnue pour une prise en charge appropriée.

**Mots-clés :** hyperexplexia, neonate, biologie moléculaire.



#### ■P460. ÉTUDE DES DÉTERMINANTS GÉNÉTIQUES DES ENCÉPHALOPATHIES ÉPILEPTIQUES PRÉCOCES : UNE MALADIE DE LA NEUROTRANSMISSION ?

M. Milh (1, 2, 3), C. Mignon-Ravix (2, 3), P. Cacciagli (2, 3), B. El-Waly (2, 3), B. Chabrol (1, 2, 3), L. Villard (2, 3)

(1) *Service de Neurologie Pédiatrique, Hôpital d'Enfants de La Timone, Marseille, France* ; (2) *INSERM UMR-S 910, Marseille, France* ; (3) *Université de la Méditerranée, Marseille, France*  
Contact : mathieu.milh@ap-hm.fr

Les encéphalopathies épileptiques précoces (EEP) constituent un groupe hétérogène de maladies du développement, dont les points communs sont : – une épilepsie sévère débutant dans les trois premiers mois de vie, avec des crises multifocales, des spasmes épileptiques et/ou des myoclonies ; – un tracé EEG très perturbé, avec des anomalies multifocales et une altération du rythme de fond pouvant aller jusqu'au tracé de type « suppression-burst » – un trouble sévère du développement, avec un pronostic vital parfois mis en jeu à court terme, et dans tous les cas un polyhandicap sévère. Les EEP peuvent être en rapport avec des anomalies morphologiques cérébrales (Lissencéphalie, hémimégalencéphalie...), ou des anomalies fonctionnelles, avec une IRM cérébrale normale. Nous nous intéressons à ce dernier groupe de sujet, et basée sur la réalisation d'un modèle animal d'EEP, nous faisons l'hypothèse qu'il s'agit d'un trouble sévère de la neurotransmission glutamatergique. Notre projet consiste à étudier tous les gènes impliqués dans la neurotransmission glutamatergique chez les patients EEP. Cette hypothèse a été renforcée par la découverte récente d'un gène impliqué dans les EEP ; le gène STXBPI/MUNC18-1, impliqué dans la libération vésiculaire des neurotransmetteurs. Nous avons débuté une étude multicentrique visant à collecter de manière prospective les nouveaux cas d'EEP avec IRM normale, dont le bilan étiologique est négatif. Notre étude comportera ensuite trois étapes : 1) Séquençage des gènes impliqués dans les EEP : STXBPI/MUNC18-1 et ARX chez le garçon. 2) Screening par puce CGH 244K 3) Screening par puce dédiée haute-résolution de 2 205 exons appartenants à des gènes impliqués dans le métabolisme du glutamate. Les résultats préliminaires de ce travail seront présentés lors des Assises.

**Mots-clés** : épilepsies, encéphalopathie, neurotransmission.

#### ■P461. STRATÉGIE DIAGNOSTIQUE ACTUELLE DANS LES CÉROÏDE-LIPOFUSCINOSES

J.P. Puech (1), J. Dussau (1), A. Gelot (3, 2), B. Chabrol (4), C. Caillaud (1, 2)

(1) *Laboratoire de Biochimie Génétique (AP-HP), Faculté de Médecine Cochin Port-Royal, Paris, France* ; (2) *Institut Cochin, INSERM U567, CNRS UMR 8104, Université Paris Descartes, Paris, France* ; (3) *Unité de Neuropathologie, Hôpital Armand-Trousseau, Paris, France* ; (4) *Unité de Médecine Infantile, Hôpital Timone Enfants, Marseille, France*  
Contact : catherine.caillaud@inserm.fr

Les céroïde-lipofuscinoses neuronales (CLN) sont des maladies neurodégénératives, à transmission récessive autosomique, caractérisées par l'accumulation intralysosomale de lipopigments autofluorescents, notamment dans les neurones. Quatre formes cliniques principales ont été décrites : infantile (débutant entre 6 et 18 mois), infantile tardive (entre 2 et 4 ans), juvénile (entre 4 et 7 ans) et adulte. Cependant, de très nombreux variants ont été rapportés, laissant présager une grande hétérogénéité génétique. À ce jour, huit loci ont déjà été impliqués dans la genèse de ces affections. Le gène CLN1 code la palmitoyl protéine thioestérase (PPT) et le gène CLN2 la tripeptidyl peptidase I (TPP-I). Six autres gènes codant pour des protéines transmembranaires ont été rapportés : CLN3 (variant juvénile), CLN5 (variant finlandais), CLN6 (variant indo-européen), CLN8 (Northern epilepsy), CLN10 (cathepsine D) et plus récemment CLN7 (ou MFSD8). Des patients français ou originaires d'Afrique du nord suspects de CLN ont été étudiés pour ces différents loci. Une dizaine d'enfants atteints de forme infantile de la maladie ont pu être caractérisés à la fois par dosage de la PPT et mise en évidence de mutations sur le gène CLN1. En ce qui concerne la forme juvénile classique de la maladie, la plupart des patients français testés pour le gène CLN3 étaient porteurs de la délétion commune de 1,02 kb. Dans la forme infantile tardive, la plus fréquente en France, le gène CLN2 a été trouvé impliqué chez quarante quatre patients. La moitié d'entre eux étaient porteurs des mutations communes R208X et IVSSG>C. Chez les autres patients, de nombreuses anomalies nouvelles de type délétions, insertions, mutations non sens ou faux sens ont pu être mises en évidence. Pour ces dernières, un travail de modélisation est en cours pour confirmer leur vraisemblable caractère délétère. Chez les autres patients présentant une forme infantile tardive, l'implication des gènes CLN5, CLN8 et CLN10 a pu être exclue par séquençage direct. Cinq patients étaient porteurs de délétions ou d'insertions dans le gène

CLN6. Il étaient principalement originaires du Pakistan ou d'Afrique du Nord. Enfin, tout récemment, des mutations du gène CLN7 ont été retrouvées chez deux patients ayant un phénotype clinique très similaire aux patients CLN2. Au total, dans les formes infantiles tardives, la stratégie diagnostique actuelle débute par l'étude des gènes CLN2 et CLN7 respectivement par dosage enzymatique et séquençage direct. Par la suite, un examen neuropathologique est souhaitable afin de confirmer le diagnostic de CLN (surcharge curvilinéaire, granulaire, empreinte) avant d'entreprendre le séquençage des gènes alternatifs (connus ou candidats). Pour les formes infantiles et juvéniles, le diagnostic peut généralement être assuré par l'étude des gènes CLN1 et CLN3. Enfin, les formes adultes et congénitales restent encore à décrypter.

**Mots-clés** : céroïde-lipofuscinoses, palmitoyl protéine thioestérase, tripeptidyl peptidase I.

#### ■P462. HYPOPLASIE PONTOCÉRÉBELLEUSE ASSOCIÉE À DES ANOMALIES DU GÈNE CASK : CONFIRMATION D'UN PHÉNOTYPE RECONNAISSABLE ET 1ER CAS DE MOSAÏQUE SOMATIQUE

L. Burglen (1, 8), S. Chantot-Bastarud (1, 8), A. Afenjar (2, 8, 9), C. Goizet (3), M. Milh (4), N. Philip (5), A. Legall (1), N. Jeanne (1), I. Desguerre (6), D. Lacombe (3), C. Garel (7, 8), D. Rodriguez (2, 8)

(1) *Service de Génétique Médicale, AP-HP, Hôpital Trousseau, Paris, France* ; (2) *Service de Neuropédiatrie, AP-HP, Hôpital Trousseau, Paris, France* ; (3) *Service de Génétique Médicale, Centre Hospitalier Universitaire, Bordeaux, France* ; (4) *Service de Neuropédiatrie, Hôpital La Timone Enfants, Marseille, France* ; (5) *Service de Génétique, Hôpital La Timone Enfants, Marseille, France* ; (6) *Service de Neuropédiatrie, AP-HP, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France* ; (7) *Service de Radiologie, AP-HP, Hôpital Trousseau, Paris, France* ; (8) *Centre de référence des malformations et maladies congénitales du cerveau, AP-HP, Hôpital Trousseau, Paris, France* ; (9) *Département de génétique, AP-HP, Pitié Salpêtrière, Paris, France*  
Contact : lydie.burglen@trs.aphp.fr

Les hypoplasies pontocérébelleuses (HPC) sont des pathologies le plus souvent autosomiques récessives, caractérisées par une insuffisance de développement et/ou une neurodégénérescence précoce du cervelet et du tronc cérébral. On en distingue cliniquement 5 sous-types : HPC2, le plus fréquent, avec microcéphalie progressive et dystonie-choréoathétose liée à des mutations de 3 des 4 sous-unités du complexe tRNA splicing endonuclease ; HPC4, forme sévère d'HPC2 ; HPC1 avec atteinte de la corne antérieure de la moëlle ; HPC 3 et 5 entités très rares. Enfin, des délétions et des mutations *de novo* du gène CASK situé en Xp22, codant pour une protéine intervenant dans la régulation de l'expression de la Reelin, ont été identifiées chez des filles présentant une HPC avec microcéphalie et chez un garçon atteint d'une forme sévère. Nous rapportons 7 patients (6 filles et un garçon ; âge 2-16 ans) présentant une HPC ne répondant pas aux critères des HPC 1, 2 et 4 (absence d'atteinte de la corne antérieure et de mouvements choréoathétosiques, retard des acquisitions moins sévère) chez lesquels des anomalies *de novo* du gène CASK ont été identifiées (mutations non-sens et d'épissage hétérozygotes (6/7), large délétion Xp22 de 3 Mb (1/7)). L'analyse du phénotype met en évidence un tableau reconnaissable : hypotonie et retard moteur constants avec une marche non acquise ou acquise éventuellement après 3 ans ; dystonie et mouvements bucco-linguaux mais sans mouvements choréoathétosiques ; langage absent ou réduit à quelques mots ; microcéphalie postnatale sévère (-4,5 à -6DS) ; épilepsie peu fréquente (2/6) ; atteinte ophtalmologique (mégalo-cornée, glaucome, papilles pâles, rétine poivre et sel) ; déficit auditif (3/6) ; scoliose ; anomalies mineures des extrémités et dysmorphie (visage rond, sourcils en arc de cercle, racine du nez haute, lèvre inférieure charnue) ; retard statural inconstant. L'imagerie cérébrale retrouve dans tous les cas une hypoplasie du vermis et des hémisphères cérébelleux de sévérité variable, ainsi qu'une hypoplasie du tronc cérébral. L'unique garçon de notre série, contrairement au patient décrit dans la littérature et à ce qui est attendu pour une pathologie liée à l'X, présente un phénotype moins sévère : marche acquise à 3 ans, non ataxique, langage avec petites phrases, microcéphalie (-3DS), absence de signes neurologiques. L'imagerie cérébrale, qui a été l'élément orientant vers le gène CASK est en revanche peu différente de celle des autres patientes. De façon intéressante, il a été retrouvé chez ce patient une mutation non-sens en mosaïque dans les lymphocytes. En conclusion, l'étude du gène CASK est indiquée chez tout enfant, fille mais aussi garçon, présentant un tableau radiologique d'HPC associé à une microcéphalie progressive sévère, un retard psychomoteur avec dystonie et en l'absence de signe orientant vers une HPC de type 1 (atteinte de la corne antérieure) ou 2/4 (mouvements choréoathétosiques et quasi absence d'acquisitions).

**Mots-clés** : hypoplasie pontocérébelleuse, gène CASK, mosaïque somatique.

#### ■P463. ENCÉPHALITE AIGUË NÉCROSANTE FAMILIALE ET MUTATION DU GÈNE RANBP2

E. Purenne (1), D. Rodriguez (2, 4), L. Balu (1), L. Burglen (3, 4)  
 (1) Service de réanimation pédiatrique, AP-HP, Hôpital Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre, France ; (2) Service de Neuropédiatrie, AP-HP, Hôpital Trousseau, Paris, France ; (3) Service de Génétique Médicale, AP-HP, Hôpital Trousseau, Paris, France ; (4) Centre de référence des maladies neurogénétiques, Pitié-Trousseau, Paris, France  
 Contact : lydie.burglen@trs.aphp.fr

Les encéphalites aiguës nécrosantes (ANE) sont des encéphalopathies survenant de façon aiguë au décours d'une infection virale, le plus souvent à virus influenzae ou parainfluenzae. La plupart des ANE surviennent de façon sporadique et ne récidivent pas. Des formes familiales et/ou récurrentes d'ANE ont toutefois été rapportées. Les patients, sans antécédent personnel notable présentent à l'occasion d'un épisode infectieux, un tableau neurologique rapidement progressif avec coma et souvent crises épileptiques et lésions des noyaux gris, des thalami et du tronc cérébral à l'imagerie cérébrale. L'évolution est variable se faisant vers le décès, la guérison complète ou avec séquelles, avec un risque élevé de récurrence à distance (50 %). Des antécédents familiaux sont parfois observés et des porteurs obligatoires peuvent ne présenter aucun signe (40 %). Des mutations dominantes, transmises ou *de novo*, du gène RANBP2 ont été identifiées dans des cas familiaux et ou récurrents d'ANE. Le gène RANBP2 code pour une protéine localisée à la face cytoplasmique du pore nucléaire qui semble avoir de multiples fonctions dont un rôle dans le transport nucléaire des ribonucléoprotéines virales. Nous rapportons une famille comportant 3 patients ayant présenté une ANE et un adulte asymptomatique, porteur obligatoire. Le cas index est une enfant de 6 ans, hospitalisée en réanimation pour un coma faisant suite à l'installation progressive sur 15 jours de troubles de la marche, d'un syndrome cérébelleux puis de troubles de la conscience avec troubles respiratoires au décours d'un épisode viral. La ponction lombaire était normale mais l'IRM révélait des lésions symétriques massives du tronc cérébral, des thalami et des capsules externes. La mère de l'enfant, âgée de 35 ans présente une déficience intellectuelle légère et un syndrome cérébelleux. Elle a présenté une encéphalite aiguë, à l'âge de 6 mois puis 3 autres épisodes dont le dernier à l'âge de 24 ans. L'interrogatoire du grand-père maternel, totalement asymptomatique, retrouve la notion du décès dans l'enfance d'un demi-frère de cette jeune femme. Ce garçon a présenté à l'âge de 1 an, alors que son développement était normal, un tableau neurologique aigu de type encéphalite. Il a évolué avec des séquelles à type de déficience intellectuelle et est décédé à l'âge de 10 ans à l'occasion d'un nouvel épisode d'ANE très brutal. L'étude moléculaire du gène RANBP2 a permis de retrouver chez la petite fille et sa mère la mutation p.Thr585Met, mutation majoritaire identifiée dans d'autres familles d'ANE et dans des cas sporadiques avec récurrences. En l'absence de données précises sur la prise en charge optimale des patients à risque, se pose dans ces familles la délicate question de l'opportunité du diagnostic présymptomatique.

**Mots-clés :** encéphalite aiguë nécrosante, gène RANBP2, diagnostic présymptomatique.

#### ■P464. ANALYSE DE SEPT9 DANS LA NÉVRALGIE AMYOTROPHIANTE HÉRÉDITAIRE (NAH)

G. Solé (1, 2), I. Coupry (2), A. Daubos (2), C. Verny (3), E. Ginglinger (4), X. Ferrer (1), D. Lacombe (2, 5), B. Arveiler (2), C. Goizet (2, 5)  
 (1) Centre de référence des maladies neuromusculaires et service de neurologie, CHU de Bordeaux, France ; (2) Laboratoire de Génétique Humaine, Université Victor Ségalen Bordeaux 2, France ; (3) Centre national de référence pour les maladies neurogénétiques et mitochondriales de l'adulte et département de neurologie, CHU d'Angers, France ; (4) Service de génétique, CHG de Mulhouse, France ; (5) Service de génétique, CHU de Bordeaux, France  
 Contact : guilhem.sole@chu-bordeaux.fr

**INTRODUCTION** La névralgie amyotrophante héréditaire (NAH) est responsable d'épisodes de plexopathie douloureuse récidivante essentiellement dans le territoire du membre supérieur. Des mutations de SEPT9 en sont responsables. **OBJECTIFS** Peu de publications confirment à ce jour l'implication de SEPT9 dans la NAH. L'objectif de notre étude est d'analyser ce gène à la recherche de mutations sur une cohorte de patients français. **MÉTHODES** Nous avons collecté les prélèvements de 11 patients issus de 6 familles différentes. Après avoir établi la structure introns/exons de SEPT9, nous avons procédé au séquençage direct de ses zones codantes et de certaines zones de régulation. **RÉSULTATS** La mutation p.S93F dans l'exon 2 de SEPT9 a été mise en évidence chez un homme de 43 ans ayant présenté au moins deux épisodes authentifiés de NAH, dont le premier à

l'âge de 10 ans. Sa mère, actuellement décédée, avait également présenté deux épisodes du même type. **DISCUSSION** La famille des septines a été initialement identifiée comme un groupe de protéines de régulation du cycle cellulaire, en faisant des cibles thérapeutiques dans les leucémies myéloïdes aiguës. Le nombre de cas de NAH liés aux mutations de SEPT9 et rapportés dans la littérature reste faible. La mutation que nous avons mise en évidence était déjà décrite dans une seule famille issue de la publication princeps. Notre étude confirme le rôle pathogène de cette mutation. **CONCLUSION** Notre étude confirme l'implication de SEPT9 dans la NAH. Nous souhaitons maintenant augmenter la taille de notre cohorte de patients à la recherche de nouvelles mutations.

**Mots-clés :** SEPT9, névralgie amyotrophante héréditaire, syndrome de Parsonnage et Turner héréditaire.

#### ■P465. UN NOUVEAU LOCUS DANS LA COMPLEXITÉ DES PARAPLÉGIES SPASTIQUES AUTOSOMIQUES RÉCESSIVES

C. Tesson (1), M. Salih (2), P. Coutinho (3), N. Bouslam (1), A.L. Leutenegger (1), E. Denis (4), M. Depla (1), C. Goizet (1), F. Fellman (5), A. Durr (1, 4), A. Brice (1, 4), G. Stevanin (1, 4)  
 (1) INSERM/UPMC UMR\_S975, CNRS 7225, Centre de Recherche de l'Institut du Cerveau et de la Moelle Épinière, NEB, GHU Pitié-Salpêtrière, Paris, France ; (2) Department of Pediatrics, College of Medicine, Riyadh, Saudi Arabia ; (3) Hospital S. Sebastiao, Santa Maria da Feira, Portugal ; (4) APHP, Dpt de Génétique et Cytogénétique, GHU Pitié-Salpêtrière, Paris, France ; (5) Dpt de Génétique Médicale, CHUV, Lausanne, Suisse  
 Contact : christelle.tesson@upmc.fr

Les paraplégies spastiques héréditaires (HSP), encore désignées sous le nom de maladie de « Strümpell-Lorain », constituent un groupe de maladies neurodégénératives rares et très hétérogènes, tant du point de vue clinique que génétique. Le tableau clinique se caractérise par une augmentation des réflexes et une spasticité des membres inférieurs s'aggravant progressivement, et responsables de troubles de la marche et de douleurs. Un tour de génome réalisé sur deux familles consanguines informatives, une d'origine saoudienne et l'autre d'origine portugaise, dans lesquelles se transmet une HSP autosomique récessive nous a permis d'identifier une région d'homozygotie commune de 5cM, située sur le chromosome 4. Cette région est significativement liée pour chacune des familles avec des LOD-scores multipoints respectivement de 4,8 et 4,6. Dans ces familles les patients (n = 7) présentent une forme relativement pure de la maladie débutant très précocement vers l'âge de un an. Afin de réduire la taille de l'intervalle candidat, nous avons analysé, à l'aide de sept marqueurs microsatellites de l'intervalle candidat, 47 familles présentant une HSP se transmettant selon un mode autosomique récessif. Nous avons ainsi pu identifier quatre nouvelles familles liées, dont une famille d'origine saoudienne partageant un haplotype commun avec la famille saoudienne à l'origine de la cartographie. La liaison a été confirmée par le calcul de LOD score puisque la valeur maximum théorique attendue dans cette famille (Z = 2,4) est obtenue. Cette famille nous permet de réduire la taille de l'intervalle candidat à une zone de 3,3 cM contenant 24 gènes. Ainsi, nous avons pu identifier un nouveau locus de paraplégie spastique rendant compte de 3 à 6 familles d'origines diverses, ce qui devrait faciliter à terme, l'identification du gène en cause.

**Mots-clés :** paraplégie spastique, cartographie, hétérogénéité génétique.

#### ■P466. PARAPLÉGIE SPASTIQUE HÉRÉDITAIRE : ORIGINE DE NOVO D'UNE MUTATION DANS LE GÈNE SPGL1

P.S. Denora (1, 2, 5), K. Brockmann (4), M. Ciccolella (5), J. Truchetto (1, 2), G. Stevanin (1, 2, 3), F.M. Santorelli (5)  
 (1) INSERM, UMR\_S975 (formerly U679), Paris, France ; (2) UPMC University Paris 06, UMR\_S975, NEB, Centre de Recherche Institut du cerveau et de la Moelle Épinière, CNRS 7225, Paris, France ; (3) APHP, Département de Génétique et Cytogénétique, Groupe Hospitalier Universitaire Pitié-Salpêtrière, Paris, France ; (4) Department of Pediatrics and Neuropediatrics, University of Gottingen, Germany ; (5) Unité de Médecine Moléculaire, IRCCS-Hôpital Pédiatrique Bambino Gesù, Rome, Italie  
 Contact : palapao@hotmail.it

La paraplégie spastique héréditaire (PSF) associée à un corps calleux fin (Thin Corpus Callosum, TCC) est une forme fréquente et complexe de PSF récessive autosomique, caractérisée principalement par la dégénérescence du faisceau pyramidal et par des signes typiques visibles à l'analyse IRM [TCC et anomalies de la substance blanche (White Matter Abnormalities, WMA)]. La maladie est fréquemment associée à des

mutations dans le gène SPG11, situé sur le chromosome 15q et codant pour la spatacine. Notre étude examine le cas d'une patiente de 24 ans qui présente une atteinte motrice progressive avec spasticité et un retard mental associant, à l'IRM, un TCC, des WMA périventriculaires et une atrophie corticale au niveau du lobe frontal. Par séquençage direct du gène, nous avons pu identifier deux mutations tronquantes dans le gène SPG11. L'analyse de ségrégation des mutations dans la famille montre que le père de la patiente est porteur hétérozygote d'un seul des variants, tandis que l'autre variant n'est pas été retrouvé chez d'autres membres de la famille. La reconstitution des haplotypes avec des marqueurs flanquant le gène SPG11 associée à une PCR allèle-spécifique en temps réel et à une PCR-restriction sur différents tissus maternels (lymphocytes, follicules pileux, fibroblastes et cellules épithéliales de l'arbre urinaire) confirment l'origine *de novo* de la seconde mutation et excluent un mosaïcisme somatique. L'identification de la première mutation *de novo* met en évidence la complexité et l'importance de l'étude du gène SPG11 en conseil génétique et est en accord avec le fait que la majorité des mutations dans ce gène ont été retrouvées chez des cas sporadiques.

**Mots-clés :** paraplégie spastique, SPG11, mutation *de novo*.

#### ■P467. LES MUTATIONS PONCTUELLES ET RÉARRANGEMENTS DU GÈNE SPG11/SPATACINE SONT FRÉQUEMMENT IMPLIQUÉS DANS LES PARAPLÉGIES SPASTIQUES

C. Depienne (1, 2), E. Denis (2), E. Mundwiller (1), E. Fedirko (2), C. Zaros (2), S. Forlani (1), C. Cazeneuve (2), E. Leguern (1, 2), A. Durr (1, 2), A. Brice (1, 2), G. Stevanin (1, 2)  
(1) INSERM/UPMC/NEB, UMR\_S975, Bases Moléculaires, Physiopathologie et Traitement des Maladies Neurodégénératives, Centre de Recherche de l'Institut du Cerveau et de la Moelle Epinière, Paris, France ; (2) APHP, Département de Génétique et Cytogénétique, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France  
Contact : giovanni.stevanin@upmc.fr

Les paraplégies spastiques familiales (PSF) sont des pathologies neurodégénératives génétiquement et cliniquement hétérogènes. Plus de 46 loci sont impliqués dans ces maladies parmi lesquels seulement 19 gènes ont été identifiés à ce jour. Ces affections ont pour point commun une altération de la voie pyramidale (dite cortico-spinale) qui se traduit par une spasticité des membres inférieurs. Au sein des formes récessives, environ 30 % des cas associent des troubles cognitifs ou mentaux et une atrophie du corps calleux à l'IRM. Un gène majeur, SPG11, a été identifié dans ces formes complexes. Nous avons voulu déterminer la fréquence des mutations du gène SPG11 dans le cadre d'une activité diagnostique hospitalière. Ainsi, 60 cas index envoyés au département de génétique et cytogénétique du groupe hospitalier Pitié-Salpêtrière ont été analysés par séquençage direct et par MLPA (multiplex ligation-dependent probe amplification). Nous avons identifié 26 cas index (43.3 %) porteurs de 40 anomalies génétiques différentes et toutes tronquantes dans le gène SPG11, dont 31 étaient nouvelles. Parmi ces mutations, 35 étaient des mutations ponctuelles ou des délétions/duplications de quelques nucléotides et 5 étaient des réarrangements impliquant un ou plusieurs exons du gène, dont un à l'état homozygote. De plus, 2 mutations faux-sens à l'état hétérozygote composite avec une mutation tronquante et touchant un acide aminé conservé ont également été identifiées dans 2 cas. La ségrégation des mutations chez les autres membres atteints des familles et/ou les parents a été étudiée lorsque des prélèvements étaient disponibles. Ces résultats étendent le spectre mutationnel de SPG11 et soulignent la nécessité d'analyser l'ensemble du gène par séquençage direct. La disponibilité d'un kit de recherche de réarrangements par MLPA permet de rechercher ces événements, qui représentent 12,5 % des mutations. L'identification et la caractérisation de l'effet pathogène de mutations faux-sens pourrait par ailleurs permettre d'ouvrir des perspectives sur la fonction du gène SPG11 en définissant des domaines fonctionnels.

**Mots-clés :** paraplégie spastique, SPG11, corps calleux.

#### ■P468. DOMINANT INHERITANCE OF CHARCOT-MARIE-TOOTH DISEASE WITH GDAP1 MUTATIONS: REPORT OF 11 NEW CASES

N. Bonello (1, 2), N. Martini (1), N. Lévy (1, 2), F. Rejou (3), G. Roche (4), C. Wright (5), C. Goizet (6), P.M. Gonnaud (7), C. Desnuelle (8), L. Leonardis (9), A. Lacour (10), J.M. Fauchoux (11), P. Latour (12), R. Bernard (1, 2)  
(1) Département de Génétique Médicale, Hôpital Timone Enfants, Marseille, France ; (2) UMR INSERM 910, Faculté de Médecine de la Timone, Marseille, France ; (3) Chirurgie Orthopédique Infantile, Hôpital Lapeyronie, Montpellier, France ; (4) Neurologie, Centre Hospitalier E.-Roux, Le Puy-en-Velay, France ; (5) Pédiatrie, Centre Hospitalier, Annecy, France ; (6) Neurogénétique, Hôpital Pellegrin-Enfants, Bordeaux,

France ; (7) Neurologie ENMG, Centre Hospitalier Lyon Sud, Pierre Bénite, France ; (8) Médecine physique et réadaptation, Hôpital de l'Archet 1, Nice, France ; (9) Institute of Clinical Neurophysiology, University Medical Centre Ljubljana, Slovenia ; (10) Clinique Neurologique, Hôpital R. Salengro, CHRU Lille, France ; (11) SEMMEN Unité d'Explorations Fonctionnelles Neurologiques, CH d'Agén, France ; (12) Laboratoire de Neurobiologie, Centre de Biologie et Pathologie Est, Hospices Civils de Lyon, Bron, France  
Contact : rafaella.bernard@ap-hm.fr

Charcot-Marie-Tooth disease (CMT) is a group of genetically and clinically heterogeneous hereditary motor and sensory neuropathies (HMSN). 40 genes and more than 60 loci have been identified to date. GDAP1 (Ganglioside Induced Differentiation-Associated Protein 1) belongs to the glutathione-S-transferase family and is probably involved in mitochondrial fission. Mutations in the GDAP1 gene have been clearly incriminated in recessive forms of both electrophysiological subtypes of CMT disease (demyelinating and axonal). The possible implication of GDAP1 in dominant forms of CMT has been suggested only twice (Claramunt R. *et al.*, J Med Genet 2005 ; 42(4) : 358-65 ; Chung KW *et al.*, J Hum Genet 2008 ; 53(4) : 360-4), and GDAP1 is thus not routinely explored yet in a diagnostic setting in these cases. We report 11 new families in which a heterozygous mutation in GDAP1 segregates with the disease, strongly suggesting a dominant mode of inheritance. We report 4 mutations, among whose, the Arg120Trp, that has already been described and is present in six families, while the three other mutations have never been reported. These are all missense variants and one of them, His123Arg, is present in three unrelated families. We discuss the pathogenicity of these variants in their clinical and genealogical context, and conclude that our data strongly suggest that GDAP1 should be routinely included in the molecular exploration of dominant forms of CMT.

**Mots-clés :** Charcot-Marie-Tooth disease, dominant inheritance, GDAP1.

#### ■P469. ASSOCIATION DE VARIANTS NON CLASSÉS DANS LES GÈNES MFN2 ET GDAP1 CHEZ DEUX PATIENTS ATTEINTS D'UNE MALADIE DE CHARCOT-MARIE-TOOTH SÉVÈRE : HÉRÉDITÉ MENDÉLIENNE, EFFET MODULATEUR OU DIGÉNISME ?

N. Bonello (1, 2), C. Halbert (3), L. Viollet (4), B. Chabrol (3), N. Lévy (1, 2), R. Bernard (1, 2)  
(1) Département de Génétique Médicale, Hôpital Timone Enfants, Marseille, France ; (2) UMR INSERM 910, Faculté de Médecine de la Timone, Marseille, France ; (3) Service de Pédiatrie et Neurologie pédiatrique, Hôpital Timone Enfants, Marseille, France ; (4) Service de Génétique Médicale, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris, France  
Contact : rafaella.bernard@ap-hm.fr

La maladie de Charcot-Marie-Tooth (CMT) est un groupe de neuropathies héréditaires sensitivo-motrices caractérisé par son hétérogénéité clinique et génétique. À ce jour 60 loci et 40 gènes sont identifiés. Il s'agit d'une pathologie fréquente (1 cas sur 2500), pour laquelle la stratégie de diagnostic moléculaire a fait l'objet d'un consensus du réseau national des laboratoires en distinguant 6 cadres phénotypiques correspondant chacun à un schéma d'analyse « en cascade » de gènes à tester. Dans les formes sporadiques de CMT axonal (CMT2), l'analyse des gènes MFN2 (Mitofus2) et GDAP1 (Ganglioside Induced Differentiation-Associated Protein 1) est envisagée après exclusion des gènes GJB1 et P0. Nous rapportons ici deux cas de CMT2 sporadiques sévères associés à la présence conjointe d'une mutation hétérozygote dans GDAP1 et d'une autre dans MFN2. Le premier cas est celui d'une patiente chez laquelle les premiers signes ont été observés lors de l'acquisition de la marche (déformation des pieds en varus équin, et atteinte motrice des SPE). L'EMG montre une neuropathie sensitivomotrice axonale distale à forte prédominance motrice. À l'âge de 22 ans, la patiente présente une atteinte motrice nettement majorée au niveau distal, avec marche difficile. Chez cette patiente, nous avons identifié dans MFN2 le variant c.311G>A/p.Arg104Gln à l'état hétérozygote et hérité de sa mère asymptomatique, ainsi que le variant c.400delG/p.Asp134MetFSX13 dans GDAP1, hérité de son père qui présente une myotonie de Thomsen. Le second cas est celui d'un garçon chez lequel le diagnostic de CMT2 a été porté à l'âge de deux ans en raison de troubles de la marche. Ce patient actuellement âgé de 17 ans se déplace en fauteuil et a du subir une arthrothèse vertébrale en raison d'une scoliose invalidante. On notera de plus qu'il présente des difficultés d'apprentissage. Nous avons identifié chez lui le variant c.310C>T/p.Arg104Trp dans MFN2 et le variant c.556A>G/p.Ile186Val dans GDAP1. La mutation de MFN2 est une néomutation, tandis que la mutation de GDAP1 est héritée du père, par ailleurs totalement asymptomatique. En revanche, des signes très discrets de neuropathie ont été évoqués chez la mère et le grand-père



maternel. Au total dans les deux cas nous discuterons la pathogénicité respective de ces variants de séquence non rapportés au préalable, mais aussi, associée, la question du mode de transmission de la maladie dans ces deux familles. Outre le fait que GDAP1, classiquement incriminé dans le CMT récessif, semble pouvoir être responsable de formes dominantes de CMT, et inversement pour MFN2, l'implication des protéines codées par ces deux gènes dans la dynamique mitochondriale (l'une pro-fusion, l'autre pro-fission) nous pousse à ne pas écarter la possibilité d'un effet conjoint, possiblement modificateur, de la présence simultanée de mutations dans ces deux gènes sur la physiopathologie de ces CMT.

**Mots-clés :** Charcot-Marie-Tooth, gènes modificateurs, digénisme.

#### ■P470. ANOMALIES MOLÉCULAIRES DU GÈNE *PMP22* DANS LES NEUROPATHIES DÉMYÉLINISANTES HÉRÉDITAIRES : HÉTÉROGÉNÉITÉ DU PHÉNOTYPE, DES TYPES DE MUTATIONS ET DU MODE D'HÉRÉDITÉ

K. Larcher (1), S. Tardieu (1), A. Brice (1, 2), C. Verny (3), C. Cazeneuve (1), E. Leguern (1, 2)

(1) Département de Génétique et Cytogénétique, Unité Fonctionnelle de Neurogénétique Moléculaire et Cellulaire, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, AP-HP, Paris, France ; (2) Inserm UMR\_S975, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France ; (3) Département de Neurologie, Centre Hospitalier Universitaire, Angers, France  
Contact : eric.leguern@psl.aphp.fr

Les réarrangements de la région 17p11.2 sont fréquemment impliqués dans le Charcot-Marie-Tooth de type 1 (CMT démyélinisant) et la neuropathie héréditaire avec hypersensibilité à la pression (NHHP) qui sont 2 neuropathies périphériques de transmission autosomique dominante. En effet, on constate que 70 % des patients avec un CMT1 sont porteurs d'une duplication de 1,5 Mbp de la région 17p11.2 et que 85 % des sujets atteints de NHHP ont une délétion de la même région. Dans ces pathologies, le phénotype est du à l'effet de dose du gène *PMP22* qui code pour une protéine de la myéline compacte du nerf périphérique. De rares mutations intragéniques de ce gène ont aussi été rapportées dans ces 2 phénotypes. Après avoir exclu les réarrangements de la région 17p11.2 chez les patients qui avaient été référés au laboratoire pour CMT1 ou NHHP, nous avons systématiquement séquencé les 4 exons codants du gène *PMP22*. Nous avons identifié des anomalies intragéniques chez 12 cas index, 7 sujets avec un diagnostic de CMT et 5 avec celui de NHHP. Parmi ces mutations, 7 conduisaient à un codon STOP prématuré et 5 à des mutations faux sens. Quatre des mutations faux sens étaient associées à un CMT et 1 à une NHHP. Il est intéressant de souligner qu'un des patients avec un CMT et consanguin était homozygote pour la nouvelle mutation c.15G>C/Leu5Phe. Dans ce travail, nous avons confirmé que les anomalies intragéniques de *PMP22* sont rares : 4 % des 130 patients CMT et 11 % des 36 patients NHHP sans réarrangement de la région 17p11.2 qui ont été suivis à la Pitié-Salpêtrière. De plus, les mutations faux sens peuvent mener à un gain de fonction probable car elles sont majoritairement associées au phénotype CMT mais aussi à une perte de fonction causant une NHHP. La situation est compliquée par l'identification de la première mutation faux sens à l'état homozygote qui provoque un CMT de grande sévérité. Nous discuterons des corrélations phénotype-génotype dans cette série.

**Mots-clés :** neuropathies, *PMP22*, diagnostic moléculaire.

#### ■P471. NEUROPATHIES PÉRIPHÉRIQUES LIÉES À DES MUTATIONS DE LA MITOFUSINE 2 : SPECTRE CLINIQUE ET CORRÉLATIONS GÉNOTYPE-PHÉNOTYPE

B. Funalot (1-3), J. Calvo (1, 2, 15), R.A. Ouvrier (4), L. Lazaro (5), A. Toutain (6), P. De Mas (7), P. Bouche (8), B. Gilbert-Dussardier (9), M.C. Arne-Bes (10), J.P. Carrière (11) H. Journel (12), M.C. Minoit-Myhrie (13), C. Guillou (14), K. Ghorab (1, 2), L. Magy (1, 2), F. Sturtz (3), J.M. Vallat (1, 2), C. Magdelaine (3)

(1) Centre de référence « neuropathies périphériques rares », CHU de Limoges, Limoges, France ; (2) Service de neurologie, CHU de Limoges, Limoges, France ; (3) Service de biochimie et génétique moléculaire, CHU de Limoges, Limoges, France ; (4) Institute for Neuromuscular Research, The Children's Hospital at Westmead, Westmead, Australia ; (5) Département de médecine de l'enfant et de l'adolescent, CHU de Rennes, Rennes, France ; (6) Service de génétique, CHU de Tours, Tours, France ; (7) Consultation de génétique, Clinique Saint-Jean-Languedoc, Toulouse, France ; (8) Département de neurophysiologie clinique, groupe hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France ; (9) Service de génétique médicale, CHU de Poitiers, Poitiers, France ; (10) Service de neurologie et explorations fonctionnelles du système nerveux, CHU de Toulouse, Toulouse, France ; (11) Service de neurologie pédiatrique, CHU de Toulouse, Toulouse, France ; (12) Consultation de génétique médicale, CH

Bretagne-Atlantique, Vannes, France ; (13) Cabinet de neurologie, Rennes, France ; (14) Service de rééducation fonctionnelle, CHU de Poitiers, Poitiers, France ; (15) Adresse actuelle : Instituto de Neurologia, Hospital de Clínicas de la Facultad de Medicina, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay.

Contact : benoit.funlot@unilim.fr

Introduction : Des mutations du gène de la mitofusine 2 (*MFN2*) ont été identifiées dans 10 à 20 % des formes axonales de maladie de Charcot-Marie-Tooth (*CMT2A2*), de transmission autosomique dominante et de sévérité variable. Objectifs : Identifier des mutations de *MFN2* dans un échantillon de patients atteints de neuropathies périphériques, décrire le phénotype associé et établir des corrélations génotype-phénotype. Méthodes : 150 cas index atteints de neuropathies périphériques génétiquement déterminées (ou présumées telles pour les cas sporadiques) ont été explorés par séquençage du gène *MFN2* dans notre laboratoire. Des mutations des gènes *GJB1* (connexine 32) et *MPZ* (*P0*) avaient été exclues au préalable. Les données cliniques et paracliniques ont été recueillies sur un formulaire standardisé. La sévérité de la neuropathie a été évaluée par l'utilisation du « Charcot-Marie-Tooth disease neuropathy score ». Résultats : 107 patients étaient atteints de formes axonales (*CMT2* : Vitesse de conduction nerveuse (VCN) du nerf médian > 38 m/s), 43 patients de formes « intermédiaires » (VCN > 25 m/s). Des mutations ont été identifiées dans 19 cas index de *CMT2* (17,8 %) et chez un patient avec forme intermédiaire (VCN = 35 m/s). Le mode de transmission de la neuropathie était autosomique dominant dans 8 cas, autosomique récessif dans 3 cas et apparemment sporadique dans 9 cas (dans 4 cas sur 9, la survenue d'une néomutation chez le cas index a pu être démontrée). Un total de 25 patients appartenant à ces 20 familles a été examiné. Le phénotype allait de formes légères à des formes sévères à début précoce. Des signes associés ont été observés chez 8 patients (32 %). Six patients ont subi une biopsie de nerf sural et dans tous les cas l'examen de coupes longitudinales du nerf en microscopie électronique montrait des anomalies marquées des mitochondries axonales (petites mitochondries arrondies et agrégées à la périphérie de l'axone). Discussion : Le phénotype clinique des patients avec mutations *MFN2* apparaît similaire à celui de précédentes séries : la sévérité de la neuropathie est variable, et certains patients présentent des signes associés : syndrome pyramidal réflexe, asymétrie de la neuropathie, surdité, atrophie optique,... Dans 6 des 7 cas sévères, les mutations responsables étaient localisées dans ou juste en amont du domaine GTPase de la mitofusine 2. Conclusion : Les mutations de *MFN2* sont une cause fréquente de *CMT2*, dont la sévérité et le mode de transmission sont variables. La recherche de mutations de *MFN2* doit être un examen de première ligne chez tous les patients atteints de *CMT2*, quel que soit la gravité ou le mode de transmission de la neuropathie (dominante, récessive ou sporadique).

**Mots-clés :** Charcot-Marie-Tooth (maladie de), mitofusine.

#### ■P472. IDENTIFICATION OF NOVEL *GDAP1* MUTATIONS CAUSING AUTOSOMAL RECESSIVE CHARCOT-MARIE-TOOTH DISEASE IN 3 FAMILIES

M.A.M. Salih (1), H.E. Mikesova (2), S.A. Elmalik (3), M.M. Kabiraj (4), A.E.M. Ahmed (5), M.M. Mukhtar (6), E. LeGuern (2, 7), H. Azzedine (2) (1) Division of Pediatric Neurology, Department Of Pediatrics, College of Medicine, King Saud University, Riyadh, Saudi Arabia ; (2) CRICM-INSERM-U975, Hôpital de la Pitié-Salpêtrière, Paris, France ; (3) Department of Physiology, College of Medicine, King Saud University, Riyadh, Saudi Arabia ; (4) Division of Clinical Neurophysiology, Department of Neuroscience, Armed Forces Hospital, Riyadh, Saudi Arabia ; (5) Department of Physiology, Faculty of Medicine, University of Khartoum, Sudan ; (6) Institute of Endemic Diseases, Faculty of Medicine, University of Khartoum, Sudan ; (7) UF de génétique, Département de Génétique et Cytogénétique, Hôpital de la Pitié-Salpêtrière, Paris, France  
Contact : azzedine.hamid@yahoo.fr

We describe 3 consanguineous families with autosomal recessive axonal phenotype of Charcot-Marie-Tooth disease (ARCMT2). These consisted of 16 individuals aged 2-35 years, 5 of them were affected. Onset was about 2 years with delayed walking, evolving into high steppage gait and distal lower limb muscle weakness and wasting. Cognitive development was normal, ambulation was preserved and no scoliosis was detected in the affected individuals. Nerve conduction studies were compatible with axonal CMT. However, nerve pathology showed prominent loss of large myelinated axons and typical onion bulbs formations. These families were screened for 12 microsatellites markers covering the 2 more frequent ARCMT2 loci (*CMT4A/2K* and *CMT2B1*). Assignment of the families to the *CMT4B/2K* was established by homozygosity mapping and confirmed by linkage analysis. Sequencing of *GDAP1* was performed in all members of the 3 families and 3 new mutations were identified. To the best of our



knowledge, these are the first GDAP1 mutations reported in the Arabian Peninsula. The phenotype is of axonal type and is compatible with the majority of previously reported cases.

**Mots-clés :** CMT, GDAP1.

#### ■P473. ÉTUDE DES MANIFESTATIONS NEUROLOGIQUES ET DES ASPECTS IRM DANS LE SYNDROME DE WOLFRAM SUR UNE COHORTE DE 59 PATIENTS

A. Chausseot (1), S. Bannwarth (1, 2), B. Vialettes (3), B. Chafino (1), S. Mutz (1), B. Chabrol (4), Groupe Français du Syndrome de Wolfram, V. Paquis-Flucklinger (1, 2)

(1) Service de génétique médicale, Hôpital Archet 2, CHU de Nice, France ; (2) IGMRC, FRE CNRS/UNSA 3086, Université de Nice Sophia-Antipolis, France ; (3) Service de Nutrition, Hôpital Timone, CHU de Marseille, France ; (4) Service de Neuropédiatrie, Hôpital Timone, CHU de Marseille, France

Contact : chausseot.a@chu-nice.fr

Le syndrome de Wolfram (WS) est une maladie rare, de transmission autosomique récessive, caractérisée par la survenue précoce d'un diabète insulino-dépendant (DID) et d'une atrophie optique (AO), fréquemment associés à un diabète insipide, une surdité et des troubles neurologiques. Cette pathologie est hétérogène sur le plan génétique : le gène WFS1 est majoritairement impliqué dans les populations caucasiennes alors que WFS2 a été associé au WS dans des familles jordaniennes. L'objectif de notre étude était d'analyser les caractéristiques neurologiques et IRM observées dans cette pathologie, peu décrites à ce jour, et de rechercher d'éventuelles corrélations génotype/phénotype. Nous avons étudié de manière rétrospective les 59 patients pour lesquels une analyse du gène WFS1 a été réalisée dans le laboratoire de génétique du CHU de Nice et qui présentaient 2 mutations identifiées et/ou l'association d'un DID et d'une AO avant l'âge de 30 ans. Au sein de notre cohorte constituée de 32 hommes et 27 femmes d'âge moyen 26 ans (5-57), 97 % avaient développé un DID à un âge moyen de 9 ans (8 mois-38) et 92 % une AO à un âge moyen de 14 ans (3-43). Les manifestations neurologiques, 3ème atteinte en terme de fréquence (47 %) après le DID et l'AO, débutaient à un âge moyen de 20 ans (4-47), âge de 10 ans plus précoce que celui rapporté dans la littérature sur des séries inférieures en nombre. Par ordre de fréquence décroissant, les signes neurologiques retrouvés étaient : un syndrome cérébelleux (54 %), des troubles cognitifs (25 %), une épilepsie (21 %), une neuropathie périphérique (21 %), un nystagmus (21 %), des troubles de la déglutition (14 %), une dysautonomie (10 %) et une atteinte des paires crâniennes (7 %). Il faut noter que les troubles cognitifs retrouvés étaient plus fréquents dans notre série que ceux rapportés précédemment dans la littérature. Concernant les aspects IRM, l'atrophie marquée du cervelet et du tronc cérébral était prépondérante (80 %) et corroborait les données cliniques et celles de la littérature. En revanche, nous rapportons pour la première fois dans cette pathologie 2 cas avec une atteinte diffuse et symétrique de la substance blanche péri-ventriculaire. Sur le plan moléculaire, nous avons identifié 2 mutations du gène WFS1 chez 53 patients, 1 seule mutation a été retrouvée chez 3 patients et aucune chez les 3 derniers. Nous confirmons nos résultats précédents qui montraient que la présence de mutations faux sens est corrélée de manière significative avec un âge de début plus tardif du DID et de l'AO. Par contre, le nombre de mutations faux-sens et de mutations inactivatrices est identique chez les patients avec et sans signe neurologique. Cette étude, qui concerne le nombre de patients le plus important rapporté à ce jour, permet de mieux définir l'atteinte neurologique qui conditionne le pronostic vital dans ce syndrome.

**Mots-clés :** syndrome de wolfram, WFS1, signes neurologiques.

#### ■P474. PERTE DE FONCTION DE LA PROTÉINE CASK PAR DUPLICATION PARTIELLE DU GÈNE

C. Bonnet (1, 2), C. Bénétou (3), M. Béri (1, 2), B. Léotard (1), A. Perrin (1), B. Leheup (2, 3), P. Jonveaux (1, 2)

(1) Laboratoire de Génétique, CHU Nancy, Vandœuvre les Nancy, France ; (2) Nancy Université – EA 4368, Laboratoire de Génétique, Centre Hospitalier Universitaire de Nancy, Vandœuvre les Nancy, France ; (3) Service de Médecine Infantile III et Génétique Clinique, CHU Nancy, Vandœuvre les Nancy, France

Contact : ce.bonnet@chu-nancy.fr

Nous avons identifié par CGH-array (Agilent 244K) une duplication partielle *de novo* du gène CASK en Xp11.4 chez une fille âgée de 4 ans présentant un tableau d'encéphalopathie avec microcéphalie, hypoplasie du cervelet et du tronc cérébral et un syndrome de West. La duplication a une taille minimale de 143 kb et touche les exons 6 à 25 du gène CASK. Le profil d'inactivation de l'X n'est pas biaisé. Des études par RT-qPCR

réalisées sur l'ARN de la patiente ont montré d'une part que le niveau d'expression du gène est normal et d'autre part que la duplication des exons 6 à 25 est présente au niveau de l'ARN. Le séquençage du point de jonction confirme la duplication en tandem qui n'entraîne pas de décalage du cadre de lecture. La duplication partielle du gène est donc responsable de la synthèse d'un transcrypt aberrant porteur d'une duplication multi-exonique. La protéine CASK normale à une taille de 926 acides aminés et la duplication serait à l'origine de la synthèse d'une protéine de 1623 acides aminés. La duplication partielle du gène CASK serait donc responsable d'une perte de fonction de la protéine soit par dégradation post-traductionnelle de la protéine anormale soit par modification de la structure tridimensionnelle de la protéine si elle n'est pas dégradée. Le gène CASK code une protéine kinase qui joue un rôle important dans le développement et les fonctions cérébrales. CASK interagit dans le noyau des neurones avec un facteur de transcription (TBR1 : T-brain-1) dont NR2b (NMDA receptor 2b) est une des cibles. Des mutations ponctuelles, un inversion interrompant le gène et des délétions toutes responsables d'une perte de fonction de CASK ont été décrites chez des filles sans biais d'inactivation de l'X et présentant le même tableau clinique que notre patiente : retard mental sévère, microcéphalie et hypoplasie du tronc cérébral et du cervelet. La perte de fonction ne serait pas viable chez les garçons hémizygotes. Nous décrivons donc chez une fille présentant retard mental, microcéphalie et hypoplasie du tronc cérébral et du cervelet la première duplication partielle du gène CASK à l'origine d'une perte de fonction protéique.

**Mots-clés :** retard mental, CASK, perte de fonction.

#### ■P475. APPORT DU SCREENING DES GÈNES PEX DANS LES DÉFAUTS DE BIOGÈNESE DES PEROXYSOSES

E. Luangkhot (1), B. Doray (2), F. Couderc (3), A. Chamouine (4), D. Amsalem (4), S. Lyonnet (5), A. Pennerath (6), H. Ogier (7), B. Chabrol (8), C. Tranchant (9), T. Levade (10), E. Bieth (11), P. Calvas (11), N. Guffon (12), C. Vianey-Saban (1), D. Cheillan (1)

(1) Service maladies héréditaires du métabolisme et dépistage néonatal, Hospices Civils de Lyon, France ; (2) Service de génétique médicale, Hôpital Hautepierre, Strasbourg, France ; (3) Service de pédiatrie, CH d'Aix-en-Provence, France ; (4) Réanimation infantile et service de pédiatrie, CHU de Besançon, France ; (5) Service de génétique médicale, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris, France ; (6) Service de pédiatrie, CH de Colmar ; (7) Centre de référence maladies héréditaires du métabolisme, Hôpital Robert Debré, Paris, France ; (8) Centre de référence maladies héréditaires du métabolisme, Hôpital de la Timone, Marseille, France ; (9) Département de neurologie, Hôpital Hautepierre, Strasbourg, France ; (10) Laboratoire de biochimie, Hôpital Purpan, Toulouse, France ; (11) Service de génétique médicale, Hôpital Purpan, Toulouse, France ; (12) Centre de référence maladies héréditaires rénales et du métabolisme, Hospices Civils de Lyon, France

Contact : david.cheillan@chu-lyon.fr

Les défauts de biogénèse des peroxysoxes (DBP) sont des maladies rares à transmission autosomique récessive dont la fréquence est d'environ 1/50 000 dans la population générale. Trois entités cliniques peuvent être distinguées : le syndrome de Zellweger (ZS), l'adrénoleucodystrophie néonatale (NALD) et la maladie de Refsum infantile (IRD). Ces affections sont causées par le déficit d'une des protéines de la membrane peroxyso-male appelées peroxines, chacune d'entre elles étant codée par un gène PEX différent (13 gènes PEX sont impliqués en pathologie humaine). Leur diagnostic repose à la fois sur des arguments cliniques et biologiques. Néanmoins, le diagnostic de certitude est apporté par la détection de mutations dans un des gènes PEX après des étapes de biologie cellulaires longues et complexes d'interprétation (études de complémentation sur culture de fibroblastes). L'objectif de ce travail était de développer un protocole de screening des gènes PEX reposant sur la recherche des mutations les plus fréquentes sans étude de complémentation préalable. Seize exons répartis sur 6 gènes PEX différents (PEX1, PEX2, PEX6, PEX10, PEX12 et PEX26) ont été sélectionnés couvrant plus de 80 % des allèles mutés. Ce protocole a été appliqué chez 15 patients atteints d'un DBP caractérisé au plan biochimique. Grâce à notre approche, nous avons mis en évidence 2 allèles pathogènes chez 6 patients, 2 d'entre eux possédant un troisième allèle pathogène sur un autre gène PEX, dont la pathogénicité reste à démontrer. Un seul allèle pathogène a été identifié chez 3 patients. En revanche, pour les 6 autres patients, le screening s'est révélé négatif. Parmi les 8 mutations différentes détectées, 3 n'ont jamais été décrites mais sont probablement pathogènes car elles affectent un domaine très conservé de chacune des protéines : p.Cys796Arg (PEX6 – Exon 13, c.2392T>C), p.Cys296Phe (PEX10 – Exon 5, c.887G>T) et p.Trp250Arg (PEX2 – Exon 4, c.748T>C). Notre protocole a permis de déterminer, de façon simple et rapide, le gène PEX en cause chez 60 % des patients, confirmant ainsi le

diagnostic de DBP et ouvrant la possibilité à une étude familiale et au diagnostic prénatal souvent difficile avec les méthodes biochimiques. À partir de ces résultats, nous proposons une stratégie d'exploration des patients suspects de DBP, reposant à la fois sur les données cliniques, biochimiques et enzymatiques ainsi que sur le screening des gènes PEX.

**Mots-clés :** peroxysome, gene PEX, screening.

#### ■P476. IMPLICATION DU GÈNE *MFN2* DANS LES ATROPHIES OPTIQUES AUTOSOMIQUES DOMINANTES PLUS

P. Ribaï (1), G. Picard (2), F. Liénard (2), P. Jacquerye (2), N. Van Rege-morter (3), N. Lannoy (4), P. Hilbert (1), C. Verellen-Dumoulin (1)  
(1) Institut de Pathologie et de génétique, Gosselies, Belgique ; (2) Clinique St-Pierre, Ottignies, Belgique ; (3) Hôpital Erasme, Bruxelles, Belgique ; (4) Cliniques St-Luc, Bruxelles, Belgique  
Contact : pascale.ribai@ipg.be

L'atrophie optique autosomique dominante (AOAD) se manifeste cliniquement par une baisse insidieuse de l'acuité visuelle dans les deux premières décennies, une dyschromatopsie et une pâleur rétinienne centrale au fond d'œil. Cependant, la découverte du gène *OPA1*, majoritairement impliqué dans les AOAD, a permis la description de patients présentant un phénotype plus complexe appelé AOAD-plus. Celui-ci, en plus de l'atrophie optique, se caractérise par la présence de signes divers tels que surdité, ataxie cérébelleuse, ophtalmoplégie externe progressive ou tableau clinique évoquant une sclérose en plaques. Ces signes additionnels dans l'AOAD-plus ont été liés à la présence de délétions multiples dans l'ADN mitochondrial et une baisse de l'activité de la cytochrome c oxydase, observés dans les muscles et les fibroblastes de patients. Ces éléments ont permis de mieux comprendre la fonction de la protéine *opa1*, impliquée dans le maintien du réseau mitochondrial, la phosphorylation oxydative et l'apoptose. Nous décrivons le tableau clinique et génétique de 8 patients appartenant à une famille, qui présentent une AOAD liée à la mutation c.448+1G>C dans l'intron 3 du gène *OPA1*. En plus de l'atrophie optique, trois de ces patients présentent des anomalies de la substance blanche cérébrale, une neuropathie axonale sensitivo-motrice, une paraplégie spastique ou des signes pyramidaux à l'examen. En raison de l'association atrophie optique et neuropathie périphérique, nous avons analysé le gène *MFN2*. En effet, les mutations de ce gène entraînent une neuropathie sensitivo-motrice axonale dans le cadre de la maladie de Charcot-Marie-Tooth de type 2A2. Un variant allélique de ce gène est responsable de l'association neuropathie périphérique, atrophie optique et/ou anomalies de la substance blanche cérébrale. La mutation c.892G>A dans l'exon 9 du gène *MFN2* a été trouvée chez les 3 patients présentant un phénotype d'AOAD-plus. Celle-ci n'a jamais été décrite chez un autre patient mais concerne un nucléotide conservé entre plusieurs espèces et n'est pas rapportée comme polymorphisme. Cette mutation ségrège dans notre famille avec le phénotype AOAD-plus. Les protéines *opa1* et *mf2* sont toutes deux impliquées dans la fusion des mitochondries et agissent comme partenaires pour le maintien du réseau mitochondrial. Le dysfonctionnement concomitant de ces deux protéines pourrait entraîner un phénotype plus sévère et complexe que celui résultant de l'altération de chacune d'elles. Dans notre famille, les mutations dans les gènes *OPA1* et *MFN2* pourraient expliquer la présence d'une neuropathie périphérique et les anomalies de la substance blanche cérébrale en plus de l'atrophie optique. Nous formulons l'hypothèse que le phénotype complexe décrit dans les AOAD-plus pourrait résulter de mutations concomitantes dans le gène *OPA1* et un autre gène, dans notre cas le gène *MFN2*.

**Mots-clés :** atrophie optique, *OPA1*, *MFN2*.

#### ■P477. QUATRE NOUVEAUX CAS DE DYSTROPHIES CORNÉENNES LIÉES À DES MUTATIONS PARTICULIÈRES DU GÈNE *TGFBI*

F. Niel-Butsch (1), M. Boimard (2), J. Iwaszkiewicz (3), B. Kantelip (4), F. D'hermies (5), B. Dubosq (6), M. Montard (6), C. Hamel (7), G. Renard (8), J.-L. Bourges (8), P.-J. Pisella (9), V. Zoete (3), M. Delpech (2), S. Valleix (2)  
(1) Service de Génétique Médicale, Centre Hospitalier Universitaire Vaudois, Lausanne, Suisse ; (2) Laboratoire de Biochimie et Génétique Moléculaire, Hôpital Cochin-Pavillon Cassini, Paris, France ; (3) Molecular Modeling Group, Institut Suisse de Bioinformatique, Lausanne, Suisse ; (4) Laboratoire d'anatomopathologie, CHU de Besançon, France ; (5) Laboratoire d'anatomopathologie, Hôpital de l'Hôtel-Dieu, Paris, France ; (6) Service d'Ophthalmologie, CHU de Besançon, France ; (7) Centre National de maladies rares- Affections sensorielles génétiques, CHRU de Montpellier, France ; (8) Service d'Ophthalmologie, Hôpital de l'Hôtel-Dieu, Paris, France ; (9) Service d'Ophthalmologie, CHU de Tours, France

M/S hors série n° 1, vol. 26, janvier 2010

Contact : sophie.valleix@cch.aphp.fr

Les dystrophies héréditaires de la cornée liées au gène *TGFBI* sont des affections transmises par un mode autosomique dominant qui se caractérisent par la présence de dépôts au sein du stroma cornéen, altérant progressivement la transparence de la cornée. Le gène *TGFBI* code la kératoépithéline, protéine ubiquitaire impliquée dans des processus de croissance et différenciation cellulaires ainsi que dans la réparation tissulaire. Le plus remarquable dans ces pathologies est l'atteinte isolée de la cornée et la variabilité de la nature des dépôts selon le type de mutations faux-sens de la kératoépithéline. C'est à notre connaissance le seul modèle héréditaire actuellement connu où une même protéine selon le type de mutations puisse être impliquée dans la formation de dépôts amyloïdes, granulaires, mixtes ou encore fibrocellulaires. C'est pourquoi ces dystrophies cornéennes sont un modèle unique de « pathologies conformationnelles » dont l'étude contribuerait à élucider les mécanismes amyloïdes en général. Nous avons précédemment rapporté le spectre des mutations du gène *TGFBI* qui nous avait permis d'établir une corrélation génotype-phénotype à partir de notre population française, et nous avons décrit de nouvelles mutations associées à de nouvelles présentations cliniques. Dans cette étude, nous présentons le phénotype de quatre nouveaux cas de dystrophies liées à des mutations nouvelles, ou rapportées qu'une seule fois, du gène *TGFBI*. Ces mutations faux-sens ont été identifiées dans le 4<sup>e</sup> domaine FAS1 de la kératoépithéline, homologue au domaine FAS1 de la fasciculine 1 dont la structure NMR a récemment été déterminée. Ainsi grâce à cette homologie des domaines FAS1, nous rapportons à l'aide de différents logiciels de modélisation l'impact de ces nouvelles mutations identifiées. Trois des mutations apparaissent être critiques pour la stabilité structurale de la kératoépithéline et peuvent ainsi expliquer le phénotype amyloïde de ces dystrophies, alors que la dernière mutation pourrait altérer des interactions de la kératoépithéline avec des protéines de la matrice extracellulaire expliquant que les dépôts caractérisés dans cette dystrophie soient de nature non amyloïde.

**Mots-clés :** *TGFBI*, dystrophies cornéennes héréditaires, modélisation.

#### ■P478. SPECTRE DES MUTATIONS DU GÈNE *ABCA4* DANS UNE GRANDE COHORTE DE PATIENTS FRANÇAIS ATTEINTS DE DYSTROPHIE MACULAIRE AUTOSOMIQUE RÉCESSIVE

C.M. Dhaenens (1), J. Leclerc (1), C. Piriou (1), A. Devos (1), S. Defoort (2), C. Hamel (3), B. Puech (2), V. Dumur (1), D. Allorge (1)  
(1) UF Génopathies, Laboratoire de Biochimie et Biologie Moléculaire, Centre de Biologie et Pathologie, CHRU de Lille, France ; (2) Service d'Explorations Fonctionnelles de la Vision, Hôpital Salengro, Lille, France ; (3) Centre National de Référence des maladies rares, Hôpital Gui de Chauliac, Montpellier, France  
Contact : c-dhaenens@chru-lille.fr

Le gène *ABCA4* (*ABCR*) est impliqué dans plusieurs formes de dystrophies maculaires héréditaires, dont la maladie de Stargardt (*STGD1*), qui est la forme la plus fréquente, la dystrophie des cônes et des bâtonnets (*CRD3*), la rétinite pigmentaire (*RP19*), et le Stargardt de l'adulte (*ARMD*). Cette étude rapporte les données obtenues par criblage moléculaire du gène *ABCA4* réalisé chez 307 familles françaises présentant une dystrophie maculaire autosomique récessive. La majorité d'entre elles (66 %) présentait un tableau clinique classique de maladie de Stargardt. L'analyse des 50 exons a été réalisée par dHPLC (chromatographie liquide haute performance en condition dénaturante) et/ou par séquençage. Sur l'ensemble de notre cohorte, nous avons pu mettre en évidence les deux mutations responsables chez 49 % des patients et une seule mutation chez 27 % d'entre eux. Dans 24 % des cas, aucune mutation n'a été identifiée. Notre technique d'analyse nous permet ainsi de confirmer le diagnostic clinique et/ou l'implication de *ABCA4* chez près de 76 % des patients présentant une dystrophie maculaire. Le taux de détection atteint 89 % dans les formes typiques de Stargardt. Nous retrouvons ainsi deux mutations dans 60,3 % des cas de *STGD1*, et une seule mutation dans 28,3 % des cas. À l'inverse, 68 % des formes atypiques ne sont pas liées à *ABCA4*. L'implication de ce gène est également importante dans les dystrophies cônes-bâtonnets, puisque 35 % de ces patients portent deux mutations et 22 % une mutation de *ABCA4*. L'absence de second évènement mutationnel chez certains patients peut être liée à la présence de délétions partielles ou totales d'un allèle, non recherchées lors de ce criblage, ou encore à la présence de mutations situées en dehors des régions analysées par nos techniques. Au total, le criblage nous a permis de mettre en évidence 186 mutations dont 97 n'ayant pas été répertoriées précédemment dans la littérature. Les variants sont principalement des mutations faux-sens (63,9 %), des petites délétions ou insertions (12,3 %) et des mutations affectant les sites invariants d'épissage (12,9 %). Elles sont réparties de façon homogène le long du gène, ne permettant pas de définir la présence de « points chauds » mutationnels. Il s'agit principalement de mutations



privées : 65 % des mutations n'ont en effet été retrouvées que chez un patient. Seuls quelques variants ont été identifiés à plusieurs reprises. Les mutations les plus fréquentes dans notre population sont : p.Gly1591Arg (6,7 %), p.Gly1961Glu (6 %), p.Gly863Ala (4,7 %) et p.Ala1038Val (3 %). À notre connaissance, aucune étude n'avait précédemment porté sur une cohorte aussi importante. Nous avons ainsi pu évaluer l'implication de ABCA4 dans différentes formes de dystrophies maculaires, ainsi que la fréquence et la grande diversité des mutations observées dans la population française.

**Mots-clés :** ABCA4, STARGARDT, mutations.

**■P479. MICROSPHÉROPHAKIE ISOLÉE ET SYNDROME DE WEILL MARCHESANI : MALADIES ALLÉLIQUES LIÉES À ADAMTS10 ?**

F. Ouechtati (1, 2), S. Ben Yahia (3), B. Jelliti (3), S. Nouira (1), S. Chakroun (1), M. Khairallah (3), S. Abdelhak (1)

(1) UR04SP03 Etude moléculaire des maladies orphelines d'origine génétique, Institut Pasteur de Tunis, Tunisie ; (2) UR17/04 Oculogénétique, Institut Hédi Rais d'Ophtalmologie de Tunis, Tunisie ; (3) 02/UR/08-17 Œil et maladies systémiques, Faculté de Médecine de Monastir, Tunisie  
Contact : farah.ouechtati@gmail.com

La microsphérophakie est une atteinte rare du pôle antérieur caractérisée par une microphakie et une sphérophakie bilatérale, un cristallin petit et sphérique, et une forte myopie, due à un défaut d'accommodation. Cette pathologie a essentiellement été rapportée en association avec une ectopie du cristallin, un glaucome, et souvent avec des atteintes systémiques comme le Weill Marchesani et le syndrome marfanoidé. Une anomalie du corps ciliaire et des zonules semble être la cause de cette atteinte cristallinienne. Cependant aucune étude n'a permis de définir la nature moléculaire. Nous rapportons le neuvième cas familial de microsphérophakie isolée depuis 1901. La famille est consanguine et comporte deux cas atteints, une fille et un garçon, ne présentant aucune atteinte extraoculaire ou systémique. Une étude de liaison ciblant le locus arWMS a été effectuée au moyen de 4 STRs. Selon la stratégie d'homozygotie par descendance, nous avons pu établir une exclusion du gène ADAMTS10. D'autres gènes candidats COL5A3 ; ICAM1, -4 -5 ; SMARCA4, TUBB4, ARHGEF18, BEST2, C3, RDH8, OLFM2, CRB3, CACNA1A, PDE4A et FBN3 ont également été exclus. Notre étude démontre que la microsphérophakie isolée et le syndrome du Weill Marchesani ne sont probablement pas alléliques au gène ADAMTS10.

**Mots-clés :** ADAMTS10, homozygotie par descendance, exclusion.

**■P480. CONFIRMATION DE L'IMPLICATION DU GÈNE ADAMTSL4 DANS L'ECTOPIE CRISTALLINIENNE AUTOSOMIQUE RÉCESSIVE**

C. Stoetzel (1), V. Bennouna Greene (1), V. Pelletier (2), Y. Perdomo-Trujillo (2), L. Liebermann (2), V. Marion (1), H. De Korvin (3), C. Boileau (4), J.L. Dufier (5), H. Dollfus (1, 2)

(1) Laboratoire de Génétique Médicale EA3949, Équipe Avenir-Inserm, Faculté de Médecine de Strasbourg, Université de Strasbourg, France ; (2) Centre de Référence pour les Affections Rares en Génétique Médicale (CARGO) et Service de Génétique Médicale, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, France ; (3) Service d'Ophtalmologie, Hôpitaux Civils de Colmar, France ; (4) Laboratoire de Biochimie, d'Hormonologie et de Génétique Moléculaire, Hôpital Ambroise Paré, Hôpitaux de Paris, France ; (5) Service d'Ophtalmologie, Hôpital Necker – Enfants Malades Assistance Publique – Hôpitaux de Paris, France  
Contact : corinne.stoetzel@medecine.u-strasbg.fr

L'ectopie cristallinienne est une maladie des fibres de la zonula, appareil fibrillaire qui suspend le cristallin dans l'aire pupillaire. L'altération des fibres zonulaires se manifeste par une luxation partielle ou complète du cristallin par rapport à sa position physiologique compromettant progressivement la fonction visuelle jusqu'à ce qu'une chirurgie soit pratiquée. L'ectopie cristallinienne est le plus souvent associée à des maladies systémiques telles que le syndrome de Marfan, le syndrome de Weill-Marchesani ou l'homocystinurie. L'ectopie cristallinienne isolée non syndromique, est plus rare et de transmission autosomique les formes dominantes plus fréquentes que les formes récessives. Récemment, des mutations dans le gène LTBP2 ont été décrites (Ali M et al Am J Hum Genet. 2009 May) dans des cas d'ectopie cristallinienne autosomique récessive associées ou non à d'autres manifestations oculaires (ex : glaucome) ou extra oculaire (ex : habitus marfanoidé). Très récemment, il a été démontré que le gène ADAMTSL4 est impliqué dans la forme autosomique récessive d'ectopie cristallinienne isolée pure dans une famille consanguine (Ahram D et al., Am J Hum Genet. 2009 Feb). Nous présentons une famille consanguine avec deux enfants atteints d'une forme isolée d'ectopie cristallinienne. Ils

sont porteurs d'une nouvelle mutation homozygote IVS4-1G>A/IVS4-1G>A dans le gène ADAMTSL4. Cette observation (deuxième rapportée dans la littérature) confirme bien la participation de ce gène dans cette pathologie et souligne le rôle principal des protéases d'ADAMTS dans l'homéostasie des fibres de la zonula.

**Mots-clés :** ectopie cristallinienne, ADAMTSL4.

**■P481. SPECTRE DES MUTATIONS DU GÈNE SPATA7 DANS UNE COHORTE DE PATIENTS ATTEINTS D'AMAUROSE CONGÉNITALE DE LEBER ET ÉTABLISSEMENT DE PREMIÈRES CORRÉLATIONS GÉNOTYPE-PHÉNOTYPE**

I. Perrault (1), N. Delphin (1), X. Gerard (2), S. Gerber (1), S. Hanein (1), V. Pelletier (3), H. Dollfus (3), B. Puech (4), S. Defoort-Dhellemes (4), A. Munnich (1), O. Roche (5), J. Kaplan (1), J.M. Rozet (1)

(1) INSERM U781 – Université Paris-Descartes, CHU Necker, Paris, France ; (2) Genethon Évry, France ; (3) Service de Génétique Médicale, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, France ; (4) Service d'Ophtalmologie, CHRU Roger-Salengro, Lille, France ; (5) Service d'Ophtalmologie – Université Paris-Descartes, CHU Necker, Paris, France  
Contact : isabelle.perrault@inserm.fr

L'amaurose congénitale de Leber (ACL) est la plus précoce et la plus sévère des dystrophies rétiniennes. Deux-sous types ont été individualisés. Le type I désigne une cone-rod dystrophy congénitale et stationnaire, dramatiquement sévère. Le type II désigne une rod-cone dystrophy certes sévère mais progressive, représentant l'extrémité d'un spectre de gravité des rétinoopathies pigmentaires (RP). À ce jour, quatorze gènes d'ACL ont été identifiés. Jusqu'en 2008, l'analyse clinique des patients porteurs de mutations dans les 13 premiers gènes avait permis de statuer que 3/13 rendaient compte du type I (38,1 % de l'ensemble des cas) et 10/13 du type II (25,6 % de l'ensemble des cas). La quasi-totalité des protéines codées par ces gènes sont très préférentiellement voire spécifiquement exprimées dans la rétine et sont responsables d'ACL strictement isolée. Par contraste, LCA5 et CEP290 sont largement exprimés et les mutations de ce dernier gène ont été reconnues responsables de phénotypes variés allant d'ACL type I isolée à des troubles pléiotropiques incluant certains sous-types de syndrome de Joubert (JBTS5) ou certains sous-type de syndrome Senior-Loken (SNLS6). Le dernier des gènes identifiés, SPATA7, code également une protéine exprimée au-delà de la rétine et est incriminé dans la survenue d'ACL ou de RP précoces récessives autosomiques. Les travaux que nous présentons avaient pour objectif d'évaluer l'implication de ce nouveau gène dans une cohorte de 139 patients non apparentés et non porteurs de mutations dans les autres gènes, atteints d'ACL isolée (n = 134/139) ou syndromique (2/139 SNLS, 2/139 JBTS et 1/139 Alstrom). Six mutations différentes ont été identifiées dans quatre familles d'ACL isolée (1/6 homozygote) ; 4/6 de ces mutations sont originales. Bien que le gène SPATA7 soit exprimé au-delà de la rétine, aucune mutation n'a été identifiée dans les 5 familles d'ACL syndromique. Cette recherche devra être réalisée dans un échantillon très élargi pour être concluante. L'analyse clinique fine des patients des 4 familles permet d'inclure le gène SPATA7 comme onzième gène des ACL de type II avec une fréquence rare (1,1 % de l'ensemble des cas). Ce résultat conforte l'idée que les mutations qui restent à découvrir, à l'origine de la maladie chez environ 35 % des patients, concerneront vraisemblablement des gènes impliqués chacun dans un petit nombre de familles, rendant malaisée leur identification.

**Mots-clés :** Amaurose congénitale de Leber, gène SPATA7, corrélations génotype-phénotype.

**■P482. STRATÉGIE D'ANALYSE MOLÉCULAIRE ET PREMIERS RÉSULTATS POUR LE DIAGNOSTIC ET L'IDENTIFICATION DE NOUVEAUX GÈNES/LOCI DANS LES RÉTINITES PIGMENTAIRES DOMINANTES AUTOSOMIQUES**

C.P. Hamel (1, 2), B. Bocquet (2), D. Coustes-Chazal (1), C.M. Dhaens (3), D. Allorge (3), C. Titah (1), M. Hébrard (2), I. Meunier (1, 2), G. Manès (2)

(1) Centre de référence maladies sensorielles génétiques, CHRU Montpellier, France ; (2) INSERM U583, Montpellier, France ; (3) Laboratoire des génopathies, CHRU Lille, France  
Contact : christian.hamel@inserm.fr

BUT : Les rétinites pigmentaires dominantes autosomiques (adRP) sont des dystrophies héréditaires de la rétine caractérisées par la perte progressive des photorécepteurs prédominante en périphérie rétinienne. La prévalence de cette affection est d'environ 1 individu sur 12 000. Les études précédentes suggèrent que dans moins d'un cas sur deux (44,7 %), une mutation est identifiée dans l'un des 16 gènes actuellement connus. Le but



de cette étude est d'établir la prévalence réelle en France des gènes connus et de localiser de nouveaux gènes ou loci à partir de 250 familles recrutées de 2009 à 2012. **MÉTHODES** : Les études de liaison indirecte ont été effectuées avec 32 marqueurs de microsatellites encadrant 15/16 gènes d'adRP (PRPF31, RP1, IMPDH1, PRPF8, NRL, PRPF3, CA4, RDS, CRX, TOPORS, NR2E3, KLHL7, ROM1, FSCN2 et PAP1) plus RHO qui est séquencé systématiquement. Pour certaines familles, une analyse du génome entier par puce Affymetrix® 250K a été réalisée et les résultats analysés, par trios parents-enfants ou sur l'ensemble de la famille en comparant les SNPs des patients atteints entre eux, grâce à un logiciel conçu dans notre équipe. Des régions chromosomiques candidates ont ainsi été délimitées et les gènes localisés ont ensuite été séquencés. **RÉSULTATS** : La stratégie comporte une première étape de criblage des 8 gènes les plus fréquemment mutés dans les adRP (RHO, PRPF31, RDS, RP1, PRPF8, IMPDH1, NRL et PRPF3) qui est en cours, permettant théoriquement d'identifier la mutation causale dans 38,7 % des patients. Une étude indirecte réalisée sur 13 familles a permis d'identifier 5 mutations déjà répertoriées dans les bases de données : RHO p.Ala333fsX22 (1 famille) et p.Asn15Ser (2 familles), NR2E3 p.Gly56Arg (3 familles), RDS p.Ser198Arg (1 famille), RPGR p.Trp669X (1 famille), et 4 nouvelles mutations : PRPF31 p.Gly233ValfsX17 (1 famille) et p.[Pro217Thr] + [Asn218Lys] (1 famille), RDS p.Leu254Gln (2 familles) et RP1 p.Tyr685X (1 famille). Une analyse du génome entier a été faite pour 2 familles. Dans la première, un locus de 15 Mb sur le chromosome 8 a permis d'identifier une nouvelle mutation dans RP1, p.Ile725fsX737. Pour la seconde famille, un locus de 52,9 Mb sur le chromosome 2 contenant 415 gènes a été isolé. L'étude et la caractérisation de ce locus est en cours. **CONCLUSION** : Les premiers résultats, dans cette cohorte restreinte, semblent souligner que la prévalence des gènes connus est probablement sous-estimée dans la littérature puisque la mutation causale a été identifiée pour 14 familles sur 15, soit dans 93,3 % des cas. Cependant, sur 15 familles étudiées, un nouveau locus a déjà été identifié pour lequel le gène est activement recherché.

**Mots-clés** : rétinopathie pigmentaire, génotypage de SNP.

#### ■P483. IDENTIFICATION DE DEUX NOUVELLES DÉLÉTIONS ET D'UNE DUPLICATION DU GÈNE OCA2 CHEZ DES PATIENTS ATTEINTS D'ALBINISME OCULOCUTANÉ

E. Lasseaux (1), C. Rooryck-Thambo (1), C. Plaisant (1), H. Dollfus (2), S. Defoort-Dhellemmes (3), B. Duban-Bedu (4), T. J.L. De Ravel (5), D. Lacombe (1), B. Arveiler (1)  
(1) Service de Génétique Médicale, CHU de Bordeaux, France ; (2) Service de Génétique Médicale, CHU de Strasbourg, France ; (3) Service Exploration fonctionnelle de la vision, CRHU de Lille, France ; (4) Centre de Génétique Chromosomique, Hôpital Saint Vincent de Paul Lille, France ; (5) Centrum Menselijke Erfelijkheid, Leuven, Belgique  
Contact : eulalie.lasseaux@chu-bordeaux.fr

L'albinisme oculocutané (AOC) est une maladie génétique rare (1 personne sur 20 000 environ) due à un déficit de synthèse de la mélanine et caractérisée par une hypopigmentation généralisée de la peau, des cheveux et des yeux, et par des anomalies ophtalmologiques. L'AOC est autosomique récessif et génétiquement hétérogène. On distingue quatre types d'AOC : AOC1 dû à des mutations du gène TYR localisé en 11q14.3, AOC2 dû à des mutations du gène OCA2 (ou gène P) en 15q11.2-q12, AOC3 dû à des mutations de TYR1 en 9p23 et AOC4 dû à des mutations de SLC45A2 en 5p13.3. La forme la plus fréquente d'AOC est l'AOC1 (46 % des cas). L'AOC2 constitue la seconde forme d'AOC (29 % des cas). Le gène OCA2 contient 25 exons et couvre 345 kb. Plus de 80 mutations et autant de polymorphismes de type SNP ont été décrits dans ce gène (Human Gene Mutation Database of Cardiff, <http://www.hgmd.org/> ; Albinism database, <http://albinismdb.med.umn.edu/>). Plusieurs délétions intragéniques ont été décrites. On citera la délétion récurrente de 2,7 kb emportant l'exon 7 retrouvée chez les patients d'origine africaine ou afro-américaine et la délétion de 122,5 kb spécifique des indiens Navajos. L'analyse du gène OCA2 dans notre laboratoire est effectuée par DHPLC ou PCR-HRM et séquençage à la recherche de mutations ponctuelles et par QMF-PCR à la recherche de réarrangements intragéniques. Nous décrivons ici deux nouvelles délétions et une duplication intragéniques, découvertes après étude du gène OCA2 chez 37 patients. Une délétion (Del1) emportant les exons 2 à 20 a été trouvée chez un patient à l'état hétérozygote, associée à une mutation ponctuelle dans l'exon 9 (c.1001C>T/p.Ala334Val). Une seconde délétion (Del2) emportant les exons 3 à 20 a été mise en évidence chez une patiente à l'état hétérozygote, et chez une autre patiente à l'état homozygote. Ces patientes sont toutes deux d'origine polonaise. Une duplication (Dup) a été trouvée à l'état homozygote chez une patiente. L'intervalle concerné par cette duplication débute après la Del2 dans l'intron 2 et termine dans la même région de

l'intron 20 que la Del2. Le caractère récurrent de la Del2 chez deux patients dont un homozygote, et le caractère homozygote de la Dup chez une patiente nous ont interrogés quant aux mécanismes impliqués. Un éventuel effet fondateur a été investigué par analyse d'haplotype pour chacun de ces deux événements. L'existence de séquences favorisant ces remaniements génomiques (éléments répétés, duplications segmentaires,...) a été analysée par bioinformatique. Les résultats seront présentés.

**Mots-clés** : albinisme oculocutané, OCA2, délétion/duplication.

#### ■P484. ET S'IL S'EN FALLAIT DE QUELQUES BASES POUR QU'UN RETARD MENTAL S'ASSOCIE À UNE RÉTINOPATHIE PIGMENTAIRE LIÉE À L'X ?

N. Delphin (1, 2), J. Bengoa (2), S. Gerber (1), R. Borghese (2), A. Driben (2), S. Gobin (2), J.P. Bonnefont (2), J.M. Rozet (1), J. Kaplan (1, 2)  
(1) Unité INSERM U781 & Université Paris Descartes, CHU Necker-Enfants Malades, Paris, France ; (2) Laboratoire Hospitalier de Génétique Moléculaire, CHU Necker-Enfants Malades, Paris, France  
Contact : josseline.kaplan@inserm.fr

Les rétinopathies pigmentaires liées au chromosome X figurent parmi les plus sévères des dystrophies rétiniennes affectant l'enfant et entraînant une grave dysfonction visuelle avant l'âge de 30 ans. Deux gènes rendent compte de la quasi-totalité des cas : RPGR (70 % des cas) et RP2 (30 % des cas). Par ailleurs, il a été décrit dans deux familles indépendantes un syndrome délétionnel de la région Xp11.3 emportant les premiers exons du gène RP2 et s'étendant sur 1,2 Mb vers la région télomérique du bras court. Dans ces deux familles, la rétinopathie pigmentaire s'associait à un retard mental suggérant un syndrome de gènes contigus. Par le criblage des gènes contenus dans la délétion chromosomique dans des familles atteintes de retard mental lié à l'X non-syndromique, le gène ZNF674 s'est retrouvé au banc des accusés par l'identification de trois mutations, dont une nulle. Nous rapportons ici, deux familles de rétinopathie pigmentaire liée à l'X rassemblant respectivement 7 et 2 garçons atteints. Aucun de ces patients ne souffrait d'un retard mental associé à leur déficience visuelle. Une étude génétique a permis d'incriminer la région RP2 dans ces deux familles et montrait une probable délétion de la totalité du gène RP2 ainsi que de marqueurs polymorphes flanquant la région 5' du gène. La présence du gène ZNF674 a été recherchée en priorité sous l'hypothèse de sa responsabilité dans le retard mental du syndrome délétionnel Xp11.3. Des couples d'amorces permettant d'amplifier spécifiquement les régions 5' et 3' UTR du gène ZNF674 dont il faut souligner l'orientation tête-bêche par rapport à RP2 ont permis de montrer l'absence du 3' UTR avec conservation de la région 5'. Compte tenu de l'orientation du gène, ces dernières données suggèrent l'existence d'une boucle de délétion avec un point de cassure dans la séquence du gène ZNF674. Le point de cassure est en cours d'identification mais il est vraisemblable que les patients des deux familles présentées ici sont « passés à quelques bases près » d'un retard mental associé à leur rétinopathie pigmentaire.

**Mots-clés** : rétinopathie pigmentaire liée à l'X, syndrome délétionnel Xp11.3, gènes RP2-ZNF674.

#### ■P485. ÉTUDE CLINIQUE ET GÉNÉTIQUE D'UNE FAMILLE TUNISIENNE CONSANGUINE ATTEINTE DE BLÉPHAROPHIMOSIS PTOSIS EPICANTHUS INVERSUS ET TÉLÉCANTHUS

I. Chouchene (1, 2), K. Derouiche (1), A. Chaabouni (3), L. Cherif (2), A. Amouri (4), L. Lagueche (1), S. Abdelhak (2), L. El Matri (1)  
(1) Unité de recherche d'Oculogénétique, Institut Hedi Rais d'Ophthalmologie, Tunis, Tunisie ; (2) Unité de recherche « Investigation Moléculaire de maladies orphelines d'origine génétique », Institut Pasteur de Tunis, Tunisie ; (3) Service B, Institut Hedi Rais d'Ophthalmologie, Tunis, Tunisie ; (4) Laboratoire de Cytogénétique, Institut Pasteur de Tunis, Tunisie  
Contact : chouchen\_ibtissem@yahoo.fr

Le syndrome de blépharophimosis ptosis épicanthus in *versus* et telecanthus (BPES) est une maladie oculaire rare qui se manifeste par une malformation des paupières qui peut être associée avec une prématurité ovarienne (BPES type I) ou non (BPES type II). La transmission est autosomique dominante. Les mutations responsables de cette pathologie touchent le gène FOXL2 (3q23) dans 80 % des malades. Ce gène est un facteur de transcription qui s'exprime dans le mésenchyme des paupières en cours du développement embryonnaire et dans les follicules. Les mutations du gène FOXL2 sont essentiellement intragéniques (81 %). Une étude clinique chez une famille tunisienne consanguine recrutée à l'Institut Hedi Rais d'Ophthalmologie de Tunis a permis de diagnostiquer cinq membres atteints de la famille. Afin d'identifier la mutation, nous avons effectué un séquençage direct du gène FOXL2. L'analyse de la séquence a identifié la nouvelle mutation g.1113 dup C, c.876 dup C, p.P292 Fs. Cette mutation



a causé un changement de cadre de lecture et l'extension de la protéine à 532 acides aminés. Cette étude a rapporté pour la première fois une nouvelle mutation chez deux générations d'une famille Tunisienne atteinte de BPES. Notre résultat étend le spectre mutationnel du gène FOXL2.

**Mots-clés :** syndrome de blépharophimosis, gène FOXL2, nouvelle mutation.

**■P486. MUTATION IVS1+1G >A DU GÈNE CHM RESPONSABLE DE LA CHOROÏDÉRÉMIE DANS UNE FAMILLE TUNISIENNE**

I. Ben Charfeddine (1), M. Gribaa (1), N. Ben Rayana (2), L. Adala (1), O. Mammaï (1), A. Mili (1), T. Belazreg (1), A. Amara (1), F. Ben Hadj Hamida (2), A. Saad (1)

(1) *Laboratoire de Cytogénétique, de Génétique Moléculaire et de Biologie de la Reproduction Humaines, CHU Farhat Hached, Sousse, Tunisie ; (2) Service d'Ophthalmologie, CHU Farhat Hached, Sousse, Tunisie*  
Contact : moez.gribaa@rns.tn

La choroïdérémie (CHM) est une maladie héréditaire rare à transmission récessive liée au chromosome X. Elle est caractérisée par une dystrophie de l'épithélium pigmentaire de la rétine. Cliniquement, elle se manifeste par une perte de la vision nocturne et une constriction progressive du champ visuel entraînant une cécité dans le jeune âge. Elle est causée par la mutation du gène CHM. Les femmes hétérozygotes porteuses ont généralement une fonction rétinienne normale mais présentent, au fond d'œil, des zones de dégénérescence et de pigmentation focales de la rétine. Ces zones sont en fait des régions pathologiques dues à l'inactivation aléatoire du chromosome X. Dans ce travail, nous rapportons l'étude de 3 patients atteints de CHM et faisant partie d'une même famille tunisienne. Ces patients ont consulté pour une perte de la vision nocturne. Le fond d'œil a montré une atrophie chorio-rétinale diffuse. Les 3 patients ont aussi présenté une réduction du champ visuel et l'absence de signal à l'électrorétinogramme (ERG). Le séquençage direct des différents exons du gène CHM et des régions introniques qui les entoure, a permis de retrouver la transition d'une guanine (G) par une adénine (A) (G>A) dans le site donneur d'épissage de l'intron 1 (IVS1+1G >A) à l'état hémizyote chez les 3 patients. Cette mutation est à l'origine d'un épissage aberrant de l'ARNm entraînant l'apparition d'un codon stop prématuré et une protéine REP-1 tronquée qui a perdu toute fonctionnalité.

**Mots-clés :** gène CHM, choroïdérémie, protéine REP-1.

**■P487. GÈNE PDE6C, NOUVEAU LOCUS POUR L'ACHROMATOPSIE COMPLÈTE AUTOSOMIQUE RÉCESSIVE**

Y. Perdomo-Trujillo (1), V. Pelletier (1), T. Grau (2), H. Dollfus (1), B. Wissinger (2), S. Kohl (2)

(1) *Centre de Référence pour les Affections Rares en Génétique Ophthalmologique (CARGO) et Service de Génétique Médicale, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France ; (2) Molecular Genetic Laboratory, Institute for Ophthalmic Research, Department for Ophthalmology, University Clinics Tübingen, Germany*  
Contact : yauempred@yahoo.fr

L'Achromatopsie complète constitue une maladie congénitale et stationnaire. Elle se transmet sur le mode récessif autosomique. Cliniquement, elle est caractérisée par la présence d'une importante photophobie, d'un nystagmus, d'une acuité visuelle basse, associés à une absence complète de vision colorée. À l'électrorétinogramme, les réponses du système des bâtonnets sont présentes. Les réponses correspondant au système des cônes sont très diminuées, voire absentes. Une dysfonction des trois populations de cônes caractérise cette maladie génétique. Trois gènes sont impliqués dans l'Achromatopsie complète : CNGA3, CNGB3 et GNAT2. Ici nous montrons le cas d'une famille consanguine, porteuse d'une mutation homozygote c.1682->1683insA/c.1682->1683insA, dans le gène PDE6C. Ce gène a été récemment identifié à l'origine de cette maladie par le groupe de Tübingen. PDE6C code pour une protéine spécifique des cônes, la cGMP phosphodiesterase alpha', qui constitue un élément clé dans la cascade de la phototransduction des cônes.

**Mots-clés :** achromatopsie complète, autosomique récessive, PDE6C.

**■P488. PREMIÈRE OBSERVATION MAROCAINE D'AMAUROSE CONGÉNITALE DE LEBER SECONDAIRE À LA MUTATION C.1511\_1514 DEL GAGA DU GÈNE CEP290**

N. Aboussair (1), S. Chafai Elaloui (1), I. Cherkaoui Jaouad (1), L. Rifai (1), J.M. Rozet (2), J. Kaplan (2), A. Sefiani (1, 3)

(1) *Département de Génétique Médicale, Institut National d'Hygiène, Rabat, Maroc ; (2) Unité de Génétique et d'Épigénétique des maladies métaboliques neurosensorielles et du développement, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris, France ; (3) Centre de génomique humaine, Faculté de*

*médecine et de pharmacie de Rabat, Université Mohammed V, Souissi, Rabat, Maroc*

Contact : nisrineaboussair@yahoo.fr

L'amaurose congénitale de Leber (ACL, MIM 204000) est la plus précoce et la plus sévère des dystrophies rétiniennes héréditaires puisqu'elle est responsable de cécité ou de malvoyance profonde néonatale ou périnatale (Leber T, 1869). Ce qui caractérise avant tout cette affection est que le fond d'œil est normal à la naissance contrastant avec un électrorétinogramme (ERG) éteint témoignant d'une perte totale de la fonction des cônes et des bâtonnets. L'ACL est une maladie héréditaire à transmission autosomique récessive. Néanmoins, quelques cas d'ACL à transmission autosomique dominante ont été rapportés dans la littérature. Cette maladie est caractérisée par une grande hétérogénéité génétique et physiopathologique. En effet à ce jour 11 gènes, impliqués dans des voies physiologiques différentes et 2 loci LCA3 en 14q24 et LCA9 en 1p36 ont été rapportés. Des études récentes ont montré que le gène NPHP6 (CEP290) est impliqué dans 22 % des cas d'ACL. Nous rapportons dans ce travail, l'observation d'une patiente Marocaine, âgée de 2 ans, issue d'un mariage consanguin et présentant une cécité congénitale associée à une photophobie et à un retard psychomoteur. L'examen ophtalmologique et les examens électrophysiologiques ont évoqué une dégénérescence tapéto-rétinienne. Une étude indirecte par la méthode de cartographie par homozygotie a mis en évidence une liaison au gène CEP290. Par la suite le séquençage du gène CEP290 a identifié une mutation homozygote c.1511\_1514 del GAGA. En conclusion, l'identification de cette mutation nous a permis de confirmer le diagnostic d'amaurose congénitale de Leber chez cette patiente, de formuler un conseil génétique adéquat pour les parents ainsi que de proposer un diagnostic anténatal pour les grossesses ultérieures.

**Mots-clés :** amaurose congénitale de Leber, CEP290, mutation.

**■P489. ÉTUDE DU GÈNE FOXI1 DANS LES SURDITÉS RÉCESSIVES NON SYNDROMIQUES AVEC LARGE AQUEDUC VESTIBULAIRE**

A. Buffet, V. Gaston, D. Dupin-Deguine, P. Calvas, E. Bieth

*Service de génétique, Hôpital Purpan, Toulouse, France*

Contact : alexbuffet13@yahoo.fr

Les surdités récessives non syndromiques de type DFBN4 et le syndrome de Pendred ont en commun des malformations de l'oreille interne incluant de larges aqueducs vestibulaires (LAV) et parfois une malformation de Mondini. Ces surdités sont connues pour être liées à des mutations du gène SLC26A4. Toutefois, chez environ 1/3 des patients présentant un phénotype indistinguable aucune mutation n'est retrouvée dans ce gène [1, 2]. Ce constat soulève la question d'une hétérogénéité génétique. Ainsi, le gène codant le facteur de transcription FOXI1 contrôlant l'expression de SLC26A4 constituerait un candidat potentiel. Une étude récente a d'ailleurs rapportée des mutations hétérozygotes de ce gène chez des patients malentendants avec un scanner des rochers des anomalies de type LAV [3]. Nous avons sélectionnés 22 patients présentant ce phénotype et chez lesquels aucune mutation du gène SLC26A4 n'a été détectée. La recherche de mutations ponctuelles (séquençage) et de grands réarrangements (QMPF) du gène FOXI1 a été entreprise. Il s'avère qu'aucune anomalie de FOXI1 n'a été observée chez les 22 patients analysés. En conclusion, nos résultats sur cette petite cohorte suggèrent que le gène FOXI1 est probablement rarement impliqué dans la genèse des surdités avec LAV.

**Références**

1. Campbell C., Hum. Mutation 2001 ; 17(5) : 403-11.
2. Gonzalez T., Eur. J. Endocrinology 2001 ; 144 (6) : 585-93.
3. Yang T., Am. J. Hum. Genet. 2007 ; 80 : 1055-63.

**Mots-clés :** foxi1, pendred.

**■P490. SURDITÉ AVEC LARGES AQUEDUCS VESTIBULAIRES ET MUTATION HÉTÉROZYGOTE DU GÈNE SLC26A4 : RECHERCHE DE GRANDS RÉARRANGEMENT DE SLC26A4 ET D'UN DIGÉNISME IMPLIQUANT LE GÈNE FOXI1**

A. Buffet, V. Gaston, D. Dupin-Deguine, P. Calvas, E. Bieth

*Service de génétique, Hôpital Purpan, Toulouse, France*

Contact : alexbuffet13@yahoo.fr

Les malformations de l'oreille interne de type large aqueduc vestibulaire (LAV) sont connues pour être associées au syndrome de Pendred (PDS) et à la surdité non syndromique de type DFBN4. Ces deux types de surdité récessive ont en commun d'être liées à des mutations du gène SLC26A4. Toutefois, chez environ 30 % des patients malentendants présentant des LAV, une seule mutation du gène SLC26A4 est détectée à l'état hétérozygote [1, 2], ceci malgré un criblage exhaustif des 21 exons, des jonctions introniques et du promoteur du gène. Cette situation génère des interrogations sur le plan diagnostique et est source de difficultés pour le conseil génétique. Nous avons développé une méthode de PCR semi-quantitative



(QMPSF) pour identifier chez ces patients hétérozygotes de larges remaniements du gène SLC26A4 indétectables par les méthodes de séquençage. Au total, 9 patients ont été analysés et aucune délétion ou duplication n'a été retrouvée sur les exons testés du gène SLC26A4. Par ailleurs, dans l'hypothèse d'un éventuel digénisme impliquant le gène FOXI1 [3] nous avons recherché chez ces 9 patients des mutations et des remaniements dans ce gène candidat. Les résultats de ces analyses se sont également avérés négatifs. En conclusion, nous n'avons pas pu mettre en évidence de grand remaniement du gène SLC26A4 dans notre petite cohorte. D'autres études sont nécessaires pour préciser l'implication du gène SLC26A4 chez les patients malentendants et hétérozygotes : association fortuite ou autre mutation non détectée ou encore digénisme (implication putative du gène FOXI1 ou plus récemment de KCNJ10) ?

#### Références

1. Campbell C., Hum. Mutation 2001 ; 17(5) : 403-11.
2. Gonzalez T., Eur. J. Endocrinology 2001 ; 144(6) : 585-93.
3. Yang T., Am. J. Hum. Genet. 2007 ; 80 : 1055-63.

**Mots-clés** : pendred, qmpsf.

#### ■P491. LA FIÈVRE QUI REND SOURD !

S. Marlin (1, 2, 3), Y. Nguyen (4), N. Loundon (2, 4), I. Rouillon (2, 4), E.N. Garabedian (2, 3, 4), L. Jonard (2, 3, 5), F. Denoyelle (2, 3, 4), D. Feldmann (2, 3, 5)

(1) Service de Génétique, Hôpital Trousseau, APHP, Paris, France ; (2) Centre de Références des Surdités Génétiques, Hôpital Trousseau, APHP, Paris, France ; (3) Unité INSERM U587, Hôpital Trousseau, APHP, Paris, France ; (4) Service d'ORL pédiatrique, Hôpital Trousseau, APHP, Paris, France ; (5) Service de Biochimie et Biologie Moléculaire, Hôpital Trousseau, APHP, Paris, France

Contact : sandrine.marlin@trs.aphp.fr

La neuropathie auditive/désynchronisation auditive (NA/DA) est une altération de l'audition associant un trouble de la synchronisation du nerf auditif avec une conservation de l'activité des cellules ciliées externes. Le site suspecté de la lésion peut être soit la synapse entre la cellule ciliée interne et le nerf cochléaire soit le nerf cochléaire lui-même. Le diagnostic est réalisé devant la présence d'oto-émissions acoustiques associées à des potentiels évoqués acoustiques (PEA) absents ou désynchronisés. Bien que des causes génétiques et environnementales aient été identifiées la majorité des cas restent inexpliqués. Nous présentons le cas d'une famille consanguine composée d'une fratrie de deux sœurs et d'un frère. En condition normale (sans fièvre) les patients présentent une audition normale ou une surdité de perception légère bilatérale avec une compréhension vocale altérée. En condition fébrile et en dehors de toute affection ORL, les trois enfants présentent une surdité de perception sévère à profonde associée à un effondrement de la compréhension vocale. Le déficit auditif est réversible avec le retour à l'apyrexie. Les examens audiométriques montrent la présence des oto-émissions acoustiques avec une absence d'onde individualisable sur les PEA. Le bilan d'imagerie n'a pas retrouvé d'anomalie morphologique de la cochlée ou du paquet acoustico-facial. Une nouvelle mutation du gène OTOF a été identifiée à l'état homozygote chez les trois enfants. Le gène OTOF a été antérieurement identifié dans des cas de surdité profonde congénitale associée à la conservation initiale des oto-émissions acoustiques. L'otoferline est une protéine exprimée uniquement dans les cellules ciliées internes et est impliquée dans le trafic et la fusion calcium dépendante des vésicules présynaptiques. Ce travail nous permet de définir un nouveau phénotype de neuropathie auditive et d'identifier une nouvelle mutation thermosensible chez l'homme.

**Mots-clés** : neuropathie auditive, otoferline, mutation thermosensible.

#### ■P492. NOUVELLES MUTATIONS DU GÈNE WFS1 DANS LES SURDITÉS ISOLÉES AVEC COURBE AUDIOMÉTRIQUE ASCENDANTE (ATTEINTE PRÉFÉRENTIELLE DES FRÉQUENCES GRAVES) OU EN U

L. Jonard (1), M. Niasme (1), C. Bonnet (1), M. Louha (1), C. Koval (1), D. Feldmann (1), R. Couderc (1), H. Dollfus (2), V. Drouin-Garraud (3), D. Lacombe (4), F. Fellmann (5), C. Francannet (6), G. Lina-Granade (7), F. Denoyelle (8), S. Marlin (9)

(1) Laboratoire de Biochimie, Inserm U587, Hôpital Armand-Trousseau, AP-HP, Paris, France ; (2) Service de Génétique Médicale, Hôpital de Haute-pierre, Strasbourg, France ; (3) Unité de Génétique Clinique, Hôpital Charles-Nicolle, Rouen, France ; (4) Service de Génétique, Hôpital Pellegrin, Bordeaux, France ; (5) Service de Génétique, Hôpital Saint-Jacques, Besançon, France ; (6) Génétique Médicale, Hôtel-Dieu, Clermont-Ferrand, France ; (7) Service ORL, Hôpital Edouard-Herriot, Lyon, France ; (8) Service d'ORL et de Chirurgie Cervico-Faciale, Inserm U587, Hôpital Armand-Trousseau, AP-HP, Paris, France ; (9) Unité de

Génétique Médicale, Inserm U587, Hôpital Armand-Trousseau, AP-HP, Paris, France.

Contact : laurence.jonard@trs.aphp.fr

**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 syndrome de Wolfram, des mutations dominantes de WFS1, siégeant 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 le gène WFS1 dans une large cohorte de cas sporadiques ou familiaux de surdité non syndromique avec courbe audiométrique ascendante (atteinte préférentielle des fréquences graves) ou courbe en U. **Résultats** : Douze nouvelles mutations hétérozygotes du gène WFS1 (11 mutations ponctuelles faux-sens et une duplication) ont été identifiées. Certaines d'entre elles ont été observées dans plusieurs familles. Nous avons également pu montrer leur présence dans des formes « frontières » de surdité autosomique dominante associée à une atteinte ophtalmologique (atrophie optique) ou à un diabète sucré. **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. Il faut également l'évoquer dans les formes frontières autosomiques dominantes associant une surdité et une atrophie optique, ou une surdité et un diabète.

**Mots-clés** : surdité dominante, WFS1, DFNA6.

#### ■P493. CHARACTERIZATION OF THE MOLECULAR OVERLAP BETWEEN WAARDENBURG SYNDROME TYPE 2 AND 4

V. Pingault (1, 2, 3), F. Dastot-Le Moal (1, 3), D. Ente (3), T. Attie-Bitach (4), R. Touraine (5), J. Amiel (4), M. Goossens (1, 2, 3), S. Marlin (6), N. Bondurand (1, 2)

(1) INSERM U841, IMRB, Département de génétique, Equipe 11, Créteil, France ; (2) Université Paris 12, Faculté de Médecine, IFR10, Créteil, France ; (3) AP-HP, Groupe Albert Chevrier-Henri Mondor, Service de biochimie et génétique, Créteil, France ; (4) INSERM U781, Hôpital Necker, AP-HP, Paris, France ; (5) CHU-Hôpital Nord, Service de Génétique, Saint Etienne, France ; (6) Service de Génétique, Centre de référence « Surdités génétiques », INSERM U587, Hôpital Armand-Trousseau, France

Contact : veronique.pingault@hmm.aphp.fr

Waardenburg syndrome (WS) is a rare (1/40 000) auditory-pigmentary disorder that exhibits varying combinations of sensorineural hearing loss and abnormal pigmentation of the hair and skin. Depending on additional symptoms, WS is classified into four subtypes, WS1 to 4. Absence of additional features characterizes WS2. The association of facial dysmorphic features defines WS1 and 3 whereas the association with Hirschsprung disease (aganglionic megacolon) characterizes WS4, also called Waardenburg-Hirschsprung disease. Mutations within the genes encoding MITF and SNAI2 have been identified in 15 % of WS2 cases, mutations within the PAX3 gene explain almost all WS1 and WS3 cases, whereas mutations of EDN3, EDNRB and SOX10 are responsible of 65-85 % of WS4. Recently, we described the first SOX10 deletions in patients presenting with WS2. After the involvement of PAX3 in WS1 and 3, the identification of SOX10 mutations in WS2 and 4 further documented the molecular complexity and close relationship that link the different subtypes of WS and invited to fully characterize the molecular overlap between WS2 and WS4. We took advantage of the point mutation detection systems routinely used in the laboratory, but also of other strategies such as QMF-PCR assay and looked for point mutations and rearrangements within the EDN3/EDNRB and MITF/SNAI2 genes in both 30 WS4 and 30 WS2 cases. We identified new mutations within the MITF, EDN3, and EDNRB genes. These comprehensive studies are necessary to fully document the complexity of WS, and show that the molecular overlap between WS2 and 4 mostly involves the SOX10 gene.

**Mots-clés** : Waardenburg syndrome, Deafness, SOX10.

#### ■P494. ANALYSE DU GÈNE KRTHB5 DANS UNE LARGE FAMILLE TUNISIENNE DE DYSPLASIE ECTODERMIQUE « ONGLES-CHEVEUX » PURE

M. Trabelsi (2), S. Mansour (2), M. Trabelsi-Ouelha (1, 2), I. Chelly (1), Y. Elaribi (1), H. Jilani (1), I. Ouertani (1), L. Eleuch (1), F. Maazoul (1), Z. Marrakchi (3), M. Kharrat (1, 2), H. Chaabouni (1, 2), R. M'rad (1, 2)

(1) Service des maladies Congénitales et Héritaires, EPS Charles Nicolle, Tunis, Tunisie ; (2) Laboratoire de Génétique Humaine, Faculté

de Médecine de Tunis, Tunisie ; (3) Service de Néonatalogie, EPS Charles Nicolle, Tunis, Tunisie

Contact : rmrada@yahoo.com

Les dysplasies ectodermiques (ED) définissent une famille d'anomalies du développement des annexes de la peau (ED) (cheveu, ongles, dents, glandes sudoripares). Deux cent cas de (ED) sont rapportés dans la littérature, dans environ 3 cas un gène a été associé au phénotype. Sur le plan clinique on différencie les formes de ED ongle cheveu pures des formes de ED associées à des malformations non ectodermiques. Naeem et al ont rapporté une large famille Pakistanaise de ED ongle cheveu pure secondaire à une mutation faux sens du gène KRTHB5 localisé en 12q13.13. Nous rapportons une large famille Tunisienne de ED ongle cheveu pure comportant 5 sujets atteints et 3 phénotypiquement sains. La maladie se transmet selon le mode autosomique récessif dans cette famille. Une étude indirecte avec 5 marqueurs polymorphes liés au cluster des gènes de kératine type II retrouve une liaison. Le séquençage du gène KRTHB5, qui constitue le gène candidat le plus probable dans cette pathologie, retrouve une mutation de la région 3'UTR du gène. Cette mutation est retrouvée à l'état homozygote chez tous les patients et hétérozygote ou absente chez les sujets phénotypiquement sains. Ce résultat constitue le deuxième cas dans la littérature de mutation du gène KRTHB5 associé à une ED « ongles-cheveux » pure.

**Mots-clés :** keartine, dysplasie ectodermique, 3'UTR.

#### ■P495. ÉPIDERMOLYSE BULLEUSE SIMPLEX DE DOWLING-MEARA : NOUVELLES MUTATIONS DES KÉRATINES 5 ET 14 ET CARACTÉRISATION PHÉNOTYPIQUE

A. Ervais Wakosa (1), A. Terron-Kwiatkowski (2), A. Charlesworth (3), C. Thuavin (4), E. Collet (1), S. Dalac-Rat (1), L. Faivre-Olivier (4), F. Huet (5), J.P. Lacour (3), D. Batty (2), P. Vabres (1)

(1) *Service de Dermatologie, Centre Hospitalier, Dijon, France*; (2) *Ministry of Health, Ankara, Turkey*; (3) *Centre de référence des épidermolyses bulleuses, Hôpital de Pasteur, Nancy, France*; (4) *Service de Génétique, Centre Hospitalier, Dijon, France*; (5) *Service de Pédiatrie, Centre Hospitalier, Dijon, France*

Contact : wakosa.adeline@me.com

Les épidermolyses bulleuse simplex (EBS) sont de gravité variable. Certaines peuvent être responsables de manifestations graves en période néonatale et d'un handicap notable à l'âge adulte. Nous rapportons quatre observations dans trois familles d'EBS type Dowling-Meara (DM) dont la caractérisation moléculaire a permis d'identifier trois nouvelles mutations des gènes de kératine 5 et 14. Chez tous les patients les kératines 5 et 14 étaient normalement exprimées dans l'épiderme, avec un clivage au sein des kératinocytes de la couche basale. Deux nouvelles mutations hétérozygotes de KRT 5 ont été identifiées. Chez une patiente de 29 ans, il s'agissait d'une délétion de 96 nucléotides impliquant un site d'épissage dans l'exon 1 et entraînant la délétion de 22 acides aminés (AA) dans le domaine 1A de l'hélice alpha centrale (c.657\_751del96). Elle était responsable d'un phénotype grave en période néonatale : détresse respiratoire, et dans l'enfance : retard staturo-pondéral et d'acquisition de la marche. Il persistait un handicap important à l'âge adulte : impotence fonctionnelle surtout lors de fortes chaleurs et atteinte génitale. L'autre mutation de KRT5 (c.1397G>C), une substitution dans le domaine 2B, entraînait des manifestations majeures à la naissance, avec un décollement cutanéomuqueux étendu mais l'évolution dans l'enfance était favorable, avec à 3 ans des bulles herpétiformes et une kératodermie plantaire modérée n'ayant pas gêné l'acquisition de la marche. Une duplication hétérozygote KRT14 a été identifiée chez une femme de 30 ans et son fils, dans l'exon 6, entraînant un décalage du cadre de lecture dans le domaine 2B et la production de 115 AA aberrants (c.1131dupT). Les bulles ne sont apparues qu'après un intervalle libre d'une semaine après la naissance. Chez la mère, les bulles et la kératodermie plantaire avaient gêné l'acquisition de la marche mais le handicap à l'âge adulte était mineur. Chez son fils, malgré plusieurs poussées bulleuses les premières années, ni les bulles ni la kératodermie plantaire n'ont eu de conséquences graves, mais l'atteinte génitale a entraîné un phimosis. Dans les EBS, plusieurs dizaines de mutations ont été rapportées sur les gènes KRT5 et KRT14, impliquant des régions protéiques fonctionnellement importantes pour l'assemblage des filaments intermédiaires de kératine. Toutefois les descriptions phénotypiques sont souvent succinctes. La délétion de 22 AA du domaine 1A rapportée ici a déjà été observée avec une mutation différente d'un site d'épissage. Elle était associée à un phénotype particulièrement grave qui n'avait pas été précédemment noté. Dans deux cas existait une atteinte génitale gênante, non recensée avec l'EBS-DM dans le registre américain des EB. Des mutations du domaine 2B entraînant un décalage du cadre de lecture ont été rapportées pour des phénotypes sévères. Ici, cette nouvelle mutation entraînait un phénotype modéré. La corrélation génotype-phénotype semble donc imprévisible.

**Mots-clés :** épidermolyses bulleuse simplex de Dowling-Meara, kératines 5 et 14, sévérité phénotypique.

#### ■P496. ÉTUDE MOLÉCULAIRE D'UNE COHORTE INTERNATIONALE DE 78 NOUVEAUX CAS DE SYNDROME DE NETHERTON : VARIABILITÉ PHÉNOTYPIQUE, RÉCURRENCE ET CLUSTERING DES MUTATIONS

C. Deraison (1), L. Lacaze-Buzy (1), E. Bourdon-Lanoy (2), A.M. Mazar-guil (3), R. Tomb (4), C. Moss (5), A.C. Bursztein (6), K. Valari (7), L. Kostyuchenko (8), C. De Die-Smulders (9), C. Bodemer (2), A. Hovnanian (1, 10, 11)

(1) *INSERM, U563, Département de Génétique, Toulouse, France*; (2) *Service de Dermatologie, Hôpital Necker Enfants Malades, Centre de Référence Magec, Paris, France*; (3) *Service de Génétique, CHU Purpan, Toulouse, France*; (4) *Département de Dermatologie, Hôpital Dieu de France, Breyrouth, Liban*; (5) *Département de Dermatologie, Birmingham Children's Hospital, Birmingham, Grande Bretagne*; (6) *Service de Dermatologie, Hôpital Fournier, Nancy, France*; (7) *Département de Pédiatrie, Sophia Children's Hospital, Athènes, Grèce*; (8) *Centre of Children Immunology, Lviv, Ukraine*; (9) *Département de Génétique clinique, Hôpital de Maastricht, Maastricht, Pays-Bas*; (10) *Services de Génétique et de Dermatologie, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris, France*; (11) *Université Paris V René Descartes, Paris, France*

Contact : alain.hovnanian@inserm.fr

Le syndrome de Netherton est une des maladies les plus sévères de la kératinisation de l'enfant et du jeune adulte. C'est une maladie génétique cutanée rare (1 sur 100 000 naissances), transmise sur le mode autosomique récessif, associant une érythrodermie desquamative congénitale, une anomalie spécifique des cheveux (trichorrhéxis invaginata ou « cheveux bambous ») et une atopie sévère avec des taux d'IgE élevés. Le SN est dû à des mutations du gène SPINK5, qui code un inhibiteur de protéases, LEKTI. La majorité des mutations de SPINK5 conduisent à l'apparition d'un codon stop prématuré et prédisent la perte d'expression de la protéine. L'absence de LEKTI, révélée par immunohistochimie sur biopsie cutanée, permet de confirmer le diagnostic. Nous rapportons l'étude moléculaire d'une cohorte internationale de 67 familles correspondant à 78 patients. 48 mutations différentes ont été identifiées, dont 33 sont nouvelles. La plupart des patients présentent la triade clinique classique, certains patients n'expriment qu'une partie de ces manifestations ou sous une forme atypique. L'immunomarquage de LEKTI réalisé chez 59 % des patients de la cohorte montre dans la majorité des cas une perte complète d'expression de la protéine dans les couches granuleuses de l'épiderme. Les mutations des deux allèles de SPINK5 ont été identifiées chez 69 % des familles. L'identification de la seconde mutation est en cours chez 27 % des familles. La recherche de mutation par séquençage de SPINK5 est restée négative chez trois patients. Les mutations non sens ou entraînant un décalage du cadre de lecture conduisant à un codon stop prématuré représentent la majorité des anomalies identifiées (56 %). Les mutations d'épissage comptent pour 42 % des mutations identifiées. Une seule mutation faux sens, affectant le codon d'initiation, a été mise en évidence. 43,5 % des mutations sont des délétions ou des insertions de petite taille, dont 14 sont nouvelles. 54,5 % des mutations sont des substitutions conduisant à des mutations non sens (13 %, dont 3 sont nouvelles) ou des anomalies d'épissage. Cinq mutations récurrentes ont été identifiées chez des patients d'origine géographique différente : 153delT chez 8 patients originaires de Turquie et des Balkans, 238insG chez 6 patients originaires d'Italie et de Grèce, 316delGA chez 3 patients d'Allemagne et de France, 2240+1G>A chez 4 patients des Pays-Bas et du Chili, et R853X chez 3 patients de France. Cette étude est la première base de données internationales de mutations du gène SPINK5 dans le SN. Elle montre que 68 % des mutations identifiées dans cette cohorte sont localisées dans les exons 3, 4, 5 et les exons 22-27, ce qui permet de définir des régions prioritaires du gène à étudier pour accélérer l'identification des mutations. Elle montre aussi que la recherche de microarrangement génique est nécessaire chez de rares patients SN dont le diagnostic est certain, mais sans mutation de SPINK5 identifiée par séquençage.

**Mots-clés :** syndrome de Netherton, diagnostic moléculaire, spectre de mutations.

#### ■P497. NOUVELLE STRATÉGIE MOLÉCULAIRE POUR LE DIAGNOSTIC ÉTIOLOGIQUE DES ICTHYOSES

L. Lacaze-Buzy (1), C. Deraison (1), A. Hovnanian (1, 2, 3)

(1) *INSERM, U563, Département de Génétique, Toulouse, France*; (2) *Services de Génétique et de Dermatologie, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris, France*; (3) *Université Paris V René-Descartes, Paris, France*

Contact : alain.hovnanian@inserm.fr

Les ichtyoses héréditaires (IH) forment un groupe hétérogène de génodermatoses rares et sévères. Elles présentent un large spectre clinique allant

de l'ichtyose lamellaire (IL) caractérisée par de larges squames épaisses et brunes sans érythème, à l'Érythrodermie Congénitale Ichtyosiforme (ECI) qui associe une érythrodermie et de fines squames blanches diffuses. À ce jour, six gènes différents ont été identifiés, sans que la présentation clinique ne permette d'impliquer l'un de ces gènes en particulier : TGM1, ABCA12, ALOX12B, ALOXE3, l'ICHTHYIN et CYP4F22. Les outils de diagnostic immunohistochimique ou enzymologique sont actuellement limités à la transglutaminase I, et l'analyse moléculaire systématique par séquençage de ces 6 gènes est longue et coûteuse, parfois incompatible avec les délais imposés par un diagnostic prénatal. Nous avons développé une nouvelle stratégie afin de répondre à ces difficultés. Celle-ci tient compte d'une part de la structure de la famille sollicitant un diagnostic d'ichtyose (notion et degré de consanguinité des parents, nombre de membres atteints dans la famille), et d'autre part des connaissances actuelles sur les spectres des mutations de ces gènes. Ainsi, après exclusion d'une IH par déficit en transglutaminase I (immunodétection et/ou activité enzymatique *in situ* normale(s) sur biopsie cutanée), l'analyse indirecte, reposant sur le génotypage de marqueurs génétiques de ces 6 gènes, est appliquée dans les familles consanguines (recherche d'homozygotie chez les sujets atteints) et dans les familles multiplexes (recherche de génotypes identiques entre membres atteints de la même famille). Si cette analyse est positive, les mutations seront recherchées par séquençage dans le ou les gènes candidats. Si l'analyse indirecte exclut les gènes testés, la maladie implique un gène encore non identifié. La seconde approche est complémentaire ou se substitue à la précédente dans les familles non consanguines n'ayant qu'un seul enfant atteint. Elle se base sur la recherche des points chauds de mutations correspondant à des mutations récurrentes retrouvées dans plusieurs familles non apparentées, ou à des effets fondateurs observés dans les familles de même origine géographique. Cette analyse a permis de sélectionner 13 exons (sur les 117 exons codants qui composent l'ensemble des 6 gènes) dont le séquençage permet d'identifier plus de 70 % des mutations connues. Si aucune mutation n'est identifiée, le séquençage de toute la partie codante de ces gènes est discuté en fonction de la justification médicale de l'analyse. En conclusion, la combinaison de l'analyse génétique indirecte et directe par recherche des mutations récurrentes permet de réduire, de façon significative, les coûts liés au séquençage systématique des 6 gènes mais surtout de réduire considérablement les délais d'attente du diagnostic et du conseil génétique délivrés au patient et à sa famille.

**Mots-clés** : ichtyoses, stratégies d'investigation, diagnostic moléculaire.

#### ■P498. BASES MOLÉCULAIRES DE L'ÉPIDERMOLYSE BULLEUSE SIMPLE DANS UNE COHORTE NATIONALE DE 31 PATIENTS : MUTATIONS NOUVELLES ET RÉCURRENTES DES KÉRATINES 5 ET 14 ET NOUVELLES CORRÉLATIONS GÉNOTYPE-PHÉNOTYPE

V. Pendaries (1), L. Lacaze-Buzy (1), E. Bourdon-Lanoy (2), M. Titeux (1), S. Hadj-Rabia (2), S. Barbarot (3), A. David (3), P. Edery (4), M. Holder (5), N. Philip (6), Y. Sznajder (7), A. Toutain (8), S. Fraïtag (9), C. Bodemer (2), A. Hovnanian (1, 10, 11)

(1) Inserm, U563, Département de Génétique, Toulouse, France ; (2) Service de Dermatologie, Hôpital Necker Enfants Malades, Centre de Référence MAGEC, Paris, France ; (3) Génétique Médicale, Hôpital de la Mère et de l'Enfant, Nantes, France ; (4) Hôpital Debrousse, Unité de Génétique Médicale, Lyon, France ; (5) Service de Génétique Clinique, Hôpital Jeanne-de-Flandre, Lille, France ; (6) Service de Génétique, Hôpital d'enfants de la Timone, Marseille, France ; (7) Laboratoire de Génétique Médicale, Hôpital Erasme, Bruxelles, Belgique ; (8) Service de Génétique, Hôpital Bretonneau, Tours, France ; (9) Service d'Anatomie et de Cytologie Pathologiques, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France ; (10) Services de Génétique et de Dermatologie, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris, France ; (11) Université Paris V René Descartes, Paris, France

Contact : alain.hovnanian@inserm.fr

Les épidermolyses bulleuses simples (EBS) sont des maladies génétiques cutanées rares dues le plus souvent à des mutations dominantes des gènes codant les kératines 5 (KRT5) et 14 (KRT14). Elles sont responsables de décollements bulleux intra-épidermiques de sévérité variable. Elles sont divisées en trois groupes sur des critères cliniques et ultrastructuraux, avec une forte corrélation génotype-phénotype. La nouvelle nomenclature distingue l'EBS de Dowling Meara (EBS-DM) généralisée et sévère, l'EBS généralisée non Dowling Meara (EBS gen-nonDM) moins sévère et l'EBS localisée (EBS-loc) prédominant aux extrémités. Nous rapportons ici une étude génotype-phénotype rétrospective chez 31 familles atteintes d'EBS, d'origine caucasienne dans 74 % des cas. 23 mutations distinctes ont été identifiées par séquençage : 7 mutations de KRT14 et 16 mutations de

KRT5 sont dominantes, une mutation de KRT14 est récessive. 9 de ces mutations sont nouvelles et suivent la corrélation génotype-phénotype décrite : 2 mutations faux sens de la région « Helix Termination Peptide » (HTP) du domaine bâtonnet conduisant au phénotype EBS-DM ; une délétion d'un acide aminé du domaine H1 de la tête de la molécule et cinq mutations faux sens des domaines 1A et 2B situées dans le domaine bâtonnet en dehors des régions « Helix Initiation Peptide » (HIP) et HTP, chez des patients EBS-loc. La mutation récessive est une mutation non sens de la KRT14 identifiée chez une patiente adoptée atteinte d'une forme généralisée (p.Q372X). Les 14 autres mutations ont été préalablement rapportées, parmi lesquelles 3 mutations récurrentes de KRT14. À noter que 5 de ces patients présentent un phénotype différent de celui initialement décrit dans la littérature : 3 patients EBS-loc portent des mutations préalablement rapportées chez de nombreux patients EBS-DM (mutations récurrentes p.R125C, p.R125H) ou chez des patients EBS gen-nonDM et EBS-loc (p.L325P). Deux autres patients EBS-DM dans notre étude portent des mutations préalablement rapportées chez des patients EBS gen-nonDM (p.L463P, p.E466D). Cette étude confirme l'existence de « points chauds » de mutations des KRT5 et KRT14 dans les domaines HIP ou HTP associé à l'EBS-DM. De façon surprenante, deux familles atteintes d'EBS-loc portent les mutations récurrentes p.R125H et p.R125C du domaine HIP de la KRT14, invariablement décrites chez de nombreux patients EBS-DM. L'observation de trois autres mutations associées à un phénotype différent de celui rapporté dans la littérature souligne la difficulté et l'importance d'évaluer le phénotype clinique des différentes formes d'EBS. La variabilité inter-individuelle pour une même mutation confirme les récentes études sur l'influence de facteurs génétiques et/ou environnementaux sur le sévérité des EBS. Ces observations sont les premières étapes vers l'identification de gènes modificateurs pouvant influencer l'expression clinique de ces formes d'EBS.

**Mots-clés** : épidermolysse bulleuse simple, corrélation génotype-phénotype, génodermatoses.

#### ■P499. CORRÉLATIONS GÉNOTYPE-PHÉNOTYPE DANS UNE COHORTE DE 30 PATIENTS ATTEINTS DE LA MALADIE DE DARIER : MUTATIONS FAUX-SENS VERSUS PTCs

M. Davignac (1), L. Lacaze-Buzy (1), C. Deraison (1), N. Antoni (2), J.M. Blanconnet (3), J. Chevrant-Breton (4), P. Labrune (5), M.F. Jonkman (6), R. Tomb (7), Y. De Prost (8), A. Hovnanian (1, 9, 10) (1) INSERM, U563, Département de Génétique, Toulouse, France ; (2) Service de Dermatologie, Hôpital Civil, Strasbourg, France ; (3) Service de Dermatologie, CHU Dupuytren, Limoges, France ; (4) Service de Dermatologie, CHU Pontchaillou, Rennes, France ; (5) Hôpital Antoine-Béclère, Clamart, France ; (6) Service de Dermatologie, Universitair Medisch Centrum Groningen, Groningen, Pays Bas ; (7) Service de Dermatologie, Hôpital Hotel-Dieu, Beyrouth, Liban ; (8) Service de Dermatologie, Hôpital Necker Enfants-Malades, Paris, France ; (9) Services de Génétique et de Dermatologie, Hôpital Necker Enfants-Malades, Paris, France ; (10) Université Paris V René Descartes, Paris, France

Contact : alain.hovnanian@inserm.fr

La maladie de Darier (MD) est une maladie génétique cutanée sévère rare, transmise sur le mode autosomique dominant. Elle se caractérise par des lésions hyperkératosiques prédominant dans les régions séborrhéiques et les plis, d'étendue et de sévérité variable. Les lésions histologiques associent une acantholyse supra-basale et une dyskératose. Le gène de la MD, ATP2A2 code pour l'isoforme 2 de la pompe Ca<sup>2+</sup>-ATPase (SERCA2) du reticulum endoplasmique. Les études fonctionnelles *in vitro* de ces mutations ont montré qu'elles conduisent à une perte du transport de Ca<sup>2+</sup>. ATP2A2 est transcrit en trois isoformes SERCA2a, 2b et 2c par épissage alternatif des trois derniers exons. L'isoforme 2b est majoritaire dans l'épiderme. Nous avons étudié 11 cas familiaux et 19 cas sporadiques dont 2 présentent une forme segmentaire localisée de la MD. Nous avons identifié par séquençage du gène ATP2A2, 19 nouvelles mutations et 9 mutations précédemment rapportées. Les deux patients présentant une forme segmentaire portent une mutation d'ATP2A2 dans les kératinocytes issus des lésions cutanées, qui n'est pas retrouvée dans les leucocytes périphériques. Les patients ont été classés en 3 groupes de sévérité : bénigne (papules kératosiques éparses ou limitées à une ou deux régions) (4), modérée (papules plus étendues ou plaques verruqueuses localisées) (13) ou sévère (plaques verruqueuses coalescentes étendues) (7). Les 4 patients atteints d'une forme bénigne présentent tous des mutations non sens. Parmi les 13 patients atteints d'une forme modérée, 6 présentent des mutations conduisant à un codon stop prématuré (PTC), 4 portent des mutations faux-sens, 2 présentent une mutation d'épissage et un porte la délétion d'un acide aminé. Parmi les 7 patients atteints d'une forme sévère, 5 présentent une mutation faux-sens, 1 patient est porteur d'une mutation conduisant à



un PTC et 1 patient présente une mutation d'épissage. Deux patients portent une mutation dans la région spécifique de SERCA2b, ce qui confirme qu'une mutation invalidant spécifiquement l'isoforme ATP2A2b est suffisante pour conduire au phénotype MD. Les patients de notre cohorte atteints d'une forme bénigne de la MD sont porteurs de mutations non sens et ceux présentant une forme sévère sont le plus souvent porteurs d'une mutation faux-sens (5/7). Ceci confirme la notion selon laquelle les mutations faux-sens sont responsables de formes plus sévères de MD que les mutations conduisant à un PTC. Ceci est concordant avec les études fonctionnelles qui ont montré que certaines mutations faux-sens peuvent bloquer l'activité de la pompe endogène et donc agir de façon dominante négative, ce qui expliquerait leur sévérité. À l'opposé, les mutations PTCs induisent une dégradation précoce de l'ARNm et rendent compte d'un mécanisme par haploinsuffisance. Cette étude conduit à envisager un mécanisme double, par haploinsuffisance (PTCs) ou par effet dominant négatif (faux-sens) selon la nature des mutations.

**Mots-clés :** maladie de Darier, calcium, ATP2A2.

#### ■P500. SYNDROME DE BIRT HOG DUBBE : PRÉSENCE DE GRANDS RÉARRANGEMENTS DE LA FOLLICULINE DANS 1/4 DES CAS

N. Soufir (1), C. Kannengiesser (1), A. Bourillon (1), T. Frebourg (2), V. Descamps (3), E. Bourrat (4), B. Matard (5), B. Crestani (6), F. Grange (7), M. Rybojad (4), A. Taieb (8), A. Tazi (9), D. Lacombe (10), B. Grandchamp (1)

(1) Laboratoire de Génétique, Hôpital Bichat, APHP, Université Paris 7, Paris, France ; (2) Unité de Génétique Clinique, CHU Rouen, France ; (3) Service de Dermatologie, Hôpital Bichat, APHP, Université Paris 7, Paris, France ; (4) Service de Dermatologie, Hôpital Saint Louis, APHP, Université Paris 7, Paris, France ; (5) Service de Dermatologie, Hôpital Tarnier, APHP, Université Paris 5, Paris, France ; (6) Service de Pneumologie, Hôpital Bichat, APHP, Université Paris 7, Paris, France ; (7) Service de Dermatologie, CHU de Reims, Reims, France ; (8) Service de Dermatologie, CHU de Bordeaux, Bordeaux, France ; (9) Service de Pneumologie, Hôpital Saint Louis, APHP, Université Paris 7, Paris, France ; (10) Service de Génétique, CHU Bordeaux, Bordeaux, France

Contact : nsoufir@yahoo.com

Introduction Le syndrome de Birt-Hogg-Dubé (BHD) est une génodermatose de transmission autosomique dominante caractérisée par des tumeurs folliculaire bénignes (fibrofolliculomes, FF), une atteinte pulmonaire (emphyème et/ou de pneumothorax spontané), un risque de cancer rénal souvent bilatéral, et un sur-risque possible de cancer colique. Le gène en cause est la folliculine (FLCN), situé sur le chromosome 17p11.2. De nombreuses mutations ont été identifiées, pour la grande majorité décalant le cadre de lecture, avec un point chaud dans l'exon 11. Patients et méthodes Soixante quatre prélèvements ont été adressés pour diagnostic moléculaire de syndrome de BHD. Après extraction de l'ADN, une exploration moléculaire du gène FLCN a été réalisée, par séquençage automatique (Applied Biosystems 3130) et recherche de grands réarrangements (MLPA et CGH array). Lorsqu'une mutation a été identifiée, elle a été systématiquement contrôlée sur un 2<sup>e</sup> prélèvement. La grande majorité des malades ont eu une consultation d'oncogénétique, une consultation dermatologique, une tomodensitométrie thoraco-abdominale. Résultats Des anomalies de la FLCN ont été identifiées chez 27 non apparentés (42 %). Le séquençage a permis de détecter 15 anomalies différentes, non précédemment décrites, chez 20 probands. Il s'agissait principalement de mutations frameshift (50 %), de mutations non sens (25 %), de mutations d'épissage (10 %), et de petites délétions en phase (10 %). Trois mutations étaient retrouvées plus d'une fois. De manière intéressante, et pour la première fois, des grands réarrangements du gène ont été identifiés par MLPA (puis confirmées par CGH array) chez 7 malades (25 % des mutations de la FLCN) : il s'agissait de délétions intragéniques dans 6 cas (délétion de l'exon 1, 2 malades ; délétion des exons 1 à 4 : 2 malades ; délétion des exons 2 à 6 : 1 malade ; délétion de l'exon 12 : 1 malade et d'une duplication (exons 2, 4, 8) dans un cas. Les FFs étaient fortement associés aux mutations de la FLCN (92 %). Une atteinte respiratoire (pneumothorax et/ou emphyème) était présente chez 67 % des sujets mutés. Un seul malade muté était porteur d'un cancer du rein (bilatéral), mais un cancer du rein était retrouvé dans 18 % des familles mutées. Un cancer du colon chez un apparenté du premier degré était présent dans 29 % des familles pour lesquelles cette information était disponible. Il existait, pour une mutation identique retrouvée dans 3 familles différentes, une variation phénotypique inter et intrafamiliale très nette. Conclusion : Notre étude montre pour la première fois l'existence de réarrangements de grande taille dans une proportion importante de malade atteints de BHD (25 %), soulignant l'importance de leur recherche lors du diagnostic moléculaire. La fréquence des atteintes pulmonaires, rénales et digestives justifie une prise en

charge multidisciplinaire avec surveillance régulière, et un diagnostic pré-symptomatique chez les apparentés.

**Mots-clés :** folliculine, mutations, délétions.

#### ■P501. IDENTIFICATION D'UNE MÊME MUTATION CHEZ DES ENFANTS ATTEINTS DE DEUX FORMES DIFFÉRENTES D'ÉPIDERMOLYSE BULLEUSE DYSTROPHIQUE

H. Ouragini (1), F. Cherif (2), G. Floriddia (3), M. Pascucci (3), A. Ben Osman-Dhahri (2), D. Castiglia (3), S. Abdelhak (1)

(1) UR : Exploration moléculaire des Maladies Orphelines d'Origine Génétique, Institut Pasteur de Tunis, Tunisie ; (2) Service de Dermatologie, Hôpital La Rabta de Tunis, Tunisie ; (3) Laboratorio di Biologia Molecolare e Cellulare, Istituto Dermopatico dell'Immacolata-IRCCS, Roma, Italy

Contact : ohouyem@gmail.com

L'épidermolyse bulleuse dystrophique (EBD) est caractérisée par un cli-vage sous-épidermique entraînant un décollement cutané. Selon le mode de transmission et les manifestations cliniques, l'EBD est différencié en deux groupes : un dominant (EBDD) et un récessif (EBDR), qui inclut 2 sous-types majeurs l'EBDR généralisée sévère (EBDRgs), et les autres formes d'EBDR généralisées (EBDRg). Toutes les formes d'EBD sont dues à des mutations au niveau du gène COL7A1, qui code pour le collagène VII. Au cours de notre analyse mutationnelle des patients tunisiens atteints d'EBD, nous avons identifié deux mutations, p.R1763X et c.7344G>A, présents aussi bien chez des individus atteints de la forme sévère EBDRgs que chez des individus atteints de la forme non sévère EBDRg. L'hétérogénéité clinique pour une même mutation est très fréquente au niveau de cette pathologie, mais seule une étude a rapporté des cas avec une même mutation présentant deux formes d'EBD de sévérité différente. Il a été démontré que cette variabilité était due à l'influence d'un polymorphisme au niveau du gène codant pour la métalloprotéinase 1, le gène MMP1 (Titeux *et al.*, 2008). Cependant, notre étude n'a pas montré de corrélation entre ce polymorphisme et la sévérité de la maladie chez nos patients, suggérant l'influence d'autres facteurs génétiques influençant cette variabilité.

**Mots-clés :** épidermolyse bulleuse dystrophique, mutation, hétérogénéité phénotypique.

#### ■P502. IDENTIFICATION DE MUTATIONS DANS LE GÈNE WNT10A DANS UNE COHORTE DE PATIENTS PRÉSENTANT DIVERSES FORMES DE DYSPLASIES ECTODERMIQUES

C. Cluzeau (1), P. Guigou (1), H. Kayserili (2), S. Mansour (1), M. Le Merrer (3), N. Chassaing (4), P. Calvas (4), A. Munnich (1), C. Bodemer (1, 5), S. Hadj-Rabia (1, 5), A. Smahi (1)

(1) Université Paris Descartes, et INSERM U781, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris 75015, France ; (2) Department of Medical Genetics, Istanbul Medical Faculty, Istanbul University, Turquie ; (3) Service de génétique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris 75015, France ; (4) Service de Génétique médicale, Hôpital Purpan, Toulouse, France ; (5) Service de dermatologie, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris 75015, France

Contact : celine.cluzeau@inserm.fr

Les dysplasies ectodermiques (ou ED) forment un groupe hétérogène de 170 syndromes rares caractérisés par l'atteinte des annexes épidermiques (poils, dents, ongles, glandes sudoripares). Une cinquantaine de ces syndromes ont une origine génétique connue. La dysplasie ectodermique anhidrotique ou hypohidrotique (ou HED) est la forme la plus fréquente des ED. Trois gènes sont responsables des HED : EDA (codant l'ectodysplasine), EDAR et EDARADD. Différents modèles murins ont permis de montrer que la voie de signalisation Wnt/beta-caténine est essentielle au développement des annexes épidermiques. Une première mutation a été identifiée dans le gène WNT10A chez des patients Libanais présentant une dysplasie ectodermique rare, la dysplasie odonto-onycho-dermique (OODD), avec une variabilité clinique intrafamiliale assez importante. WNT10A et WNT10B sont co-exprimés dans les placodes des annexes épidermiques en développement, et leurs séquences protéiques sont fortement identiques. Nous avons donc émis l'hypothèse que ces deux gènes pourraient être responsables de dysplasies ectodermiques variées. Au cours de notre étude, deux nouveaux articles ont été publiés rapportant des mutations de WNT10A, dont l'un confirmant l'hypothèse de l'implication de ce gène dans des dysplasies ectodermiques au sens large. Nous avons réuni une cohorte de 99 patients d'origine Française et Turque, présentant diverses formes familiales ou sporadiques de dysplasies ectodermiques. 80 % des patients de la cohorte présente une HED, les gènes EDA, EDAR et EDARADD étant exclus chez ces patients. Les autres patients de la



cohorte présentent des formes atypiques de dysplasies ectodermiques, tous ayant au minimum des atteintes dentaires sévères et certains présentant également des atteintes cutanées ou extra-cutanées. Nous avons identifié sept mutations au total dans le gène WNT10A, dont cinq nouvelles. La séquence du gène WNT10B est par contre totalement normale. Parmi ces mutations de WNT10A, nous avons identifié pour la première fois une duplication de sept nucléotides au sein du premier exon du gène, qui conduit à un décalage du cadre de lecture et un codon stop prématuré. Une mutation de l'exon 3 (c.682T>A, p.Phe228Ile) est très fréquemment retrouvée dans notre cohorte (11 patients hétérozygotes, 3 patients homozygotes). Tous les patients pour lesquels un changement a été identifié dans ce gène ont une atteinte dentaire sévère, avec quelques autres signes cliniques sur les annexes épidermiques ou étrangers aux annexes. La majorité des patients sont hétérozygotes composites ou homozygotes. Nous poursuivons l'étude moléculaire pour les patients n'ayant qu'une seule mutation identifiée, afin de déterminer si certaines mutations pourraient être transmises sur un mode dominant ou si des délétions partielles du gène ou des mutations d'épissage au sein du promoteur du gène pourraient être présentes sur le second allèle de ces patients.

**Mots-clés :** dysplasie ectodermique, WNT10A.

### ■P503. ANALYSE CLINIQUE ET MOLÉCULAIRE SUR 166 PATIENTS ATTEINTS DE SCLÉROSE TUBÉREUSE DE BOURNEVILLE

V. Hebein-Granados, C. Keintz, A. Combes, M. Deville, M.F. Gilet, C. Sitterre, R.L. Touraine

*Service de Génétique Clinique, Chromosomique et Moléculaire, CHU Nord, Saint Étienne, France*

Contact : viviana.hebein@chu-st-etienne.fr

La Sclérose Tubéreuse (STB) est une maladie autosomique dominante caractérisée principalement par le développement de multiples hamartomes. Elle est causée par des mutations affectant les gènes suppresseurs de tumeurs TSC1 et TSC2. De très nombreuses mutations ont été décrites, la plupart dans une ou quelques familles. Nous présentons les résultats de 166 patients qui ont été étudiés dans notre laboratoire. Les recherches de mutation ont été effectuées par DHPLC/ séquençage des régions codantes dans les deux gènes, et par MLPA pour les délétions de grande taille. Aucune mutation n'a été identifiée dans 15 % des cas (25 patients). Différentes mutations pathogènes ont été identifiées chez 141 patients (85 %). Pour 7 patients (4,2 %), une grande délétion a été trouvée (3 sur TSC1 et 4 sur TSC2). Chez 49 patients (30 % des mutations ponctuelles identifiées) nous avons identifié des mutations non décrites. Elles comprenaient 19 petites mutations sur TSC1 (11 cas familiaux, 6 cas sporadiques et 2 cas non déterminé) et 30 impliquant TSC2 (5 cas familiaux, 19 cas sporadiques et 6 cas non déterminé). Dans certaines familles les symptômes peuvent être extrêmement modérés, ce qui peut compliquer l'interprétation des résultats lorsque la mutation potentielle est un faux-sens non décrit. Toutefois, aucun cas de non pénétrance n'a été décrit. En l'absence de mutation identifiée, dans certains cas le diagnostic doit être remis en cause. Il n'y a toutefois pas de corrélation génotype phénotype, en dehors d'une plus fréquente sévérité des mutations de TSC2. Ainsi, l'étude moléculaire dans la STB a sa place avec l'expertise clinique.

**Mots-clés :** sclérose tubéreuse, mutations, TSC1 et TSC2.

### ■P504. CORRÉLATION GÉNOTYPE-PHÉNOTYPE CHEZ LES PATIENTS NF1 MICRODÉLÉTÉS

E. Pasmant (1, 2), A. Sabbagh (1, 2), B. Parfait (1, 2), M.J. Hamel (2), P. Wolkenstein (3), M. Vidaud (1, 2), M. Upadhyaya (4), D. Vidaud (1, 2) (1) UMR745 INSERM, Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques Paris-Descartes, Paris, France ; (2) Service de Biochimie et de Génétique Moléculaire, Hôpital Beaujon, AP-HP, Clichy, France ; (3) Service de Dermatologie, Hôpital Henri Mondor, AP-HP, Créteil, France ; (4) Institute of Medical Genetics, Cardiff University, Cardiff, United Kingdom Contact : eric.pasmant@gmail.com

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 (localisé en 17q11.2). Mais à ce jour, peu de corrélations génotype-phénotype ont été mises en évidence. Il semblerait toutefois que des délétions entières du gène NF1 (retrouvées dans 5 à 10 % des NF1) incluant 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. Il existe en effet des

microdélétions récurrentes du gène NF1 : de type 1 (majoritaires, d'une taille de 1,4 Mb environ) et de type 2 (1,2 Mb) qui impliquent des séquences répétées situées de part et d'autre du locus NF1 : les NF1-REP-A et NF1-REP-C pour les microdélétions de type 1 et le gène SUZ12 (suppressor of zeste 12 homolog) et son pseudogène SUZ12P pour le type 2. Des délétions atypiques (non récurrentes) ont également été décrites. Objectif : L'objectif de cette étude a été d'évaluer si un phénotype clinique particulier est associé aux microdélétions du gène NF1, en comparant l'incidence de 13 signes cliniques entre 85 patients NF1 microdélétés et des patients NF1 avec une mutation intragénique, parfaitement appariés pour l'âge et le sexe. Afin de réaliser cette étude nécessitant une parfaite caractérisation de ces délétions au niveau moléculaire, nous avons développé une puce dédiée de haute résolution (comparative genomic hybridization array) de format Agilent® 8x15K. La puce inclut un total de 14 207 sondes oligonucléotidiques (60 mers) réparties sur l'ensemble du chromosome 17 dont 12 314 sondes sur un intervalle de 8 Mb incluant le locus NF1 (~300kb) et l'ensemble des délétions décrites dans la littérature. Résultats-Discussion : Contrairement aux précédentes méthodes, notre puce dédiée a permis de différencier sans ambiguïté les trois types de microdélétions (type 1, type 2 et atypique) et de cloner les points de cassure des microdélétions atypiques. Les résultats de l'étude de corrélation génotype-phénotype 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. Cette approche permettra d'identifier des gènes candidats qui sont directement impliqués dans les différentes manifestations cliniques caractéristiques du syndrome de microdélétion NF1.

**Mots-clés :** neurofibromatose de type 1, NF1, microdélétion.

### ■P505. MISE AU POINT DU DOSAGE GÉNÉTIQUE DU GÈNE OCRL1 PAR MULTIPLEX LIGATION-DÉPENDANT PROBE AMPLIFICATION (MLPA). APPLICATION AU SYNDROME DE LOWE ET À LA MALADIE DE DENT

C. Coutton, N. Monnier, J. Rendu, J. Lunardi

*Laboratoire de Biochimie et Génétique Moléculaire de l'ADN, CHU A. Michallon, Grenoble, France*

Contact : CCoutton@chu-grenoble.fr

Le syndrome oculo-cérébro-rénal de Lowe et la maladie de Dent sont deux maladies génétiques très rares de transmission récessive liée au chromosome X chez lesquelles des délétions du gène OCRL1 ont été décrites. Bien que simple à détecter chez un homme, ces réarrangements sont délicats à mettre en évidence chez les femmes potentiellement conductrices de la maladie avec les techniques de diagnostic de première intention (ex : séquençage) en raison de la présence de 2 copies du gène OCRL1. Leur détection, de même que la détection d'autres réarrangements génomiques potentiellement causaux de la maladie tels que les duplications ou les délétions en mosaïque, imposent l'utilisation de techniques quantitatives complémentaires souvent longues, fastidieuses et peu résolutes. La technique de Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification (MLPA) se distingue des autres techniques quantitatives par sa rapidité et son excellente résolution. Nous avons modélisé 24 sondes MLPA spécifiques des 24 exons du gène OCRL1 selon un algorithme propre à notre laboratoire. Les sondes ont ensuite été validées sur un panel de patients sains et atteints. Cette technique a permis de préciser le statut de conductrice de 5 femmes avec un apparenté atteint porteur d'une délétion génomique d'OCRL1. Nous avons également montré que les sondes utilisées permettaient de détecter un taux de mosaïcisme d'au moins 20 %. En dépit de sa sensibilité, aucun réarrangement en mosaïque ou duplication n'a cependant été retrouvé chez 15 patients présentant un tableau clinique évocateur du syndrome de Lowe et chez lesquels l'analyse préalable par séquençage d'OCRL1 s'était révélée non contributive. Notre technique MLPA est parfaitement spécifique du gène OCRL1, sensible mais aussi robuste et rapide. Elle est ainsi immédiatement applicable en routine comme technique de choix pour déterminer le statut des femmes potentiellement conductrices de délétions. C'est également un outil de diagnostic complémentaire du séquençage pour le syndrome de Lowe et la maladie de Dent. Notre étude corrobore les précédents résultats publiés dans la littérature indiquant que les duplications du gène OCRL1 sont des événements probablement exceptionnels. Ils remettent aussi en question l'hypothèse que les réarrangements génomiques en mosaïque contribueraient à expliquer la fraction de patients avec un phénotype incomplet ou intermédiaire du syndrome de Lowe.

**Mots-clés :** syndrome oculo-cérébro-rénal de Lowe, OCRL1, MLPA.

#### ■P506. SPECTRE DES MUTATIONS DU GÈNE COL4A5 ET PRÉSENTATION CLINIQUE DES PATIENTS AVEC SYNDROME D'ALPORT LIÉ À L'X

G. Benoit (1, 2), E. Machuca (1, 3), A. Pawtowski (4), V. Morinière (4), L. Heidet (1, 5, 6), C. Antignac (1, 4, 6)

(1) Inserm, U574, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France ; (2) CHU Sainte-Justine, Université de Montréal, Canada ; (3) Pontificia Universidad Católica de Chile, Escuela de Medicina, Chile ; (4) Assistance Publique-Hôpitaux de Paris (AP-HP), Département de Génétique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France ; (5) Assistance Publique-Hôpitaux de Paris (AP-HP), Centre de Référence des Maladies Rénales Héritaires de l'Enfant et de l'Adulte (MARHEA), Service de Néphrologie Pédiatrique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France ; (6) Université Paris Descartes, Faculté de Médecine Paris Descartes, Paris, France  
Contact : corinne.antignac@inserm.fr

Le syndrome d'Alport (SA) est une affection héréditaire caractérisée par une néphropathie hématurique progressive souvent associée à une surdité de perception. Des mutations dans le gène COL4A5 sont responsables de la forme liée à l'X de la maladie et des anomalies de distribution de la chaîne alpha5 du collagène de type IV peuvent être documentées à la biopsie rénale ou cutanée. L'objectif de notre étude est de déterminer le spectre des mutations COL4A5 et le phénotype associé à partir d'une cohorte de 68 individus non apparentés (sexe masculin (m) : 48, sexe féminin (f) : 20), ceci représentant notre expérience des 3 dernières années dans la détection de mutations COL4A5. La détection de mutations dans tous les exons codants du gène a été effectuée par séquençage direct. Des mutations ont été identifiées dans 57 familles, le taux de détection atteignant 84 % (m : 90 %, f : 70 %). Quarante-trois sont de nouvelles mutations. La plupart des mutations (72 %) sont des substitutions. Vingt-six des 28 mutations faux-sens affectent un codon glycine. Dix petites (1-4 pb) délétions, une délétion de 9 paires de base, une petite insertion, 2 petites duplications, une duplication de 18 paires de base et un réarrangement complexe ont également été détectés. L'âge médian au moment du diagnostic génétique moléculaire est de 33 ans (m : 33, f : 32) (3-75 ans). Vingt-cinq patients (m : 22, f : 3) ont atteint l'insuffisance rénale terminale (IRT) à un âge médian de 28,5 ans (m : 29 ans, f : 27 ans). La majorité des femmes ont une évolution rénale bénigne ; trois (mutations p.G641V, p.G1131fs1151X et p.P1292fs1304X) ont toutefois atteint l'IRT entre 27 et 31 ans. Un déficit auditif est présent chez 27 individus (m : 26, f : 1). Lorsque documentée, l'expression de la chaîne alpha5 (IV) sur la biopsie cutanée est anormale pour 33 % des individus de sexe masculin et 88 % des individus de sexe féminin. En conclusion, le SA lié à l'X est une maladie hétérogène, notamment en regard de l'âge au moment de l'IRT. Bien qu'une anomalie de l'expression de la chaîne alpha5 (IV) sur la biopsie de peau puisse confirmer la présence de SA lié à l'X, des biopsies cutanées normales sont retrouvées chez un nombre significatif de patients avec mutations COL4A5 documentées. Étant donné le taux élevé de détection par séquençage direct, la recherche de mutation COL4A5 revêt une importance clinique certaine, notamment pour le conseil génétique et le diagnostic prénatal.

**Mots-clés :** Alport, COL4A5, mutations.

#### ■P507. DYSGÉNÉSIE TUBULAIRE RÉNALE AUTOSOMIQUE RÉCESSIVE. NOUVELLES MUTATIONS DANS LES GÈNES DU SYSTÈME RÉNINE-ANGIOTENSINE (SRA)

O. Gribouval, V. Morinière, A. Pawtowski, C. Antignac, M.C. Gubler  
Inserm U574, Université Paris Descartes, Département de Génétique, AP-HP, Hôpital Necker Paris, France  
Contact : olivier.gribouval@inserm.fr

La dysgénésie tubulaire rénale (DTR) autosomique récessive est une néphropathie sévère du fœtus se manifestant par une anurie précoce et persistante responsable d'oligoamnios, de la séquence de Potter et, le plus souvent, de mort périnatale. Une hypotension réfractaire et un retard d'ossification de la voûte crânienne sont observés chez les nouveau-nés survivants. Les tubes proximaux sont absents ou en nombre très réduit. Il s'y associe constamment à une anomalie majeure de l'expression rénale de rénine. Nous avons montré que cette néphropathie était liée à des mutations des gènes codant les différentes protéines du SRA. Depuis, l'analyse moléculaire des gènes du SRA a été réalisée chez 57 nouveaux patients appartenant à 37 familles. Des mutations homozygotes (18) ou hétérozygotes composites (11) ont été identifiées dans 29 familles tandis qu'une seule mutation du gène ACE a été détectée dans 4 familles. La plupart des mutations (24/33) touchaient le gène ACE tandis que des mutations dans les gènes REN, AGT et AGTR1 étaient observées dans respectivement 5, 2 et 2 familles. Ces mutations se répartissent de la façon suivante : mutations perte de fonction (18/37),

mutations faux sens (13/37), délétion d'un acide aminé (1/37) et mutations modifiant le peptide signal de l'enzyme de conversion (5/37). Sept mutations ont été observées dans 2 familles non apparentées. Six enfants (mutation de REN (1 cas) et du gène ACE (5 cas)) ont survécu, pour 5 d'entre eux après plusieurs jours ou mois de dialyse péritonéale. Trois d'entre eux ont été transplantés à respectivement 3, 4 et 5 ans, deux patients ont une insuffisance rénale chronique à respectivement 3 et 7 ans, le dernier a une fonction rénale normale à 7 ans. Aucune corrélation génotype-phénotype n'a pu être établie : le phénotype clinique et morphologique est le même quel que soit le gène muté ; dans la même famille des formes de sévérité différente (mort in utero d'un fœtus – survie d'un enfant) ont été observées. Aucune mutation n'a été identifiée chez les fœtus appartenant à 4 familles. La présence de symptômes inhabituels (anasarque, retard de croissance intra-utérine) dans 2 d'entre elles suggérait que la DTR était secondaire à une pathologie non identifiée. Dans une troisième famille, consanguine, l'expression rénale normale de rénine éliminait l'implication du SRA, ce qu'ont confirmé les études de liaison. En conclusion, cette étude confirme le rôle majeur et probablement exclusif des mutations des gènes du SRA dans la survenue de la forme autosomique récessive de DTR. Le diagnostic de la maladie basé sur un ensemble de critères cliniques, morphologiques et immunohistologiques doit conduire, après exclusion des DTR secondaires (cardiopathies, exposition aux drogues bloquant le SRA...) à l'analyse moléculaire des gènes du SRA permettant, par l'identification du défaut génétique, de proposer un conseil génétique et un diagnostic prénatal précoce.

**Mots-clés :** mutations, système rénine-angiotensine, dysgénésie tubulaire rénale.

#### ■P508. INTÉRÊTS ET LIMITES DU DIAGNOSTIC MOLÉCULAIRE DE LA POLYKYSTOSE RÉNALE AUTOSOMIQUE DOMINANTE

M.P. Audrezet (1), E. Cornec-Le Gall (2), I. Quere (1), J. Creff (1), B. Mercier (1), Y. Le Meur (2), C. Ferec (1)

(1) Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHU de Brest, France ; (2) Service de Néphrologie, CHU de Brest, France  
Contact : marie-pierre.audrezet@chu-brest.fr

La Polykystose rénale autosomique dominante est la maladie génétique de transmission monogénique la plus fréquente, puisqu'elle touche 1 personne sur mille, environ 12,5 millions d'individus dans le monde et est responsable de 7 % des causes d'insuffisance rénale terminale chez l'adulte. Deux gènes responsables de la polykystose rénale autosomique dominante ont été caractérisés. Le gène PKD1, responsable de 85 % des cas est localisé sur le chromosome 16 et code pour la polycystine 1. Le gène PKD2, responsable de 15 % des cas, porté par le chromosome 4, code pour la polycystine 2. L'étude moléculaire de ces gènes est extrêmement délicate, particulièrement pour PKD1 qui compte 46 exons, est très riche en nucléotides G et C, présente sur les trois quarts de sa séquence, 98 % d'homologie avec 6 pseudogènes. Plus de 300 mutations ont été décrites dans le gène PKD1 et près de 100 dans le gène PKD2, la majorité d'entre elles étant des mutations privées. L'analyse moléculaire de ces deux gènes n'est pas à l'heure actuelle proposée à titre systématique, le diagnostic de la polykystose rénale autosomique dominante étant surtout un diagnostic clinique qui repose sur les critères échographiques de Ravine. Il peut cependant s'avérer contributif dans certains cas de formes atypiques, en l'absence d'antécédents familiaux due à la survenue d'une mutation *de novo*, ou encore pour la sélection de donneurs indemnes dans les familles en vue d'une greffe... C'est pourquoi nous avons développé une stratégie d'analyse par séquençage des gènes PKD1 et PKD2, ainsi que la recherche des grands réarrangements par PCR quantitative. 17 amplifications dont 3 PCR multiplexes, et 76 réactions de séquence permettent d'analyser la totalité de la séquence codante ainsi que les jonctions intron-exons de ces deux gènes. Ces conditions d'étude ont été appliquées à l'étude de notre cohorte de patients européens et nous ont permis d'identifier 120 mutations différentes dans le gène PKD1 et 12 mutations différentes dans le gène PKD2, avec un taux de couverture des mutations supérieur à 80 %. Ces anomalies se répartissent en 53 mutations entraînant un décalage du cadre de lecture, 47 mutations non-sens, 13 mutations d'épissage, 9 mutations faux-sens, 8 courtes insertions ou délétions sans décalage du cadre de lecture, et 1 délétion complète du gène. 92 d'entre elles ont été identifiées chez nos patients pour la première fois. Cette étude est une première étape vers la mise en évidence de corrélations génotype-phénotype, qui, à l'avènement des thérapies ciblées actuellement à l'essai, pourraient se révéler utiles pour le néphrologue.

**Mots-clés :** polykystose rénale, PKD.

### ■P509. RÉLATION GÉNOTYPE-PHÉNOTYPE DANS UNE COHORTE DE 100 PATIENTS AVEC ACIDOSE TUBULAIRE RÉNALE DISTALE (ATRD)

R. Vargas-Poussou (1), A. Blanchard (2), D. Kahila (1), N. Le Pottier (1), I. Roncelin (1), A. Venisse (1), P. Houillier (3), X. Jeunemaitre (1) et le Réseau Français pour l'étude des tubulopathies

(1) Département de Génétique, AP-HP Hôpital Européen Georges-Pompidou, Paris, France ; (2) Centre d'Investigations Cliniques, AP-HP Hôpital Européen Georges-Pompidou, Paris, France ; (3) Service d'Exploration Fonctionnelles rénales et métaboliques, AP-HP Hôpital Européen Georges-Pompidou, Paris, France

Contact : rosa.vargas@egp.aphp.fr

Les ATRd sont des maladies rares dues à un défaut d'excrétion de H<sup>+</sup> par les cellules intercalaires du tube collecteur. Les formes récessives se manifestent dans la 1<sup>re</sup> année de vie (déshydratation, retard de croissance, acidose hyperchlorémique, hypokaliémie néphrocalcinose et parfois surdité). Les formes dominantes chez l'adolescent ou l'adulte (lithiase, ostéoporose, acidose modérée parfois révélait après charge acide, ATRd incomplète). Les formes récessives sont dues à des mutations des gènes des sous-unités B1 et a4 de la H<sup>+</sup>-ATPase (ATP6V1B1 et ATP6V0A4) et les dominantes à des mutations du gène de l'échangeur Cl/HCO<sub>3</sub> (SLC4A1). Dans le sud-est asiatique, des formes récessives associant ovalocytose et ATRd ont été décrites. Nous avons analysé 100 patients avec ATRd : récessive n = 79, dominante n = 21 (10 cas d'ATRD incomplète). Les données au diagnostic ont été recueillies à partir d'un questionnaire standardisé. Dans les familles consanguines, le gène a été ciblé par l'analyse des haplotypes. Les 3 gènes ont été analysés par séquençage direct. Dans le groupe à transmission récessive : détection de 14 mutations de ATP6V1B1 dans 34 familles et de 23 mutations de ATP6V0A4 dans 30 familles (taux de détection de 81 %). Absence de liaison aux 2 locus observée pour 2 familles. Phénotype au diagnostic des patients avec mutations ATP6V1B1 vs mutations ATP6V0A4 : âge au diagnostic 0,4 [0,25-1,08] vs 0,08 [0,04-0,28] ans (p = 0,0003), pH Sang 7,28 [7,19-7,31] vs 7,15 [7,10-7,21] (p = 0,004), CO<sub>2</sub>t 13,4 [12-16] vs 11 [8-14] mmol/l (p = 0,02), K<sup>+</sup> 2,8 [2,6-3,5] vs 3,05 [2,6-3,47] (ns) et pH Ur en acidose 7,2 [7,0-7,6] vs 7,5 [7,0-8,0] (ns). La surdité est plus fréquemment associée aux mutations ATP6V1B1, 20/34 vs 13/30 pour ATP6V0A4. La sévérité de la surdité est variable dans les 2 groupes ainsi que l'âge au diagnostic de celle-ci (2 mois à 10 ans pour ATP6V0A4 et 5 mois à 19 ans pour ATP6V1B1). Dans le groupe à transmission dominante : détection de 8 mutations de SLC4A1 dans 10 familles avec ATRd complète et aucune dans les 10 familles avec ATRd incomplète. Un patient originaire de Madagascar présentant ATRd + ovalocytose est porteur de 2 mutations. Les données pour ce groupe sont : âge au diagnostic 16,5 [15-31] ans, pH Sang 7,32 [7,25-7,40], CO<sub>2</sub>t 19 [16,15-19,85] mmol/l, K<sup>+</sup> 3,15 [2,97-3,32] et pH Ur en acidose 6,8 [6,7-7,0]. Ces données sont significativement différentes des celles des patients avec ATRd récessive à l'exception de la kaliémie. Une confirmation génétique a été effectuée pour 83 % de patients avec ATRd. Dans les formes récessives, le groupe ATP6V0A4 a un diagnostic plus précoce et une acidose plus sévère. La surdité (sévérité et âge au diagnostic) est variable, indépendamment du gène impliqué. L'ATRD dominante représente 13,5 % des cas dans cette cohorte. Aucune mutation n'a été détectée chez le groupe ATRd incomplète. Ces données sont en faveur d'une hétérogénéité génétique. Un arbre décisionnel est proposé.

### ■P510. LE SYNDROME NÉPHROTIQUE CONGÉNITAL DANS LES POPULATIONS NON-FINLANDAISES

E. Machuca (1, 2), F. Nevo (1), G. Benoit (1, 3) O. Gribouval (1), A. Pawtowski (1), C. Antignac (1, 4, 5)

(1) Inserm U574, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France ; (2) Escuela de Medicina, Pontificia Universidad Católica, Santiago, Chile ; (3) CHU Sainte-Justine, Université de Montréal, Canada ; (4) Faculté de Médecine Paris Descartes, Université Paris Descartes, Paris, France ; (5) Département de Génétique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France

Contact : eduardo.machuca@inserm.fr

Le syndrome néphrotique congénital (SNC) est une maladie autosomique récessive caractérisée par une protéinurie massive, un gros placenta et des œdèmes importants se manifestant dans les trois premiers mois de vie. Des mutations dans le gène NPHS1, codant la néphrine, sont la cause principale des SNC dans la population finlandaise. Des mutations dans les gènes NPHS2, WT1, LAMB2 et PLCE1 (codant respectivement la podocine, le Wilm's tumor 1, la laminin beta2 et la phospholipase C epsilon 1) ont aussi été identifiées dans les SNC. Le but de notre étude est de caractériser la présentation clinique, les trouvailles histologiques et les

corrélations génotype-phénotype dans une large cohorte non finlandaise de patients avec SNC. Les échantillons d'ADN et les données cliniques de 117 patients (107 familles) présentant un SNC ont été collectés. Le séquençage direct du gène NPHS1 a été effectué ; en l'absence de mutations NPHS1, la recherche de mutations NPHS2 a aussi été effectuée. Des mutations dans les gènes WT1, LAMB2 et PLCE1 ont été recherchées dans les cas avec ambiguïté sexuelle, anomalies oculaires ou sclérose mésentérique diffuse (SMD). Des mutations pathogènes homozygotes ou hétérozygotes composites de NPHS1 ont été identifiées chez 63 cas (60 familles). Dans 5 cas (4 familles), un seul allèle muté a été détecté. Vingt-six sont de nouvelles mutations, dont une délétion homozygote des exons 12 à 22. Des mutations dans le gène NPHS2 ont été identifiées chez 20 patients (16 familles). Des mutations de LAMB2 et WT1 ont été détectées chez 3 cas de syndrome de Pierson et 2 autres cas de SMD, respectivement. Une mutation hétérozygote de PLCE1 a été détectée dans un cas. Un début de la maladie dans la première semaine de vie était plus fréquent chez les patients avec mutations NPHS1 que NPHS2 (50/68 vs 13/20 cas ; P = 0,002) (début de la maladie : médiane 2 vs 29 jours ; P = 0,003). Les poids à la naissance et l'incidence de prématurité des patients avec mutations NPHS1, NPHS2 ou sans mutation étaient similaires. Une histologie rénale compatible avec celle retrouvée dans les cas de SNC de type finlandais a été observée chez 35/40 cas avec mutations NPHS1, alors que la majorité des patients avec mutations NPHS2 ont présenté des lésions glomérulaires minimes ou d'hyalinose segmentaire et focale. Les cas avec mutations NPHS1 ont atteint l'insuffisance rénale terminale significativement plus tôt que ceux avec mutations NPHS2 (temps médian de survie rénale 3,3 vs 6,6 ans ; P = 0,015). En conclusion, dans les populations non finlandaises, les mutations NPHS1 sont la cause principale des SNC se présentant dans la première semaine de vie alors que des mutations NPHS2 sont fréquemment identifiées dans les cas avec syndrome néphrotique débutant après le premier mois de vie. Comparativement aux patients avec mutations NPHS1, les cas avec mutations NPHS2 présentent une histologie différente et une survie rénale significativement meilleure.

**Mots-clés :** syndrome néphrotique congénital, néphrine, podocine.

### ■P511. SYNDROME DE GITELMAN : ANALYSE D'UNE FAMILLE AVEC TRANSMISSION APPAREMMENT DOMINANTE

R. Vargas-Poussou (1), R. De La Faille (2), A. Venisse (1), V. Nau (1), P. Houillier (2), X. Jeunemaitre (1)

(1) Département de Génétique, AP-HP Hôpital Européen Georges-Pompidou, Paris, France ; (2) Service d'Explorations Fonctionnelles rénales et métaboliques, AP-HP Hôpital Européen Georges-Pompidou, Paris, France

Contact : rosa.vargas@egp.aphp.fr

Introduction : Le syndrome de Gitelman est une tubulopathie héréditaire à transmission autosomique récessive avec une fréquence estimée à 1/40 000 dans la population caucasienne. Elle est due à des mutations du gène SLC12A3 codant pour le cotransporteur Na/Cl sensible aux thiazides du tube distal. Patients et Résultats : Nous avons étudié une famille française non-consanguine avec 5 individus atteints sur deux générations. Les deux premiers individus étudiés étaient un fils (cas index) et sa mère, tous les deux porteurs d'un tableau clinique univoque de syndrome de Gitelman (hypokaliémie d'origine rénale, hyperaldostéronisme et hyperrénisme secondaires, hypomagnésémie et hypocalciurie). L'analyse par séquençage direct des exons et jonctions exon-intron du gène SLC12A3 a permis la détection de 2 mutations à l'état hétérozygote chez le cas index (p.Ser402X et c.2747+1G>A) et de 3 mutations également hétérozygotes chez la mère (p.Tyr602CysfsX31, c.2660+1G>A et c.2747+1G>A). Par la suite, l'analyse des autres individus atteints et non atteints a permis de montrer les génotypes suivants : l'oncle et la tante maternels atteints sont porteurs des 3 mêmes mutations que la mère (p.Tyr602CysfsX31, c.2660+1G>A et c.2747+1G>A), la sœur atteinte est porteuse de 3 mutations hétérozygotes (p.Tyr602CysfsX31, c.2660+1G>A et p.Ser402X), le père bien portant de la mutation p.Ser402X et la sœur bien portant de 2 mutations hétérozygotes (p.Tyr602CysfsX31 et c.2660+1G>A). Parmi les mutations détectées, seulement la mutation p.Ser402X a été décrite précédemment dans une famille italienne, les 3 autres mutations sont nouvelles. Conclusions et discussion L'analyse de la ségrégation des 4 mutations détectées dans cette famille a permis de conclure à : la présence de 2 de ces mutations sur le même allèle (p.Tyr602CysfsX31 et c.2660+1G>A), à l'union d'une femme hétérozygote composite avec un porteur sain hétérozygote ce qui explique la transmission pseudo-dominante et la présence des génotypes différents chez le cas index et sa sœur atteinte. La fréquence des hétérozygotes dans la population générale est estimée à 1/100, la probabilité d'avoir un enfant atteint quand on est atteint est donc de 1/200. Cette famille illustre l'importance d'une bonne caractérisation phénotypique et



génotypique dans l'analyse de maladies récessives qui présentent une transmission verticale. Dans ces cas la probabilité d'une union d'un individu atteint avec un hétérozygote est à considérer, ce qui permet d'effectuer un conseil génétique adéquat.

**■P512. ADENINE PHOSPHORIBOSYLTRANSFERASE (APRT) DEFICIENCY : PHENOTYPE AND GENOTYPE CHARACTERIZATION OF A LARGE COHORT**

G. Bollée (1), C. Dollinger (2), D. Guillemot (2), L. Boutaud (2), A. Bensman (4), J. Harambat (5), P. Deteix (6), M. Daudon (3), B. Knebelman (1, 7), I. Ceballos-Picot (2)

(1) Université Paris Descartes ; APHP, Department of Nephrology, Necker-Enfants Malades Hospital, Paris, France ; (2) Université Paris Descartes ; APHP, Laboratory of Metabolic Biochemistry, Necker-Enfants Malades Hospital, Paris, France ; (3) Université Paris Descartes ; APHP, Laboratory of Biochemistry, Necker-Enfants Malades Hospital, Paris, France ; (4) Université Paris 6 ; APHP, Department of Pediatric Nephrology, Trousseau Hospital, Paris, France ; (5) Bordeaux University Hospital, Department of Pediatric Nephrology, Bordeaux, France ; (6) Clermont-Ferrand University Hospital, Department of Nephrology, Clermont-Ferrand, France ; (7) Inserm U845, Necker-Enfants Malades Hospital, Paris, France

Contact : irene.ceballos@nck.aphp.fr

Adenine phosphoribosyltransférase (APRT) deficiency is a rare autosomal recessive disorder causing 2,8 dihydroxyadénine (2,8-DHA) stones and renal failure secondary to intratubular crystalline precipitation. The disease can be efficiently treated by allopurinol. Data on clinical presentation of APRT deficiency are very limited, especially in caucasian population. We retrospectively reviewed all cases of APRT deficiency identified at Necker Hospital, Paris, France, between 1978 and 2009. Diagnosis of complete APRT deficiency was made in 53 patients from 43 families, at a median age of 28.9 (5.6-51) years. Full clinical data were available in 40 patients from 33 families. A striking finding was that diagnosis was delayed for years from onset of symptoms in many patients. Fourteen (35 %) patients had decreased renal function at diagnosis. Six (15 %) patients had reached end stage renal disease (ESRD) and APRT deficiency was detected once disease recurred in renal transplant. Eight patients (20 %) reached ESRD over follow-up (median duration 74 (14-112) months). Sequencing of aprt gene was performed in 31 families. Fifty-four mutated chromosomes were found on the 62 chromosomes analyzed (87 %). Eighteen different mutations were identified, 14 of which being novel. A single T insertion at the intron 4 splice donor site (IVS4+2insT) leading to a truncated protein, accounted for 40.3 % of mutations. IVS4+2insT mutation was found in 2 out of 204 (0.98 %) chromosomes of healthy newborns. Our report, the largest series reported, highlights the underdiagnosis and the potential severity of APRT deficiency. Early recognition of the disease is crucial to prompt treatment and prevent renal complications.

**Mots-clés :** adenine phosphoribosyltransferase, lithiasis.

**■P513. NOUVELLE STRATÉGIE D'EXPLORATION MOLÉCULAIRE DES REINS POLYKYSTIQUES FŒTAUX ET PÉDIATRIQUES : ANALYSER TCF2 AVANT PKHD1**

L. Michel-Calemard (1, 2), A. Liutkus (2), B. Ranchin (2), P. Cochat (2, 7), M.P. Cordier (3), M.P. Lavocat (4), F. Nobili (5), R. Bouvier (6), Y. Morel (1, 7)

(1) Hospices Civils de Lyon, Endocrinologie Moléculaire et Maladies Rares, CBPE, Bron, France ; (2) Hospices Civils de Lyon, Centre de Référence des Maladies Rénales Rares, Néphrogones et Service de Néphrologie Pédiatrique, HFME, Bron, France ; (3) Hospices Civils de Lyon, Service de Génétique, HFME, Bron, France ; (4) Service de Pédiatrie, CHU Hôpital Nord, Saint-Étienne, France ; (5) Service de Pédiatrie, CHU Hôpital Saint-Jacques, Besançon, France ; (6) Hospices Civils de Lyon, Centre de Pathologie Est, CBPE, Bron, France ; (7) Université Lyon 1, Faculté de médecine Lyon-Est, Lyon, France

Contact : laurence.michel@chu-lyon.fr

**HISTORIQUE** En 1999, nous avons pris en charge à Lyon le diagnostic moléculaire de la polykystose hépatorénales autosomique récessive (ARPKD). 159 familles (168 patients) provenant de France et de l'étranger ont été étudiées. Depuis la découverte du gène PKHD1 (2002), le séquençage des 67 exons a été progressivement mis en place, mais le diagnostic étant rarement confirmé cliniquement, la lourdeur d'un séquençage exhaustif chez des patients au diagnostic incertain se pose. Une fréquence élevée d'anomalies rénales, notamment kystiques, dues à des mutations du gène HNF1b-TCF2 a été rapportée chez des enfants et des fœtus (Ulinski 2006, Decramer 2007). Les 2 gènes en cause PKHD1, codant pour une protéine transmembranaire au rôle inconnu, comporte 67 exons. Les

mutations sont majoritairement ponctuelles, privées, disséminées dans le gène. TCF2, codant pour un facteur de transcription impliqué dans le diabète MODY5 (transmission autosomique dominante) et responsable d'anomalies rénales (syndrome RCAD : Renal Cyst And Diabete), comporte 9 exons. Les mutations sont majoritairement des délétions hétérozygotes complètes du gène : les techniques quantitatives (MLPA/QMPSF) permettent de détecter plus de 70 % des mutations responsables. **RÉSULTATS** Gène PKHD1 : 124 patients (103 familles) ont au moins une mutation PKHD1. Diagnostic fait en anténatal chez 62 patients (50 %). Signes par ordre de fréquence : néphromégalie oligo-anamnios, reins hyperéchogènes. 42 décès (32 ITG, 20 décès néonataux DNN). Gène TCF2 : étude rétrospective, 56 familles adressées pour ARPKD sans mutation PKHD1, 8 mutations TCF2 identifiées : 6 délétions complètes, 2 mutations ponctuelles. Depuis 2008, étude prospective, 70 patients adressés pour TCF2, 11 mutations identifiées : 5 délétions complètes, 1 duplication partielle, 5 mutations ponctuelles. Diagnostic fait en anténatal chez 16 patients (84 %) : majorité de reins hyperéchogènes (13), seulement 3 néphromégalias, 2 anomalies de la quantité de LA. 2 décès (1 ITG, 1 DNN). Les caractères orientant le diagnostic semblent être la taille des reins et l'oligoamnios. Stratégie proposée Depuis 2008, nous appliquons une nouvelle stratégie d'exploration des reins kystiques ou hyperéchogènes fœtaux ou pédiatriques : 1) Étude de TCF2 : recherche de délétion par MLPA, séquençage des 9 exons en cas d'absence de large lésion ; 2) Séquençage de PKHD1 en cas d'absence d'anomalie TCF2 et phénotype compatible. Cette démarche diagnostique est modulée par l'histoire familiale et l'examen anatomopathologique. **CONCLUSION** La nouvelle stratégie semble intéressante pour 2 raisons principales : 1) optimiser la prise en charge des patients, notamment anténatale (pronostic plus sévère dans ARPKD) 2) optimiser l'analyse génétique en évitant l'étude longue et coûteuse de PKHD1 dans un certain nombre de cas. Malgré cette stratégie, certains génotypes restent encore non élucidés. L'étude d'autres gènes, dont PKD1 et PKD2, devrait être envisagée.

**Mots-clés :** reins hyperéchogènes, TCF2/HNF1b, PKHD1.

**■P514. DES MUTATIONS DOMINANTES DU GÈNE CODANT POUR LA RÉNINE SONT RESPONSABLES DE NÉPHROPATHIES TUBULO-INTERSTITIELLES CHRONIQUES AVEC HYPERURICÉMIE ET ANÉMIE**

V. Morinière (1, 2), O. Gribouval (3), G. Bollée (4), A. Pawtowski (1), M. Matignon (5), C. Loirat (6), C. Maynard (7), P. Niaudet (8), M.C. Gubler (3), C. Antignac (1, 3)

(1) APHP, Département de Génétique, Hôpital Necker, Paris, France ; (2) APHP, Centre de référence des maladies rénales héréditaires de l'enfant et de l'adulte (MARHEA), Hôpital Necker, Paris, France ; (3) Inserm U574, Université Paris Descartes, Hôpital Necker, Paris, France ; (4) APHP, Service de Néphrologie Adulte, Hôpital Necker, Paris, France ; (5) APHP, Service de Néphrologie, Hôpital Henri Mondor et Université Paris-XII, Créteil, France ; (6) APHP, Service de Néphrologie, Hôpital Robert Debré, Paris, France ; (7) Service de Néphrologie, Centre Hospitalier de Chambéry, France ; (8) APHP, Service de Néphrologie Pédiatrique, Hôpital Necker, Paris, France

Contact : vincent.morinier@inserm.fr

Des mutations inactivatrices des gènes codant les différents composants du système rénine angiotensine sont la cause de la dysgénésie tubulaire rénale autosomique récessive, néphropathie sévère du fœtus se manifestant principalement par une anurie précoce et persistante responsable le plus souvent de mort périnatale. Récemment, nous avons participé à la caractérisation de mutations dominantes du gène REN codant la rénine chez des patients présentant une néphropathie tubulo-interstitielle chronique avec hyperuricémie et, chez les enfants atteints, anémie sensible à l'érythropoïétine (Kmoch *et al.*, Am J Hum Genet, 2009). Les deux mutations détectées dans les trois familles entraînaient soit la délétion soit la substitution de la leucine en position 16 dans le peptide signal, provoquant une altération de la translocation de la pré-pro-rénine dans le réticulum endoplasmique avec comme corollaire une diminution de la production de rénine chez les patients. Il a été montré de plus que la mutation p.Leu16del provoque un stress du réticulum endoplasmique qui pourrait ainsi expliquer l'effet dominant négatif de ces mutations sur la viabilité des cellules exprimant la rénine. Du fait des similarités phénotypiques avec la néphropathie hyperuricémique familiale due à des mutations du gène UMOD codant l'uromoduline, nous avons séquençé l'exon 1 du gène REN codant pour le peptide signal de la pré-pro-rénine, chez 141 individus non apparentés présentant une néphropathie tubulo-interstitielle chronique sans mutation du gène UMOD. Une histoire familiale évocatrice d'une transmission autosomique dominante était présente dans 97 cas et la notion d'hyperuricémie ou de goutte chez le patient ou un membre de sa famille dans 90 cas. Dans 3 cas, des mutations faux sens modifiant la structure du peptide



signal ont été identifiées, non retrouvées chez plus de 100 contrôles. Il s'agit dans un cas de la mutation p.Leu16Arg déjà identifiée dans une famille, et dans les autres cas des mutations p.Trp17Arg et p.Cys20Arg considérées comme pathogènes par le logiciel Polyphen (scores 3,7 et 3,6 respectivement) et altérant le profil d'hydrophobicité du peptide signal. Comme dans les cas décrits précédemment, les trois patients présentent des antécédents familiaux de néphropathie hyperuricémique, une hyperuricémie (avec crises de goutte à l'âge de 26 ans chez une patiente) et une anémie pour les deux cas détectés dès l'enfance. Au total, ces résultats montrent l'implication de mutations du gène de la rénine dans différentes pathologies rénales, soit dans le cadre de formes autosomiques récessives, pour la dysgénésie tubulaire rénale, soit dans des formes autosomiques dominantes dans les néphropathies tubulointerstitielles chroniques avec hyperuricémie. Il reste à comprendre le mécanisme exact par lequel ces mutations provoquent la symptomatologie et si des mutations situées dans d'autres exons pourraient avoir un effet similaire.

**Mots-clés :** rénine, néphropathie tubulo-interstitielle chronique, hyperuricémie.

#### ■P515. A NEW FAMILY WITH FAMILIAL HYPERKALAEMIC HYPERTENSION ; CLINICAL AND MOLECULAR INVESTIGATION

G. Beaurain (1, 2), E. Elvira-Matlot (1), J. Potier (3), A. Blanchard (4), M. Vallet (5), J. Hadchouel (1), P. Houillier (5, 6), X. Jeunemaitre (1, 2, 6)

(1) INSERM, Unité 970, PARCC HEGP, Paris, France ; (2) AP-HP, Hôpital Européen Georges-Pompidou, Paris, France ; (3) Hôpitaux de Cherbourg, Service de Néphrologie, Cherbourg, France ; (4) AP-HP, Centre d'Investigation Clinique, Hôpital Européen Georges-Pompidou, Paris, France ; (5) AP-HP, Service d'Explorations Fonctionnelles, Hôpital Européen Georges-Pompidou, Paris, France ; (6) Université Paris Descartes, Faculté de Médecine, Paris, France  
Contact : xavier.jeunemaitre@inserm.fr

**Introduction:** Mutations in the WNK1 and WNK4 genes have been shown to be responsible for familial hyperkalemic hypertension (FHHT, also called PHA2 and Gordon syndrome). Up to now, only two families with WNK1 intron 1 deletion have been described (Wilson, Science 2001). Intron 1 deletion leads to misregulation of the renal expression of the two main L-WNK1 and KS-WNK1 isoforms (Delaloy, Hypertension 2008). **Objective :** to test the possibility of other rearrangements at the WNK1 locus in FHHT. **Patients and Methods :** We analyzed 37 index patients (age : 2-50 years) with suspected FHHT, based on the presence of sustained and unexplained hyperkalemia (5.2-8.5 mmol/L), hyperchloremia (98-115 mmol/L), a variable metabolic acidosis, and increased blood pressure. Genomic DNA was amplified, Cy-labeled and hybridized on a dedicated DNA chip (Nimblegen CGH custom array, 67893 unique probes) covering the 160 Kb WNK1 locus plus 290 Kb upstream and 100 Kb downstream. The results were analyzed using the Nimblegen Signal Map software. This genetic analysis was also performed in 40 healthy controls. **Results :** Several copy number variants at the WNK1 locus were detected, some of them being already described, one being present in 8 affected individuals but not in controls. A new 23.1 Kb deletion in intron 1 was detected in one case, limiting the minimum deleted interval to 18 Kb. This interval contains 4 out of the 5 regulatory elements previously shown *in vitro* to affect WNK1 gene expression. **In vitro** analysis demonstrated that one of this element acts as an insulator, preventing interactions between the regulatory elements of L-WNK1 and KS-WNK1. The FHHT case corresponded to a 4-generation family which was further investigated. All positive individuals presented classical features of FHHT, except two children < 12 years being not hypertensive. All were remarkably sensitive to small doses of thiazides. No hypercalciuria was observed on ad-libitum diet. An intravenous calcium challenge test confirmed the normal regulation of Ca<sup>++</sup> in the distal tubule, contrary to mutations affecting the WNK4 gene. **Conclusion :** We found a new FHHT family with a 23.1 Kb deletion in the intron 1 of the WNK1 gene, overlapping the two deletions previously observed. This deletion confirms the importance of intron 1 regulatory sequences in regulating WNK1 gene expression and in causing FHHT when deleted. The presence of other genomic rearrangements in FHHT subjects might indicate the possibility of regulatory mutations which functionality remains to be established.

**Mots-clés :** hypertension, délétion, kinase.

#### ■P516. LE SPECTRE CLINIQUE DU SYNDROME DE COCKAYNE : DONNÉES CLINIQUES ET MOLÉCULAIRES À PARTIR D'UNE COHORTE DE 50 PATIENTS

V. Laugel (1, 2), C. Dalloz (1), M. Durand (1), A. Zaloszyk (1, 2), M.C. Vincent (3), L. Pasquier (4), S. Odent (4), V. Cormier-Daire (5),

B. Gener (6), E.S. Tobias (7), D. Martin-Coignard (8), V. Drouin-Garraud (9), D. Heron (10), H. Journel (11), J. Vigneron (12), S. Lyonnet (5), D. Gubser-Mercati (13), B. Funalot (14), L. Brueton (15), J. Sanchez Del Pozo (16), E. Muñoz (17), A.R. Gennery (18), K. Prescott (19), L. Ramos (20), Z. Stark (21), K. Fieggen (22), P. Sarda (23), P. Edery (24), A. Megarbane (25), A. Bloch-Zupan (26), A. Sarasin (27), H. Dollfus (1)

(1) Laboratoire de Génétique Médicale, Faculté de Médecine, Strasbourg, France ; (2) Service de Pédiatrie 1, CHU Strasbourg, France ; (3) Laboratoire de Diagnostic Génétique, CHU Strasbourg, France ; (4) Service de Génétique Médicale, CHU Rennes, France ; (5) Service de Génétique Médicale, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France ; (6) Department of Medical Genetics, Cruces Hospital, Baracaldo, Vizcaya, Spain ; (7) Division of Developmental Medicine, The Royal Hospital for Sick Children, Glasgow, UK ; (8) Service de Génétique Médicale, CHU Le Mans, France ; (9) Service de Génétique Médicale, CHU Rouen, France ; (10) Service de Génétique Médicale, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France ; (11) Service de Génétique Médicale, Hôpital Bretagne-Atlantique, Vannes, France ; (12) Service de Pédiatrie, Maternité A. Pinard, Nancy, France ; (13) Neurologie Pédiatrique, Neuchâtel, Suisse ; (14) Service de Neurologie, CHU Limoges, France ; (15) Department of Clinical Genetics, Women's Hospital, Birmingham, UK ; (16) Department of Genetics, Hospital 12 de Octubre, Madrid, Spain ; (17) Department of Neurology, Hospital Clinic, Barcelona, Spain ; (18) Department of Pediatrics, Newcastle General Hospital, Newcastle upon Tyne, UK ; (19) Department of Clinical Genetics, St James's University Hospital, Leeds, UK ; (20) Department of Medical Genetics, Pediatric Hospital, Coimbra, Portugal ; (21) Genetic Health Services Victoria, Melbourne, Australia ; (22) Department of Medical Genetics, UCT Faculty of Health Sciences, Groote Schuur and Red Cross Children's Hospital, Cape Town, South Africa ; (23) Service de Génétique Médicale, CHU Montpellier, France ; (24) Service de Génétique Clinique, Hôpital Femme-Mère-Enfant, Lyon, France ; (25) Unité de Génétique Médicale, Université Saint-Joseph, Beyrouth, Liban ; (26) Service d'Odontologie, CHU Strasbourg, France ; (27) CNRS FRE2939, IGR, Villejuif, France

Contact : vincent.laugel@chru-strasbourg.fr

Le syndrome de Cockayne est une maladie multisystémique complexe liée à une anomalie de la réparation et de la transcription de l'ADN. L'incidence de ce syndrome a été estimée à 1/300 000 naissances en Europe Occidentale, mais reste probablement sous-évaluée. Les patients présentent généralement un retard de croissance, une microcéphalie, un retard de développement psychomoteur, une atteinte sensorielle. Le spectre du syndrome de Cockayne comprend un large éventail de présentations cliniques en termes de sévérité et d'âge de début, depuis des formes prénatales sévères jusqu'à des formes modérées de révélation parfois très tardives. Il n'y a pas de corrélation simple entre la sévérité clinique d'une part et l'anomalie cellulaire ou moléculaire d'autre part. Nous avons collecté les données cliniques et moléculaires d'une cohorte internationale de 50 patients Cockayne démontrés sur le plan génétique. Nos données indiquent que les présentations cliniques classiques du syndrome de Cockayne (types I-II-III) forment en réalité un continuum de sévérité, même si l'identification des différents sous-groupes reste utile dans la pratique quotidienne pour le diagnostic positif et le pronostic à long terme. Le syndrome COFS (cérébro-oculo-facio-squelettique) doit être considéré comme une forme prénatale de syndrome de Cockayne mais nécessite des critères diagnostiques cliniques spécifiques. À l'autre extrémité du spectre, nous rapportons le cas clinique d'un patient décédé à 57 ans et présentant une forme particulièrement tardive de ce syndrome. L'imagerie cérébrale du syndrome de Cockayne montre classiquement la présence de calcifications des noyaux gris, d'anomalies de la substance blanche et d'une atrophie cérébelleuse. Nous avons étudié prospectivement et rétrospectivement les imageries cérébrales de 20 patients Cockayne, afin d'identifier les éléments les plus caractéristiques pour le diagnostic et d'en préciser l'histoire naturelle. Nous avons répertorié les 45 mutations publiées à ce jour pour les gènes CSA et CSB responsables du syndrome de Cockayne et nous rapportons 43 nouvelles mutations dans ces mêmes gènes. Parmi les 84 familles connues, 52 (62 %) présentent une mutation dans le gène CSB. Il existe un recouvrement important entre les symptômes cliniques des patients CSA et CSB mais les formes les plus sévères et les plus précoces de syndrome de Cockayne semblent liées au gène CSB. La plupart des mutations faux-sens sont regroupées dans certains domaines fonctionnels de ces protéines et offrent des pistes pour mieux comprendre leur mécanique moléculaire.

### ■P517. ÉTUDE CLINIQUE, PHYSIQUE ET GÉNÉTIQUE DU SYNDROME DE COCKAYNE DANS UNE FAMILLE TUNISIENNE

M. Gribaa (1), R. Bhourri (1), L. Adela (1), A. Ben Elkadhi (2), H. ElGhezal (1), V. Laugel (4), I. Ben Charfeddine (1), O. Mamai (1), A. Mili (1), T. Belazreg (1), D. H'mida (1), A. Sarasin (3), A. Saad (1)

(1) *Laboratoire de Cytogénétique, de Génétique Moléculaire et de Biologie de la Reproduction Humaines, CHU Farhat Hached, Sousse, Tunisie*; (2) *Pédiatrie, Cabinet Privé, Hammamet, Tunisie*; (3) *Unité de Stabilité Génétique et Oncogène CNRS FRE 2939, Institut Gustave Roussy, Villejuif, France*; (4) *Service de Neuropédiatrie/Pédiatrie 1, CHU Strasbourg-Hautepierre, Strasbourg, France*

Contact : r.bhourri@gmail.com

Le syndrome de Cockayne est une maladie multisystémique rare caractérisée par un retard statur-pondéral, une dysmorphie faciale, des troubles neurologiques progressifs avec déficit intellectuel et une photosensibilité. Il appartient au groupe des maladies affectant la réparation de l'ADN par excision de nucléotides. Il est caractérisé par grande variabilité dans la sévérité et l'âge d'apparition des manifestations cliniques. Sa transmission est autosomique récessive. Des mutations ont été identifiées au niveau des gènes ERCC6 (CSB ; 10q11) ERCC8 (CSA ; 5q12.1) mais aucun lien entre les sous-types de la maladie et les gènes impliqués n'a été à ce jour établi. Nous avons étudié le cas d'une fillette de 6 ans issue de parents consanguins au 2<sup>e</sup> degré. Elle présente un retard statur-pondéral, psychomoteur et intellectuel sévères avec surdité de perception bilatérale et une dysmorphie faciale évocatrice du syndrome de Cockayne de type I. La mesure de l'efficacité de transcription au niveau des fibroblastes de peau mis en culture a objectivé un déficit important de la récupération de la synthèse de l'ARN après irradiation des cellules par les UVC confirmé la présence d'une anomalie de réparation de l'ADN. Ce résultat, en association avec le tableau clinique, est fortement évocateur du syndrome de Cockayne. Une analyse moléculaire est en cours pour la recherche d'une éventuelle mutation dans le gène responsable pour confirmer le diagnostic et proposer un conseil génétique adéquat à cette famille.

**Mots-clés :** Cockayne, troubles neurologiques, réparation de l'ADN.

### ■P518. UNE NOUVELLE MUTATION DU GÈNE WRN RESPONSABLE DU SYNDROME DE WERNER CHEZ UN PATIENT TUNISIEN

O. Mamai (1), M. Gribaa (1), L. Bouzouffara (2), N. Uhrhammer (3), L. Adala (1), I. Ben Charfeddine (1), T. Belazreg (1), A. Mili (1), C. Belajouza (2), M. Denguezli (2), Y.J. Bignon (3), A. Saad (1)

(1) *Laboratoire de Cytogénétique, de Génétique Moléculaire et de Biologie de la Reproduction Humaines, CHU Farhat Hached, Sousse, Tunisie*; (2) *Service de Dermatologie et de Vénérologie, CHU Farhat Hached, Sousse, Tunisie*; (3) *Laboratoire de Diagnostic Génétique et Moléculaire, Centre Jean Perrin, Clermont-Ferrand, France*

Contact : moez.gribaa@rns.tn

Le syndrome de Werner est une maladie héréditaire ayant une transmission autosomique récessive. Il est caractérisé par une accélération du développement de plusieurs tissus de l'organisme. Il est secondaire à la mutation du gène WRN qui code pour la protéine WRN qui une activité exonucléase et hélicase. Dans ce travail, nous avons étudié un patient tunisien âgé de 43 ans, issu de parents consanguins au premier degré. Cliniquement, il a présenté un aspect sclérodémiforme de la peau, des signes de vieillissement cutané précoce avec dysmorphie faciale (faciès d'oiseau), des ulcérations chroniques des 2 jambes et une cataracte bilatérale. Le séquençage direct de toute la partie codante de son gène WRN a permis de retrouver une délétion homozygote de 25 nucléotides entre les nucléotides 3039 et 3063. Cette mutation est localisée dans le domaine responsable de l'activité hélicase de la protéine. Elle est, par ailleurs, responsable d'un décalage du cadre de lecture et la création d'un codon stop prématuré à l'origine d'une protéine tronquée. Cette nouvelle mutation, est sans doute responsable de la pathologie de ce patient et a permis de confirmer son atteinte par le syndrome de Werner.

**Mots-clés :** gène WRN, syndrome de Werner, nouvelle mutation.

### ■P519. MUTATIONS DU GÈNE UPF3B ASSOCIÉES À UNE DÉFICIENCE MENTALE NON SPÉCIFIQUE AVEC OU SANS AUTISME

F. Laumonier (1), C. Shoubridge (2), C. Antar (1, 3), L.S. Nguyen (2), H. Van Esch (4), T. Kleefstra (5), S. Briault (6), J.P. Fryns (4), B. Hamel (5), J. Chelly (7), H.H. Ropers (8), N. Ronce (1, 3), S. Blesson (3), C. Moraine (1), J. Geetz (2, 9), M. Raynaud (1, 3)

(1) *INSERM U930, Université François-Rabelais, CNRS ERL 3106, Tours, France*; (2) *Department of Genetic Medicine, Women's and Children's*

*Hospital, North Adelaide, SA, Australia*; (3) *Centre Hospitalier Régional Universitaire, Tours, France*; (4) *Center for Human Genetics, University Hospitals Leuven, Leuven, Belgium*; (5) *Department of Human Genetics, Radboud University Nijmegen Medical Centre, Nijmegen, The Netherlands*; (6) *Centre Hospitalier Régional, Orléans, France*; (7) *Institut Cochin, University Paris-Descartes, CNRS UMR 8104, INSERM U567, Paris, France*; (8) *Department of Human Molecular Genetics, Max Planck Institute for Molecular Genetics, Berlin-Dahlem, Germany*; (9) *Schools of Paediatrics, Reproductive Health, Molecular and Biomedical Science, University of Adelaide, Adelaide, SA, Australia*  
Contact : frederic.laumonier@univ-tours.fr

Des mutations dans le gène UPF3B, qui code une protéine impliquée dans la voie de dégradation des ARNm à codon stop prématuré, ont été récemment caractérisées chez 4 familles présentant une déficience mentale liée au chromosome X (DMX) spécifique (syndromes FG et de Lujan-Fryns), non spécifique avec ou sans autisme. Afin de mieux déterminer la contribution de ce gène dans la déficience mentale, nous avons analysé sa séquence codante chez 397 familles collectées par le consortium EuroMRX. Nous avons identifié 1 mutation non-sens, c.1081C > T/p.Arg361\*, dans une famille incluant des garçons atteints de DMX non spécifique (MRX62), et 2 mutations faux-sens chez 2 autres familles dans lesquelles les patients ont une DM avec ou sans autisme (c.1136G > A/p.Arg379His et c.1103G > A/p.Arg368Gln). Des études fonctionnelles effectuées par RT-PCR quantitative et Western blot sur les lignées lymphoblastoïdes des patients ont montré que la mutation c.1081C > T aboutissait à une dégradation de l'ARNm d'UPF3B et à l'absence de la protéine UPF3B. Nous avons également étudié la localisation subcellulaire des formes normale et mutées de la protéine UPF3B après transfection dans des cultures primaires de neurones hippocampaux d'embryon de souris. Nous n'avons pas constaté de différence significative entre les différentes formes, en revanche nous avons montré que la protéine UPF3B est exprimée dans le corps cellulaire, l'axone, les dendrites et les épines dendritiques, lesquelles sont essentielles pour la neurotransmission et les processus d'apprentissage et de mémoire. Nos résultats démontrent qu'en plus des syndromes FG et Lujan-Fryns, des mutations tronquantes de la protéine peuvent causer une DM non spécifique et de l'autisme. La localisation neuronale, en particulier synaptique, de la protéine UPF3B et sa fonction essentielle dans la surveillance des ARNm suggèrent un rôle potentiel dans la régulation de l'expression et de la dégradation des ARNm présents au niveau de la synapse.

**Mots-clés :** autisme, déficience mentale, chromosome X.

### ■P520. DÉLÉTION DU GÈNE FMRI : QUAND LA GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE ET LA CYTOGÉNÉTIQUE FONT BON MÉNAGE

N. Boutry-Kryza (1), M.P. Cordier (2), A. Labalme (3), M. Till (2, 3), P. Edery (2, 3), A. Calender (1), D. Sanlaville (2, 3), G. Lesca (1, 2)

(1) *Laboratoire de Génétique Moléculaire, Hôpital Édouard Herriot, Hospices Civils de Lyon, France*; (2) *Service de Génétique Clinique, Hôpital Femme-Mère-Enfant, Hospices civils de Lyon, France*; (3) *Service de Cytogénétique Constitutionnelle, Centre de Biologie et de Pathologie Est, Hospices Civils de Lyon, France*  
Contact : nadia.kryza@chu-lyon.fr

Le syndrome de l'X fragile est la 1<sup>re</sup> cause de retard mental héréditaire. Dans la majorité des cas, l'anomalie responsable est une expansion d'un triplet nucléotidique dans la partie 5'UTR du gène FMR1 situé en Xq27.3. Le diagnostic est posé par la mise en évidence de cette expansion par la technique de Southern blot. Cependant, dans de rares cas, l'anomalie causale est une délétion d'une partie ou de la totalité du gène. On distingue 2 types de délétions : les délétions de petite taille, inférieures à 10 kb, emportant principalement la partie 5'UTR et l'exon 1 du gène et survenant généralement sur un allèle prématuré au cours d'une méiose maternelle. Il existe également des délétions de plus grande taille emportant le gène FMR1 et certains gènes adjacents selon la taille de la délétion. Enfin, 3 cas de mutations ponctuelles ont également été décrits. Les délétions et mutations ponctuelles ne sont, quant à elles, pas toutes détectables par les techniques classiquement utilisées pour le diagnostic du syndrome de l'X fragile. Nous rapportons le cas de Hugo, 5 ans, consultant pour retard mental sans antécédent familial particulier. Ses antécédents personnels sont marqués par un développement psychomoteur anormal. Lors de l'examen, le patient présente un retard de langage associé à des troubles du comportement à type d'hyperactivité, de déficit de l'attention et d'anxiété. Sur un plan morphologique, les oreilles sont grandes et il existe un rétrognathisme. Un syndrome de l'X fragile est donc recherché. Sur le Southern blot à la recherche d'une expansion, nous n'obtenons aucun signal sur 2 prélèvements indépendants laissant suspecter une délétion du gène FMR1. Un



examen par CGH microarray est réalisé et montre la présence d'une délétion en position Xq27.3 emportant le gène FMR1 et un gène voisin, de fonction inconnue, le gène FMR1nb. Ce résultat est confirmé par hybridation *in situ* en fluorescence. Le séquençage du point de cassure montre une délétion d'environ 270 Kb avec un point de cassure proximal situé en position 146.791.349 (hg 18) dans un élément line (L1MC2) et un point de cassure distal en position 147.061.104 (hg 18) au début d'un autre élément line (L1PA4). L'étude familiale retrouve la délétion chez la mère mais ne montre ni délétion ni prémutation chez les grands-parents maternels. L'étude des microsatellites a montré que la délétion s'est produite lors du passage du chromosome X grand paternel vers sa fille probablement par recombinaison inégale entre les 2 éléments de type line. Au final, nous avons diagnostiqué un syndrome de l'X fragile par délétion de grande taille du gène FMR1. Cette délétion, héritée de la mère, modifie le conseil génétique. Il existe un risque de récurrence de 50 % pour une future grossesse s'il s'agit d'un garçon et en cas d'examen prénatal, la recherche de délétion s'effectuera par une technique cytogénétique et non par Southern blot. Ce cas illustre une fois de plus la complexité du diagnostic de l'X fragile.

**Mots-clés :** X fragile, délétion.

#### ■P521. RETARD MENTAL DÛ À UNE DUPLICATION EN AMONT DU GÈNE GRIA3

C. Bonnet (1, 2), M. Béri (1, 2), P. Callier (3), F. Mugneret (3), A. Perrin (1), L. Faivre (4), P. Jonveaux (1, 2)  
(1) *Laboratoire de Génétique, CHU Nancy, Vandœuvre les Nancy, France* ; (2) *Nancy Université, EA 4368, Laboratoire de Génétique, Centre Hospitalier Universitaire de Nancy, Vandœuvre les Nancy, France* ; (3) *Service de Cytogénétique, CHU, Dijon, France* ; (4) *Centre de Génétique et Centre de Référence Maladies Rares Anomalies du développement et syndromes malformatifs, Hôpital d'Enfants, Dijon, France*  
Contact : [ce.bonnet@chu-nancy.fr](mailto:ce.bonnet@chu-nancy.fr)

Nous avons identifié par CGH-array (Agilent 105K), chez un patient présentant une hypotonie axiale, un retard mental sévère, une épilepsie et une dysmorphie faciale, une duplication en Xq24q25 d'une taille de 970 kb ne contenant pas de gène et située à environ 800 kb en amont du gène GRIA3 impliqué dans le retard mental lié à l'X. Cette duplication est héritée de la mère du patient qui présente un biais d'inactivation de l'X (92 %-8 %). Les études de l'expression du gène GRIA3 par RT-qPCR réalisées sur de l'ARN extrait à partir d'un prélèvement sanguin montrent une forte diminution de l'expression du gène GRIA3 chez le patient par rapport à des témoins. Le niveau d'expression de ce même gène chez la mère porteuse de la duplication Xq24q25 avec un biais d'inactivation de l'X est normal. Le gène GRIA3 est exprimé au niveau du cerveau et code la sous-unité 3 du récepteur au glutamate. Ce gène est impliqué dans le retard mental lié à l'X : une translocation interrompant le gène, une délétion complète, des duplications partielles et des mutations faux-sens du gène GRIA3 ont été décrites. Ces patients présentent un retard mental parfois associé à des troubles du comportement de type autistique, une épilepsie (un cas) et une dysmorphie faciale. Les femmes porteuses avec biais d'inactivation de l'X sont asymptomatiques. Une femme porteuse d'une duplication intragénique sans biais d'inactivation de l'X et présentant un retard mental a été décrite. Il s'agit du premier cas de duplication située en amont du gène GRIA3 responsable de retard mental chez un garçon par effet de position en inhibant de l'expression du gène. Le réarrangement chromosomique en Xq24q25 est probablement responsable d'une modification de la configuration tri-dimensionnelle de la chromatine qui modifie l'accessibilité des éléments régulateurs de l'expression du gène.

**Mots-clés :** retard mental, GRIA3, effet de position.

#### ■P522. UNE NOUVELLE MUTATION AU NIVEAU DU GÈNE PQBP1 EST RESPONSABLE DE RETARD MENTAL LIÉ AU CHROMOSOME X CHEZ UNE FAMILLE TUNISIENNE AVEC PETITE TAILLE, MAIGREUR ET MICROCÉPHALIE

L. Ben Jemaa (1, 2), I. Rejeb (1), L. Abaied (1), L. Kraoua (1, 2), Y. Salour (3), F. Maazoul (2), J. Chelly (3), H. Chaabouni (1, 2)  
(1) *Laboratoire de Génétique Humaine, Faculté de Médecine de Tunis, Tunis, Tunisie* ; (2) *Service des Maladies Héritaires et Congénitales, Hôpital Charles-Nicole, Tunis, Tunisie* ; (3) *Institut Cochin, Université Paris-Descartes, Inserm U567, UMR 8104, Paris, France*  
Contact : [benjemaal@yahoo.com](mailto:benjemaal@yahoo.com)

Les retards mentaux liés au chromosome X (RMLX) affectent approximativement un garçon sur 600 et sont extrêmement hétérogènes sur le plan génétique. Pour une famille Tunisienne comportant 3 garçons présentant un retard mental (RM) sévère à modéré, petite taille, maigreur et

microcéphalie le génotypage du chromosome X a conduit à une liaison au niveau d'une région allant de DXS8090 à DXS8077 en Xp21.1-Xq21.33, sur la base du tableau clinique présent chez cette famille nous avons décidé de séquencer le gène PQBP1 (Polyglutamin Binding Protein1), ce qui nous a permis d'identifier une nouvelle mutation au niveau de ce gène de type insertion, cette mutation entraîne un décalage du cadre de lecture et une protéine tronquée en effet la protéine mutée se retrouve dépourvue de son domaine C2, ce qui entraîne un défaut de l'épissage des ARNs pré-messagers dans le noyau du fait de la perte d'interaction entre le domaine C2 absent et les protéines impliquées dans la machinerie d'épissage. On propose alors qu'à chaque fois qu'un tableau clinique comportant un RM, petite taille, maigreur et microcéphalie est rencontré chez une fratrie le gène PQBP1 devrait être séquencé en priorité.

**Mots-clés :** gène PQBP1, Retard mental lié à l'X, mutation.

#### ■P523. DÉFICIENCE MENTALE LIÉE À L'X ET INACTIVATION COMPLÈTEMENT DÉVIÉE CHEZ LES CONDUCTRICES : QUELS GÈNES ?

N. Pasquier (1), N. Ronce (1, 2), M.P. Moizard (1, 2), N. Marmin (1), B. Dessay (1), I. Mortemousque (1), S. Blesson (1), A. Toutain (1), M. Raynaud (1, 2)  
(1) *CHRU de Tours, Service de Génétique, Tours, France* ; (2) *INSERM U930, Tours, France*  
Contact : [m.raynaud@chu-tours.fr](mailto:m.raynaud@chu-tours.fr)

L'inactivation des chromosomes X (XCI) est le phénomène qui permet de rééquilibrer le contenu en gènes entre les cellules femelles (deux chromosomes X) et les cellules mâles (un chromosome X et un Y) chez les mammifères. Dans la population générale humaine chez les femmes, l'inactivation des X se fait au hasard et le ratio d'inactivation a une distribution normale : la moyenne est de 50:50 et seul un faible pourcentage de femmes (5 %-8 %) a un ratio complètement dévié (plus de 90:10). La prévalence de la déficience mentale (DM) est de l'ordre de 0,5 à 3 % et, parmi les causes génétiques, l'existence des génopathies liées au chromosome X explique que l'on observe plus de garçons retardés mentaux que de filles. Le plus souvent, les femmes sont asymptomatiques et susceptibles de transmettre la maladie. Dans certaines familles de DM liée à l'X, les femmes conductrices ont toutes une inactivation complètement déviée et les femmes non conductrices ont une inactivation aléatoire. Les progrès réalisés dans l'identification des gènes et des mutations impliqués dans les retards mentaux liés à l'X permettent d'associer dans un certain nombre de cas l'anomalie causale et la particularité du profil d'inactivation chez les conductrices. Les hypothèses sur les mécanismes qui sont à l'origine de cette particularité seront discutées.

**Mots-clés :** inactivation des chromosomes X, déficience mentale liée à l'X, retard mental.

#### ■P524. ISODISOMIE PARTIELLE XQ27.3-XQTER CHEZ UNE FEMME PRÉSENTANT UNE HÉMOPHILIE A ET UN RETARD MENTAL LÉGER

I. Giurgea (1, 2), C. Rothschild (3), P. Boisseau (4), L. Golmard (2), S. Letourneau (1), M. Goossens (1, 2), C. Costa (1, 2)  
(1) *Laboratoire de Génétique, CHU Henri-Mondor, Créteil, France* ; (2) *INSERM U955, équipe 11, CHU Henri Mondor, Créteil, France* ; (3) *Centre de Traitement de l'Hémophilie, CHU Necker, Paris, France* ; (4) *Génétique Médicale et Génétique Moléculaire, CHU Hôtel Dieu, Nantes, France*  
Contact : [irina.giurgea@inserm.fr](mailto:irina.giurgea@inserm.fr)

L'hémophilie A, maladie liée à l'X caractérisée par un déficit en facteur VIII, a une incidence de 1/5000 naissances masculines. Les hémophilies féminines sont exceptionnelles et rencontrées seulement si à une mutation du gène du facteur VIII (F8) s'associe à un syndrome de Turner, ou une seconde mutation du F8 en trans, ou une inactivation défavorable du chromosome X. Nous rapportons une patiente sans antécédents familiaux particuliers, présentant une forme mineure d'hémophilie A (FVIIIc = 13 %) et un retard mental léger, adressée en consultation devant un projet parental de sa fille. L'étude complète du F8 chez elle, a mis en évidence une nouvelle variation c.6268A>C (p.Ile2090Leu) à l'état homozygote. Une hémizygotie a été exclue par l'étude du F8 par MLPA. Les études « in silico » de cette variation et les données de la littérature suggèrent qu'elle pourrait être responsable d'une forme mineure d'hémophilie. Sa fille asymptomatique présente cette variation à l'état hétérozygote. En l'absence de consanguinité et d'hémophilie chez le père, l'hypothèse la plus probable expliquant la présence à l'état homozygote d'un variant rare du F8 chez cette patiente est l'isodisomie maternelle du chromosome X. Afin d'étayer cette hypothèse, nous avons réalisé une étude des marqueurs microsatellites du



X chez notre patiente et chez sa fille. Chez la patiente, les dix marqueurs situés en Xq27.3-Xqter sont à l'état homozygote (alors qu'ils sont à l'état hétérozygote chez sa fille) suggérant une isodisomie partielle de cette région. À cause de l'inactivation de l'X, chez les femmes, une disomie structurale du chromosome X ne devrait pas s'accompagner d'une disomie fonctionnelle. Ainsi, se pose la question de l'existence d'un autre événement mutationnel responsable du retard mental présenté par cette patiente. Dans la région Xq27.3-Xqter plusieurs gènes (IDS, ABCD1, SLC6A8, L1CAM, MECP2, FLNA, GDI1, IKBKG et DKC1) ont été impliqués dans le retard mental syndromique ou non. Cependant, la plupart de ces gènes sont associés à un phénotype plus sévère que celui de notre patiente, suggérant que d'autres gènes de cette région pourraient également être impliqués. En conclusion, nous rapportons une femme présentant l'association d'une hémophilie A mineure, probablement liée à une variation rare du F8 et une isodisomie partielle Xq27.3-Xqter et d'un retard mental léger. Le caractère exceptionnel de cette observation et la rareté du mécanisme sous-jacent nous incitent à poursuivre la caractérisation moléculaire plus fine de cette isodisomie et à étudier plus attentivement des gènes de cette région possiblement impliqués dans le retard mental.

**Mots-clés :** hémophilie féminine, retard mental, isodisomie partielle.

#### ■P525. CRIBLAGE DU GÈNE *SLC9A6* PAR HRM DANS UNE COHORTE DE PATIENTS SUSPECTS DE SYNDROME D'ANGELMAN OU DE SYNDROME OLIGOPHRÉNINE

C. Lacoste (1), M. Bertrand (1), L. Villard (2), N. Levy (1, 2), S. Sigaudy (3), P. Malzac (1), N. Philip (2, 3), A. Moncla (2, 4), C. Badens (1, 2)

(1) Laboratoire de Génétique Moléculaire, Département de Génétique, Hôpital d'enfants de la Timone, Marseille, France ; (2) UMR U 910, Faculté de Médecine, Marseille, France ; (3) Service de génétique Clinique, Département de Génétique, Hôpital d'enfants de la Timone, Marseille, France ; (4) Laboratoire de cytogénétique, Département de Génétique, Hôpital d'enfants de la Timone, Marseille, France

Contact : catherine.badens@ap-hm.fr

Récemment, 4 mutations dans le gène *SLC9A6* ont été décrites chez des patients présentant un retard mental, une microcéphalie, une épilepsie précoce et un phénotype proche de celui du syndrome d'Angelman. Les mutations identifiées entraînent soit la perte de certains acides aminés soit l'apparition d'un codon stop prématuré conduisant à une protéine tronquée, soit des anomalies d'épissage. Le gène *SLC9A6* est localisée en Xq26.3 et code pour une pompe Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup>, NHE6, présente dans la membrane des endosomes. Nous avons recherché des mutations de ce gène dans une cohorte de 53 patients adressés pour une suspicion de syndrome d'Angelman et pour lesquels l'exploration de la région 15q n'avait pas révélé d'anomalie. Du fait de la présence d'atrophie du cervelet chez 3 des 7 patients rapportés, nous avons également criblé *SLC9A6* chez 45 patients adressés pour une recherche de mutation dans Oligophrénine et dont l'analyse avait été négative. Le gène comporte 16 exons et code pour un ARNm de 4454 pb (NM\_001042537). Pour l'analyse, il a été fragmenté en 18 amplicons et criblé par la technique de HRM (fusion à haute résolution). Cinq % des fragements présentaient un profil anormal et ont été séquencés, un quart des fragments séquencés comportaient une variation de séquence. Au total, sur les 98 individus criblés, la technique de HRM a permis de détecter 4 polymorphismes introniques déjà décrits et deux substitutions dans des régions codantes non rapportées dans les bases de données : p.Ala395Ala retrouvée chez un patient suspect de syndrome d'Angelman et p.Ala9Ser identifiée chez 2 patients, l'un suspect de syndrome d'Angelman et l'autre d'Oligophrénine. Aucune de ces deux mutations n'ont été retrouvées après criblage de 120 chromosomes témoins. La substitution p.Ala9Ser a été rapportée récemment chez un patient présentant un syndrome Angelman-like mais était plutôt considérée comme un polymorphisme rare. Des analyses complémentaires pour évaluer l'effet de ces mutations faux sens devraient permettre d'en préciser le potentiel pathogène.

**Mots-clés :** retard mental, Angelman, oligophrénine.

#### ■P526. HÉTÉROGÉNÉITÉ GÉNÉTIQUE DANS LE SYNDROME DE RETT : CARACTÉRISATIONS MOLÉCULAIRES ET CLINIQUES CHEZ QUATRE FEMMES HÉTÉROZYGOTES POUR UNE MUTATION DÉLÉTÈRE DANS LE GÈNE *FOXG1*

L. Lambert (1), L. Allou (1), C. Nemos (1), D. Amsallem (2), C. Francannet (3), P. Edery (4), A. Saunier (1), F. Verneau (1), P. Jonveaux (1), C. Philippe (1)

(1) Laboratoire de génétique médicale, EA 4368, CHRU, Vandœuvre-les-Nancy, France ; (2) Service de neuropédiatrie, Hôpital St Jacques, Besançon, France ; (3) Service de Génétique Médicale, CHU Hôtel-Dieu,

Clermont-Ferrand I, France ; (4) Unité de Génétique Clinique, Hôpital Femme-Mère-Enfant, Bron, France

Contact : c.philippe@chu-nancy.fr

Le gène *FOXG1* a été récemment impliqué dans l'étiologie moléculaire du syndrome de Rett (RTT) dans sa forme congénitale. *FOXG1* code une protéine contenant une boîte fork-head, ce facteur de transcription joue un rôle déterminant dans le développement du prosencéphale. À côté du transcrite *FOXG1B* avec un seul exon, un épissage alternatif apparemment spécifique du cerveau fœtal implique 4 exons additionnels. Nous avons réalisé un criblage mutationnel de la totalité des 5 exons par séquençage systématique et QMPSF pour un ensemble de 125 patientes qui présentaient une forme classique, un variant congénital ou de type Hanefeld de RTT. Quinze garçons avec une encéphalopathie épileptique néonatale ou des présentations cliniques RTT-like ont également été analysés. Nous n'avons pas détecté de mutations ponctuelles ou de grands réarrangements affectant les exons 2 à 5 du gène *FOXG1*. L'implication des transcrits alternatifs dans l'étiologie moléculaire du RTT reste donc à démontrer, il faut cependant noter que les éventuelles protéines résultant de la traduction de ces transcrits n'ont pas été caractérisées à ce jour. Trois variations de séquence délétères entraînant la production de protéines *FOXG1* tronquées ont été mises en évidence : deux non-sens (p.Trp308X, p.Tyr400X) et décalage du cadre de lecture très précoce (c.256dupC ; Gln86ProfsX35). Nous avons débuté une analyse pangénomique à l'aide de micro-réseaux 105A (Agilent) chez quelques patientes présentant un RTT typique ou congénital. Nous avons caractérisé une délétion de 2,1 Mb dans la région q12 du chromosome 14, distale mais très proche du locus du gène *FOXG1*. La borne distale de cette aneuploïdie segmentaire est située à 40 kb de l'extrémité 3' de l'exon 5 de *FOXG1*. Trois patientes sont atteintes d'une forme assez sévère de RTT avec une période de développement normale inférieure à 6 mois. Un allèle délétère (le codon stop prématuré le plus proche de l'extrémité COOH-terminale ; p.Tyr400X) est associé à une forme typique de RTT. À notre connaissance, il s'agit d'un cas unique de RTT typique relié à une anomalie de *FOXG1*. Ces données confirment l'hétérogénéité génétique du syndrome de Rett. Elle précise également le spectre des phénotypes associés à des mutations de *FOXG1*, un nouveau gène à ne pas négliger dans les formes typiques et peut-être moins sévères (forme fruste, régression tardive ?) de RTT.

**Mots-clés :** RETT, *FOXG1*.

#### ■P527. BILAN LYONNAIS DE L'ÉTUDE MOLÉCULAIRE DU GÈNE *CDKL5*

N. Boutry-Kryza (1), D. Ville (2), F. Dalmon (3), C. Vercherat (4), A. Calender (1), V. Desportes (2), G. Lesca (1)

(1) Laboratoire de Génétique Moléculaire, Hôpital Édouard Herriot, Hospices Civils de Lyon, France ; (2) Service de Neuropédiatrie, Hôpital Femme-Mère-Enfant, Hospices civils de Lyon, France ; (3) Service de Pédiatrie, CH Chambéry, France ; (4) INSERM, U865, Lyon, France

Contact : nadia.kryza@chu-lyon.fr

Des mutations du gène *CDKL5*, situé en Xp22, ont été mises en évidence depuis 2004 chez des sujets atteints d'une forme atypique de syndrome de Rett avec début précoce des crises d'épilepsies. Ce gène a ensuite été impliqué de façon plus générale chez des sujets présentant des spasmes infantiles ou syndrome de West. Il code pour une protéine aux fonctions encore mal élucidées mais qui semblerait interagir avec la protéine Mecp2. Le diagnostic moléculaire a débuté en 2008 au laboratoire de génétique de Lyon. 31 patients ont été testés à ce jour : 27 filles et 4 garçons. Sur le plan clinique, 13 enfants ont été adressés pour syndrome de Rett atypique et ont déjà bénéficié d'une analyse du gène *MECP2* qui s'est avérée négative et 18 enfants ont été adressés pour épilepsie précoce avec spasmes. Le diagnostic moléculaire repose sur le séquençage des régions codantes du gène : l'exon 1 étant transcrit mais non traduit, 20 exons ainsi que les jonctions intron-exon sont analysés. 4 mutations pathogènes ont été mises en évidence : La mutation p.Tyr594X, mise en évidence chez une fille de 2 ans présentant un syndrome de West typique, a déjà été rapportée dans la littérature chez un patient avec un tableau clinique proche. La mutation p.Tyr177Cys, est retrouvée chez une fille de 10 ans présentant un syndrome de Rett atypique avec des antécédents personnels marqués par une encéphalopathie épileptique précoce. Cette mutation n'est pas répertoriée à ce jour dans la littérature mais est située dans une zone fonctionnelle importante de la protéine, le domaine sérine/thréonine protéine kinase. De plus, d'autres mutations faux-sens situées à proximité sont associées à la maladie (acides aminés 175, 178 et 180). La mutation p.Gly264X a été mise en évidence à l'état de mosaïque chez une fille de 2 ans présentant un phénotype atypique. La mosaïque a été confirmée par la collection des 2 populations après passage sur dHPLC et séquençage. La patiente présente sur le plan clinique un syndrome de Rett atypique sans convulsion



à ce jour. La présence de cette mutation à l'état de mosaïque expliquerait le phénotype atypique. Enfin, la mutation du site d'épissage c.-164G>A est présente à l'état hémizygotique chez un garçon atteint d'une encéphalopathie épileptique précoce avec spasmes. Sa pathogénicité a été confirmée par l'analyse de l'ADN complémentaire du gène montrant la production de 3 transcrits anormaux. Ce bilan à 2 ans montre un taux de détection de mutations d'environ 13 % chez nos patients. Ces résultats confirment la nécessité de rechercher des mutations du gène CDKL5 pour les encéphalopathies épileptiques précoces avec spasmes chez les filles mais également chez les garçons. La présence de mosaïque est également à rechercher et peut justifier l'analyse d'un autre tissu en cas d'analyse négative chez un sujet avec phénotype évocateur. L'analyse de ce gène se poursuivra prochainement par la mise en place de la recherche de grands réarrangements du gène CDKL5.

**Mots-clés :** CDKL5, spasmes infantiles.

#### ■P528. L'HAPLOINSUFFISANCE DU GÈNE *SIM1* EST RESPONSABLE D'OBÉSITÉ ET D'UN NOUVEAU SYNDROME DE TYPE PRADER-WILLI-LIKE

F. Stutzmann (1), M. Ghoussaini (1, 2), C. Couturier (1), S. Bouquillon (3, 4), M. Marchand (1), V. Vatin (1), J. Andrieux (4), B. Delobel (3), N. Calmels (5), J.L. Mandel (5, 6), B. Balkau (7), F. Horber (8), L.F. Van Gall (9), W. Van Hul (10), F. Pattou (11), A.P. Goldstone (12), D.J. Driscoll (13), M. Whitelaw (14), D. Meyre (1), P. Froguel (1, 15)  
(1) CNRS-UMR-8090, Institut de Biologie de Lille, Université Lille2, Institut Pasteur, Lille, France ; (2) Cancer Research UK, Department of Oncology, University of Cambridge, Strangeways Research Laboratory, Cambridge, United Kingdom ; (3) Centre de Génétique Chromosomique, Hôpital St-Vincent-de-Paul, GHICL, Lille, France ; (4) Laboratoire de Génétique Médicale, Hôpital Jeanne-de-Flandre, CHRU de Lille, France ; (5) Laboratoire de diagnostic génétique, CHRU Strasbourg- Nouvel Hôpital Civil, Strasbourg, France ; (6) Institut de Génétique et de Biologie Moléculaire et Cellulaire, Inserm U596, CNRS, UMR7104 ; Université Louis Pasteur, Strasbourg, France ; (7) INSERM U780, Université Paris-Sud, Orsay, France ; (8) Klinik Lindberg, Winterthur, Switzerland ; (9) Department of Endocrinology, Diabetology and Metabolism, Antwerp University Hospital, Antwerp, Belgium ; (10) Department of Medical Genetics, University of Antwerp and Antwerp University Hospital, Antwerp, Belgium ; (11) INSERM U859, CHU Lille, Lille, France ; (12) MRC Clinical Sciences Centre and Endocrine Unit, Department of Investigative Medicine, Hammersmith Hospital, Imperial College, London, United Kingdom ; (13) University of Florida, Gainesville, Florida ; (14) Discipline of Biochemistry, School of Molecular & Biomedical Science – Centre for the Molecular Genetics of Development University of Adelaide, Adelaide, South Australia, Australia ; (15) Section of Genomic Medicine, Imperial College London, Burlington-Danes Building, Hammersmith Hospital, Du Cane Road, London, United Kingdom  
Contact : philippe.froguel@good.ibl.fr

Le syndrome de Prader-Willi est caractérisé par une obésité hyperphagique, un hypogonadisme, un retard de développement et des caractéristiques faciales. Des anomalies chromosomiques au 6q16, incluant *SIM1*, sont responsables d'un syndrome Prader-Willi-like (6q-PWLS). L'homologue du gène *Single Minded* de *Drosophila* est un facteur de transcription impliqué dans le développement des lignées neuroendocrines. Or l'unique cas de translocation équilibrée affectant *SIM1* a été identifié chez une fillette obèse ne présentant pas de trouble cognitif. Dans cette étude, nous avons donc recherché la contribution de la perte de fonction d'un allèle de *SIM1*, à la fois à l'obésité monogénique et syndromique chez l'homme. *SIM1* a été séquencé chez 43 enfants obèses américains et 288 enfants obèses français avec PWLS, sans anomalie chromosomique aux locus 15q et 6q détectée par caryotype ni anomalie de méthylation au 15q, ainsi que chez 799 sujets présentant une obésité précoce non-syndromique, sévère ou familiale, venant des États-Unis, de France, de Suisse et de Belgique. La recherche de mutations incluait aussi 835 individus contrôles minces, sélectionnés pour correspondre aux sujets obèses en âge, sexe et ethnique. Des microdélétions de *SIM1* ont été recherchées par PCR quantitative et confirmées et limitées par puces CGH chez les 288 enfants français PWLS. Au total, 19 variants non synonymes de *SIM1* ont été identifiés chez 22 sujets : 6 ont été observés chez les sujets obèses (fréquence = 0,8 %), 8 chez les enfants avec PWLS (2,4 %) et 8 chez les contrôles (1,0 %). La caractérisation fonctionnelle des variants est en cours. Des résultats préliminaires d'expériences de gène rapporteur ont montré que cinq variants, identifiés chez 4 enfants avec PWLS et un sujet obèse, conduisent à une diminution significative de l'activité de *SIM1* (activité résiduelle : 20,4-53,5 %,  $p < 0,05$ ). Ces variations coségrégent avec obésité et retard mental dans les familles des propositus. Les phénotypes observés chez les

patients obèses et leurs apparentés porteurs de ces mutations pathogéniques sont : obésité, retard mental, visage rond, petit nez, arête nasale déprimée, philtrum proéminent et fente palpébrale étroite mais une absence d'hypotonie néonatale. Contrairement au syndrome PW du 15q, l'hypogonadisme est anecdotique. Des troubles du comportement et un retard de développement ont été observés chez la moitié des sujets. Une délétion au locus 6q16 de 3,5 Mb et 4 Mb a été identifiée chez deux enfants supplémentaires présentant des caractéristiques syndromiques similaires. Cette étude montre que l'haploinsuffisance de *SIM1* est responsable d'une forme syndromique de type PWL non complètement pénétrante. Le spectre clinique spécifique de ce syndrome devrait inciter au diagnostic moléculaire. Enfin, la recherche de mutations de *SIM1* présente un intérêt clinique pour certaines formes d'obésité infantile associée avec un retard mental, en complément d'investigations cytogénétiques.

**Mots-clés :** *SIM1*, syndrome, obesity.

#### ■P529. L'HÉTÉROPLASIE OSSEUSE PROGRESSIVE ET LA PSEUDOHYPOPARATHYROIDIE : DEUX PHÉNOTYPES POUR LES MÊMES MUTATIONS INACTIVATRICES DU GÈNE *GNAS*, UN PHÉNOMÈNE D'EMPREINTE PARENTALE

M. Lebrun, N. Richard, G. Abeguilié, N. Coudray, M.L. Kottler  
Département de Génétique et Reproduction, Laboratoire de biologie moléculaire, CHU-caen, France  
Contact : kottler-ml@chu-caen.fr

L'hétéroplasie osseuse progressive (POH) est une maladie rare de formation osseuse ectopique. La POH est due à des mutations hétérozygotes inactivatrices du gène *GNAS*, aussi connu pour provoquer la pseudohypoparathyroïdie de type 1a (PHP1a), quand elle est transmise par la mère et la pseudopseudohypoparathyroïdie (PPHP), quand elle est transmise par le père. Des études familiales ont également associé la POH à une transmission paternelle. L'objectif de cette étude est de caractériser l'origine parentale de l'allèle muté dans des cas « *de novo* » de POH, et d'établir des corrélations phénotype/génotype selon la transmission maternelle ou paternelle. Nous avons apparié 10 cas de POH, tous sporadiques sauf un, avec des cas de PHP1a portant la même mutation *GNAS*. Nous décrivons leur phénotype et leur profil hormonal et d'activité G $\alpha$ . L'origine parentale de l'allèle muté a été étudiée en utilisant des polymorphismes intragéniques informatifs et le sous-clonage des produits de PCR. Nous avons clairement démontré l'origine paternelle des mutations de *GNAS* chez 8 patients diagnostiqués avec une POH. Dans un cas, le constat d'une mutation d'origine maternelle nous a permis de faire le diagnostic de « POH-like PHP1a ». Les corrélations génotype/phénotype suggèrent l'absence de corrélation directe entre le processus d'ossification et l'origine parentale, étant donnée la grande variabilité dans les ossifications hétérotopiques. Un retard croissance intra utérin sévère a été mis en évidence dans les mutations d'origine paternelle. L'hétérogénéité clinique rend le conseil génétique très délicat, en particulier quand il s'agit de transmission paternelle, qui peut conduire à la fois à une expression modérée de PPHP ou sévère de POH.

**Mots-clés :** gène *GNAS*, hétéroplasie osseuse progressive, empreinte parentale.

#### ■P530. SYNDROME MACS PAR MUTATION DU GÈNE *RIN2* : DESCRIPTION DE LA SECONDE FAMILLE ET NOUVELLES DONNÉES PHÉNOTYPIQUE

F. Malfait (1), A. De Paepe (1), G. Mortier (1), A. Benmansour (2), A. Verloes (3)  
(1) Département de génétique, Université de Gand, Belgique ; (2) Pédiatrie, Oran, Algérie ; (3) Département de Génétique, APHP – Hôpital Robert Debré, Paris, France  
Contact : alain.verloes@rdp.aphp.fr

Nous rapportons le phénotype et l'histoire naturelle de 3 enfants issus d'un couple consanguin d'origine algérienne, présentant un tableau clinique complexe et évolutif. Les éléments principaux sont une scoliose progressive sévère, une ostéoporose, une hyperlaxité très marquée des articulations des mains et des chevilles, une atrophie cutanée généralisée associée à un aspect de cutis laxa, sans anomalies de la cicatrisation, une macrocéphalie, une dysmorphie faciale, une hypertrophie des gencives et des tissus mous péri-buccaux, une hypotrichose, des anomalies rétinienne et une cranios-ténose. Le screening du gène *RIN2* (20p11.21-p11.23) a montré la présence d'une délétion homozygote de 2 nucléotides, avec décalage du cadre de lecture dans l'exon 8 (c.1914\_1915delGC, p.Glu638AspfsX9). Cette mutation confirme l'observation par Basel-Vanagaite (Am J Hum Genet. 2009 Aug ; 85(2) : 254-63) d'une grande famille palestinienne présentant un phénotype similaire (pour lequel l'acronyme MACS – macrocephaly,

alopecia, cutis laxa, and scoliosis – a été proposé). Dans cette famille, une délétion homozygote dans l'exon 7 de RIN2a été démontrée. RIN2 est une protéine ubiquitaire impliquée dans le trafic des vésicules endocytiques. Notre observation constitue la 2<sup>e</sup> observation de syndrome MACS. elle confirme l'existence de cette entité et la spécificité de son phénotype clinique.

**Mots-clés :** Ehlers-Danlos, RIN2.

#### ■P531. FORTE MYOPIE AVEC ANTÉCÉDENTS D'OMPHALOCÈLE OPÉRÉE : LE SYNDROME DE DONNAI-BARROW

P. Bitoun (1A), E. Pipiras (1B), B. Benzacken (1B), A. Delahaye (1B)  
(1A) *Génétique Médicale, CHU Jean Verdier Paris XIII, Bondy, France ;*  
(1B) *Histo-Embryo-Cytogénétique, CHU Jean Verdier Paris XIII, Bondy, France*

Contact : bitoun@gmail.com

Le syndrome de Donnai-Barrow associe omphalocèle, myopie forte, agénésie du corps calleux cardiopathie, surdité, un retard de développement inconstant et une néphropathie. Une vingtaine de cas ont été décrits depuis 1993. Patients et Méthodes : Les auteurs présentent une famille consanguine dont le fils aîné présente une omphalocèle de découverte anténatale et une forte myopie avec hypertélorisme et dont la sœur présente les mêmes symptômes. Les patients sont explorés par IRM, bilan auditif ; rénal et cardiaque. Résultats : L'aîné de 6 ans présente un développement normal ; il est issu d'une grossesse compliquée d'omphalocèle ayant nécessité une césarienne à 38 semaines et une croissance anténatale normale ; L'omphalocèle est opérée à J2 et une CIA est identifiée en échographie qui se résoudra spontanément. Il présente un hypertélorisme et une forte myopie bilatérale à 28 dioptries et une acuité visuelle de loin à 2/10<sup>e</sup> et P2 avec une longueur axiale à 35,8 mm. Sa sœur de 4 ans présente alors la même omphalocèle opérée en périnatal, une CIA avec CIV résolutive et une forte myopie à 18 et 17 dioptries et un prognatisme. L'IRM cérébrale du garçon était normale. Une hypoacousie modérée bilatérale est alors identifiée à 55 db et une protéinurie est notée avec une microglobulinurie à 145 000 microg/l (N < 205 microg/l) avec créatininémie, Calcémie, albuminémie et Vitamine A normales. Il présente à l'âge de 7 ans un décollement de rétine opéré. La sœur présente aussi une hypoacousie à 40db, et une protéinurie. Ils présentent tous deux une intelligence normale et les parents sont en bonne santé. L'association omphalocèle, forte myopie, cardiopathie, hypoacousie et protéinurie constitue le syndrome de Donnai Barrow lié aux mutations de LRP2 codant pour la mégaline récepteur multi-ligand énorme gène comme son nom l'indique. Ce diagnostic doit être évoqué devant cette association très caractéristique forte myopie et omphalocèle.

**Mots-clés :** myopie, omphalocèle, syndrome de Donnai-Barrow.

#### ■P532. RECHERCHE D'UN LOCUS GÉNOMIQUE IMPLIQUÉ DANS LES SYNDROMES TRICHO-HÉPATO-ENTÉRIQUES

A. Fabre (1, 2), B. Roquelaure (1), C. Lacoste (2), J. Martinez (3), N. Peretti (4), N. André (5), A. Breton (6), C.M. Martinez-Vinçon (7), N. Levy (2, 9), O. Goulet (8), C. Badens (2, 9)

(1) *Service de Pédiatrie Multidisciplinaire, Hôpital d'enfants de la Timone, Marseille, France ;* (2) *Laboratoire de Génétique Moléculaire, Département de Génétique, Hôpital d'enfants de la Timone, Marseille, France ;* (3) *Laboratoire de cytogénétique, Département de Génétique, Hôpital d'enfants de la Timone, Marseille, France ;* (4) *Service de Nutrition pédiatrique, Hôpital Femme Mère Enfant de Lyon, France ;* (5) *Service de Pédiatrie Oncologique, Hôpital d'enfants de la Timone, Marseille, France ;* (6) *Service d'Hépatologie et Maladies Métaboliques, Hôpital d'enfants de Toulouse, France ;* (7) *Service de Gastro-entérologie, Hôpital Robert Debré, Paris, France ;* (8) *Service de Gastro-Entérologie, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France ;* (9) *Unité Inserm U910, Marseille, France*

Contact : alexandre.fabre@ap-hm.fr

Les syndromes Tricho-Hépto-Entériques (THE) ou Diarrhées Graves Rebelles Syndromiques associent une diarrhée grave rebelle chronique, une dysmorphie, des anomalies immunitaires, un retard de croissance intra-utérin et des anomalies des cheveux (cheveux laineux avec trichorrhexis nodosa). Une dizaine de patients atteints de ce syndrome a été diagnostiquée en France ; ils présentent un phénotype très homogène et la moitié d'entre eux sont issus d'unions consanguines. Une collection d'échantillons des patients et de leurs parents a été réalisée en 2006 et déclarée au CRB de la Timone à Marseille. En vue de caractériser une localisation génomique impliquée dans la survenue de ce syndrome, nous avons, dans un premier temps, testé une approche gènes candidats. Au cours d'une étude moléculaire, sept gènes candidats fonctionnels, sélectionnés sur la base de leur implication dans des syndromes

apparentés chez l'homme ou chez l'animal, ont été exclus (Fabre *et al.*, 2009). Deux autres approches ont alors été mises en œuvre : – une recherche pangénomique d'insertions/duplications par technique de CGH array, qui a mis en évidence chez un des patients une délétion en 15q11.2, confirmé en PCR quantitative. Les délétions de ce locus sont associées dans la littérature, à des syndromes autistiques, syndrome que l'on retrouve chez ce patient mais qui est probablement associé de façon fortuite au syndrome THE. Aucune autre anomalie potentiellement pathogène n'a été détectée. – une étude de liaison pangénomique par analyse de SNP. L'analyse de liaison directe n'a pas retrouvé de région pouvant être incriminée. En revanche, la recherche de régions d'homozygotie a permis de caractériser une zone de 5.1 Mb commune à 2 des familles consanguines. Cette région contient 35 gènes que nous nous proposons de séquencer afin de mettre en évidence un éventuel défaut moléculaire. L'identification du ou des gènes altérés dans cette pathologie conduira à l'exploration fonctionnelle des protéines concernées. En particulier, le profil d'expression tissulaire pourra être exploré ainsi que la localisation et la fonction cellulaire. À terme, l'identification de la cause génétique responsable de cette pathologie permettra de proposer aux familles d'enfants atteints un diagnostic de certitude ainsi que d'améliorer les connaissances de la physiopathologie des diarrhées intractables.

**Mots-clés :** syndrome tricho-hépto-enterique.

#### ■P533. STORMORKEN SYNDROME : CONFIRMATORY REPORT IN A FRENCH FAMILY

G. Morin (1), B. Roméo (2), R. Cévallas (3), B. Demeer (1), A.G. Le Moing (1), J.C. Capiod (4), E. Bourges-Petit (5), H. Sevestre (6), M. Mathieu (7)

(1) *Clinical Genetics Unit, Amiens University Hospital, Amiens, France ;* (2) *Pediatric Pneumology, Amiens University Hospital, Amiens, France ;* (3) *Internal Medicine, Amiens University Hospital, Amiens, France ;* (4) *Hematology Laboratory, Amiens University Hospital, Amiens, France ;* (5) *Pediatric Cardiology, Amiens University Hospital, Amiens, France ;* (6) *Pathology Laboratory, Amiens University Hospital, Amiens, France*

Contact : morin.gilles@chu-amiens.fr

In 1985, Helge Stormorken reported a new syndrome associating thrombocytopenia, muscle fatigue, asplenia, miosis, migraine, dyslexia and ichthyosis. This affection segregated in a Norwegian family with an apparent autosomal dominant transmission on 4 generations. The physical characteristics were documented in a teen-aged boy and his mother : small stature, deep set eyes, high and arched forehead, permanent miosis without efficiency of mydriatic drugs and decreased darkness vision. A bleeding tendency was demonstrated, including hematomas, frequent nose bleedings but no major hemorrhagic accident. Hematologic investigations exhibited consistently prolonged bleeding time, normal coagulation, presence of giant platelets and various abnormal forms of red cells with Howell-Jolly bodies in the peripheral blood. The spleen was absent in both patients explaining the post-splenectomy aspect of the red cells. The muscular defect consisted in limitation during physical exercise and an abnormally increased duration of muscle response. Ichthyosis was mainly located in the extremities. Both patients suffered from headaches with photophobia. Dyslexia was early diagnosed for the affected son, responsible of learning disability, but less severe for his mother. From that time, this disease was only reported in a Japanese mother and daughter, who both presented muscle weakness, moderate increasing of creatine kinase rates and thrombocytopenia. Muscle biopsy showed fibre necrosis and regeneration, variation in fibre size, and tubular aggregates in approximately 5% of the fibres. We report the observation of a young boy and his father. At 17 days of life the baby presented an urticaria-like eruption on the face and the lower limbs. Blood count revealed thrombopenia (48 000/mm<sup>3</sup>) but the myelogram was normal. During the hospitalization, he presented an episode of supraventricular tachycardia requiring a treatment with acebutolol and amiodarone. The father had small stature (157 cm), high pitched voice, chronic eruption of the arms and shoulders partially regressive after anti-mycotic treatment, and a severe but reactive miosis responsible of impairment of darkness vision. He also presented asplenia and moderate thrombocytopenia (97 000/mm<sup>3</sup>). At the age of 2 years and half, a less severe miosis became more apparent in the son. Peripheral blood examination revealed anisocytosis, the presence of macrothrombocytes, Howell-Jolly bodies and prolonged bleeding time.

**Mots-clés :** Stormorken syndrome, congenital miosis, thrombocytopenia.

#### ■P534. NOUVELLE MUTATION NON SENS DU GÈNE GPC3 CHEZ UN PATIENT MAROCAIN ATTEINT DU SYNDROME DE SIMPSON-GOLABI-BEHMEL

I. Ratbi (1, 2), S. Chafai Elalaoui (1), M.P. Moizard (3), M. Raynaud (3), A. Sefiani (1, 2)

(1) *Département de Génétique Médicale, Institut National d'Hygiène, Rabat, Maroc ;* (2) *Centre de Génétique Humaine, Faculté de Médecine*



et de Pharmacie de Rabat, Université Mohammed V Souissi, Rabat, Maroc ; (3) Service de Génétique, Hôpital Bretonneau, Tours, France  
Contact : ilhamratbi@yahoo.fr

Le syndrome de Simpson-Golabi-Behmel (SGBS) se caractérise par une avance de croissance globale pré et post-natale, une dysmorphie faciale et des malformations viscérales et squelettiques. Plus d'une centaine de patients atteints de SGBS ont été rapportés à ce jour. Le SGBS est de transmission récessive liée à l'X. Un gène principal, Glypican 3 (GPC3) a été identifié en Xq26. Différents types de mutations ont été rapportées à ce jour. Nous avons vu en consultation de génétique médicale un garçon âgé de 5 ans, issu de parents consanguins, deuxième d'une fratrie de deux, adressé pour syndrome dysmorphique. Il est né par voie basse au terme d'une grossesse suivie. Il a eu un retard des acquisitions psychomotrices, et présente un retard mental. À l'examen clinique, on note une avance staturo-pondérale à +2DS, une dysmorphie faciale faite d'une racine du nez effacée, des narines antéversées, une macrosomie des oreilles décollées et des caries dentaires. Il présente par ailleurs des mamelons surnuméraires, une hexadactylie post axiale au niveau de la main gauche et une cryptorchidie gauche. Le bilan paraclinique a montré une synostose costale et une hypothyroïdie. Enfin, l'échographie abdomino-pelvienne, le bilan squelettique, l'échocardiographie et l'examen ophtalmologique étaient normaux. Devant l'association de l'avance staturo-pondérale et la dysmorphie faciale particulière, une étude moléculaire du gène GPC3 a été réalisée, et a montré que le patient est porteur d'une mutation non sens encore non rapportée (c.271C>T ; p.Gln91X) localisée au niveau de l'exon 2. Par ailleurs, la mère n'est pas porteuse de la mutation retrouvée chez son fils.

**Mots-clés** : syndrome de Simpson-Golabi-Behmel, gène GPC3, mutation ponctuelle.

**■P535. L'ANALYSE PAR LES PUCES SNP, DE CAS SPORADIQUES DANS DES FAMILLES CONSANGUINES, PERMET D'ORIENTER LE DIAGNOSTIC MOLÉCULAIRE DE PATHOLOGIES AUTOSOMIQUES RÉCESSIVES HÉTÉROGÈNES**

C. Gasnier (1), N. Dondaine (1), M.C. Vincent (1, 2), E. Schaefer (3), M. Cossée (1, 2), C. Lagier-Tourenne (1, 4), H. Dollfus (3, 2), C. Tranchant (5), P. Charles (6), J. Amiel (7), C. Antignac (7), I. Vuillaume (8), C. Thibault (4), M. Koenig (1, 4), J.L. Mandel (1, 4)  
(1) Laboratoire de Diagnostic Génétique, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France ; (2) Laboratoire de Génétique Médicale, EA3949, Faculté de Médecine, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France ; (3) Service de Génétique Médicale, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France ; (4) IGBC (CNRS/INSERM/ULP), Illkirch, France ; (5) Service de Neurologie, Hôpital Civil, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France ; (6) Consultation de Génétique, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, AP-HP, Paris, France ; (7) Département de Génétique, Groupe hospitalier universitaire Necker Enfants malades, Paris, France ; (8) Centre de Biologie-Pathologie, CHRU Lille, France  
Contact : claire.gasnier@chru-strasbourg.fr

Le diagnostic moléculaire des maladies rares à transmission autosomique récessive présentant une grande hétérogénéité génétique représente un véritable défi car les données cliniques ne permettent pas, dans la plus part des cas, de cibler un gène défectueux en particulier. Dans de telles familles la consanguinité est fréquente. À l'échelle du génome entier l'analyse de puces SNP permet, par la recherche de régions homozygoties chez ces patients, la sélection d'un ou de quelques gènes candidats parmi lesquels rechercher des mutations. Voici 7 cas de ce type dont 5 sporadiques, pour lesquels cette approche a permis de déterminer la mutation du gène responsable de la maladie. Par exemple, l'étude d'une forme sporadique de myopathie a permis de mettre en évidence une mutation de TRIM32, également, l'étude d'une forme familiale d'ataxie a mis en évidence une mutation sur AOA1. La cartographie des régions d'homozygotie, par l'utilisation des micro-puces 50K (Affymetrix), a été effectuée uniquement chez les patients et nous a permis d'identifier la mutation causale dans une proportion importante de cas sporadiques atteints de différentes maladies neuromusculaires ou neurodégénératives. Cette approche rapide et économique est particulièrement utile pour des maladies ayant une grande hétérogénéité génétique comme le syndrome de Bardet Biedl (14 gènes publiés à ce jour), la dystrophie musculaire des ceintures ou des ataxies sporadiques. En effet, elle permet de sélectionner seulement un ou deux gènes à séquencer et ainsi d'identifier la mutation privée. Dans certains cas, l'analyse de puces SNP peut mettre en évidence une consanguinité qui était inconnue ou refusée par la famille.

**Mots-clés** : puces SNP, autosomiques récessives hétérogènes, cas sporadiques.

M/S hors série n° 1, vol. 26, janvier 2010

**■P536. HÉMORRAGIE TÉLANGIECTASIQUE HÉRÉDITAIRE : DEUX EFFETS FONDATEURS DANS LE GÈNE ACVRL1 EN RÉGION POITOU-CHARENTES**

D. Haye (1), S. Patri (1, 2), A.M. Delvaux (1, 2), J.Y. Lehy (3), A. Kitzis (1, 2), B. Gilbert-Dussardier (1)  
(1) Service de Génétique, Centre de Compétence Maladie de Rendu Osler, CHU de Poitiers, Poitiers, France ; (2) CNRS UMR6187, Institut de Physiologie et de Biologie Cellulaires, Université de Poitiers, Poitiers, France ; (3) Médecin Généraliste, Arçais, France  
Contact : dhaye@hotmail.fr

L'Hémorragie Téliangiectasique Hériditaire (HTH) ou Maladie de Rendu-Osler est une maladie autosomique dominante caractérisée par des malformations artério-veineuses pouvant affecter plusieurs organes. Des mutations causales sont décrites dans deux gènes (ENG et ACVRL1) codant pour des récepteurs impliqués dans la voie de signalisation du TGFbeta. La prévalence de la maladie est estimée à plus de 1/10 000 en France, avec d'importantes disparités géographiques. En 1989, une étude épidémiologique a estimé la prévalence à 1/4287 dans le département des Deux-Sèvres, avec une concentration plus importante dans les arrondissements de Parthenay (1/1 193) et de Bressuire (1/2 430). L'étude moléculaire des gènes ENG et ACVRL1 réalisée chez 110 patients originaires de la région Poitou-Charentes, a mis en évidence l'existence de deux mutations majoritaires dans le gène ACVRL1. Une mutation faux-sens, c.1121G>A (exon 8 - p.Arg374Gln) et une mutation d'épissage, c.1048+1G>A (intron 7) touchant respectivement 44 patients répartis dans 8 familles et 30 patients répartis dans 11 familles. Nous montrons par analyse de marqueurs microsatellites situés dans une région de 10 mégabases centrée sur le gène ACVRL1, un haplotype spécifique pour chacune des deux mutations régionales, suggérant l'existence de deux effets fondateurs. L'étude de ces 19 familles montre deux foyers géographiques de la maladie dans le Nord des Deux-Sèvres, l'un à proximité de la sous-préfecture de Parthenay, le second à proximité de la sous-préfecture de Bressuire. Par ailleurs, la description clinique de la maladie pour chaque patient porteur de l'une des mutations confirme une grande variabilité d'expression déjà connue dans la maladie. La mise en évidence d'un effet fondateur commun pour un nombre important de patients est d'intérêt en prévision d'études cherchant à identifier des gènes modificateurs à l'origine de la variabilité d'expression.

**Mots-clés** : hémorragie télangiectasique héréditaire, Poitou-Charentes, effets fondateurs.

**■P537. CORRÉLATION GÉNOTYPE-PHÉNOTYPE DANS LE SYNDROME D'EHLERS-DANLOS VASCULAIRE : ANALYSE DE 86 CAS**

A.L. Fauret (1, 2), L. Bal (2, 3), B. Ranque (2, 4), C. Travers (1), J. Perdu (1, 2), M. Frank (3), E. Messas (2, 3), D.P. Germain (5), H. Plauchu (6), J. Emmerich (2, 3), J.N. Fiessinger (2, 3), X. Jeunemaitre (1, 2)  
(1) AP-HP, Hôpital Européen Georges-Pompidou, Département de Génétique et Centre de Référence des Maladies Vasculaires Rares, Paris, France ; (2) Université Paris Descartes, Faculté de Médecine, Paris, France ; (3) AP-HP, Hôpital Européen Georges-Pompidou, Service de Médecine Vasculaire et Centre de Référence des Maladies Vasculaires Rares, Paris, France ; (4) AP-HP, Hôpital Européen Georges-Pompidou, Service de Médecine Interne, Paris, France ; (5) AP-HP, Hôpital Raymond-Poincaré, Service de Génétique Médicale, Garches, France ; (6) Hôpital de l'Hôtel-Dieu, Service de Génétique, Lyon, France.  
Contact : anne-laure.fauret@egp.aphp.fr

Background. The vascular Ehlers-Danlos syndrome (vEDS) is a rare autosomal dominant inherited disorder, caused by mutations in the COL3A1 gene, which results in the synthesis of a defective pro-alpha1 chains of type III procollagen. Affected patients are at risk for arterial, bowel, and uterine rupture. The mechanisms by which mutations in the COL3A1 gene produce diseases are poorly understood. No correlations between the nature or location of the mutation and the type or frequency of major complications have been described. Methods. We reviewed the clinical and family histories, medical and surgical complications of all patients with causative COL3A1 mutation in our Centre de Maladies Vasculaires Rares since 2001. The search for mutation was performed by direct sequencing from cDNA obtained from cultured dermal fibroblasts and/or from peripheral genomic DNA. Results. 86 vEDS patients with causative mutation were identified, including 66 probands and 20 relatives. One third of patients had a family history of sudden death. There was no statistical difference between males (n = 32) and females (n = 54), except for a more frequent presentation with Madone's features in females (89 % vs. 65 %, p = 0.02). The median age at the first major complication was 25 years for probands and 35 years for relatives, whereas the median age at diagnosis was younger in relatives



(21 years) than in probands (32 years,  $p < 0.02$ ) as a consequence of the availability of the molecular diagnosis. The first major complications were vascular (52.5 %), digestive (25 %) and obstetrical (7.5 %). Median age at the first complication was lower for probands with a digestive first complication (23 years) than for patients with vascular or obstetrical first complication (30 years,  $p = 0.01$ ). Moreover, their second major complication was more frequently digestive as compared to probands with a vascular first complication (35.3 % vs 7.5 %  $p = 0.03$ ). Sixty different mutations were found: 37 missense (61.6 %) affecting a Gly residue in the G-X-Y triplets in the triple helix, 15 splice mutations (25 %), 3 indel mutations, 4 other missense mutations including 2 located in the C-term and 1 nonsense in the C-term (Y178X). There was no clinical difference between the 54 patients with Gly missense mutations and the 24 patients with splice and indel mutations but a remarkably less typical morphotype ( $p < 0.001$ ) and less severe course in the 8 subjects with other missense or C-term nonsense mutations. In particular, the age of the first major complication was significantly higher in this latter group (44 [35-46] years) compared to patients with a Gly missense mutation (28 [21-37],  $p = 0.01$ ). Conclusion. This study suggests for the first time genotype-phenotype relationships that may affect the genetic counseling and the indication of a genetic test on COL3A1 gene. The diagnosis of vEDS should be considered in subjects with unexplained arterial rupture, even in absence of a classical morphotype.

**■P538. RECHERCHE DE MUTATIONS DANS LES GÈNES ACVRL1 ET ENDOGLIN IMPLIQUÉS DANS LA MALADIE DE RENDU-OSLER SUR UNE POPULATION DE 150 PATIENTS ET APPARENTÉS**

S. Patri, D. Haye, A.M. Delvaux, B. Gilbert-Dussardier, A. Kitzis  
Service de Génétique, CHU de Poitiers, Poitiers, France

Contact : s.patri@chu-poitiers.fr

La maladie de Rendu-Osler ou Hémorragie Télangiectasique Hériditaire (HHT) est une dysplasie vasculaire constitutionnelle d'origine génétique. Deux gènes sont principalement impliqués dans cette maladie : ACVRL1 (HHT2) et Endogline (HHT1). Ces deux gènes interviennent dans la transduction du signal TGFbeta. HHT est une maladie à transmission autosomique dominante dont la prévalence est de l'ordre de 1/10 000 en France, avec de grandes variations en fonction des régions. L'expression de la maladie est aussi extrêmement variable avec une très importante disparité des manifestations clinique allant de la présence d'épistaxis et/ou de télangiectasies jusqu'à des malformations artério-veineuses pulmonaires, neurologiques ou hépatiques, jusqu'au sein d'une même famille. Le diagnostic est clinique mais l'identification de la mutation causale du proposant est primordiale pour pouvoir proposer dans la famille le dépistage des sujets asymptomatiques ou pauci-symptomatiques qui en font la demande. Nous avons étudié 150 ADN de patients atteints de la maladie de Rendu-Osler ou d'apparentés. Pour ceci nous avons développé une technique d'étude des gènes ACVRL1 et Endogline par l'analyse des courbes de fusion haute résolution (HRM) sur un appareil 7500-Fast (Applied Biosystem). La mise au point a été faite de telle façon que toutes les amplifications soient réalisées dans les mêmes conditions. Le gène ACVRL1 est composé de 9 exons codants, 7 sont étudiés par la technique HRM en 12 amplicons ce qui permet de génotyper 5 ADN sur une plaque. Les 2 exons restants sont étudiés par séquençage direct, l'un à cause d'un polymorphisme extrêmement fréquent et l'autre parce qu'il n'a pas été possible de l'amplifier dans les mêmes conditions que les autres. Le gène Endogline est composé de 14 exons, tous étudiés par la technique HRM en 14 amplicons. Ainsi 2 plaques suffisent pour étudier 9 patients. Les éventuelles délétions chez les cas index pour lesquels nous ne trouvons aucune mutation ponctuelle sont recherchées par la technique MLPA (P193-B2, MRC-Holland) puis vérifiées par PCR multiplex semiquantitative sur DHPLC. Dans la population étudiée à Poitiers nous trouvons pour le gène ACVRL1 : 1 délétion complète du gène et 18 variations potentiellement causales dont 8 ne sont pas décrites dans la littérature (4 faux sens, 1 non sens, 1 délétion de 1 base, 1 délétion de 3 bases et 1 insertion-délétion complexe). Pour le gène Endogline notre population compte 10 variations potentiellement causales dont 2 ne sont pas décrites (1 non sens et 1 faux sens qui est certainement un polymorphisme car retrouvé très fréquemment). En ce qui concerne les mutations du gène ACVRL1, nous trouvons deux mutations très majoritaires : une au niveau de l'intron 7 (mutation d'épissage c.1048+1G>A) et l'autre au niveau de l'exon 8 (mutation faux sens p.Arg374Gln), ce qui révèle l'existence de deux effets fondateurs distincts mais géographiquement très proches (nord Deux-Sèvres).

Mots-clés : ACVRL1, Endogline, HRM.

**■P539. UNE NOUVELLE MUTATION FAUX-SENS ET DEUX RÉARRANGEMENTS DU GÈNE FOXC2 CHEZ TROIS FAMILLES PRÉSENTANT LE SYNDROME LYMPHOÈDEME-DISTICHIASIS**

A.L. Fauret (1, 2), E. Tuleja (3), X. Jeunemaître (1, 2), S. Vignes (3)  
(1) AP-HP, Hôpital Européen Georges-Pompidou, Département de Génétique et Centre de Référence des Maladies Vasculaires Rares, Paris, France ; (2) Université Paris Descartes, Faculté de Médecine, Paris, France ; (3) Hôpital Cognacq Jay, Centre de Référence des Maladies Vasculaires Rares, Paris, France

Contact : stephane.vignes@hopital-cognacq-jay.fr

Lymphoedema-distichiasis (LD) syndrome is a rare autosomal dominant disorder of the FOXC2 gene, which codes for a forkhead transcription factor. Most of the mutations described in this gene to date are deletions or insertions, suggesting a mechanism of haplo-insufficiency. In this study, three independent families with LD, presenting with both lymphoedema and distichiasis, were studied. Two microrearrangements (one 8-bp deletion and one 7-bp duplication) occurring in a GC-rich genomic region (c.893\_930) known to be prone to mutations were identified. A new missense mutation, Lys132Glu, located in the forkhead domain, a highly conserved sequence of this transcription factor, was also identified. Mutations in this domain have been previously shown to impair FOXC2 transactivation ability. At a genetic level, this study confirms the heterogeneity of mutations responsible for LD and is consistent with a mechanism of haplo-insufficiency. At a clinical level, it reinforces the importance of genetic testing in subjects with familial lymphoedema or distichiasis, since measures can be taken at an early stage to prevent complications and to reduce the progression of lymphoedema or delay its occurrence.

**■P540. OUTCOMES AND PROGNOSIS IN PATIENTS WITH TGFBR2 OR FBN1 GENE MUTATION**

D. Attias (1, 2), C. Stheneur (1, 3, 4), C. Roy (5), G. Collod-Bérout (6), D. Detaint (1, 2), L. Faivre (7), M.A. Delrue (8), L. Cohen (9), C. Francannet (10), C. Bérout (12), M. Claustres (12), F. Iserin (11), P. Khau Van Kien (12), D. Lacombe (13), M. Le Merrer (13), S. Lyonnet (13), S. Odent (14), H. Plauchu (15), M. Rio (13), A. Rossi (16), D. Sidi (11), C. Boileau (1, 18), G. Jondeau (1, 2, 19)

(1) AP-HP, Hôpital Bichat, Consultation multidisciplinaire Marfan, Paris, France ; (2) AP-HP, Hôpital Bichat, Service de Cardiologie, Paris, France, and Université Denis Diderot Paris VII, Paris, France ; (3) INSERM, U781, Paris, France ; (4) AP-HP, Hôpital A Pare, Service de Pédiatrie, Boulogne, France, and Université Versailles-SQY, Boulogne, France ; (5) AP-HP, Hôpital Bichat, Biostatistique et Recherche Clinique, Paris, France and INSERM, U738, Paris, France ; (6) INSERM, U827, Montpellier, France and Univ Montpellier1, Montpellier, France ; (7) CHU de Dijon, Centre de Génétique, Dijon, France ; (8) CHU de Bordeaux, Service de Génétique Médicale, Bordeaux, France and Université de Bordeaux, Bordeaux, France ; (9) Institut hospitalier Jacques Cartier, Unité de cardiologie pédiatrique, Massy, France ; (10) Univ Clermont1, Service de Cytogénétique Médicale, Clermont-Ferrand, France and CHU Clermont-Ferrand, UFR Médecine, France ; (11) AP-HP, Hôpital Necker-Enfants-Malades, Service de Cardiologie Pédiatrique, Paris, France and Université Paris Descartes Paris V, Paris, France ; (12) CHU Montpellier, Hôpital Arnaud-de-Villeneuve, Laboratoire de génétique moléculaire, Montpellier, France ; (13) AP-HP, Hôpital Necker-Enfants-Malades, Département de Génétique médicale, Paris, France and Université Paris Descartes Paris V, Paris, France ; (14) CHRU, Hôpital Pontchaillou, Rennes, France ; (15) Hôpital Hôtel-Dieu, Service de Génétique, Lyon, France and Université Claude Bernard, Lyon, France ; (16) CHRU de Rouen, Unité de génétique Clinique, Rouen, France ; (17) AP-HP, Hôpital Ambroise Paré, Laboratoire Central de Biochimie d'Hormonologie et de Génétique moléculaire, Boulogne, France ; (18) INSERM, U781, Paris, France ; (19) INSERM, U698, Paris, France

Contact : guillaume.jondeau@bch.aphp.fr

Background: TGFBR2 mutations were recently recognized among patients with a Marfan-like phenotype and have been associated with poor cardiovascular prognosis (early deaths, aortic dissections or early surgery for thoracic ascending aorta aneurysm). Methods : Clinical features and outcomes were analysed in a group of 71 patients (including 22 children) with a TGFBR2 mutation, collected through Marfan clinics throughout France. Patients were compared with age- and gender-matched unaffected family members (n = 50) and patients harbouring the FBN1 mutation (FBN1 group n = 243). Systematic beta-blockade, yearly echocardiography and prophylactic aortic surgery when the aortic diameter exceeded 5.0 cm for adults or earlier in children were applied to patients carrying a FBN1 mutation or a TGFBR2 mutation. Results: Skeletal, ophthalmologic features and mitral involvement were less prominent in patients with TGFBR2



mutations than in those with FBN1 mutations. The proportion of patients with aortic dilatation was similar in the TGFBR2 group and in the FBN1 group in both adults [74 % (35/47) vs. 76 % (121/160)] and children [86 % (19/22) vs. 86 % (57/66)] and aortic dilatation was very variable in both TGFBR2 and FBN1 groups. The incidence and average age of thoracic aortic surgery (31 % vs. 27 % and 35 ± 16 vs. 39 ± 13 years) were similar in the 2 groups. Surgery was performed for aortic dilatation in 12 patients and aortic dissection in 10 patients in the TGFBR2 group (vs. 43 and 23 in the FBN1 group, respectively). Both the frequency and the age of occurrence of aortic dissection were similar in the TGFBR2 and the FBN1 groups for the ascending aorta [14 % (10/71) vs. 10 % (23/243),  $p = 0.26$ ; 38 ± 12 vs. 39 ± 9 years,  $p = 0.82$ ] and for the descending aorta (3/71 vs. 8/243,  $p = 0.72$ ; 34 ± 6 vs. 44 ± 10 years,  $p = 0.16$ ). In contrast, aortic dilatation, dissection or sudden death was the index event leading to genetic diagnosis within the family in 65 % of families with TGFBR2 mutations and only 32 % in families with FBN1 mutations ( $p = 0.002$ ). When these family members were included in the survival analysis, mortality was worse in TGFBR2 families than in FBN1 families ( $p = 0.017$ ) whereas it was similar if only patients benefiting from preventive care (i.e. in whom the mutation had been identified) were included ( $p = 0.39$ ). Conclusions: The wide clinical spectrum of patients with TGFBR2 gene mutations underscores the importance of molecular biology for early diagnosis. The prognosis of a patient depends on the clinical expression of the disease and not solely on the presence of a mutation in the TGFBR2 gene.

**Mots-clés :** FBN1, TGFBR2, Marfan.

**■P541. RENTABILITÉ DE L'ANALYSE MOLÉCULAIRE FBN1 DANS LE SYNDROME DE MARFAN COMPLET OU INCOMPLET : EXPÉRIENCE DU CENTRE DE RÉFÉRENCE**

S. Funtowicz (1), V. Cusin (1), B. Grandchamp (1, 2), C. Steneur (1-3), D. Detaint (1), G. Jondeau (1), C. Boileau (1-4), L. Gouya (1)

(1) Centre de référence Syndrome de Marfan et apparentés, Hôpital Bichat Claude-Bernard, AP-HP, Paris, France ; (2) Service de biologie moléculaire, Hôpital Bichat Claude Bernard, AP-HP, Paris, France ; (3) Service de pédiatrie, CHU Ambroise Paré, Paris, France ; (4) Laboratoire de biochimie, d'hornologie et de génétique moléculaire, CHU Ambroise Paré, Paris, France

Contact : sarah.funtowicz@bch.aphp.fr

Le syndrome de Marfan (SM) est une fibrillinopathie autosomique dominante pour laquelle le diagnostic clinique est retenu selon des critères internationaux. La conférence de Berlin de 1986 retenait le diagnostic de SM devant une atteinte squelettique et d'au moins deux autres systèmes dont au moins un de manière majeure. En 1996, à Ghent, une modification des critères a permis d'affiner la clinique et d'intégrer des progrès de la génétique moléculaire. Selon les critères de Ghent, le diagnostic est retenu si 3 systèmes sont atteints dont au moins deux de manière majeure. Le SM est dû le plus souvent à des mutations du gène FBN1 codant pour la protéine fibrilline 1. Plus rarement les gènes TGFBR1 et TGFBR2 sont mutés. Depuis 1995, le laboratoire de génétique moléculaire de l'hôpital Ambroise Paré a étudié 398 proposants du centre de référence « syndrome de Marfan et apparentés. Les critères de sélection des proposants étudiés au niveau moléculaire reposent, pour les plus anciens patients, sur la présence d'au moins un signe majeur des critères de Berlin. Ultérieurement, la sélection a été établie devant la présence d'au moins un signe majeur et de l'atteinte d'un deuxième système selon les critères de Ghent. Les mutations sont recherchées par deux approches complémentaires : i) le séquençage direct des 65 exons et régions flanquantes du gène FBN1 qui recherche les défauts moléculaires de petite taille ii) la technique de MLPA (Multiplex ligation-dependent probe amplification) qui recherche les réarrangements de grande taille sur 53 des 65 exons du gène. Une mutation du gène FBN1 a été mise en évidence chez 301 patients (75 %). Parmi les 398 proposants, 344 présentaient un diagnostic de SM selon les critères de Ghent. 280 (81,4 % ; 280/344) de ces patients, présentent une mutation délétère du gène FBN1 (170 mutations faux sens et 110 mutations caractérisées par la présence d'un codon STOP prématuré direct ou indirect). Chez 97 proposants (64 SM et 33 ne remplissant pas les critères de Ghent), aucune mutation du gène FBN1 n'a été identifiée et les gènes TGFBR2 et TGFBR1 ont été étudiés. Quatorze mutations ont alors été identifiées (10 dans le gène TGFBR2 et 4 dans le gène TGFBR1). Parmi les sujets SM, 11 (3,2 % ; 11/344) présentaient une mutation dans l'un des deux gènes (9 pour TGFBR2 et 2 pour TGFBR1). Ainsi, il reste 53 proposants SM (15,4 % ; 53/344) pour lesquels aucune altération n'a été retrouvée. Pour ces proposants nous allons : i) rechercher un remaniement majeur au niveau du promoteur et des régions non encore explorées et ii) procéder à des analyses familiales dans les familles de taille adéquate pour confirmer ou infirmer l'implication de l'un des trois gènes connus. Il est possible qu'à l'issue de ces explorations complémentaires, nous disposerons de quelques familles pour lesquelles l'implication d'un autre gène

sera associée au SM, montrant ainsi l'existence d'une hétérogénéité génétique encore plus grande.

**Mots-clés :** syndrome de marfan, gène FBN1, hétérogénéité génétique.

**■P542. LA COEXISTENCE D'UN SYNDROME DE LOEYS-DIETZ DE TYPE I ET II CHEZ UN PATIENT, EXPLIQUÉE PAR LA GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE**

A. Plancke (1), C. Abadie (1, 2), C. Baudoin (1), P. Sarda (2, 3), M. Clausures (1, 4, 5), P. Blanchet (2), P. Khau Van Kien (1, 3)

(1) Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHU Montpellier, Montpellier, France ; (2) Service de Génétique Médicale, CHU Montpellier, Montpellier, France ; (3) Centre de Compétence Maladies Vasculaires Rares, CHU Montpellier, Montpellier, France ; (4) INSERM U827, Montpellier, France ; (5) Université Montpellier 1, Montpellier, France  
Contact : aurelie.plancke@inserm.fr

Le syndrome de Loeys-Dietz (SLD) est caractérisé par : une transmission autosomique dominante, des mutations dans les gènes TGFBR1 et TGFBR2 et une triade : anévrismes / tortuosité artérielle diffuse, hypertélorisme et anomalie du palais ou de la lèvre. Le spectre des manifestations phénotypiques en rapport avec les mutations de ces gènes est très large : prédispositions au cancer (HNPCC), SLD, syndrome de Marfan de type II et prédispositions non syndromiques aux dissections de l'aorte. Le phénotype du SLD est lui même hétérogène et on distingue le SLD de type I « Marfan-like » du type II « Elhers-Danlos vasculaire (SEDv)-like ». Nous rapportons ici l'observation d'un homme de 20 ans, opéré de l'aorte ascendante à l'âge de 12 ans et présentant des signes cliniques de SEDv (2 critères majeurs : peau fine et translucide, fragilité artérielle et 3 mineurs : acrogéria, hypermobilité articulaire, pieds-bots varus-équins), de Marfan (critère majeur aortique, mineur squelettique : scoliose >20°/spondylolisthesis, pectus excavatum modéré, hypermobilité articulaire) et de SLD (état dolichoartériel diffus, fente palatine sous-muqueuse). Les antécédents familiaux sont sans particularités mais, sa mère présente de discrets signes de SEDv : peau fine et translucide, ecchymoses extensives (sans anomalies d'hémostase), récessions gingivales (greffes de gencive), hypermobilité articulaire, problèmes de cicatrisation (suites de chirurgie de hernie inguinale à 12 ans et d'une appendicectomie à 20 ans). L'étude génétique menée à partir d'un prélèvement de sang du cas index révèle la présence en trans de deux mutations non décrites à ce jour dans le même amplicon du gène TGFBR1 (exon 3 et bordures introniques) : c.400delG (prédictive d'un décalage du cadre de lecture) et c.344-4delT (ou IVS2-4delT). L'étude du prélèvement des parents montre que la mutation c.400delG est survenue *de novo* sur un chromosome paternel (sauf mosaïcisme germlinal) alors que la mutation IVS2-4delT est héritée de la mère. L'étude d'une culture de fibroblastes cutanés obtenue chez le cas index permettant l'analyse des ARN totaux révèle trois populations de transcrits TGFBR1 : 1 – mutation c.400delG, 2 – transcrits normaux et 3 – insertion de 11 nucléotides introniques en rapport avec l'activation par la mutation IVS2-4delT d'un site cryptique accepteur d'épissage. Le patient présente donc une hétérozygotie composite, avec un allèle maternel hypomorphe (anomalie partielle d'épissage) et un allèle nul *de novo*. Dans cette famille, l'allèle IVS2-4delT confère manifestement un phénotype SLD type II « SEDv-like » alors que l'allèle c.400delG est associé à un phénotype SLD type I « Marfan-like ». Il s'agit à notre connaissance de la première corrélation génotype/phénotype pour les mutations de TGFBR1.

**Mots-clés :** Loeys-Dietz, hétérozygotie composite, corrélation génotype/phénotype.

**■P543. UNE MUTATION R611Q DE LA SOUS-UNITÉ MED23 DU COMPLEXE MÉDIATEUR EST ASSOCIÉE À UNE FORME AUTOSOMIQUE RÉCESSIVE DE RETARD MENTAL NON SYNDROMIQUE**

S. Boissel\*, M. Zarhrate\*, M. Rio, A. Munnich, L. Colleaux  
INSERM U781 et Département de Génétique, Université Paris Descartes, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France

\* Ces deux auteurs ont contribué de façon équivalente au travail.

Contact : sarah.boissel@inserm.fr

Le retard mental (RM) est défini comme « un fonctionnement intellectuel significativement inférieur à la moyenne associé à des limitations des fonctions adaptatives » (DSM-IV). 25 % des cas de retard mental non syndromique (RMNS), où le RM est le seul signe clinique observé, s'expliquent par un mode de transmission autosomique récessif (AR). Néanmoins, l'extrême hétérogénéité des formes récessives autosomiques et la taille souvent trop restreinte des fratries a longtemps freiné l'identification des gènes responsables de RM récessifs autosomiques. Seuls 5 gènes de RMNS AR ont été identifiés à ce jour. Nous avons eu l'opportunité d'étudier une

famille consanguine algérienne dans laquelle 5 enfants atteints présentent un RMNS. Mettant à profit la stratégie de cartographie par autozygotie, nous avons mis en évidence une région unique d'homozygotie de 6,5 Mb en 6q22.31-q23.2, avec un LOD score maximum de 4,16 au locus D6S3136. Cette région contient 44 gènes connus. Nous avons identifié une variation homozygote dans le gène MED23 (p.R611Q), qui co-ségrège avec la maladie et n'a pas été retrouvée chez 608 chromosomes contrôles (dont 242 chromosomes de la même origine ethnique), suggérant qu'elle est vraisemblablement à l'origine du RM. MED23 code une des sous-unités d'un large complexe multiprotéique : le Médiateur (MED). Ce complexe est un élément clef de la machinerie générale de transcription qui sert d'interface dynamique entre les facteurs de transcription spécifiques et l'ARN polymérase II (Ryu *et al.*, Nature, 1999). De façon très intéressante, des mutations faux sens de la sous unité MED12 sont associées aux syndromes d'Opitz-Kaveggia (Risheg *et al.*, Nature genetics, 2007) et de Lujan (Schwartz *et al.*, Journal of Medical genetics, 2007), qui sont deux syndromes de RM liés à l'X. Des expériences de RT-PCR sur des ARNs de tissus adultes et fœtaux montrent une expression ubiquitaire de MED23. Par ailleurs, des études de RT-PCR quantitative réalisées dans des cellules de patients, suggèrent une anomalie d'expression de certains des gènes régulés par le complexe MED. Enfin, des études par immunoprécipitation de chromatine sont maintenant en cours pour tenter de corréliser ces anomalies à un éventuel défaut d'assemblage des différents partenaires de la machinerie transcriptionnelle. En conclusion, nos résultats confirment l'efficacité de la cartographie par autozygotie pour identifier de nouveaux gènes responsables de pathologies autosomiques récessives rares. Ils apportent également un nouvel argument en faveur du rôle majeur du complexe MED dans l'étiologie des retards mentaux. Enfin, les analyses en cours devraient nous permettre de mieux caractériser la fonction de MED23 au cours du développement du système nerveux central.

**Mots-clés :** retard mental, complexe mediator, transcription.

#### ■P544. MALADIES GÉNÉTIQUES EN TUNISIE : UNE REVUE SYSTÉMATIQUE

L. Romdhane, I. Manai, S. Romdhane, S. Abdelhak  
*Investigation Moléculaire des Maladies Orphelines d'Origine Génétique, Institut Pasteur de Tunis, Tunisie*  
 Contact : sonia.abdelhak@hexabyte.tn

La Tunisie est un pays Nord Africain situé à un carrefour entre l'Afrique et l'Europe. Les données concernant les maladies génétiques dans les pays en voie de développement, tel que la Tunisie, sont peu disponibles bien que les pathologies héréditaires y sont considérées comme un réel problème de santé publique à cause du taux élevé de la consanguinité qui peut atteindre 60 %. L'objectif de cette présente étude est d'évaluer l'ampleur des maladies génétiques affectant la population tunisienne à travers une revue de la littérature scientifique. Une recherche dans les textes d'OMIM a été effectuée. Une revue systématique des publications de PubMed en utilisant les mots-clés « genetic disease Tunisia » et « Tunisian patient » a été aussi réalisée. Les données de la « littérature grise » ont été récupérées à partir des rapports de meetings nationaux et internationaux, journaux locaux, thèses de médecine et de biologie ainsi que de monographies. Les rapports comprennent les données épidémiologiques, cliniques, génétiques et moléculaires ont été sélectionnés. Les données concernant les maladies génétiques affectant la population tunisienne concernent des patients vivant en Tunisie et à l'étranger. Une liste non exhaustive de 251 de désordres génétiques a été identifiée. Parmi eux, 66,93 % sont autosomiques récessifs, 21,51 % autosomiques dominants, 5,18 % liés au chromosome X, 0,4 % liés au chromosome Y, 0,8 % à transmission mitochondriale, 2 % à transmission mixte, 2,4 % sporadique, et 0,8 % de mode de transmission inconnue. Cinquante cinq pour cent de ces maladies génétiques ont une étiologie moléculaire connue et sont due à au moins une mutation. Un effet fondateur a été noté dans 7,17 % des maladies dont 50 % sont spécifiques à la population Tunisienne, le reste étant communs à d'autres populations nord africaines. Pour plusieurs cas, l'hétérogénéité est responsable pour leur fréquence élevée. L'hétérogénéité allélique est aussi marquée et conduit à l'expression du même phénotype morbide. Étant donné les taux élevés de consanguinité et endogamie en Tunisie combinés avec un effet fondateur, plusieurs désordres génétiques ont émergé, ceux qui sont transmis selon le mode récessifs comptant pour la majorité. Actuellement en Tunisie, il existe plusieurs études sur la prévention de l'handicap à travers les réseaux pluridisciplinaires. Les programmes d'éducation sur la santé tôt pendant le cursus scolaire semble être un excellent moyen de prévention de telles pathologies pour un pays en voie de développement comme la Tunisie. Pour des raisons géographiques, socioculturelles et historiques, notre étude a un impact au niveau régional, étant donné que la structure de la population tunisienne est très similaire à celles des pays voisins.

**Mots-clés :** maladies génétiques, Population Tunisienne, consanguinité.

#### ■P545. DÉVELOPPEMENT DU DIAGNOSTIC MOLÉCULAIRE POUR LES MALADIES GÉNÉTIQUES RARES EN TUNISIE

R. Kefi-Ben Atig pour l'Unité de recherche sur les maladies orphelines d'origine génétique (contribution égale par ordre alphabétique : S. Abdelhak, A. Amouri, A. Abid, I. Arfa, M. Bchetnia, A. Sabrina Ben Brick, N. Ben Halim, M. Ben Rekaya, F. Ben Rhouma, C. Charfeddine, S. Chakroun, F. Cherif, L. Chérif-Ben Abdallah, W. Chérif, I. Chouchane, I. Dorboz, K. Lasram, O. Messaoud, H. Messai, S. Nouira, F. Ouechtati, H. Ouragini, L. Romdhane, F. Talmoudi, M. Majdi Zorgati), M. Mokni, S. Boubaker, M.F. Ben Dridi, L. Elmatri, F. Warda, K. Monastiri, H. Ben Abid, N. Miladi, S. Kachboura, N. Kaabachi, F. Amri, A. Ayadi, M. Tahar Sfar

*Exploration Moléculaire des Maladies Orphelines d'origine Génétique-Institut Pasteur de Tunis, Tunisie*

Contact : rym.kefi@pasteur.rns.tn

En Tunisie, comme dans tous les pays nord africains, la fréquence des maladies génétiques est relativement élevée, notamment pour les maladies à transmission autosomique récessive, à cause de la consanguinité et de l'endogamie. Au cours de ces dernières années, nous avons contribué à la caractérisation moléculaire de plusieurs maladies génétiques rares telles que l'anémie de Fanconi, les BCGites, l'anémie mégaloblastique, la kératodermie palmo-plantaire et la granulomatose septique chronique. Une stratégie standardisée a été adoptée. Dans un premier temps, le génotype des patients et de leurs familles est déterminé par des marqueurs moléculaires polymorphes de type microsatellites, flanquant les gènes candidats connus dans la littérature. L'implication ou non de ces gènes candidats est mise en évidence par homozygotie par descendance. Dans le cas d'une liaison génétique, la recherche des mutations est réalisée par séquençage direct de la région codante et de la jonction exon/ intron du gène d'intérêt. L'étude de ces affections a montré une hétérogénéité clinique et génétique reflétant une grande richesse du patrimoine génétique de la population tunisienne. Ce haut degré de polymorphisme est dû aux flux migratoires multidirectionnels qu'a connu l'Afrique du Nord tout au long de son histoire. La valorisation de ces résultats de recherche s'est traduite par la mise en place du diagnostic moléculaire pour plusieurs maladies rares, handicapantes sur le plan physique et social, telles que la maladie de Gaucher, les glycoséoses type Ia et type III et les maladies cassantes de l'ADN. Ce qui a permis une meilleure prise en charge des patients et de leurs familles.

## Pharmaco-génétique

#### ■P546. EST-IL PERTINENT D'INTEGRER LE TEST GÉNÉTIQUE DE KRAS À L'ARBRE DÉCISIONNEL THÉRAPEUTIQUE DU CANCER COLORECTAL MÉTASTATIQUE ?

S. Küry (1, 2), C. Bossard (2), F. Airaud (1), I. Maury (1), P. Jamet (3), H. Senellart (4), T. Matysiak-Budnik (3), J.F. Mosnier (2), S. Béziau (1, 2)

(1) CHU de Nantes, pôle de Biologie, service de Génétique Médicale, Nantes, France ; (2) Université de Nantes, Faculté de Médecine, EA 4273 Biomédadys, Nantes, France ; (3) CHU de Nantes, Institut des Maladies de l'Appareil Digestif, Service d'Hépatogastroentérologie, Nantes, France ; (4) Centre de Lutte Contre le Cancer Nantes Atlantique René Gauducheau, Nantes, France

Contact : sebastien.kury@chu-nantes.fr

Introduction : Des études récentes ont montré que les patients atteints d'un cancer colorectal (CCR) métastatique dénué de mutation du gène KRAS pouvaient bénéficier d'un traitement associant à une chimiothérapie conventionnelle un anticorps monoclonal dirigé contre le récepteur à l'EGF (Epidermal Growth Factor). Or, il apparaît que seuls 20 à 50 % des patients non mutés présentent une réponse objective à ce traitement. L'hétérogénéité tumorale pourrait être l'une des raisons de cette « résistance » thérapeutique. Pour vérifier cette hypothèse, nous avons comparé les statuts mutationnels des gènes KRAS et BRAF entre la tumeur primitive et les métastases correspondantes, synchrones et/ou métachrones, de patients atteints de CCR métastatique. Méthode : Le statut mutationnel des gènes KRAS (codons 12 et 13) et BRAF (mutation V600E) a été analysé rétrospectivement dans les tumeurs primitives (n = 24), les métastases viscérales synchrones et/ou métachrones (n = 33) et les récidives locales (n = 1) de 20 patients atteints d'un CCR métastatique et traités par un anticorps anti-EGFR. Pour chaque patient, le nombre de métastases analysables était compris entre 1 et 4. Au total, 17 appariements entre tumeur primitive et métastase(s) ou récidive ont pu être étudiés. L'analyse mutationnelle a été réalisée par séquençage direct des amplicons PCR d'ADN génomique extrait de coupes paraffinées. La zone d'intérêt était systématiquement



macrodiséquée et seuls les échantillons contenant au moins 50 % de cellules tumorales ont été examinés. Résultats : Une mutation KRAS a été identifiée dans 10 des 20 tumeurs colorectales primitives (50 %), 16 des 31 métastases (51 %), ainsi que dans la récurrence locale. Aucune mutation BRAF V600E n'a été mise en évidence. Alors que le profil mutationnel entre tumeur primitive et métastase(s) était concordant chez 10 patients (59 %), une discordance était observée chez sept autres patients (41 %) : dans 2 cas, la tumeur colorectale primitive était mutée et la métastase synchrones non mutée ; dans 1 cas, une mutation était détectée uniquement dans la récurrence locale ; dans 1 cas, la tumeur colorectale et une métastase synchrones étaient non mutées, par opposition à deux autres métastases mutées, l'une synchrones et l'autre métachrone ; dans 1 cas, une mutation, identifiée dans la tumeur colorectale primitive et dans une métastase synchrones, n'était pas retrouvée dans une métastase métachrone ; enfin, chez deux patients présentant un CCR synchrones multifocal, des résultats discordants ont été observés à la fois entre les tumeurs primitives, entre les métastases et entre les tumeurs primitives et les métastases. Conclusion : Cette étude démontre une hétérogénéité génotypique significative dans les CCR entre les tumeurs primitives et les métastases correspondantes. Ces données posent le problème de la valeur de l'information apportée par le test de KRAS dans le choix des options thérapeutiques concernant les patients atteints d'un CCR métastatique.

**Mots-clés :** KRAS, cancer du côlon métastatique, hétérogénéité génotypique.

#### ■P547. ORIGIN AND QUANTIFICATION OF CIRCULATING DNA FROM COLORECTAL CANCER MOUSE XENOGRAFTS MODEL AND PATIENTS

A.R. Thierry\* (1), F. Moulière (1), J. Ollier (1), B. Robert (2), C. Gongora (2) M. Del Rio (2), F. Molina (1)  
(1) Sysdiag UMR3145, CNRS/BIO-RAD, Montpellier, France ; (2) U896 INSERM-Université Montpellier 1, IRCM CRLC Montpellier, France  
Contact : alain.thierry@sysdiag.cnrs.fr

Although circulating DNA (ctDNA) appears as an attractive tool for aid in early detection, diagnosis, prognosis, disease monitoring or prediction of response to therapies, knowledge on origin, form and rate of release is still poor and often display discrepancies in the literature. We describe the use of an animal model system and molecular tools enabling systematic side by side examination of those critical aspects. Nude mice were xenografted with human HT29 or SW620 colorectal carcinoma (CRC) cells and ctDNA were analyzed by RT-qPCR at different time post-graft. This experimental model allowed us to discriminate ctDNA deriving from normal cells (murine), and mutated and non-mutated tumor cells by targeting KRAS or PSAT1 genes specific sequences to both species and upon the presence of KRAS G12V or B-RAF V600E mutation. We optimized sample acquisition, handling and preparation to hinder experimental variability. Q-PCR primer systems were selected to obtain high specific and sensitive ctDNA quantification. Our results suggest that plasma vs. serum appear as a better blood fraction for discriminating temporal ctDNA by qPCR analysis. Human-derived ctDNA level significantly increased with tumor growth, and total ctDNA amount (human- plus mouse-derived ctDNA) reached a 12 ng/ml plasma range corresponding to 2,800 copies/ml plasma in mice bearing high tumor weight (1 to 2 g). In contrast, a slightly significant increase of mouse (non-tumor) ctDNA level was only observed in high weight tumor xenografts. Tumor (human origin)/non tumor (mouse origin) ctDNA ratio significantly increase with tumor size (49%, 70% and 87%, and 0%, 57% and 91% in low, medium and high tumor weight bearing HT29 and SW620 xenografts, respectively). This animal model underscores the proportion of tumor-derived ctDNA facilitating its examination, especially when studying mutant ctDNA. We designed an original primer set system making possible to directly compare ctDNA degree of fragmentation by calculating an index, we termed DNA Integrity Index (DI). Data confirmed the high predominance of mononucleosome-derived fragments from CRC tumor and, as a consequence, of apoptosis as a source of ctDNA. Similar data were obtained when examining CRCm plasma samples (n = 20) in a comparative study with using healthy individuals (n = 9). Hence, our results strongly suggest that ctDNA size may vary with CRC tumor development and that such an animal model might provide clue to observe, among other parameters, the variation of ctDNA pattern upon the type of release. It may facilitate in scrutinizing the kinetics, fate and forms of ctDNA, in particular for designing specific tumor-derived ctDNA analysis. Ultimately this animal model might be useful to develop accurate and sensitive diagnostic tests for SNPs detection which are now required for predicting good response to new potent anticancer compounds, and to inspect whether ctDNA have any function or pathological effects.

**Mots-clés :** ADN circulant, cancer, mutation.

#### ■P548. APPORT DE LA COMBINAISON QPCR-HRM-PYRO-SÉQUENÇAGE POUR LA DÉTERMINATION DES MUTATIONS ONCOGÉNIQUES (KRAS ET BRAF) DE RÉSISTANCE AUX TRAITEMENTS ANTI-EGFR DANS LE CANCER DU CÔLON

E. Rouleau, L. Matthys, B. Rousseau, F. Maroane, C. Lefol, C. Guy, F. Copigny, F. Spyrtatos, J.M. Guinebretiere, R. Lidereau, I. Bieche  
Plateforme HUVEGEN, Centre René Huguenin, Saint Cloud, France  
Contact : rouleau@crh1.org

Avec l'avènement des nouvelles thérapeutiques ciblées dans le cancer du côlon, la caractérisation des marqueurs moléculaires est devenue une analyse de routine, principalement avec la recherche des mutations des codons 12 et 13 du gène KRAS comme marqueur de résistance aux traitements anti-EGFR. Entre 30 et 40 % des patients montrent une mutation sur un de ces deux codons. Cependant, on estime à environ 50 % le nombre de patients montrant l'absence de mutations des codons 12 et 13 du gène KRAS et qui ne répondent pas au traitement anti-EGFR. Deux hypothèses pour expliquer ce chiffre en diagnostic de routine : 1) le manque de sensibilité des techniques couramment utilisées 2) l'existence de mutations activatrices non recherchées. Pour ce faire, dans le cadre de l'activité de la plateforme HUVEGEN, nous avons évalué une nouvelle approche combinant la qPCR-HRM (Light-Cycler 480 – ProbeMaster<sup>®</sup>, Roche Diagnostic) et le pyroséquençage (PyroMark™Q96 ID, Qiagen). Le critère principal était l'impact sur le nombre de mutations identifiées sur les codons 12 et 13. Nous avons voulu aussi évaluer la prévalence d'autres mutations sur les gènes KRAS (codon 61), et BRAF (codon 600) dans des tumeurs adressées dans le cadre de la recherche des mutations sur les codons 12-13 du gène KRAS. Les tumeurs analysées provenaient principalement de patients opérés dans l'Ouest parisien (78-92). Les échantillons avaient été tous caractérisés en routine et en répliquat par la combinaison qPCR-HRM et séquençage Sanger des produits amplifiés (Dye Terminator<sup>®</sup>, ABI3130, Applied Biosystem). Les extractions ont été reprises par une approche combinant qPCR-HRM et pyroséquençage pour l'ensemble des mutations étudiées. Une comparaison entre amplification PCR classique et amplification par COLD-PCR fut également appréhendée. Sur 192 ADN sélectionnés sur la qualité de l'ADN, aucune nouvelle mutation du gène KRAS des codons 12 et 13 n'a été identifiée par l'approche HRM-pyroséquençage. 75 tumeurs avaient une mutation sur les codons 12 à 13 (39 % IC [32 %-46 %]). Seule l'approche de COLD-PCR a permis de augmenter la quantité des amplicons mutés d'un facteur deux en moyenne ce qui peut en faire une approche de choix pour les tumeurs avec un faible % de cellules tumorales. Cinq tumeurs avaient une mutation sur le codon 61 (3 %, IC [0,4 % ;5 %]) et 14 une mutation sur le gène BRAF (8 %, IC [4 % ;12 %]). Les mutations sur le codon KRAS 61 et sur le codon BRAF 600 étaient exclusives des mutations sur les codons KRAS 12 et 13. Ces résultats sont en accord avec la littérature. Nous avons donc recensé 94 mutations des gènes KRAS ou BRAF sur 192 échantillons (49 %). Nous avons pu montrer la faisabilité de la combinaison qPCR-HRM-pyroséquençage. La sensibilité a été comparable à l'approche qPCR-HRM-Sanger pour un coût et une rapidité d'obtention des résultats plus intéressants. La caractérisation de cette cohorte sera poursuivie sur d'autres gènes et sera complétée par des données clinico-thérapeutiques.

**Mots-clés :** KRAS-BRAF, pyroséquençage, qPCR-HRM.

#### ■P549. IDENTIFICATION DES MUTATIONS DU GÈNE KRAS PAR TECHNOLOGIES ARMS ET SCORPIONS : INTÉRÊT ET LIMITES D'UN KIT CE-IVD

S. Bravo (1), J.P. Brouillet (1, 2), A. Evrard (1, 2), A. Polge (1), S. Lumbroso (1, 2), J.C. Boyer (1)  
(1) Laboratoire de Biochimie, CHU Caremeau, Nîmes, France ; (2) Institut de Génomique Fonctionnelle, département d'oncologie moléculaire et cellulaire, Montpellier 1, France  
Contact : sophie.bravo@chu-nimes.fr

Le ciblage de la voie du récepteur à l'EGF a permis le développement d'une thérapie ciblée améliorant la prise en charge des patients atteints de cancer colorectal. Cependant certains patients ne répondent pas au traitement par les anticorps anti-EGFR. Des études ont montré le rôle prépondérant du gène KRAS (codons 12 et 13) pouvant expliquer cette résistance. Ainsi, il est devenu obligatoire d'analyser le statut mutationnel du gène KRAS afin d'identifier les patients potentiellement répondeurs. Dans ce travail, nous nous sommes donc proposés de tester une technologie d'amplification avec sondes ARMS et Scorpions [Kit CE-IVD ROCHE-DXS<sup>®</sup> couplé à un LightCycler 480 II (Roche diagnostic)]. Le statut mutationnel déterminé initialement par séquençage de 58 échantillons d'ADN extraits de côlon (38) ou de poumon (20)



inclus en paraffine a été comparé à celui obtenu automatiquement grâce au logiciel du kit. Pour expliquer les discordances nous avons cherché à comprendre l'algorithme utilisé par le logiciel, ce qui nous a conduit à effectuer une ré-interprétation biologique manuelle par double lecture. Dans un second temps nous avons ré-analysé 44 échantillons en optimisant les conditions d'utilisation du kit (diminution du volume réactionnel). L'analyse automatisée des 58 échantillons permet de mettre en évidence 17 mutations alors que 14 étaient détectées en séquençage. Après interprétation biologique, 11 mutations supplémentaires sont observables. Par ailleurs, 3 échantillons non amplifiables en séquençage, sont analysés correctement par le logiciel. La limite de sensibilité propre à chaque technique est discutée au regard de ces résultats. Le statut mutationnel n'a pu être déterminé par le logiciel dans 27 % des cas (16 échantillons) du fait de la faible amplification d'un contrôle interne exogène associée à une amplification tardive du témoin (exon 4 du gène KRAS). Les limites de la technique apparaissent dans ces cas, où seules quelques copies d'ADN sont amplifiables et des résultats invalides peuvent alors être générés par l'analyse automatisée. Les résultats obtenus avec les 44 échantillons après modification des conditions d'utilisation du kit sont similaires aux données observées dans les conditions standard. La technique avec sondes ARMS et Scorpions ROCHE-DXS® reste plus sensible, plus simple et plus rapide à mettre en œuvre que le séquençage. Elle apparaît être adaptée pour l'identification en routine hospitalière des mutations du gène KRAS à partir de prélèvements tissulaires inclus en paraffine. Néanmoins l'interprétation biologique reste essentielle. Il convient maintenant de poursuivre l'optimisation des conditions expérimentales afin de diminuer le coût de revient de l'analyse tout en conservant ses qualités. Nous envisageons par ailleurs de confronter ces résultats à la réponse des patients à la thérapie ciblée.

**Mots-clés :** thérapie ciblée, KRAS, mutation.

**■P550. VARIATIONS IN SECRETORY PLA2 TYPE IIA GENE IMPACT CIRCULATING SECRETORY PLA2 ACTIVITY AND 1-YEAR CLINICAL OUTCOME FOLLOWING ACUTE MYOCARDIAL INFARCTION: A NATIONWIDE FRENCH REGISTRY**

S. Kotti (1), T. Simon (2), for the fast-MI investigators  
(1) URC-EST, Hôpital Saint Antoine (AP-HP), Paris, France ; (2) Pharmacology Department, Hôpital Saint Antoine (AP-HP), Université Pierre-Marie-Curie-Paris 06, Paris, France  
Contact : skotti@chusa.jussieu.fr

Background : Increased secretory phospholipase A2 (sPLA2) activity, which encompasses several types of sPLA2 including the group IIA, has been shown to be a predictor of coronary artery disease and recurrent events. Aim and Method: We tested this hypothesis in patients enrolled in a nationwide French registry by assessing the relationship between serum levels of sPLA2 type IIA mass, sPLA2 activity, variations of sPLA2 type IIA gene (PLA2G2A), and their impact on risk of death and recurrent myocardial infarction (MI) during 1-year follow-up. Findings: Serum levels of sPLA2 activity were associated with risk of all-cause death and recurrent MI at 1 year. The impact of sPLA2 activity remained significant after adjustment for known cardiovascular risk factors, C-reactive protein, sPLA2 type IIA levels, and treatments (including statins): 1.62 (0.96-2.72) and 1.92 (1.17-3.17) for second and third tertiles vs first tertile ( $p = 0.037$ ). Five single nucleotide polymorphisms in PLA2G2A were identified and distinguished six common haplotypes (frequencies  $\geq 5\%$ ), which accounted for 94 % of the observed haplotypes. By single locus analysis, the rs11573156 G allele was associated with an increased level of sPLA2 activity ( $p < 10^{-6}$ ). The GCGAA haplotype, the only haplotype carrying the rs11573156 G allele, was associated with an increase in sPLA2 activity up to 34.5 % (2.22 nmol/mL/min) versus the most frequent CAGAA haplotype (1.65 nmol/mL/min,  $p < 0.0001$ ). The same haplotype was also associated with risk of death and recurrent MI. After adjustment for age, sex, diabetes, hypertension, C-reactive protein, and early statin therapy, the association between GCGAA haplotype and outcome remained significant (odds ratio 1.84, 95% confidence interval 1.14-2.95,  $p = 0.01$ ); further adjustments for serum levels of sPLA2 type IIA mass and sPLA2 activity abolished the association GCGAA (1.33, 0.81-2.18,  $p = 0.25$ ). Interpretation: Variations in PLA2G2A are associated with serum levels of sPLA2 activity and major 1-year clinical outcome in patients with acute MI. This finding suggests a causal role of sPLA2 activity in the complications of coronary artery disease in humans.

**Mots-clés :** pharmacogenetics, acute myocardial infarction, sPLA2 activity.

**■P551. ASSOCIATION DU TRANSPORTEUR DE LA NORADRÉNALINE, GÈNE NET/SLC6A2, À L'EFFICACITÉ DU TRAITEMENT PAR L'ATOMOXÉTINE DES ENFANTS AVEC DÉFICIT D'ATTENTION/HYPERACTIVITÉ (TDAH)**

N. Ramoz (1), C. Boni (1), A.D. Downing (2), S.L. Close (2), S. Peters (2), A. Prokop (3), A. Allen (2), M. Hamon (1, 4), D. Purper-ouakil (1, 5), P. Gorwood (1, 6)  
(1) INSERM U894, Centre de Psychiatrie et Neurosciences, Paris, France ; (2) Lilly Research Laboratories, Lilly Corporate Center, Indianapolis, USA ; (3) BioStat Solution Inc, MontAiry, USA ; (4) INSERM U288, Paris, France ; (5) Hôpital Robert-Debré, Paris, France ; (6) CMME, Hôpital Sainte-Anne, Paris, France  
Contact : nicolas.ramoz@inserm.fr

L'atomoxétine est un inhibiteur spécifique du transporteur de la noradrénaline/norépinéphrine (NET), dont l'efficacité est démontrée dans le traitement des enfants avec déficit d'attention/hyperactivité (TDAH). Nous avons déterminé si des polymorphismes dans le gène NET/SLC6A2 peuvent influencer la réponse à l'atomoxétine dans le TDAH. Deux cohortes indépendantes de 160 et 105 enfants avec TDAH ont été traitées 6 semaines avec l'atomoxétine (0,5-1,8 mg/kg/jour). Le gène CYP2D6, dont le produit métabolise l'atomoxétine, a été génotypé ainsi que 108 polymorphismes nucléotidiques (SNP) localisés dans le gène NET/SLC6A2. La réponse au traitement a été définie comme une diminution de 25 % dans l'instrument de mesures cliniques TDAH Rating Scale IV-Parent Version et un score inférieur ou égal à 2 pour le Global Impression-Severity (CGI-S). La réponse interindividuelle est indépendante des variants de CYP2D6. Des associations significatives ( $p < 0,05$ ) ont été observées entre 20 SNP de NET/SLC6A2 et l'efficacité clinique de la réponse au traitement par l'atomoxétine. La région génomique dans les exon 4 à 9 du NET/SLC6A2, haplotype contenant 36 SNP, a été associée à la réponse au traitement dans les deux cohortes (respectivement  $p < 0,01$ , OddsRatio = 2,2 et  $p = 0,026$ , OR = 1,8), dans la cohorte combinée ( $p < 0,01$  et OR = 1,83) et dans le sous-groupe des patients Caucasiens ( $p = 0,02$  et OR = 1,8). Ainsi l'efficacité clinique du traitement par l'atomoxétine dans le TDAH montrerait une dépendance potentielle de facteurs génétiques que constituent ses cibles mécanistiques, à savoir les polymorphismes du gène codant le transporteur de la noradrénaline. Étant donnée la forte héritabilité du TDAH, l'identification par les présents travaux d'une association significative qui est répliquée dans 2 cohortes indépendantes, des analyses génétiques complémentaires de cette région sont nécessaires pour déterminer la part de pharmacogénétique dans la réponse au traitement par l'atomoxétine dans le TDAH.

**Mots-clés :** transporteur noradrénaline, déficit d'attention/hyperactivité, haplotype.

**■P552. THE STUDY OF PHARMACOGENETICALLY RELEVANT VARIANTS IN THE AZOREAN POPULATION (PORTUGAL)**

T. Pereira (1), S. Bulhoes (1), P.R. Pacheco (1, 2), M.J. Brilhante (1), R. Cabral (1, 2), C.C. Branco (1, 2), L. Mota-Vieira (1, 2)  
(1) Molecular Genetics and Pathology Unit of the Hospital of Divino Espírito Santo of Ponta Delgada, EPE, Azores ; (2) Instituto Gulbenkian of Ciência, Oeiras, Portugal  
Contact : lmotavieira@hdes.pt

Genetic polymorphisms in genes encoding for drug metabolizing enzymes, transporters and therapeutic targets have been recognized as one of the factors responsible for inter-individual differences in drug response. As incorrect dosages contribute to a high rate of adverse effects, there is clinical interest in improving strategies for the determination of the appropriate dose. In this study, we analyzed pharmacogenetically relevant variants in 15 genes (CYP2D6, CYP2C9, CYP2C19, DPYD, TPMT, NAT2, UGT1A1, ABCB1, VKORC1, ADRB2, HTR2C, HTR2A, PDE6A, ADCY9 and HLA-B\*5701) in 170 healthy blood donors from the anonymized Azorean DNA bank. Genotyping was performed by real-time PCR and by fragment analysis using capillary electrophoresis. Results demonstrated that allele frequency for CYP2C9\*2 and CYP2C9\*3 was 19.7 and 5.9 %, respectively. Five genotypes were observed: CYP2C9\*1/\*1 (57.6%), CYP2C9\*1/\*2 (25.3%), CYP2C9\*1/\*3 (8.2%), CYP2C9\*2/\*2 (5.3%) and CYP2C9\*2/\*3 (3.5%). Regarding the VKORC1 gene (G1639A), we identified 50 (30 %) wild-type individuals, 97 (56.5%) heterozygous and 23 (13.5%) homozygous variant, corresponding to a frequency of 41.8 % for 1639A. The joint analysis of CYP2C9 and VKORC1 revealed that 67 individuals (39.4%) will need intermediate and/or low doses of warfarin if treatment is started, distributed as followed: i) 47 (27.6%) individuals for intermediate doses (\*1\*1 AA->11, \*1\*2 GA->23, \*1\*3 GA->7, \*2\*2 GG->3 and \*2\*3 GG->3 individuals); and ii) 20 (11.8%) individuals for lower doses (\*1\*2 AA->8, \*1\*3 AA->3, \*2\*2 AA->1, \*2\*2 GA->5 and \*2\*3 GA->3 individuals). In terms of Azorean genetic makeup, TPMT\*3C and NAT2\*14, two common variants in Africans, have relatively high frequencies (2.9% and 0.3%, respectively) when compared with Caucasians, and reveals statistically significant difference

with mainland Portugal (chi-square,  $p < 0.001$ ). This African trace corroborates previous studies of the Azoreans genetic background. Currently, we are analyzing the Azorean pharmacogenetic profiles in order to individualize treatment in common complex diseases (Funded by Azorean Government) (M 1.2.1.1/002/2008).

**Mots-clés :** pharmacogenetics, drug therapy, personalized medicine.

## Physiopathologie, modèles cellulaires et animaux

### ■P553. HUMAN EMBRYONIC AND INDUCED PLURIPOTENT STEM CELLS AS COMPLEMENTARY MODELS OF HUMAN GENETIC DISORDERS

P. Tropel (1, 2), S. Viville (1, 3)

(1) IGBMC, Illkirch, France ; (2) I-Stem/INSERM U861, Genopole Campus, Evry, France ; (3) Service de Biologie de la Reproduction, CMCO, Schiltigheim, France

Contact : viville@igbmc.fr

The possibility to reprogram somatic human cells will greatly and deeply change genetic approach and allow the development of new tools to study genetics diseases. Indeed, our ability to study human genetic diseases suffers from the lack of valid *in vitro* models. The latter should (i) be originating from human primary cells, (ii) be able to self-renew for a long time and (iii) be able to differentiate into a wide range of different tissue types. Human embryonic stem (hES) cells harbour all those properties and may provide a first source for establishing such *in vitro* models. Alternatively, reprogramming strategies offer a very new possibility to derive induced-pluripotent stem (iPS) cells from clinically described patients or from complex mouse transgenic models. Human ES cells carrying genetic disorders are a promising tool to develop *in vitro* cellular model for physiopathology investigations and drug screening. This field is actively growing but suffers of the low number of available embryos. Ideally to overcome this limitation, cells derived from patients should be reprogrammed to acquire an ES-like phenotype allowing their amplification in an unaltered state and their *in vitro* differentiation in a broad variety of phenotypes. In that context, reprogramming adult cells has focused scientific community interest for their potentially inexhaustible source of cells for both therapy replacement and models developments. First publication in 2006, Yamanaka's team published the reprogramming of mouse fibroblast toward an ES-like phenotype. Authors identified a minimal set of genes, i.e. Oct3/4, Sox2, c-Myc and Klf4 able to successfully reprogram embryonic and adult fibroblasts into ES-like cells. Reprogrammed cells (called iPS cells, for induced-Pluripotent Stem cells) share ES cells markers and capacities. With the goal to develop new models for monogenic diseases, we set up a first program based on hESC derivation from affected preimplantation genetic diagnosis (PGD)-identified embryos. So far we have established 17 hES lines for 10 different pathologies. All the cell lines are banked by our collaborator I-Stem. All our cell lines are registered to the European Human Embryonic Stem Cell Registry and available to the scientific community. This represents one of the most important collections of hES cell lines carrying mutation available for the scientific community. For pathologies not tested by PGD, we implemented somatic cell reprogramming technology to derive iPS from human/mouse fibroblasts. As a first example, we established iPSC from 2 adult patients carrying Friedreich ataxia. Such cells are now under characterisation. In addition, we have established iPS cell lines from different transgenic mouse lines, which are used now either to study their differentiation properties *in vitro* or as a tool to decipher pluripotency.

**Mots-clés :** pluripotency, induced pluripotent stem cells (iPS), monogenic diseases.

### ■P554. HIGH EFFICIENCY DERIVATION OF HUMAN EMBRYONIC STEM CELL LINES FOLLOWING PRE-IMPLANTATION GENETIC DIAGNOSIS

P. Tropell (2)\*, J. Tournois (2)\*, J. Côme (2), C. Varela (2), C. Moutou (3), P. Fragner (2), M. Cailleret (4), Y. Laâbi (2), M. Peschanski (4), S. Viville (1, 3)

(1) IGBMC, Illkirch ; Inserm, U596, Illkirch ; CNRS, UMR7104, Illkirch ; Université de Strasbourg, France ; (2) CECS, I-STEM, Evry, France ; (3) Faculté de Médecine, Centre Hospitalier Universitaire, Strasbourg, France ; (4) INSERM/UEVE 861, I-STEM, AFM, Evry, France  
Contact : viville@igbmc.fr

Human pluripotent cells, because of their ability for self renewal and pluripotency potentially represent an almost universal cellular tool. Indeed, for basic research, they offer an opportunity to decipher not only early

human embryo development but also mechanisms underlying differentiation to highly specialised tissues. Of course, there is high expectation for the possibility to use these cells in cell therapy, but this approach is only one aspect of therapy development involving pluripotent cells use. The pharmaceutical industry is also very interested in developing human cells and tissues in the needed quantity and reproducible quality. Another application of those pluripotent cells is the possibility to set up cellular models for the study of monogenic diseases. One limitation to the understanding of the molecular mechanisms underlying a genetic disease is the lack of human affected tissues, which are, at best, available in a very limited quantity, but in most cases are not available at all. Pluripotent cells offer the opportunity to develop new tools. This can now be achieved by two strategies, either the derivation of human embryonic stem cells (hESC) from human embryos diagnosed as affected *via* a preimplantation genetic diagnosis (PGD) or using the possibility to reprogram somatic cells *via* the transfection of a set of transcription factors. Derivation of hESC from human embryo generally involved isolation of inner cell mass (ICM) from fully formed 5-day to 7-day old blastocysts using immunosurgery or laser-assisted microdissection. Nevertheless, this strategy precludes the use of poor quality embryos, i.e. embryos with altered blastocoele, trophectoderm or ICM. Moreover, in our hands immunosurgery isolation of ICM could lead to complete embryo destruction probably because of pre-existing trophectoderm alteration. In consequence, we developed a strategy, which requires minimal manipulation of the embryos, based on whole embryo plating and later elimination of trophectoderm-derived cells in culture, similarly to protocols used for original mouse ESC derivation. At the blastocyst stage, we just removed the zona pellucida before seeding the embryo as a whole on a layer of feeder cells. This strategy allowed us to derive new hESC lines not only from blastocysts but also from poor quality embryos, increasing the overall productivity. This approach gave a good success rate (>20%), whatever the quality of the embryos and allowed us to derive 11 new hESC cell lines for 7 different pathologies starting from 54 embryos. Full phenotypic validation of the cell lines according to ISCI guidelines confirmed their pluripotent nature, as they were positive for hESC markers and able to differentiate *in vitro* in all 3 germ layers derivatives. Nine out of 11 stem cell lines had normal karyotypes. Our results indicate that inner cell mass isolation is not mandatory for hESC derivation and that minimal manipulation of embryos can lead to high success rate.

**Mots-clés :** pluripotent stem cells, Huntington disease, cystic fibrosis.

### ■P555. CRÉATION D'UN MODÈLE D'ÉTUDE DE LA TRISOMIE 21 PAR INDUCTION DE LA PLURIPOTENCE À PARTIR DE CELLULES AMNIOTIQUES

N. Oudirhi (1, 4), F. Yates (1), C. Bas (1, 2), A. Magniez (1), O. Feraud (1), P.F. Ceccaldi (3), D. Luton (3), G. Tachdjian (1, 2), A. Bennaceur-Griscelli (1, 4)

(1) Inserm U935/Plate-forme Cellules Souches Pluripotentes Paris Sud, Université Paris Sud 11, France ; (2) Service Histologie Embryologie et Cytogénétique, Hôpital Antoine-Béclère, Clamart, France ; (3) Service de gynécologie-obstétrique, Hôpital Beaujon, Clichy, France ; (4) Service d'Hématologie-Immunologie et cytogénétique, Hôpital Paul Brousse, Villejuif, France

Contact : annelise.bennaceur@pbr.aphp.fr

La production de lignées de cellules souches pluripotentes embryonnaires à partir d'embryons atteints après diagnostic génétique préimplantatoire permettent, grâce à leur autorenouvellement illimité et leur potentiel de donner naissance à tous les types de tissus de l'organisme, de modéliser certaines pathologies avec mutations génétiques ou avec des déséquilibres chromosomiques. Les cellules souches pluripotentes induites ou iPS sont issues de la reprogrammation de cellules somatiques adultes et différenciées, par l'expression transitoire d'une combinaison de facteurs de transcription, et possèdent de nombreuses analogies avec les cellules souches embryonnaires. Cette révolution technologique et conceptuelle découverte par le groupe de Yamanaka permet aujourd'hui d'élargir les recherches sur l'ensemble des pathologies humaines. Pour la trisomie 21, il n'existe pas de modèle animal équivalent à la trisomie 21 humaine. Nous rapportons l'obtention de deux lignées cellulaires iPS humaines porteuses d'une trisomie 21 qui ont été générées par la reprogrammation de cellules amniotiques recueillies lors d'amniocentèses réalisées pour le diagnostic prénatal d'anomalies chromosomiques foetales. Les cellules amniotiques ont été infectées par des rétrovirus (Oct4, Sox2, Klf4, cMyc) ou lentivirus (Oct4, Sox2, Nanog, Lin28). Les cellules transduites ont été mises en co-culture sur MEF et b-FGF pendant 2 à 3 semaines jusqu'à l'obtention de colonies compactes morphologiquement comparables aux cellules souches embryonnaires. Le caractère pluripotent des lignées iPS a été confirmé *in vitro* par l'obtention de corps embryoides (EB) et par la formation *in vivo*

de tératome dans les souris NOD-SCID. La cinétique d'expression des gènes de différenciation des trois feuillettes embryonnaires dans les EB par TLDA-RT PCR est similaire à celle issue des EB des cellules souches embryonnaires humaines (H9, H1, SA01). Ces lignées établies et caractérisées offrent la possibilité d'étudier les mécanismes moléculaires du développement humain dans la trisomie 21 à partir des trois feuillettes embryonnaires ainsi que les évènements oncogéniques associés au risque leucémogène dans le système de différenciation hématopoïétique.

**Mots-clés :** cellules souches pluripotentes, trisomie 21.

**■P556. CANIDNA : A FRENCH BIO-BANK FOR THE COLLECTION AND DISTRIBUTION OF DOG DNA SAMPLES**

L. Lagoutte (1), L. Herbin (1), A. Vaysse (1), G. Chaudieu (2), P. Pilorge (3), F. Galibert (1), A. Thomas (4), C. André (1) and the CaniDNA network including the national veterinary schools of Nantes (5), Maisons Alfort (6), the "canine genetics" group of the AFVAC (7)

(1) *Institut de Génétique et Développement, UMR 6061 CNRS/Université de Rennes1, Faculté de Médecine, Rennes, France* ; (2) *Clinique vétérinaire Beaulieu, Chamalières, France* ; (3) *Clinique vétérinaire Saint-Cyr, Rennes, France* ; (4) *Antagene, Laboratoire de Génétique Animale, Limonest, France* ; (5) *Ecole Nationale Vétérinaire de Nantes, Atlanpôle-La Chantrerie, Nantes, France* ; (6) *École Nationale Vétérinaire d'Alfort, 7 avenue du général de Gaulle, Maisons-Alfort, France* ; (7) *AFVAC : Association Française des Vétérinaires pour Animaux de Compagnie, Paris, France*

Contact : laetitia.lagoutte@univ-rennes1.fr

Recently, the scientific community got interested in the dog as a novel and powerful model to dissect the genetic components of rare and/or complex human genetic diseases. Our team worked for 15 years to set up this model and has contributed to the development of genetic tools as well as biological resources. Indeed, since 2003, a canine bio-bank, CaniDNA, has been created and is maintained at the CNRS/ University of Rennes 1. The aim of this archive is to collect blood and tissue samples from dogs of all breeds, whether affected or not with genetic diseases, including their genealogical and clinical data. The main purpose is to extract DNA and RNA from these samples. This resource, unique in France, is available to the scientific community, for veterinary and medical genetic projects and is currently distributed in Europe and USA. The corresponding database is a MySQL relational database, storing the genealogical, phenotypical and clinical information, as well as DNA quality and quantities. It is accessible through a web interface : [www-recomgen.univ-rennes1.fr/doggy.html](http://www-recomgen.univ-rennes1.fr/doggy.html). As data entered into the database are confidential, access will be possible through the use of a login and password and request of DNA samples by direct contact via the CaniDNA e-mail address ([cani-dna@univ-rennes1.fr](mailto:cani-dna@univ-rennes1.fr)). To date, DNA from blood samples collected on EDTA tubes have been extracted from 6000 dogs and is stored at -20°C. Each dog owns its proper data sheet with all corresponding information. The CaniDNA archive contains over 200 dog breeds, with some 50 genetic diseases represented, including several human homologous tumour types (melanoma, sarcoma, lymphoma...) as well as epilepsy, retinopathy, genodermatosis, developmental abnormalities... CaniDNA is under the process of an ISO 9001 certification and a "Centre de Ressources Biologiques" label (CRB of Rennes) through an IBIaSA application.

**Mots-clés :** dog model, biological resources, genetic diseases.

**■P557. UN MODELE CANIN DE MYOPATHIE MYOTUBULAIRE ASSOCIE À UNE VARIATION FAUX-SENS DANS LE GENE *MTM1***

J. Böhm (1), A.H. Beggs (2), E. Snead (3), M. Kozłowski (2), K. Minor (4), L. Turet (5), M.K. Childers (6), S.M. Taylor (3), J.R. Mickelson (4), L.T. Guo (7), A.P. Mizisin (7), G.D. Shelton (7), J. Laporte (1)

(1) *Institut de Génétique et de Biologie Moléculaire et Cellulaire, Illkirch, France* ; (2) *The Manton Center for Orphan Disease Research at Children's Hospital and Harvard Medical School, Boston, USA* ; (3) *Western College of Veterinary Medicine, University of Saskatchewan, Canada* ; (4) *School of Veterinary Medicine, University of Minnesota, USA* ; (5) *École Nationale Vétérinaire d'Alfort, Maisons-Alfort, France* ; (6) *WakeForest University, Winston-Salem, USA* ; (7) *School of Medicine, University of California, San Diego, La Jolla, USA*

Contact : [johann@igbmc.fr](mailto:johann@igbmc.fr)

Centronuclear myopathies (CNM) are a group of rare genetic disorders characterized by muscle weakness and centralized nuclei in muscle fibers. The most severe form is linked to mutations in the phosphoinositides phosphatase myotubularin (*MTM1*), milder etiopathologies are associated to mutations in *BIN1* and *DNM2*. There is no therapy to date and animal

models are a prerequisite to test potential approaches. We report here the molecular identification of a canine model for X-linked centronuclear myopathy. Five young male Labrador retrievers from three litters were evaluated for generalized weakness and muscle atrophy. Cryostat sections and ultrastructural studies on muscle biopsies showed variability in fiber size, centrally placed nuclei resembling fetal myotubes, abnormal perinuclear structure and mitochondrial accumulations. Triads were infrequent with an abnormal orientation of T tubules and immunofluorescence staining using antibodies against T tubules (DHP $\alpha$ 1) and adjacent sarcoplasmic reticulum (*RYR1*) confirmed an abnormal distribution of these structures. DNA analysis of the exonic sequences from the *MTM1* gene in all five affected males revealed a unique variant in exon 7 causing the non-conservative missense change c.465C>A (N155K) in the linker region between the GRAM-PH and phosphatase domains of myotubularin. Immunoblot analysis using anti-myotubularin antibodies showed that myotubularin protein was absent in muscle extracts from affected dogs but present in muscle from a control littermate. Two proven carrier dams were shown to be heterozygous for the mutation. Analysis of a world-wide panel of 237 unrelated and unaffected Labrador retrievers, and 59 additional control dogs from 25 breeds, failed to identify this variant, strongly indicating it is the pathogenic mutation responsible for the canine myopathy.

**Mots-clés :** myopathie centronucléaire, *MTM1*, modèle animal.

**■P558. FUNCTION OF THE RNA BINDING PROTEIN HERMES IN GASTROINTESTINAL MORPHOLOGY AND MOTILITY DISORDERS**

C. Notarnicola, C. Rouleau, L. Le Guen, P. de Santa Barbara  
*Muscle and Pathologies, INSERM ERI25-EA 4202, Montpellier, France*  
Contact : [pascal.de-santa-barbara@inserm.fr](mailto:pascal.de-santa-barbara@inserm.fr)

The motility of the digestive tract is ensured by the correct coordination of the autonomous enteric nervous system (ENS) and the visceral smooth muscle cells (SMC). The ENS originates from neural crest cells that migrate from the dorsal region of the neural tube and colonize the whole gut to establish its innervation. The SMCs derive from the splanchnopleural mesoderm that will form the undifferentiated visceral mesenchyme before its final differentiation. Motility disorders in infants comprise a wide group of heterogeneous diseases. Hirschsprung disease is a particular case due to absence of ENS along certain lengths of the bowel. The SMC differentiation is also often affected in patients with congenital gut malformations and motility disorders such as Chronic Intestinal Pseudoobstruction. Our aim was to investigate the molecular mechanisms that control the differentiation of the visceral mesenchyme into SMCs in vertebrates. In order to identify candidate pathways, we developed and analyzed the gene expression profiles of undifferentiated and differentiated avian stomach by microarray. We identified one new candidate HERMES, a RNA binding protein and examined the function of this factor during the development the SMC structure by performing exhaustive *in vivo* and in primary SMC culture positive and negative approaches. We found that HERMES control different aspects of the SMC differentiation and deregulation of its expression alters the development of SMCs. In addition, we analyzed the expression of homologous HERMES gene in human motility disorders and found that aberrant expression of HERMES could be a signature of CIPO syndrome.

**Mots-clés :** motility disorders, animal model, gastrointestinal system.

**■P559. SRXG SPERMATID REACTIVATED X-LINKED GÈNE : RÔLE DANS LA SPERMATOGÈNE ET IMPLICATION DANS L'INFERTILITÉ MASCULINE**

F. Decarpentrie (1), E. Kichine (1), C. Guillemain (1, 2), G. Longpieds (1), M.J. Mitchell (1)

(1) *Unité UMR910, université de médecine de la Timone, Marseille, France* ; (2) *Service de spermologie, Hôpital de la conception, Marseille, France*

Contact : [fanny.decarpentrie@univmed.fr](mailto:fanny.decarpentrie@univmed.fr)

L'infertilité concerne environ 10 % des couples en âge de procréer. Les techniques de reproduction assistées permettent à ces couples de concevoir leur propre enfant. Néanmoins, elles soulèvent des craintes, notamment quant à la santé des individus conçus avec un gamète issu d'une spermatogénèse défectueuse. Il est donc nécessaire de mieux comprendre les mécanismes de la spermatogénèse, ainsi que d'étudier les causes génétiques de l'infertilité masculine. La spermatogénèse consiste en trois étapes de différenciation des cellules germinales. La mitose, première étape de prolifération cellulaire, la méiose qui va permettre la production de cellules germinales haploïdes nommées spermatozoïdes. Enfin la spermiogénèse, étape de différenciation, qui permet d'aboutir aux spermatozoïdes



matures. Pendant la méiose mâle, il n'y a pas de transcription des gènes des chromosomes X et Y et cette inactivation est maintenue, pour la plupart de ces gènes, durant toute la spermiogenèse. Cependant, certains gènes du chromosome X sont spécifiquement réactivés après la méiose. C'est le cas de SRXG (Spermatid Reactivated X-linked Gene). SRXG possède deux promoteurs qui produisent chacun un transcrite, Srxg-a et Srxg-b, qui ne diffèrent que par leur premier exon. La traduction des deux transcrits prédit deux protéines différentes par leur domaine N-terminal de, respectivement, 66 et 80 acides aminés. Par RT-qPCR, nous avons montré que le transcrite Srxg-a est testicule prédominant. Celui-ci est réactivé dans les cellules post-méiotiques alors que le transcrite Srxg-b, qui est ubiquitaire, reste inactif. Nous avons séquencé le promoteur et l'exon1a du transcrite Srxg-a chez 200 patients infertiles et nous avons trouvé deux mutations qui ne sont pas présentes chez 652 contrôles fertiles. Pour mieux comprendre la fonctionnalité de ces deux isoformes, nous avons réalisé différentes protéines de fusions GFP et nous les avons étudiés *in vitro*. Nous avons observé que la protéine SRXG-b est localisée au niveau du réticulum endoplasmique alors que la protéine SRXG-a a une autre localisation cytoplasmique. De plus, nous avons montré que la localisation au réticulum de SRXG-b est perdue si nous enlevons la partie codante de l'exon 1 (qui code pour le N-terminal spécifique de SRXG-b). Enfin nous avons réalisés des constructions pour tester, *in vitro*, l'effet des deux mutations trouvées chez les deux patients infertiles. Nous n'avons pas observé d'effets qualitatifs sur la localisation ou le niveau d'expression de la protéine, cependant les études quantitatives sont en cours. Notre étude montre que la protéine SRXG-a semble avoir un rôle différent de celui de la protéine ubiquitaire SRXG-b, un rôle spécifique au testicule et plus précisément aux spermatozoïdes. À présent, notre but est de caractériser la fonction de SRXG-a pendant la spermiogenèse et de déterminer si des mutations affectant son expression peuvent être en cause dans des cas d'infertilité masculine.

**Mots-clés :** spermatogenèse, chromosome X, transcrits alternatifs.

#### ■P560. INTERACTION ENTRE SOX10 ET ZEB2 AU COURS DU DÉVELOPPEMENT ENTÉRIQUE

L. Stanchina (1, 2), T. Van De Putte (3), M. Goossens (1, 2), D. Huylebroeck (3), N. Bondurand (1, 2)

(1) INSERM U955, IMRB, équipe 11, Créteil, France ; (2) Université Paris 12, Faculté de Médecine, Créteil, France ; (3) Université de Leuven, Belgique

Contact : nadege.bondurand@inserm.fr

Les cellules de la crête neurale se caractérisent par leur capacité de migration dans l'embryon et la variété des types cellulaires qu'elles sont capables de générer (mélanocytes, système nerveux entérique (SNE) et périphérique). Chez l'homme, plusieurs maladies congénitales affectant des organes et tissus divers ont pour origine une anomalie de migration, prolifération, survie ou différenciation de ces cellules. Au laboratoire, nous étudions deux d'entre elles, le syndrome de Waardenburg-Hirschsprung (WS4 – anomalie de pigmentation, surdité et maladie de Hirschsprung (HSCR : anomalie entérique)) et le syndrome de Mowat et Wilson (MWS – retard mental sévère, dysmorphie faciale avec ou sans HSCR). À l'heure actuelle, quatre gènes ont été impliqués : l'endothéline 3 (EDN3), son récepteur à sept domaines transmembranaires EDNRB et les deux facteurs de transcription ZEB2 et SOX10. Afin de comprendre l'origine des défauts entériques observés chez les patients, nous avons testé l'existence d'interrelations entre ces différents facteurs, et notamment entre SOX10 et ZEB2. Pour cela, nous avons croisé les modèles murins présentant une invalidation de ces gènes et comparé le phénotype des simples et doubles mutants. Nous avons observé une forte aggravation du phénotype entérique chez les doubles hétérozygotes Sox10lacZ/+ ; Zeb2avation du phénotype entérique est due à une diminution de la prolifération des cellules progénitrices et à une augmentation de la différenciation neuronale. Toutefois, les bases moléculaires de cette interaction restent à découvrir. Cette étude nous a permis d'avancer dans la compréhension du rôle joué par SOX10 et ZEB2 au cours du développement entérique et de mieux comprendre l'origine des anomalies entériques observées chez les patients.

**Mots-clés :** système nerveux entérique, Hirschsprung, SOX10.

#### ■P561. ANOMALIES D'ÉPISSAGE DANS LES TROUBLES DU RYTHME ET CARDIOMYOPATHIES D'ORIGINE GÉNÉTIQUE

H. Créhalet, V. Bonnet, G. Millat, R. Rousson, D. Bozon  
Laboratoire de Cardiogénétique Moléculaire, Centre de Biologie et Pathologie Est, Hospices Civils de Lyon, France

Contact : herve.crehalet@chu-lyon.fr

L'épissage est une étape clé de l'expression de gènes et son rôle dans la genèse des maladies génétiques devient de plus en plus important au fur et à mesure que l'on en déchiffre la complexité. En effet, des mutations exoniques (faux sens, silencieuses) ou introniques (hors consensus GT/AG), peuvent aussi provoquer des anomalies d'épissage soit par abolitions de sites consensus physiologiques, soit par activation de sites cryptiques ou en affectant les séquences régulatrices. Le but de ce travail a été d'étudier l'impact sur l'épissage (hors séquences régulatrices), de variations nucléotidiques identifiées dans 11 gènes impliqués dans les formes familiales d'arythmies (SCN5A, KCNQ1, KCNH2, KCNE1, KCNE2, KCNJ2) et de cardiomyopathies hypertrophiques et dilatées (MYH7, MYBPC3, TNNT2, TNNI3, LMNA). Ne disposant pas de l'ARN de ces patients, nous avons utilisé un protocole combinant des outils informatiques (logiciels de prédiction de site d'épissage : Alamut – Interactive Biosoftware et Human Splicing Finder – Desmet *et al.* 2009) et un test fonctionnel basé sur la transfection de vecteurs minigènes dans des cellules HeLa. Sur les 522 variants identifiés au laboratoire, 13 ont été retenus comme pouvant potentiellement avoir un impact. Le test fonctionnel a montré que 4 des 13 variants avaient un impact sur l'épissage. Parmi ces 4 mutations, 3 mutations affectaient la position intronique +5 : c.477+5G>A et c.1032+5G>A dans le gène KCNQ1 et c.3190+5G>A dans le gène MYBPC3. Ces mutations, en tests fonctionnels, sont responsables du saut de l'exon concerné ou d'une activation de site cryptique, comme le prédisait les logiciels. Pour les deux mutations affectant le premier nucléotide de l'exon (c.655G>T, p.V219F dans le gène MYBPC3 et c.308G>T, p.G103V dans le gène KCNH2) les logiciels ont prévu une forte diminution de la force du site accepteur, bien que le changement nucléotidique soit identique (G>T), seule la mutation p.V219F provoque un saut d'exon en test fonctionnel. Notre étude confirme bien les limites de la prédiction *in silico* (surtout pour les sites accepteurs) et l'importance de lui associer une étude *in vitro* afin de pouvoir vérifier l'impact de variations nucléotidiques non classées. Au final, dans notre cohorte de malades, les anomalies d'épissage correspondent à environ 1 % pour le gène SCN5A, 2,8 % pour KCNQ1 et 8,9 % pour MYBPC3.

**Mots-clés :** mutations d'épissage, minigène, étude bioinformatique.

#### ■P562. L'EXPRESSION DU GÈNE MEFV RESPONSABLE DE LA FIÈVRE MÉDITERRANÉENNE FAMILIALE, EST RÉGULÉE PAR LE « NONSENSE-MEDIATED DECAY » (NMD)

S. Grandemange (1, 2), S. Soler (1, 2), I. Touitou (1, 2, 3)

(1) Institut de Génétique humaine, Montpellier, France ; (2) CHRU A. de Villeneuve, Montpellier, France ; (3) Université Montpellier 1, Montpellier, France

Contact : sylvie.grandemange@igh.cnrs.fr

La fièvre méditerranéenne familiale (FMF) est une maladie auto-inflammatoire de transmission 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 Marennostriine/Pyrrine (M/P). M/P est impliquée dans la régulation de l'immunité innée, mais sa fonction reste à ce jour controversée. Des cas de transmission dominante et d'hétérogénéité phénotype-génotype ont été rapportés, toutefois les mécanismes moléculaires mis en jeu ne sont actuellement pas compris. La physiopathologie de cette maladie n'est pas clairement définie, bien que plusieurs études récentes postulent qu'un défaut dans la régulation de l'expression du gène MEFV pourrait jouer un rôle dans la FMF. Plusieurs transcrits alternatifs du gène MEFV ont été identifiés dans les leucocytes humains par nous et d'autres groupes. Puisque l'épissage alternatif et le mécanisme de nonsense-mediated decay (NMD) sont couramment couplés dans la régulation post-transcriptionnelle de l'expression des gènes, nous avons émis l'hypothèse que le NMD pouvait contribuer à la régulation de MEFV. Pour répondre à cette question, nous avons analysé l'effet de l'inhibition indirecte et directe du NMD sur l'expression de différents transcrits du gène dans les monocytes et neutrophiles ainsi que dans la lignée cellulaire THP1. Par des analyses quantitatives et semi-quantitatives, nous montrons que le gène MEFV est le premier gène auto-inflammatoire régulé par le NMD d'une manière cellule- et transcrite-spécifique. Cette étude et nos premières analyses par western-blot, suggèrent que l'épissage alternatif de MEFV permet la traduction de plusieurs variants de P/M, ce qui pourrait expliquer les controverses sur sa fonction dans l'inflammation. Par ailleurs, nos résultats introduisent une nouvelle hypothèse que la variation de l'efficacité du NMD pourrait jouer un rôle dans la physiopathologie de la FMF comme modificateur phénotypique.

**Mots-clés :** FMF, NMD, auto-inflammatoire.



#### ■P563. SPECIFIC MICRO-RNA PROCESSING ALTERATION IN MYOTONIC DYSTROPHY TYPE 1

F. Rau (1), F. Freyermuth (1), N. Dreumont (1), C. Fugier (1), M.C. Fisher (1), H. Fujimura (2), M.P. Takahashi (2), D. Furling (3), N. Charlet (1)  
(1) IGBMC, Illkirch, France ; (2) Department of Neurology, Graduate School of Medicine, Osaka university, Japan ; (3) Institute of Myology, Paris, France

Contact : ncharlet@igbmc.u-strasbg.fr

Myotonic dystrophy (DM) is the most common form of adult muscular dystrophy. DM patients exhibit several symptoms including cardiac conduction abnormalities resulting in sudden death. DM is due to CUG or CCUG repeats expansion which accumulates in nuclear RNA aggregates that sequester the Muscleblind like 1 (MBNL1) splicing factor, leading to alternative splicing alterations. Recently, it has been demonstrated that small RNA called microRNA (miRNA) play an important role in heart function. miRNA are cell type dependent regulators of gene expression by inhibiting mRNA translation or promoting mRNA degradation. Using DNA microarray in a muscle cellular model of DM, we found specific misregulation of miRNA implicated in the regulation of genes important for cardiac conduction. Interestingly, we observed a downregulation of miR-1, regulating potassium channel and connexin43 expression. This misregulation was confirmed by quantitative PCR in this model but also in DM patient's heart samples. Upregulation of miR-1 target, Connexin 43, was shown at protein level in DM model cells and DM patient's heart samples. Moreover, by UV-Crosslinking experiments, we found that MBNL1 binds to miR-1 sequence. Furthermore, miR-1 processing is impaired in cellulo with overexpression of long CUG repeats or shMBNL1. These preliminary data suggest a role of MBNL1 in miR-1 processing. In conclusion, our results suggest that MBNL1 may regulate maturation of specific miRNA essential for heart conduction. This work may shed light on the molecular mechanisms of heart conduction defect in DM patients.

**Mots-clés :** myotonic dystrophy, micro-RNA, heart.

#### ■P564. HMSH5, UN NOUVEAU GÈNE CANDIDAT POUR DES MALADIES MITOCHONDRIALES ?

S. Bannwarth (1, 2), A. Figueroa (1, 2), K. Fragaki (1, 2), M. Abbassi (1), A. Douet (1), F. Lespinasse (1), F. Burel-Vandenbos (1, 3), V. Paquis-Flucklinger (1, 2)  
(1) FRE3086 CNRS/UNSA, Faculté de Médecine de Nice-Sophia Antipolis, Nice, France ; (2) Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHU de Nice, Nice, France ; (3) Laboratoire d'Anatomie-Pathologie, CHU de Nice, Nice, France

Contact : bannwarthsylvie@yahoo.fr

Les pathologies mitochondriales liées à un défaut de stabilité de l'ADN mitochondrial (ADNmt) représentent un nouveau volet dans les affections liées à un déficit de la chaîne respiratoire. Cette instabilité se traduit par des délétions multiples et/ou une déplétion (diminution du nombre de copies) de l'ADNmt. Ces pathologies se transmettent selon un mode autosomique car elles sont secondaires à des mutations dans des gènes nucléaires codant pour des protéines impliquées dans le maintien de l'ADNmt. Quelques gènes ont été identifiés dans différentes familles présentant des phénotypes variables associés à une instabilité de l'ADNmt. Néanmoins, dans la plupart des cas, les gènes et les mécanismes moléculaires responsables de ces altérations génétiques restent à identifier. Chez l'homme, les homologues de MutS et de MutL sont impliqués dans différents aspects du métabolisme de l'ADN, incluant la réparation des mésappariements (MMR) de l'ADN nucléaire et la recombinaison méiotique. Les gènes de cette famille sont de bons candidats pour les pathologies liées à un défaut de stabilité de l'ADNmt. Nous avons montré que (i) hMSH5, un homologue de MutS, est importé dans la mitochondrie, (ii) des souris KO pour le gène Msh5 présentent un déficit de la chaîne respiratoire (CR), (iii) MSH5 interagit avec la polymérase gamma et l'hélicase TWINKLE, 2 protéines impliquées spécifiquement dans la réplémentation et la réparation de l'ADNmt et (iv) que la surexpression de hMSH5 dans les lignées cellulaires humaines augmentent l'efficacité de la réparation de l'ADNmt après stress oxydatif (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). De plus, la protéine MSH5 s'accumule spécifiquement dans les cellules musculaires de patients présentant une instabilité de l'ADNmt. Enfin, nous avons identifié chez une petite fille, porteuse d'une déplétion, un variant à l'état homozygote dans le gène hMSH5 non décrit et non retrouvé sur 380 chromosomes contrôlés, dont la pathogénicité potentielle est en cours d'analyse. Ces résultats montrent pour la première fois l'implication d'un homologue de MutS, hMSH5, dans la réparation de l'ADNmt chez les mammifères et posent le problème de l'implication des homologues de MutS dans les pathologies mitochondriales.

**Mots-clés :** pathologies mitochondriales, hMSH5, instabilité ADNmt.

#### ■P565. HYPOXANTHINE-GUANINE PHOSPHORIBOSYL TRANSFERASE REGULATES EARLY DEVELOPMENTAL PROGRAMMING OF DOPAMINE NEURONS: IMPLICATIONS FOR LESCH-NYHAN DISEASE

I. Ceballos-Picot (1, 2), L. Mockel (2), M.-C. Potier (3), L. Dauphinot (3), T.L. Shirley (4), R. Torero-Ibad (5), J. Fuchs (5), H.A. Jinnah (4)  
(1) Faculty of Medicine, Paris-Descartes University, Paris, France ; (2) Metabolic Biochemistry, Necker-Enfants Malades Hospital, APHP, Paris, France ; (3) Neurobiology and Cellular Diversity, CNRS UMR 7637, Ecole Supérieure de Physique et de Chimie Industrielles, Paris, France ; (4) Department of Neurology, Emory University, Atlanta GA, USA ; (5) Development and Neuropharmacology, CNRS UMR 8542, Ecole Normale Supérieure, Paris, France

Contact : irene.ceballos@nck.aphp.fr

Hypoxanthine-guanine phosphoribosyltransferase (HPRT) deficiency results in Lesch-Nyhan disease (LND), where affected individuals exhibit a characteristic neurobehavioral disorder that has been linked with dysfunction of dopaminergic pathways of the basal ganglia. Since the functions of HPRT, a housekeeping enzyme responsible for recycling purines, have no direct relationships with the dopaminergic pathways, the mechanisms whereby HPRT deficiency affect them remain unknown. The current studies demonstrate that HPRT deficiency influences early developmental processes controlling the dopaminergic phenotype, using several different cell models for HPRT deficiency. Microarray methods and quantitative PCR were applied to 10 different HPRT-deficient sublines derived from the MN9D cell line. Despite the variation inherent in such mutant sublines, several consistent abnormalities were evident. Most notable were increases in the mRNAs for engrailed 1 and 2, transcription factors known to play a key role in the specification and survival of dopamine neurons. The increases in mRNAs were accompanied by increases in engrailed proteins, and restoration of HPRT reverted engrailed expression towards normal levels, demonstrating a functional relationship between HPRT and engrailed. The functional relevance of the abnormal developmental molecular signature of the HPRT- MN9D cells was evident in impoverished neurite outgrowth when the cells were forced to differentiate chemically. To verify that these abnormalities were not idiosyncratic to the MN9D line, HPRT-deficient sublines from the SK-N-BE(2) M17 human neuroblastoma line were evaluated and an increased expression of engrailed mRNAs was also seen. Over-expression of engraileds occurred even in primary fibroblasts from patients with LND in a manner that suggested a correlation with disease severity. These results provide novel evidence that HPRT deficiency may affect dopaminergic neurons by influencing early developmental mechanisms.

**Mots-clés :** maladie de Lesch-Nyhan, hypoxanthine phosphoribosyltransferase, engrailed.

#### ■P566. LA STœCHIOMETRIE DES ENZYMES DE RÉPARATION PAR EXCISION DE BASE CORRÉLÉ AVEC LA SÉLECTIVITÉ TISSULAIRE DE L'INSTABILITÉ SOMATIQUE DANS UN MODÈLE MURIN DE LA MALADIE DE HUNTINGTON

A.V. Goula (1), B. Berquist (2), D.M. Wilson 3rd (2), V.C. Wheeler (3), Y. Trotter (1), K. Merienne (1)

(1) Department of Neurobiology and Genetics, Institut de Génétique et Biologie Moléculaire et Cellulaire, UMR 7104-CNRS/INSERM/ULP, Illkirch, France ; (2) Laboratory of Gerontology, National Institute on Aging, NIH, 5600 Nathan Shock Drive, Baltimore, USA ; (3) Molecular Neurogenetics Unit, Center for Human Genetic Research, Massachusetts General Hospital, Boston, USA

Contact : merienne@igbmc.fr

La maladie de Huntington (MH) est une maladie génétique dominante, neurodégénérative et progressive, résultant de l'expansion aberrante de triplets CAG dans la partie codante du gène de la HTT. La huntingtine mutée (Htt) contient alors une expansion de polyQ, qui lui confère un gain de fonction toxique proportionnel à la taille de l'expansion. La mutation est par ailleurs instable au niveau germinale et somatique. L'instabilité somatique augmente avec l'âge et varie d'un tissu à l'autre. Ainsi, elle est importante dans le striatum, la région cérébrale qui dégénère préférentiellement, mais limitée dans le cervelet, un tissu épargné par la maladie. Un nombre croissant d'études indique que l'instabilité somatique, en favorisant la production d'une Htt mutée de plus en plus toxique, représente un modificateur de la MH. Comprendre les mécanismes qui gouvernent l'instabilité des répétitions CAG constitue donc un défi qu'il est important de relever. Des résultats récents ont montré que le mécanisme de réparation de l'ADN par excision de base (BER), spécialisé dans l'élimination des lésions oxydantes, joue un rôle dans l'instabilité somatique : le niveau d'instabilité dans le cerveau de souris modèles de la MH est réduit après



inactivation du gène codant pour Ogg1, une glycosylase majeure initiant le BER. L'objectif de notre étude est de clarifier le rôle des lésions oxydantes et du BER dans la sélectivité tissulaire et la dépendance vis-à-vis de l'âge de l'instabilité somatique des répétitions CAG dans la MH. À l'aide d'un modèle murin de la MH, qui récapitule l'instabilité somatique observée chez les patients, nous montrons que la quantité de lésions oxydantes est anormalement élevée au niveau des expansions CAG. L'accumulation de lésions oxydantes ne corrèle cependant pas avec la sélectivité tissulaire et la dépendance à l'âge : elle est semblable dans le striatum et dans le cervelet et n'augmente pas avec l'âge. Nos données suggèrent que la présence de structures secondaires au niveau des expansions CAG prévient l'accès aux enzymes de réparation qui initient le BER, telles Ogg1 et Ape1, et conduit en conséquence à une accumulation de lésions. Nos travaux indiquent également que la prise en charge par le BER d'un certain nombre de lésions oxydantes au niveau des expansions CAG contribue à l'instabilité dans le striatum. Nous montrons que l'ADN polymérase beta (Polbeta), une enzyme essentielle du BER, est anormalement enrichie dans le striatum de souris Huntington, mais pas dans le cervelet. L'analyse des niveaux protéiques et activités des différentes enzymes du BER complétée avec des expériences *in vitro* montre d'autre part que le rapport stœchiométrique Fen1/Polbeta corrèle avec la spécificité tissulaire. Nous proposons que le niveau de coopération entre les étapes de synthèse réalisée par Polbeta et d'excision médiée par Fen1 détermine la propension à l'instabilité des expansions CAG dans les tissus neuronaux Huntington.

**Mots-clés :** maladie de Huntington, instabilité des répétitions CAG, réparation de l'ADN.

**■P567. THE FIRST CELLULAR MODELS BASED ON FRATAXIN MISSENSE MUTATIONS THAT REPRODUCE SPONTANEOUSLY THE DEFECTS ASSOCIATED WITH FRIEDREICH ATAXIA**

S. Schmucker (1), N. Calmels (1), M. Wattenhofer-Donzé (1), A. Martelli (1), N. Vaucamps (1), L. Reutenauer (1), N. Messaddeq (1), C. Bouton (2), H. Puccio (1)

(1) Institut de Génétique et de Biologie Moléculaire et Cellulaire (IGBMC), InsermU596, CNRS/UDS UMR7104, Illkirch, France ; (2) Institut de Chimie des Substance Naturelles, CNRS, Gif-sur-Yvette, France  
Contact : schmucke@igbmc.fr

Friedreich ataxia (FRDA), the most common form of recessive ataxia, is due to reduced levels of frataxin, a highly conserved mitochondrial iron-chaperone involved in iron-sulfur cluster (ISC) biogenesis. Most patients are homozygous for a (GAA)<sub>n</sub> expansion within the first intron of the frataxin gene. A few patients, either with typical or atypical clinical presentation, are compound heterozygous for the GAA expansion and a micro-mutation. We have developed a new strategy to generate murine cellular models for FRDA: cell lines carrying a frataxin conditional allele were used in combination with an EGFP-Cre recombinase to create murine cellular models depleted for endogenous frataxin and expressing missense-mutated human frataxin. We showed that complete absence of murine frataxin in fibroblasts inhibits cell division and leads to cell death. This lethal phenotype was rescued through transgenic expression of human wild type as well as mutant (hFXNG130V and hFXNI154F) frataxin. Interestingly, cells expressing the mutated frataxin presented a FRDA-like biochemical phenotype. Though both mutations affected mitochondrial ISC enzymes activities and mitochondria ultrastructure, the hFXNI154F mutant presented a more severe phenotype with affected cytosolic and nuclear ISC enzyme activities, mitochondrial iron accumulation and an increased sensitivity to oxidative stress. The differential phenotype correlates with disease severity observed in FRDA patients. These new cellular models, which are the first to spontaneously reproduce all the biochemical phenotypes associated with FRDA, are important tools to gain new insights into the *in vivo* consequences of pathological missense mutations as well as for large-scale pharmacological screening aimed at compensating frataxin deficiency.

**Mots-clés :** frataxine, mitochondrie, fer.

**■P568. MOLECULAR MECHANISMS UNDERLYING POLYGLUTAMINE LENGTH INFLUENCE ON HUNTINGTIN INTERACTIONS**

A. Davranche, F. Klein, G. Zeder-Lutz, D. Altschuh, Y. Trotter  
Institut de Génétique et de Biologie Moléculaire et Cellulaire (IGBMC), Illkirch, France  
Contact : aureldavranche@hotmail.com

BACKGROUND: Huntington's disease (HD) and 8 other Polyglutamine (polyQ) expansion diseases are characterized by progressive neurodegeneration and amyloid like aggregates in selected brain regions. In HD,

polyQ expansion in Huntingtin (Htt) primarily causes the degeneration of striatal medium spiny neurons, despite the ubiquitous protein expression in the brain. Neuronal vulnerability is thought to be due, in part, to the aberrant interaction ("dysinteractions") of mutant Htt with natural protein partners. Up to now, hundreds of proteins have been found to interact with Htt – in particular with the exon-1 encoding region 8 and many of them showed increased or decreased affinity when Htt bears an elongated polyQ. Deciphering the mechanisms whereby mutant polyQ could perturb Htt's networking and functions is crucial as these interactions might represent therapeutic targets. A polyQ conformational switch has been proposed to explain dysinteractions between mutant Htt and partners, but it has never been firmly demonstrated. Moreover, the polyQ length influence on Htt interactions were studied using techniques prone to be biased by polyQ aggregation. We report: – the first precise quantification of the polyQ length influence on Htt/partners affinity, using dedicated biophysical techniques and conditions where the absence of aggregation is strictly controlled. – methods that allow to study how the presence of aggregated polyQ species influences Htt's interactions. METHODS/TECHNIQUES: We prepared soluble recombinant Htt-exon1 and several interactors and used Surface Plasmon Resonance to analyze the polyQ length influence on Htt affinity. The influence of polyQ aggregation on Htt's interactions was studied using biochemical tools. RESULTS/OUTCOMES: Our results suggest that Htt's polyQ length does not influence Htt/partners interactions in the absence of aggregation. On the opposite, we show that the same interactions are influenced by the presence of aggregated polyQ species. CONCLUSIONS: We propose that aggregated polyQ species could influence Htt's behavior and result in aberrant interactions. Our work contributes to a better understanding of the molecular mechanisms involved in Htt dysinteractions mediated by polyQ length.

**Mots-clés :** Huntington, Polyglutamine, expansion.

**■P569. LA SOURIS DÉFICIENTE POUR LGII: UN MODÈLE D'ÉTUDE POUR L'ÉPILEPSIE**

E. Chabrol, G. Provenzanno, V. Navarro, I. Cohen, I. Gourfinkel-An, M. Baulac, E. Leguern, S. Baulac  
INSERM UMR\_S 975 Crim, Hôpital de la Pitié-Salpêtrière, Paris, France  
Contact : eric.leguern@psl.aphp.fr

Une douzaine de gènes ont été incriminés dans les formes autosomiques dominantes d'épilepsie idiopathique. Jusqu'à récemment, les formes monogéniques d'épilepsie étaient considérées comme des « canalopathies » puisque tous les gènes identifiés codaient pour des sous unités de canaux ioniques voltage-dépendants ou de récepteurs aux neurotransmetteurs. Le gène LGII (Leucine-rich glioma inactivated 1) a été le premier gène responsable d'épilepsie qui ne codait pas pour un canal ionique. Les mutations de ce gène sont responsables d'épilepsie temporale latérale autosomique dominante qui se caractérise par un âge de début dans l'adolescence et par des crises focales associées à des auras visuelles stéréotypées qui sont souvent secondairement généralisées. Après avoir montré que les mutations de LGII conduisaient à une perte de fonction, nous avons construit la première souris déficiente en LGII. Des souris homozygotes LGII<sup>-/-</sup> et hétérozygotes LGII<sup>+/-</sup> ont été obtenues avec une distribution qui suivait la loi de Hardy-Weinberg. Toutes les souris homozygotes LGII<sup>-/-</sup> développent une épilepsie pendant la seconde semaine post-natale (avec un pic à P10). Les vidéo-EEGs confirment la survenue spontanée de crises électro-cliniques chez 3 souris LGII<sup>-/-</sup> de P10 à leur mort à P15. En revanche, les souris LGII<sup>+/-</sup> ne présentent pas de crises spontanées même sur une période d'1 an après leur naissance. Ce modèle prometteur nous aidera à comprendre le rôle de la protéine LGII dans le développement du cerveau, l'excitabilité neuronale et l'épileptogénèse.

**Mots-clés :** LGII, épilepsie, temporal.

**■P570. LES MODÈLES DROSOPHILES DE TAUOPATHIES SUGGÈRENT QUE LA TOXICITÉ DE LA PROTÉINE TAU HUMAINE EST INDUITE PAR DES FORMES CYTOPLASMIQUES SOLUBLES ET HYPERPHOSPHORYLÉES**

S. Feuillet, L. Miguel, T. Frebourg, D. Campion, M. Lecourtois  
Inserm U614, Institut Hospitalo-Universitaire, Université de Rouen, France  
Contact : magalie.lecourtois@univ-rouen.fr

Le terme « tauopathie » regroupe un ensemble de maladies neurodégénératives résultant de l'altération de la protéine Tau, codée par le gène MAPT (Microtubules Associated Protein Tau). Les tauopathies sont soit primaires, comme la démence frontotemporale avec parkinsonisme liée au chromosome 17 (FTDP-17) due à des mutations du gène MAPT, soit secondaires, comme la maladie d'Alzheimer, lorsqu'elles résultent de modifications

post-traductionnelles de la protéine Tau. La protéine Tau est exprimée principalement dans les neurones, est localisée plus particulièrement dans l'axone et est impliquée dans la dynamique de polymérisation et de stabilisation des microtubules intraneuronaux. Sa fonction est étroitement contrôlée par son degré de phosphorylation. Dans les tauopathies, Tau est anormalement et hyperphosphorylée, et s'accumule sous forme d'inclusions intraneuronales filamentaires. Actuellement, si l'identification de mutations du gène Tau démontre que l'altération de cette protéine est suffisante pour induire une neurodégénérescence, les mécanismes de la neurotoxicité restent à caractériser. L'expression de différentes formes de Tau humaine, sauvage ou mutée (R406W ou V337M), dans le cerveau de la drosophile permet de récapituler certaines caractéristiques des tauopathies humaines, notamment l'accumulation de formes anormalement et hyperphosphorylées de Tau, une dégénérescence neuronale progressive et une mort précoce. Dans le but d'appréhender les mécanismes de neurotoxicité de Tau, nous avons étudié l'affinité de liaison des protéines Tau humaines aux microtubules dans la drosophile. Nous avons montré que, contrairement à la protéine Tau endogène, les protéines Tau humaines présentent une affinité très faible pour les microtubules *in vivo* et se retrouvent essentiellement sous une forme hyperphosphorylée, soluble et cytoplasmique. Cette faible affinité n'est pas due à une saturation des microtubules ou à une compétition avec Tau endogène de la drosophile, mais dépend clairement du degré de phosphorylation des protéines humaines. Nous avons également montré que la neurodégénérescence induite par les protéines Tau humaine est corrélée à l'accumulation des formes cytoplasmiques hyperphosphorylées. En conclusion, notre étude suggère un rôle clé des protéines Tau cytoplasmiques solubles et hyperphosphorylées dans la neurotoxicité de Tau *in vivo*.

**Mots-clés :** Tauopathies, Drosophila, Tau.

**■P571. IDENTIFICATION PAR CRIBLE GÉNÉTIQUE DANS LA DROSOPHILE DE MODULATEURS DE LA NEUROTOXICITÉ DE LA PROTÉINE TAU ET CARACTÉRISATION NEUROPATHOLOGIQUE DE LEURS HOMOLOGUES HUMAINS**

S. Feuillette (1, 2), V. Deramecourt (3), A. Laquerrière (4), C. Duyckaerts (5), M.A. Delisle (6), C.A. Maurage (7), L. Bucee (8), T. Frebourg (1, 2), D. Campion (1), M. Lecourtis (1)

(1) Inserm U614, Institut Hospitalo-Universitaire, Faculté de Médecine, Université de Rouen, France ; (2) Laboratoire de Génétique Moléculaire, Service de Génétique, Centre Hospitalier Universitaire de Rouen, France ; (3) Clinique Neurologique, Centre de la Mémoire, Centre Hospitalier Régional Universitaire de Lille, France ; (4) Laboratoire de Neuropathologie, Centre Hospitalier Universitaire de Rouen, France ; (5) Laboratoire de Neuropathologie Escourrolle, APHP, Hôpital de La Salpêtrière, UPMC, Paris, France ; (6) Service d'Anatomie Pathologique, Centre Hospitalier Universitaire de Toulouse, France ; (7) Service d'Anatomie Pathologique, Centre Hospitalier Régional Universitaire de Lille, France ; (8) Inserm U837, Centre de recherche Jean-Pierre Aubert, Lille, France  
Contact : magalie.lecourtis@univ-rouen.fr

Les tauopathies regroupent plusieurs maladies neurodégénératives, comme la maladie d'Alzheimer et les démences fronto-temporales avec parkinsonisme liées au chromosome 17 (FTDP-17), caractérisées par l'accumulation intraneuronale de filaments constitués essentiellement de la protéine Tau anormalement et hyperphosphorylée. La protéine Tau est une phosphoprotéine impliquée dans la dynamique de polymérisation et de stabilisation des microtubules. Les mécanismes moléculaires de la neurotoxicité de tau dans ces pathologies restent à ce jour inconnus. L'expression de la protéine Tau humaine mutante V337M dans le cerveau de la drosophile permet de récapituler certaines caractéristiques des tauopathies humaines et, en particulier, le processus de neurodégénérescence observable au niveau des yeux. La puissance de ce phénotype nous a précédemment permis de réaliser un cribble génétique de 1250 lignées de drosophile visant à identifier des modulateurs génétiques de la toxicité de Tau. Nous avons ainsi identifié, comme modulateurs génétiques, des gènes codant des éléments du cytosquelette d'actine ainsi que des gènes codant des éléments impliqués dans le maintien de la fonction synaptique. Afin de mieux caractériser ces interacteurs et de valider leur implication dans la physiopathologie de ces maladies neurodégénératives, nous avons entrepris une caractérisation neuropathologique de ces modulateurs. Nous avons étudié par immunohistochimie, sur coupes paraffines de cerveaux de sujets atteints de tauopathies (maladie d'Alzheimer, FTDP-17, maladie de Pick ou Paralyse Supranucléaire Progressive), la localisation sub-cellulaire de leurs homologues humains ainsi que leur co-localisation avec les lésions fibrillaires de protéine Tau, en nous focalisant dans un premier temps sur les éléments du cytosquelette d'actine. Nous avons mis en évidence l'accumulation intraneuronale de la filamine A et de la myosine VI au niveau des lésions fibrillaires de Tau chez des sujets atteints de maladie d'Alzheimer et de FTDP-17. L'ensemble de ces données suggère que l'altération

de la biologie de la filamine A et de la myosine VI pourrait être impliquée dans les mécanismes de neurodégénérescence observée dans ces tauopathies. L'identification de ces nouveaux interacteurs devrait ainsi permettre de mieux comprendre les mécanismes de la neurotoxicité de la protéine Tau et ainsi permettre d'identifier des cibles thérapeutiques.

**Mots-clés :** Tau, Drosophile, Tauopathies.

**■P572. A SECOND EXAMPLE OF RNA-GAIN-OF-FUNCTION DISEASE: SAM68 AND MBNL1 COLOCALIZATION IN CGG AGGREGATES IN FRAGILE X TREMOR ATAXIA SYNDROME**  
C. Sellier (1), F. Rau (1), L. Ylei (4), R. Gattoni (1), P. Hickel (1), F. Tasone (2), R. Willmensen (3), D. Elliott (4), P. Hagerman (2), N. Charlet (1)

(1) Département de neurobiologie et génétique, IGBMC, Illkirch Graffenstaden, France ; (2) Department of biochemistry and molecular medicine, University of California Davis, USA ; (3) Department of clinical genetics, Erasmus, The Netherlands ; (4) Institute of human genetics, University of Newcastle, United Kingdom

Contact : Chantal.Sellier@igbmc.fr

FXTAS is a neurodegenerative disorder of older adult carriers of premutation allele (50 to 200 CGG repeats) in the 5'UTR of the Fragile X Mental Retardation 1 gene (FMR1). The pathologic hallmark of FXTAS is the presence of ubiquitin positive intra-nuclear inclusions in neurons and astrocytes with a broad distribution throughout the brain. We set up a cellular model in which transfection of expanded CGG repeats leads to accumulation of intra-nuclear CGG RNA aggregates visualized by RNA FISH experiments. In contrast to CUG or AUUCU foci, CGG aggregates are dynamic structures that enlarge over time and accumulate various proteins sequentially. We found that a CGG-BP1 protein is sequestered by CGG repeats in cultured cells and FXTAS patient. Next, we identified the splicing factor Sam68 to specifically colocalize with CGG aggregates. Mini-gene responding to Sam68 also responds, but in an opposite direction, to CGG repeats, thus suggesting a functional sequestration and loss of function of Sam68. Finally, we shown late accumulation of hnRNP A, hnRNP G and MBNL1 within the larger CGG aggregates. Using various shRNA and mutants, we found that Sam68 recruitment is an early event required to the latter recruitment of hnRNP A, hnRNP G and MBNL1 through protein-protein interactions. In conclusion, our results suggest that like CUG repeats, CGG expanded repeats form intra-nuclear RNA aggregates that sequester specific proteins resulting in loss of their functions. However, in contrast to CUG repeats, expanded CGG repeats sequester various proteins sequentially, among which depletion of Sam68 splicing activity leads to specific splicing alteration in FXTAS patients.

**Mots-clés :** FXTAS, Sam68, Mbnl1.

**■P573. EXPRESSION NEURONALE DES ENZYMES E2 DE LA VOIE DE L'UBIQUITINYLATION : DE NOUVEAUX GÈNES CANDIDATS DANS L'AUTISME ET LA DÉFICIENCE MENTALE**

A. Paubel (1, 3), C. Michelle (1), F. Laumonier (1), S. Tourlet (1), R.A. Thepault (1), M. Raynaud (1, 3), C.R. Andres (1, 2), P. Vourc'h (1, 2)

(1) Unité INSERM U930, CNRS-ERL 3160, Université François Rabelais, Tours, France ; (2) Laboratoire de Biochimie et Biologie moléculaire, CHRU Bretonneau, Tours, France ; (3) Service de Génétique, CHRU Bretonneau, Tours, France

Contact : agathepaubel@gmail.com

L'autisme et la déficience mentale sont des enjeux majeurs de santé publique. L'autisme touche plus d'un enfant sur 1 000 et se caractérise par une anomalie du développement neuropsychologique portant particulièrement sur les fonctions de socialisation et de communication. La déficience mentale est un handicap qui affecte 3 enfants pour 100 et se définit comme un fonctionnement intellectuel significativement en dessous de la moyenne (QI < 70) associé à des limitations des fonctions cognitives. Les causes de ces pathologies sont hétérogènes et impliquent très souvent des facteurs génétiques. Plusieurs des gènes déjà identifiés participent au développement des neurones glutamérergiques et à la plasticité synaptique. La voie de l'ubiquitinylation régule l'adressage cellulaire et la demi-vie de nombreuses protéines neuronales. Elle comporte 3 familles d'enzymes : les enzymes d'activation de l'ubiquitine (E1), les enzymes de conjugaison de l'ubiquitine (E2) et les enzymes de liaison de l'ubiquitine (E3). Plusieurs E2 et E3 ont déjà été impliqués dans des pathologies neurodéveloppementales. Ainsi, une mutation du gène UBE2A (Xq24) codant une E2 a récemment été identifiée dans une famille de déficients mentaux. Nous avons identifié *in silico* 37 gènes codant des E2 chez l'homme et 39 chez la souris (Michelle *et al.*, 2009). Nous avons étudié *in vitro* l'expression des 39 gènes E2 pendant le développement et la maturation des neurones d'hippocampes d'embryons (E17) de souris. 38 d'entre eux s'expriment dans



les neurones et présentent des profils d'expression variables en fonction du stade de développement neuronal : neurotogenèse, synaptogenèse, après stimulation (1h ; 12h) par un analogue du glutamate, le NMDA, connu pour modifier l'expression de nombreux gènes impliqués dans la plasticité synaptique. Une analyse hiérarchique a permis de classer les gènes E2 selon leur profil d'expression et d'extraire les candidats potentiels dans l'autisme et la déficience mentale. Ces gènes sont en cours de séquençage dans des cohortes de patients. Par ailleurs, les études d'expression couplées à l'analyse *in silico* des promoteurs des gènes E2 nous permettront de mieux comprendre les mécanismes impliqués dans la physiologie neuronale et la plasticité synaptique.

**Mots-clés :** autisme, déficience mentale, enzymes de conjugaison de l'ubiquitine.

#### ■P574. ÉTUDE DU GÈNE *FGD4* ET DE SA PROTÉINE FRABIN. PATHOPHYSIOLOGIE DE LA MALADIE DE CHARCOT-MARIE-TOOTH DE TYPE 4H

C. Baudot (1), Y. Poitelon (1), A. Mégarbané (2), N. Lévy (1, 3), V. Delague (1) (1) *Inserm UMR\_S 910, Université de la Méditerranée Aix-Marseille II, Faculté de Médecine DH de la Timone, Marseille, France* ; (2) *Unité de Génétique Médicale, Université Saint-Joseph, Campus des Sciences Médicales, Beyrouth, Liban* ; (3) *AP-HM, Département de Génétique Médicale, Hôpital d'enfants Timone, Marseille, France*  
Contact : [cecile.baudot@univmed.fr](mailto:cecile.baudot@univmed.fr)

La maladie de Charcot-Marie-Tooth (CMT) constitue un groupe de maladies hétérogènes. Cliniquement, elle se caractérise par une faiblesse musculaire au niveau des membres inférieurs distaux, des déformations des pieds et des mains et un abaissement des vitesses de conduction nerveuse. En 2007, Delague et al ont identifié le gène impliqué dans CMT4H, une forme démyélinisante autosomique récessive. Il s'agit du gène *FGD4*, qui code pour le facteur d'échange GDP-GTP (RhoGEF) *FGD4*/FRABIN. FRABIN contient 5 domaines fonctionnels : un domaine FAB de liaison à l'actine, un domaine DH à activité RhoGEF, 3 domaines impliqués dans l'interaction avec les polyphosphoinositides. Sept mutations sont connues à ce jour dans le gène et nous décrivons ici une 8<sup>e</sup> mutation caractérisée dans une famille consanguine libanaise. Il s'agit de la mutation faux-sens c.1698G>A (p.Met566Ile). Actuellement, il est difficile d'établir des corrélations génotype/phénotype, puisqu'on observe une hétérogénéité clinique inter- et intra-familiale. Afin de mieux comprendre la pathophysiologie de CMT4H, nous avons réalisé différentes études sur les fibroblastes du patient libanais porteur de la mutation d'épissage c.893T>G (p.Met298fsX8). La protéine mutée est prédite pour être dépourvue d'une partie du domaine DH et des 3 derniers domaines fonctionnels. Dans un premier temps, nous avons fait l'hypothèse d'une dérégulation de la voie Cdc42-Rac1, RhoGTPases cibles de FRABIN. Nous avons donc recherché des anomalies du cytosquelette, de l'activation de Cdc42 et Rac1 et de la migration cellulaire. Nos résultats ne montrent pas d'anomalies significatives chez le patient. Ceci semble en contradiction avec les études sur les souris KO conditionnelles Cdc42 et Rac1 dans les cellules de Schwann qui montrent un rôle important pour ces RhoGTPases dans les processus de myélinisation. Cependant, des études par Western-Blot (WB) nous ont permis de caractériser une nouvelle isoforme de FRABIN, qui pourrait correspondre à un transcrypt alternatif dépourvu de l'exon 3 (contenant le codon AUG), précédemment caractérisé par RT-PCR. Elle serait identique à FRABIN mais dépourvue du domaine de liaison à l'actine. Sachant que la présence de FRABIN au niveau du cytosquelette d'actine est essentielle pour l'activation de Cdc42, cela pourrait expliquer l'absence de dérégulation dans les fibroblastes. D'autres pistes sont à l'étude, telles que la voie de la kinase JNK, activée par FRABIN, et connue pour inhiber la myélinisation ; ou la voie des GTPases mitochondriales, telle que MFN2, mutée dans une forme axonale de CMT. Néanmoins, nous avons démontré que les fibroblastes ne sont pas un bon modèle d'étude pour CMT4H. L'exploration d'autres modèles, tels que des souris KO *FGD4* conditionnelles dans les cellules de Schwann, ou des co-cultures cellulaires de Schwann/axone, est actuellement en cours et devrait nous permettre une meilleure compréhension de la pathophysiologie de CMT4H.

**Mots-clés :** neuropathie, RhoGEF, CMT4H.

#### ■P575. CHARACTERIZATION OF THE MOLECULAR AND CELLULAR MECHANISMS UNDERLYING MENTAL RETARDATION IN THE COFFIN LOWRY SYNDROME

A. Schneider, S. Pannetier, A. Hanauer  
*Institut de Génétique et de Biologie Moléculaire et Cellulaire, Illkirch, France*  
Contact : [anne.schneider@igbmc.fr](mailto:anne.schneider@igbmc.fr)

The Coffin Lowry Syndrome is a rare but very handicapping syndromic form of X-linked mental retardation. Affected patients develop facial

abnormalities, progressive skeletal deformations and psychomotor retardation. This syndrome is due to mutations in the gene coding for RSK2, a member of the RSK family. RSKs are serine/threonine protein kinases that act at the end of the Ras/MAPK signalling pathway by phosphorylating cytoplasmic and nuclear substrates after cellular perturbations (growth factors or neurotransmitters). RSKs are so implicated in important cellular events, including proliferation, cell survival and neuronal outgrowth. RSK2-KO mice exhibit skeletal as well as behavioural abnormalities, including impaired spatial learning and memorisation. Moreover, in the adult mouse brain, RSK2 is highly expressed in the hippocampus, a structure involved in these cognitive processes. For these reasons, based on primary hippocampal cell cultures, we are trying to unravel the molecular and cellular mechanism underlying cognitive dysfunction in RSK2-KO mice and patients. Therefore, we are investigating the mechanisms involved in neurotransmission and synaptic plasticity by studying dendritic spine morphology and density as well as the MAPK signalling pathway, which plays an important role in spinogenesis. Indeed in many cases of mental retardation the distribution and morphology of dendritic spines was shown to be altered. These actin rich protrusions are highly dynamic and are involved in the regulation of transmission and synaptic plasticity. A preliminary morphological analysis has revealed an increased density of mature spines along KO neuritis, but fewer excitatory synapses than in WT neurons. These results suggest an alteration of the process of spines maturation in RSK2-KO cells, which may influence synaptic plasticity. This observation prompted us to check the expression and the activation of RSK2 substrates and of actors of the Ras/MAPK pathway, in response to stimulation. Western blot analyses have revealed a decreased CREB phosphorylation, as well as an increased ERK1/2 activation in KO cells. ERK increased phosphorylation results in altered activation of other RSK family members and of ELK1, a transcription factor. These molecular analyses suggest an alteration of the transcriptional activity in RSK2-KO embryos, and can explain in part the morphological alterations observed. Moreover several synaptic proteins are regulated by the Ras/MAPK pathway, and their dysfunction may explain the modification identified. In this way, Shank3 and Neurobin2 are two post-synaptic proteins, which can be phosphorylated respectively by RSK2 and ERK. Interestingly, their phosphorylation state controls their interaction with the actin cytoskeleton, which may influence the morphology of dendritic spines. The study of these proteins may give us new insight into the understanding of the molecular and cellular mechanisms involved in this mental retardation.

**Mots-clés :** mental retardation, synaptic plasticity, RSK2.

#### ■P576. ÉTUDE D'UN MODÈLE MURIN DE LA RÉTINOPATHIE SCA7 : ÉQUILIBRE ENTRE MÉCANISMES DE MORT ET DE SURVIE DES PHOTORECEPTEURS EN RÉPONSE À LA TOXICITÉ DES POLYGLUTAMINES

M. Yefimova (1, 4), N. Messaddeq (1), C. Jacquard (1), A. Karam (1), C. Weber (1), L. Jonet (3), U. Wolfrum (2), J.C. Jeanny (3), Y. Trottier (1) (1) *Department of Neurobiology and Genetics, Institute of Genetics and Molecular and Cellular Biology (IGBMC), UMR 7104-CNRS/INSERM/ UdS, Illkirch, France* ; (2) *Johannes Gutenberg University of Mainz, Mainz, Germany* ; (3) *Inserm UMRS 872 Team 17, Centre de Recherche des Cordeliers, Paris, France* ; (4) *Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry, Russian Academy of Sciences, St-Petersburg, Russia*  
Contact : [yvon@igbmc.fr](mailto:yvon@igbmc.fr)

Dix maladies neurodégénératives héréditaires, incluant la maladie de Huntington et des ataxies spinocérébelleuses (SCA), sont causées par des expansions de polyglutamine (polyQ), qui confèrent des propriétés « neurotoxiques » aux protéines mutées spécifiques de chaque maladie. Il est généralement admis que la neurotoxicité découle d'une cascade unique d'événements dégénératifs menant à la dysfunction puis la mort des neurones. Comment les neurones répondent *in vivo* à la toxicité induite par les polyQ reste largement inconnu. Pour adresser cette question, nous avons étudié un modèle murin transgénique SCA7 qui exprime l'ataxine-7 mutée (MATXN7) uniquement dans les photorécepteurs de la rétine, récapitulant ainsi la rétinopathie affectant les patients SCA7. Ce modèle permet l'analyse des effets toxiques à long terme de la MATXN7 car la survie de la souris n'est pas compromise. Nous montrons qu'*in vivo* la réponse à la toxicité de la MATXN7 est diverse et oriente les photorécepteurs vers des destins cellulaires radicalement opposés, tels la mort apoptotique et non-apoptotique, la migration, la différenciation ou, plus remarquablement, la prolifération. De façon très intéressante, un certain équilibre entre des réponses de mort et de survie (prolifération et différenciation) a pour effet de maintenir l'intégrité structurale de la couche des photorécepteurs de la rétine, mais non sa fonction. La prolifération et la différenciation



montrent la remarquable plasticité des neurones soumis aux stress toxiques et pourraient être potentialisées dans un cadre thérapeutique.

**Mots-clés :** neurodégénérescence, génétique, rétine.

**■P577. ÉTUDE DES CONSÉQUENCES DE L'INACTIVATION DES GÈNES DE PARAPLÉGIES SPASTIQUES RÉCESSIVES *SPG11* ET *SPG15* CHEZ LE POISSON ZÈBRE**

E. Martin, C. Yanicostas, A. Maouedj, A. Brice, G. Stevanin, N. Soussi-Yanicostas

*INSERM/UPMC UMR\_S975, CNRS 7225, Centre de Recherche de l'Institut du Cerveau et de la Moelle épinière, NEB, GHU Pitié-Salpêtrière, Paris, France*

Contact : [elodie.martin@upmc.fr](mailto:elodie.martin@upmc.fr)

Les paraplégies spastiques familiales (PSF ou SPG) sont des pathologies neurodégénératives rares ayant pour point commun une altération de la voie pyramidale (dite cortico-spinale) qui se traduit par une spasticité des membres inférieurs. La forme complexe associant un retard mental ou un déficit cognitif à une atrophie du corps calleux (PSF-TCC, TCC pour Thin Corpus Callosum) est la forme la plus grave et la plus courante des PSF autosomiques récessives. Deux gènes ont été identifiés comme responsables de la majorité des cas de PSF-TCC, il s'agit de *SPG11* qui code pour la spatascine et *SPG15* qui code pour la spastizine. Toutes les mutations rapportées dans ces 2 gènes ; faux-sens, délétions, insertions, réarrangements sont tronquantes et conduisent à une perte de fonction des protéines correspondantes. À l'heure actuelle les fonctions de la spatascine et de la spastizine sont encore inconnues. Nous avons utilisé le *Danio rerio* (poisson zèbre) afin d'explorer les fonctions de ces protéines au cours du développement. Nous avons tout d'abord analysé le profil d'expression de *SPG11* et *SPG15* par RT-PCR, ainsi que par des expériences d'hybridation *in situ*. Ces expériences ont fait ressortir un profil d'expression comparable pour *SPG11* et *SPG15*. Les messagers s'expriment dès les premiers stades du développement et sont ubiquitaires avec tout de même une expression prédominante dans le cerveau. Nous avons ensuite utilisé la technologie des morpholinos oligonucléotides qui nous ont permis d'étudier les conséquences de l'inactivation de ces gènes. Nous avons ainsi observé que la perte de fonction de la spatascine, comme celle de la spastizine, entraîne l'apparition de malformations développementales au niveau de la queue des embryons. Les embryons ainsi affectés voient également leur motilité réduite ou abolie. En injectant les morpholinos oligonucléotides dans des lignées de *Danio rerio* exprimant constitutivement la GFP dans des populations neuronales spécifiques, nous avons mis en évidence un défaut au niveau de la croissance axonale des motoneurons de la moelle pour *SPG11* et *SPG15*. Nous allons maintenant nous appliquer à vérifier si il est possible de réverser les phénotypes observés lors de l'inactivation des gènes *SPG11* et *SPG15* en co-injectant les morpholinos oligonucléotides avec les ARN messagers humains correspondants. Ceci nous permettra d'affirmer la spécificité du phénotype observé et nous aidera également dans la compréhension des fonctions de la spatascine et de la spastizine. De plus, la validation du modèle de *Danio rerio* par inactivation de *SPG11* ou *SPG15* par injection de morpholinos oligonucléotides nous permettra, à plus long terme d'avoir un modèle solide nous offrant la possibilité de tester des molécules d'intérêt thérapeutique.

**Mots-clés :** paraplégie spastique, poisson zèbre, morpholino oligonucléotide.

**■P578. EXPLORATIONS CELLULAIRES DE LA MALADIE DE CHARCOT-MARIE-TOOTH DE TYPE AR-CMT2A**

Y. Poitelon (1), J.-M. Gonzalez (2), C. Baudot (1), S. Rabarimerarijaonana (1), V. Andrès (2), N. Lévy (1), V. Delague (1)

(1) *Université de la Méditerranée, UMR\_S 910, Marseille, France* ; (2) *Instituto de Biomedicina de Valencia, Valencia, Spain*

Contact : [yannick.poitelon@univmed.fr](mailto:yannick.poitelon@univmed.fr)

A-type Lamins, a class of intermediate filaments encoded by LMNA, are major components of the nuclear lamina, a filamentous network underlying the inner face of the nuclear membrane. Up to date, eleven pathologies, described as Laminopathies, have been associated with mutations in LMNA. One of these, Charcot-Marie-Tooth disease (CMT), type AR-CMT2A, is an autosomal recessive form of axonal CMT caused by the c.892C>T transition in LMNA exon 5 (p.Arg298Cys). In order to progress towards understanding of the pathophysiological mechanisms underlying AR-CMT2A, we studied two different models for the disease : human cells from patients homozygous for the c.892C>T mutation, and a Knock-In *Lmna*R298C/R298C mouse model. Gene expression studies performed on microfluidic plates (Low Density Arrays) evidenced a significant decrease of LMNA expression levels in human cells. These observations were

confirmed in Knock-In mouse tissues (brain, skeletal and cardiac muscle, sciatic nerve and spinal cord). The p.Arg298Cys mutation lies within a coil-coiled domain, an important functional domain for intermediate filament polymerization. *In silico* predictions and structural data are in favor of a destabilizing potential of this mutation. Moreover we shown, through GST-Pull down and co-Immunoprecipitation, that Lamins interact with c-Jun, a Leucine Zipper transcription factor, and the p.Arg298Cys mutation is sufficient to affect this interaction. We therefore propose a two-hit pathophysiological mechanism model : - LMNA seems to be autoregulated through an A-type Lamins - AP-1 (c-Jun/c-Fos) complex, which might be disrupted at the protein level by the presence of the mutation. AR-CMT2A fibroblasts transfected with the Luciferase gene under the control of AP-1 response element confirmed this auto-regulation loop. - The p.Arg298Cys mutation might destabilize complexes between A-type Lamins and other Leucine Zipper proteins, that might be some nerve specific transcription factors.

**Mots-clés :** CMT, LMNA, JUN.

**■P579. IDENTIFICATION PAR CHIP-ON-CHIP DES GÈNES CIBLES D'ARX, FACTEUR DE TRANSCRIPTION IMPLIQUÉ DANS LE RETARD MENTAL ET L'ÉPILEPSIE**

M.L. Quillé (1), S. Quemener (1), S. Carat (2), C. Benech (1), R. Houlgatte (2), C. Ferec (1), G. Friocourt (1)

(1) *INSERM U613 Génétique moléculaire et Génétique épidémiologique, Brest, France* ; (2) *INSERM UMR 915 l'institut du thorax IRT, Nantes, France*

Contact : [gaelle.friocourt@univ-brest.fr](mailto:gaelle.friocourt@univ-brest.fr)

Les mutations du gène ARX (aristalless-related homeobox) sont responsables d'un large spectre de phénotypes allant de malformations sévères liées à un défaut de migration neuronale telle que la lissencéphalie, à des formes plus légères de retard mental sans anomalie de structure du cerveau (Kitamura *et al.*, 2002 ; Sherr *et al.*, 2003). Le gène ARX code un facteur de transcription à homéodomaine, fortement exprimé au cours du développement du cerveau, et plus particulièrement dans les interneurons gamma-amino butyric acid (GABA)ergiques (Kitamura *et al.*, 2002 ; Poirier *et al.*, 2004 ; Friocourt *et al.*, 2006). Plusieurs études ont récemment montré l'implication d'ARX dans divers processus cellulaires tels que la prolifération des neuroblastes, la migration neuronale et la différenciation cellulaire (Kitamura *et al.*, 2002 ; Colombo *et al.*, 2007 ; Friocourt *et al.*, 2008). Afin de mieux comprendre les différents rôles d'ARX et de caractériser les voies de signalisation impliquées, nous avons cherché à identifier les cibles d'ARX par la technique d'immunoprécipitation de la chromatine associée aux puces à ADN (ChIP-on-Chip). Les complexes protéine/ADN, issus soit de cellules de neuroblastome de souris (N2a) transfectées par ARX, soit de cerveaux embryonnaires de souris à E15.5, ont été immunoprécipités par un anticorps anti-ARX. L'ADN cible a ensuite été purifié, amplifié, marqué puis hybridé de manière compétitive avec un ADN de référence sur des puces à ADN ciblant les promoteurs de tous les gènes de la souris. Enfin, les données extraites ont été analysées par différents outils bio-informatiques. Les résultats préliminaires confirment l'implication d'ARX dans des processus aussi importants que la régionalisation du cerveau, la migration, la différenciation, l'axonogenèse et la transmission synaptique. Nous présenterons la validation de quelques cibles par ChIP-PCR et retard sur gel. Nos données seront également comparées avec celles de la littérature, en particulier avec les gènes identifiés par des études transcriptomiques et différenciation régulés chez les souris mutées Arx et les souris wild-type (Fulp *et al.*, 2008 ; Colasante *et al.* 2009). Cette étude devrait ainsi contribuer à une meilleure compréhension du rôle d'ARX dans la corticogenèse et à une meilleure caractérisation des mécanismes physiopathologiques du retard mental et de l'épilepsie associés aux mutations d'ARX.

**Mots-clés :** ARX, facteur de transcription, lissencéphalie.

**■P580. DES GÈNES DU DÉVELOPPEMENT SONT SPÉCIFIQUEMENT IMPLIQUÉS DANS LES FORMES SÉVÈRES D'EIF2B-PATHIES**

L. Horzinski (1, 2), A. Hénaut (3), A. Huyghe (1, 2), E. Bertini (4), R. Schiffmann (5), D. Rodriguez (6, 7, 8), Y. Dantal (3), O. Boespflug-Tanguy (1, 2, 9), A. Fogli (1, 2, 10)

(1) *INSERM U931 CNRS 6247 Génétique Reproduction et Développement (GrEd), Faculté de Médecine, Clermont-Ferrand, France* ; (2) *Université Clermont 1, UFR Médecine, Clermont-Ferrand, France* ; (3) *Soluscience, CBRV, Clermont-Ferrand, France* ; (4) *Division of Pediatric Neurology and Unit of Molecular Medicine, Department of Neuroscience, Bambino Gesù Hospital IRCCS, Rome, Italy* ; (5) *Institute of Metabolic Disease, Baylor Research Institute, Dallas, Texas, United States* ; (6) *Service de*

Neuropédiatrie, Hôpital Armand-Trousseau, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Paris, France ; (7) INSERM U546, Paris, France ; (8) Université Pierre-et-Marie-Curie Paris 6, Paris, France ; (9) Service de Génétique Médicale, Centre de Référence Leucodystrophies, CHU de Clermont-Ferrand, Hôpital Hôtel-Dieu, Clermont-Ferrand, France ; (10) Service de Biochimie Médicale et Biologie Moléculaire, CHU de Clermont-Ferrand, Clermont-Ferrand, France  
Contact : anne.fogli@inserm.u-clermont1.fr

Parmi les maladies démyélinisantes héréditaires, les eIF2B-pathies représentent un groupe cliniquement hétérogène, allant de formes congénitales sévères à des formes adultes asymptomatiques. Elles sont dues à des mutations des cinq gènes EIF2B1-5 codant les sous-unités du facteur ubiquitaire d'initiation de la traduction 2B (eIF2B). Ce facteur est impliqué dans les régulations de l'étape d'initiation de la traduction en cas de stress cellulaire, grâce à son activité intrinsèque d'échange de guanine (GEF : guanine exchange factor), qui lui permet d'activer un autre facteur d'initiation de la traduction : eIF2. La physiopathologie de cette maladie n'est pas connue mais semble faire intervenir : i) un défaut de maturation des cellules gliales, et ii) une activation accrue de la réponse au stress médiée par le facteur ATF4 (Activating transcription factor 4), comme cela a été rapporté dans les oligodendrocytes, cerveaux et fibroblastes (Fb) mutés de patients. Une corrélation entre l'activité GEF du facteur eIF2B et la sévérité de la maladie (âge de début) a été décrite. Dans le but d'identifier les voies métaboliques en cause dans les eIF2B-pathies, nous avons réalisé une étude transcriptomique différentielle entre 10 Fb de patients porteurs d'une forme sévère d'eIF2B-pathie (activité GEF <50 %) en comparaison de contrôles et de Fb de patients porteurs d'autres types de leucodystrophies, et ce à l'état basal et suite à un stress cellulaire (stress du reticulum endoplasmique, RE, induit par un traitement à la thapsigargine). Nous avons démontré une réponse au stress semblable entre les différents groupes, suggérant que la réponse au stress du RE n'est pas spécifique des eIF2B-pathies. Nous avons identifié 72 gènes différentiellement exprimés de manière spécifique dans les Fb mutés eIF2B, la majorité étant impliqués dans les processus de développement. Nous avons sélectionné 10 gènes du fait de leur possible implication dans la physiopathologie : les gènes HNRNPH1, HNRNPF, HNRNPL et HNRNPC (transcription ou stabilisation et épissage des ARNm), MRPS26, MRPL28, HCCS, VDAC3 et KIF5B (mitochondrie) et DIAPH3 (développement). Nous avons confirmé les résultats pour ces gènes par QRT-PCR dans les Fb mais également dans les cerveaux de fœtus humains atteints. Ces résultats suggèrent que les formes sévères d'eIF2B-pathies sont dues à des anomalies primitives du développement, qui pourraient expliquer la susceptibilité de la substance blanche aux mutations du facteur eIF2B.

**Mots-clés :** leucodystrophie, CACH/VWM, transcriptomique.

**■P581. RÔLE DU TRANSPORTEUR MONOCARBOXYLATE 8 (MCT8), RESPONSABLE DE RETARDS MENTAUX LIÉS À L'X AVEC SPASTICITÉ ET DYSMYÉLINISATION, DANS LE TRANSPORT DES HORMONES THYROÏDIENNES DANS LES OLIGODENDROCYTES**

Y. Capri (1, 2), E. Friesma (3), C. Gonther-Gueret (1, 2), O. Boesflug-Tanguy (1, 4), T.J. Visser (3), C. Vaur-Barriere (1, 2)  
(1) INSERM, U931, GReD CNRS 6247, Faculté de Médecine, 63000 Clermont-Ferrand, France ; (2) Univ Clermont 1, UFR Médecine, Génétique Médicale, 63000 Clermont-Ferrand, France ; (3) Department of Internal Medicine, Erasmus University Medical Center, Rotterdam, The Netherlands ; (4) Centre de référence des leucodystrophies, Service de neurologie pédiatrique, Hôpital Robert Debré, Paris, France  
Contact : catherine.barriere@u-clermont1.fr

Le gène du transporteur monocarboxylate 8 (MCT8) code un transporteur spécifique des hormones thyroïdiennes (HT), exprimé dans de nombreux tissus dont le cerveau. Dans ce dernier, une expression a été décrite principalement à l'âge adulte, au niveau des neurones, des cellules endothéliales des micro-vaisseaux et des cellules épendymaires/tanocytes des plexus choroïdes. Les mutations perte de fonction du gène MCT8 sont responsables de retards du développement psychomoteur de sévérité variable associés à des anomalies de dosage des HT. Nous avons récemment décrit que les patients porteurs de mutations MCT8 présentent également un retard de myélinisation. Ce dernier se caractérise par un aspect d'hypomyélinisation diffuse de la substance blanche à l'IRM à des âges précoces (<3ans) qui se normalise progressivement. Dans le système nerveux central (SNC), la myélinisation des axones est assurée par des cellules spécialisées, les oligodendrocytes (OLs). In vitro, les HT sont connues pour jouer un rôle direct dans la différenciation des OLs. In vivo, les individus (humains ou modèles animaux) avec déficit en HT présentent, comme les patients MCT8, un dysmyélinisation, démontrant que les HT

participent à la mise en place du processus de myélinisation. Le phénotype clinique des patients MCT8 suggère donc que, chez l'homme, un défaut de transport des HT dans le SNC *via* MCT8 affecte le fonctionnement non seulement des neurones mais aussi des OLs. La question reste de savoir si la perte de fonction de MCT8 affecte le développement des OLs de façon directe *via* le transport des HT dans les OLs et/ou indirecte *via* l'altération d'interactions axones-OLs liées à l'action de la T3 dans les neurones. Nos travaux ont montré que : – 1) MCT8 présente des niveaux d'expression 2 à 11 fois plus importants durant la phase active de maturation des OLs dans le cerveau foetal humain par rapport à l'adulte – 2) une expression significative de MCT8 est retrouvée dans différentes lignées oligodendrocytaires incluant les MO3.13 (lignée oligodendrogliome humain), les Oli-neu (lignée oligodendrocytaire de souris) et des cultures primaires d'OLs de souris, – 3) dans les MO3.13, l'inhibition de 84 % de l'expression de MCT8, *via* l'action de SiARN, est associée à une diminution de 42,17 % +/- 4,39 du transport de T3. Ces résultats démontrent que le transport des HT dans les OLs semble être médié, au moins en partie, par MCT8. Des expériences complémentaires visant à étudier l'impact de l'inhibition d'expression de Mct8 dans les Oli-neu sur le transport de T3 et à définir les types cellulaires exprimant MCT8 au cours du développement cérébral humain sont en cours. L'ensemble de ces données nous permettront de conclure quand à l'implication directe de MCT8 en tant que transporteur des HT dans les OLs et de démontrer si la dysmyélinisation observée chez les patients avec mutations MCT8 résulte ou non d'un défaut de transport des HT dans les OLs.

**Mots-clés :** transport hormones thyroïdiennes, oligodendrocytes.

**■P582. FROM STRUCTURAL STUDIES OF POLYGLUTAMINE TO PATHOLOGICAL MODELS AND THERAPEUTIC STRATEGIES**  
F. A.C. Klein, A. Cousido-Siah, A. Mitschler, A. Podjarny, Y. Trotter  
Institut de Génétique et de Biologie Moléculaire et Cellulaire, Illkirch, France

Contact : yvon@igbmc.fr

Polyglutamine (polyQ) diseases are a group of 9 adult-onset genetic diseases that result in degeneration of selected brain areas. The most common polyQ disease is Huntington disease. It affects ~1 in 10,000 individuals, and is characterized by abnormal body movements (chorea), mood changes, loss of memory and cognitive functions, and death within 10 to 20 years of disease duration. Up to now, there is no treatment to prevent or slow down the disease process in HD or in any other polyQ disease. PolyQ diseases are caused by the expansion of CAG trinucleotide repeats, which code for polyQ sequences in ubiquitously expressed disease proteins. Cognate wild type proteins bear a polymorphic polyQ, but expansion above a polyQ length specific to each disease confers neurotoxic properties to mutant proteins. The existence of this polyQ-length dependent toxicity threshold is an intriguing observation that could be explained by two pathomechanistic models : (1) a "structural threshold model" proposes that the toxicity threshold is triggered by a conformational change that occurs only above a certain polyQ length ; (2) this model was later challenged by a "gradual polyQ length-toxicity model", in which polyQ tracts are inherently toxic sequences whose deleterious effect gradually increases with polyQ length and aggregation kinetics. In this model, polyQ toxicity manifests when cellular factors that prevent proteotoxicity, such as the protein homeostasis machinery, are overwhelmed. One key argument supporting the "gradual polyQ length-toxicity model" is that polyQ of non-pathological and pathological lengths display very similar structural properties. Accordingly, we hypothesized that short polyQ should retain the ability to interact with expanded polyQ and perturb the aggregation mechanism. We show here that peptides containing short polyQ stretches, named Q-peps, act indeed as aggregation inhibitors *in vitro*. Q-peps are the first polyQ aggregation inhibitors that were designed on a rational basis. Improving directly the efficiency of protein homeostasis or facilitating indirectly its action by modulating the polyQ aggregation pathway could be a promising strategy for therapy. Interestingly, numerous aggregation modulators were reported, but few efforts were made to understand at which step of the aggregation pathway these molecules are acting. Here, we report that various aggregation modulators act on distinct aggregation steps. We also provide the first *in vitro* demonstration that the combination of aggregation modulators can have synergistic effects. It should then be possible to reach better *in vivo* effects with aggregation modulator cocktails, while using reduced concentrations of each individual modulator. Our results support the "gradual polyQ length-toxicity" model. They are also of fundamental importance to understand both the mechanism of polyQ aggregation and the action of aggregation modulators, which are molecules of therapeutical interest.

**Mots-clés :** polyglutamine, aggregation, inhibitor.

**■P583. CONTACTINES ET VULNÉRABILITÉ À L'AUTISME : ANALYSE FONCTIONNELLE IN VITRO DE MUTATIONS DE LA CONTACTINE 6**

O. Mercati (1), M. Konyukh (1), V. Dufresne (1), C. Leblond (1), A. Dancckaert (2), K. Watanabe (3), T. Bourgeron (1), I. Cloëz-Tayarani (1)  
(1) Institut Pasteur, CNRS URA 2182, Paris, France. (2) Institut Pasteur, ImagoPole, Paris, France. (3) Nagaoka University of Technology, Nagaoka, Japan  
Contact : icloez@pasteur.fr

Les contactines sont des molécules d'adhérence cellulaire de la famille des immunoglobulines impliquées dans la croissance, le guidage et l'orientation des axones dans le système nerveux central chez la souris. Certains retards du développement et troubles cognitifs associés à des pathologies humaines, telles que l'autisme, pourraient être dus à des anomalies des protéines de la famille des contactines. Ainsi, des délétions des gènes des contactines 3 et 4 ont été identifiées dans la littérature chez des individus autistes. L'autisme se caractérise par un déficit de l'interaction sociale réciproque, une absence ou une atteinte qualitative du langage, et un répertoire de comportements restreints, répétitifs et stéréotypés. Les troubles autistiques apparaissent chez l'enfant avant l'âge de trois ans et affectent environ un individu sur 166. Au laboratoire, nous avons mis en évidence la présence de « copy number variants = CNV » dans le gène de la contactine-6 chez des patients atteints de troubles autistiques. Après séquençage de l'ADN de 254 patients, huit mutations ponctuelles non synonymes dans le gène de la contactine 6 ont été identifiées au niveau de plusieurs exons. À l'exception d'une seule, les mutations se répartissent entre les différents domaines immunoglobuline et fibronectine de la protéine correspondante. Afin d'analyser le rôle de ces mutations sur l'expression cellulaire et l'adressage membranaire de la contactine 6, des cellules embryonnaires de rein (cellules HEK-293, « human embryonic kidney cells ») ont été transfectées avec les ADN complémentaires sauvages et mutés. L'analyse des lysats cellulaires totaux par SDS-PAGE et western blot et révélation par un anticorps anti-contactine 6 de souris confirme la présence de la protéine (130 kDa) à la fois pour la forme sauvage et pour chacune des huit mutations. L'analyse par immunofluorescence des cellules HEK-293 révèle une expression membranaire de la contactine à la fois pour la protéine sauvage et mutée. En conditions de perméabilisation, le marquage membranaire est conservé pour l'ensemble des mutations mais d'intensité variable selon les mutations. Des variations d'expression intracellulaire des protéines mutées sont observées. Un marquage intracellulaire intense est retrouvé pour une mutation présente dans le quatrième domaine fibronectine. Ces données suggèrent fortement l'existence d'anomalies post-traductionnelles. L'effet des mutations sur la fonction cellulaire est analysé dans un modèle de neurones en culture. Nous nous intéressons au rôle des protéines mutées mises en support de culture sur la croissance des neurites. Les formes solubles de la contactine sauvage et mutée sont produites. Les travaux présentés montreront l'approche mise au point permettant l'analyse quantitative de la taille des cellules, de la longueur et de l'épaisseur des neurites ainsi que des niveaux d'arborisation.

**Mots-clés :** contactine 6, autisme, mutations.

**■P584. PHYSIOPATHOLOGIE DE L'ATAXIE DE FRIEDREICH : ÉTUDE DE MODÈLES MURINS POUR COMPRENDRE LES MÉCANISMES IMPLIQUÉS DANS LA DÉRÉGULATION DU MÉTABOLISME DU FER**

A. Martelli (1), S. Schmucker (1), M. Wattenhofer-Donzé (1), H. Puy (2), L. Reutenauer (1), N. Messaddeq (1), H. Puccio (1)  
(1) Institut de Génétique et de Biologie Moléculaire et Cellulaire, Illkirch, France. (2) Centre Français des Porphyries, Université de Versailles-Saint Quentin en Yvelines, France  
Contact : martelli@igbmc.fr

L'ataxie de Friedreich (AF) est une maladie neurodégénérative invalidante et, jusqu'à ce jour, incurable, fréquemment associée à une cardiomyopathie. Le gène responsable de la maladie (FXN) code pour une protéine mitochondriale appelée frataxine. Chez les patients, la mutation majoritaire correspond à une expansion (GAA)<sub>n</sub> au niveau du premier intron du gène. Cette expansion conduit à une réduction de la transcription, et donc à un taux résiduel de frataxine chez les patients. La fonction exacte de la frataxine reste inconnue, mais plusieurs études indiquent qu'elle jouerait un rôle dans la biosynthèse des noyaux fer-soufre (Fe-S), la biosynthèse de l'hème et/ou le métabolisme du fer. Le lien entre frataxine et fer est notamment illustré par la présence de dépôts de fer intramitochondriaux dans les tissus des patients et des modèles souris de l'AF. Cette observation a conduit à penser que la dérégulation du métabolisme du fer pouvait jouer un rôle primordial dans la physiopathologie, et l'efficacité thérapeutique d'un chélateur de fer est actuellement testé en clinique chez les patients atteints de l'AF. Néanmoins, les causes exactes de la dérégulation de fer et son implication dans la physiopathologie ne sont pas connues, et nécessitent donc d'être caractérisées afin

d'évaluer l'impact de telles thérapies. Au laboratoire, nous avons généré plusieurs modèles souris, par une approche conditionnelle, qui reproduisent les caractéristiques phénotypiques et biochimiques de la maladie : hypertrophie cardiaque progressive, ataxie sensorielle et spinocérébelleuse progressive, déficit des protéines Fe-S, accumulation progressive de fer intramitochondrial. Nous avons montré que le déficit en Fe-S précède l'accumulation de fer dans la mitochondrie, suggérant que la dérégulation de la biogénèse des Fe-S est un événement primaire dans la physiopathologie. Pour mieux comprendre la relation entre la frataxine et la dérégulation du métabolisme du fer, nous avons généré un nouveau modèle conditionnel murin dans lequel le gène Fxn a été invalidé dans le foie. Le foie est un organe central de l'homeostasie du fer notamment via son activité de stockage et son rôle de senseur qui régule la transcription de l'hepcidine. Les souris obtenues présentent un phénotype sévère et une diminution de leur durée de vie. L'analyse histopathologique a révélé une stéatose et une dysfonction mitochondriale. L'atteinte primaire des protéines Fe-S a été confirmée, alors que la synthèse de l'hème ne semble pas affectée. L'expression de gènes impliqués dans le métabolisme du fer, ainsi que l'activité des régulateurs du métabolisme du fer, IRP1 et IRP2, ont été mesurées. Les résultats montrent clairement que la dérégulation du métabolisme du fer survient après le déficit en Fe-S et semble provenir de l'activation de IRP1, le régulateur dépendant des Fe-S. Ces nouvelles données permettent d'élaborer un schéma moléculaire expliquant la dérégulation du métabolisme du fer dans l'AF.

**Mots-clés :** métabolisme du fer, frataxine, mitochondrie.

**■P585. ANOMALIES DE LA CHROMATINE ET FONCTION ANORMALE DU COMPLEXE SAGA INDUITES PAR UNE EXPANSION POLYGLUTAMINE DANS L'ATAXINE-7**

G. Lang, C. Kizilyaprak, J. Bonnet, L. Tora, P. Schultz, D. Devys  
IGBMC, CNRS UMR 7104, INSERM U 964, Université de Strasbourg, France  
Contact : devys@igbmc.fr

L'ataxie spinocérébelleuse de type 7 (SCA7) est due à une expansion polyglutamine dans l'ataxine-7. SCA7 fait partie des maladies neurodégénératives par expansion polyglutamine mais est la seule où l'on observe une atteinte de la rétine. Bien que ces mutations agissent par un mécanisme de gain de fonction, encore mal compris, de nombreuses études indiquent que, pour chaque maladie, le contexte protéique dans lequel se situe l'expansion polyglutamine joue un rôle pathologique majeur. Afin de mieux comprendre les mécanismes moléculaires dans SCA7, nous menons une double approche : d'une part, nous caractérisons les conséquences de l'expression de l'ataxine-7 mutée dans un modèle murin de SCA7. D'autre part, l'étude de la fonction normale de l'ataxine-7 nous permet de tester quelles activités peuvent être altérées par l'expansion polyglutamine dans cette protéine. Nous avons caractérisé en détail une lignée de souris transgéniques surexprimant l'ataxine-7 mutée dans les photorécepteurs et identifié une désorganisation précoce des territoires chromatiniens dans ces neurones. Ces modifications induisent une perte d'expression des gènes spécifiques des photorécepteurs entraînant une perte des segments externe expliquant la diminution progressive de l'activité des photorécepteurs. Ayant identifié l'ataxine-7 comme une sous-unité du complexe transcriptionnel SAGA, nous avons voulu déterminer si les anomalies transcriptionnelles et les modifications de la chromatine induites par l'ataxine-7 mutée s'expliquent par une dérégulation de l'activité de ce complexe. La composition en sous-unités et l'activité d'acétylation des histones du complexe SAGA ne sont pas modifiées par l'expansion polyglutamine dans l'ataxine-7. Des expériences complémentaires montrent que l'ataxine-7 permet l'incorporation dans SAGA de nouvelles sous-unités dont USP22, une ubiquitine protéase. Nos résultats montrent que SAGA a effectivement une activité de désubiquitination des histones H2A et H2B monoubiquitinés *in vivo*. Cette activité enzymatique joue un rôle important dans la compaction de la chromatine et la régulation de l'expression des gènes. Nos résultats préliminaires montrent que l'activité enzymatique d'USP22 est régulée par l'ataxine-7 suggérant qu'une expansion polyglutamine dans cette sous-unité pourrait modifier le niveau d'ubiquitination des histones.

**Mots-clés :** polyglutamine, maladies neurodégénératives, chromatine.

**■P586. MECP2 REPRIME LE GÈNE CDKL5 MÉTHYLÉ : IMPLICATIONS DANS LES VARIANTES DU SYNDROME DE RETT**

P. Anglard, D. Carouge, L. Host, J. Zwiller  
Unité INSERM U575, Centre de Neurochimie, et Université de Strasbourg, France  
Contact : anglard@neurochem.u-strasbg.fr

Le syndrome de Rett est une maladie génétique qui affecte essentiellement les filles et qui représente la première cause de retard mental chez les filles avec une prévalence de 1/10 000 à 1/20 000 selon les pays. Il s'agit d'un

grave trouble neurologique caractérisé notamment par un retrait social, un retard psychomoteur, des stéréotypies manuelles et des épisodes épileptiques. Il est associé à des mutations du gène MECP2 (Methyl-CpG binding protein 2) porté par le chromosome X, la sévérité du syndrome étant liée à l'inactivation de ce chromosome. Une forme atypique plus précoce de ce syndrome, appelée variant Hanefeld ou « early seizures variant » est associée à des mutations du gène CDKL5 (Cyclin-dependent kinase-like 5) porté aussi par le chromosome X et présente certains phénotypes communs tels que des épisodes épileptiques. La phosphorylation *in vitro* de MeCP2 par CDKL5 a permis d'établir un premier lien entre les 2 protéines en suggérant que les mutations de CDKL5 sont susceptibles de modifier l'activité de MeCP2 et d'expliquer certains symptômes observés dans le variant Hanefeld. MeCP2 est une protéine de liaison à l'ADN méthylé et nous avons montré qu'elle était induite dans le cerveau de rat en réponse à la fluoxétine et à la cocaïne. Cette induction associée à celle d'autres facteurs épigénétiques comme MBD1 et l'histone désacétylase 2 montrent que des agents inhibant la recapture de sérotonine, comme les antidépresseurs et les drogues sont capables d'influencer la structure de la chromatine et que les neurones post-mitotiques sont capables de réinterpréter la méthylation de l'ADN acquise au cours du développement. Nous avons mis en évidence que l'induction de MeCP2 par la cocaïne dans le striatum ou le cortex, ou par la sérotonine dans des cultures cellulaires, entraîne la répression du gène Cdk15. La partie 5' du gène est méthylée dans le striatum et le nombre de CpG méthylés est augmenté de 73 % dans cette région en réponse à un traitement chronique par la cocaïne. En accord avec une régulation par méthylation de l'ADN, Cdk15 est induit après déméthylation du génome par des inhibiteurs d'ADN méthyltransférases. Par ailleurs, CDKL5 est réprimé dans des lignées cellulaires qui surexpriment MeCP2 de façon stable, alors qu'il est induit lorsque MeCP2 est inactivé par l'utilisation de siRNA. Dans le striatum, MeCP2 se lie au gène Cdk15 et cette liaison observée par immunoprécipitation chromatinienne est augmentée lors de la répression du gène par la cocaïne. Ces observations soulignent le rôle de MeCP2 en tant que répresseur de Cdk15, ainsi que la capacité d'un agent pharmacologique à modifier le profil de méthylation d'un gène dans un cerveau adulte. En établissant un lien nouveau entre les deux gènes, nos données apportent un nouveau concept concernant les mécanismes impliqués dans les symptômes neurologiques observés dans deux formes du syndrome de Rett.

**Mots-clés :** syndrome de Rett, neuropathologie, épigénétique.

#### ■P587. EXPRESSION ET RÔLE POTENTIEL DE LA FERRITINE MITOCHONDRIALE DANS DES MODÈLES MURINS ET CELLULAIRES DE L'ATAXIE DE FRIEDREICH

A. Hick, E. Ayme, A. Martelli, S. Schmucker, N. Calmels, M. Wattenhofer-Donzé, N. Vaucamps, L. Reutenauer, H. Puccio  
Département de Neurobiologie & Génétique, Institut de Génétique et de Biologie Moléculaire et Cellulaire (IGBMC), Illkirch, France  
Contact : hpuccio@igbmc.fr

La ferritine mitochondriale (MtF) est une protéine mitochondriale, qui comme les ferritines cytosoliques, est capable de séquestrer le fer sous une forme non toxique. MtF est essentiellement exprimée dans les testicules, mais de façon intéressante, MtF est aussi exprimée dans les sidéroblastes de patients atteints d'anémie sidéroblastique, indiquant que la protéine peut avoir un rôle protecteur en conditions pathologiques supposant prévenir les effets délétères d'une accumulation intramitochondriale de fer. Or, l'accumulation et la présence de dépôts de fer intramitochondriaux sont une caractéristique majeure de l'ataxie de Friedreich (AF). L'AF est une maladie héréditaire neurodégénérative, fréquemment associée à une cardiomyopathie, causée par une perte de fonction partielle en frataxine, une petite protéine mitochondriale impliquée dans le métabolisme du fer. En effet, l'étude *in vitro* de la protéine a montré une capacité de la frataxine à lier le fer. Parallèlement, des études chez les patients et dans différents modèles de l'AF ont mis en évidence un lien entre la frataxine et des voies mitochondriales dépendantes du fer, notamment la biosynthèse des noyaux fer-soufre. Plus récemment, il a été proposé que la frataxine et la MtF pouvaient avoir des fonctions croisées et que, par conséquent, l'expression de MtF pourrait compléter, au moins partiellement, un déficit en frataxine. Dans notre étude, nous avons voulu répondre à deux questions : 1) MtF est-elle (sur)exprimée dans les tissus en réponse à un déficit en frataxine ? 2) l'expression de MtF pourrait-elle compléter un déficit total et/ou partiel en frataxine ? Pour répondre à ces questions nous avons utilisé des modèles murins conditionnels et des modèles cellulaires de l'AF développés au laboratoire. L'expression de MtF a été mesurée dans un modèle murin cardiaque qui reproduit la cardiomyopathie observée

chez les patients et qui développe d'abondant dépôts de fer intramitochondriaux au cours du temps. Aucune expression de MtF n'a été observée chez les souris présentant des dépôts de fer intramitochondriaux, indiquant l'absence d'un rôle protecteur de MtF en conditions pathologiques liées à l'AF. Pour tester la complémentarité fonctionnelle entre MtF et frataxine, nous avons utilisé des modèles cellulaires basés sur la délétion conditionnelle de la frataxine. La MtF a d'abord été transfectée de façon stable, puis la frataxine a été délétée par un système CRE-GFP couplé à un tri au FACS. Que MtF soit exprimée ou pas, la délétion conduit à la mort cellulaire, indiquant l'absence de complémentarité fonctionnelle entre les deux protéines. Nous sommes actuellement en train de tester la possibilité d'une complémentarité partielle entre MtF et frataxine sur des modèles de l'AF basés sur une perte de fonction partielle en frataxine. Les résultats préliminaires montrent que la MtF ne peut pas compenser entièrement la déficience en frataxine.

**Mots-clés :** ataxie de Friedreich, fer, ferritine mitochondriale.

#### ■P588. RECHERCHE DES BASES GÉNÉTIQUES D'UNE ÉPILEPSIE CANINE : UN MODÈLE POUR LES ÉPILEPSIES HUMAINES

A. Grall (1), A. Vaysse (1), C. Escriou (2), P. Margaritte-Jeannin (3, 4), C. Hitte (1), H. Lohi (5), C. André (1)  
(1) Institut de Génétique et Développement, UMR 6061 CNRS/Université de Rennes1, Faculté de Médecine, Rennes, France ; (2) Unité de Médecine, Neurologie et troubles du comportement, École Nationale Vétérinaire de Lyon, Marcy l'étoile, France ; (3) Inserm U535 Génétique épidémiologique et Structure des populations humaines, Villejuif, France ; (4) Université Paris-Sud, Villejuif, France ; (5) Dept of Basic Veterinary Sciences and Dept of Medical Genetics, University of Helsinki and Folkhälsan Institute of Genetics, Helsinki, Finland

Contact : anais.grall@univ-rennes1.fr

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. La force du modèle est accentuée par l'aspect spontané des maladies canines, leur caractère souvent spécifique de races, leur forte fréquence et leur homologie avec des maladies génétiques humaines. Chez l'homme, la quinzaine de gènes déjà identifiée dans des épilepsies monogéniques n'explique pas toutes les épilepsies idiopathiques. Or, pour bien comprendre ces maladies et améliorer leur traitement, il est important d'identifier les gènes responsables. Chez le chien, l'épilepsie représente le désordre neurologique le plus répandu dans l'espèce avec 5 % de chiens atteints, répartis dans près de 100 races. La forte prévalence de l'épilepsie dans certaines races (>20 %) laisse supposer une origine génétique. Chaque race touchée présente une forme d'épilepsie spécifique, reflet d'un événement génétique fondateur à la création de la race. En outre, la découverte de l'implication du même gène EPM2B dans la maladie de Lafora chez l'homme et dans l'épilepsie du Teckel à poil dur démontre l'intérêt de ce modèle. L'étude génétique des différentes épilepsies dans ces races permettrait d'identifier les gènes impliqués chez le chien, ceux-ci devenant de bons gènes candidats pour les épilepsies humaines. Des études cliniques et épidémiologiques de cette affection chez le Grand bouvier suisse indiquent qu'environ 10 % de la race souffrent d'une épilepsie généralisée avec des convulsions tonico-cloniques, qui se transmettraient selon un mode autosomique récessif. Un pedigree de 95 Grands bouviers suisses, comprenant 13 chiens atteints d'épilepsie, a été construit. Une analyse de liaison génétique paramétrique réalisée par le génotypage de 340 marqueurs microsatellites polymorphes, répartis uniformément sur l'ensemble du génome, a permis d'identifier un locus de 20 Mb sur le chromosome 16 canin. La région chromosomique humaine, homologue de ce locus, ne comporte pas de gène identifié comme responsable d'épilepsies humaines à ce jour. En revanche cette région présente un intérêt tout particulier dans la mesure où elle a été identifiée comme locus candidat dans une forme d'épilepsie GEFS+ chez l'homme. Le séquençage de tous les exons de 4 gènes candidats de ce locus n'a pas permis à ce jour d'identifier de mutations ségrégeant parfaitement avec la maladie. En parallèle de ce travail, dans le cadre d'un projet européen du 7<sup>e</sup> PCRD, ces mêmes chiens français ainsi que d'autres d'effectif américain font l'objet d'une analyse d'association, avec génotypage sur des puces 50 000 SNP (Affymetrix) dédiées au chien. Pour finir, nous constituons une banque d'ADN, et de tissus le cas échéant, de chiens épileptiques et sains (>7 ans) de toutes races atteintes d'épilepsie. Nous disposons à ce jour de 60 échantillons d'ADN de chiens atteints appartenant à 7 races canines.

**Mots-clés :** chien, épilepsie, liaison génétique.



### ■P589. DÉFICITS CATÉCHOLAMINERGIQUES ET SYNDROME DE RETT : APPORTS DES ÉTUDES CHEZ LA SOURIS MECP2-DÉFICIENTE

N. Panayotis (1, 2), E. Dura (1, 2), A. Borges (1, 2), A. Ghata (1, 2), L. Villard (1, 2), J.C. Roux (1, 2)

(1) INSERM, U910, Faculté de Médecine de La Timone, Marseille, France ;

(2) Aix-Marseille Université, Faculté de Médecine, Marseille, France

Contact : nicolas.panayotis@univmed.fr

MeCP2 (Methyl CpG binding Protein 2), protéine dont le gène est situé sur le chromosome X est impliquée dans la modulation de la transcription de nombreux gènes cible. Son expression, élevée dans les neurones post-mitotiques est importante pour le développement cérébral. Ainsi, des mutations dans le gène MeCP2 conduisent à un ensemble de maladies neurologiques dont le principal est le syndrome de Rett (RTT). Cette pathologie dominante liée à l'X affecte principalement les jeunes filles avec une incidence de 1/15 000 naissances. Même si les causes précises du phénotype "Rett" demeurent spéculatives, le profil d'expression spatial et temporel de MeCP2 est en lien avec la maturation neuronale. D'un point de vue clinique, la littérature rapporte plusieurs troubles de la fonction autonome. Les catécholamines (CA) sont des bioamines qui agissent en tant que neurotransmetteurs et hormones dans la régulation de nombreuses fonctions physiologiques, perturbées lors du RTT (respiration, fréquence cardiaque, thermogénèse, motricité). Notre laboratoire étudie l'intégrité de ce système chez le modèle murin KO pour MeCP2 développé par A. Bird, par une approche "bottom-up" allant de la biologie moléculaire à l'étude physiologique. Des déficits en CA au niveau du tronc cérébral ont été mis en évidence comme responsables des troubles respiratoires chez la souris MeCP2-déficiente. Par ailleurs, le système cardiorespiratoire est constitué des structures sympathoadrénérgiques et chémoefférentes en périphérie (corps carotidien, ganglion cervical supérieur, ganglion pétreux, médullo-surrénale) qui sont dépendantes des CA. Des atteintes à ce niveau causent notamment une perturbation de la réponse à l'hypoxie et constituent un substrat à la variabilité respiratoire observée chez la souris symptomatique. En regard des troubles cognitifs dont souffrent les patientes "Rett", nous avons dédié une étude récente au Locus Coeruleus (LC), noyau noradrénergique cérébral principal. Cette structure est localisée au niveau du pont et revêt un intérêt particulier car capable de réguler de nombreuses fonctions autonomes part ses efferences caudales (cervelet, tronc cérébral, moelle épinière) et des fonctions cognitives en modulant des cibles rostrales (hippocampe, hypothalamus, néocortex). Nous retrouvons une nouvelle fois une atteinte de cette structure au niveau moléculaire et cellulaire. De manière intéressante, le traitement par la désipramine, un inhibiteur de la recapture de la norépinephrine améliore les paramètres autonomes chez la souris. Un essai clinique de phase 2 est en cours chez les patientes. Notre étude du LC suggère que son efficacité globale serait due à l'amélioration de symptômes cognitifs et autonomes et nous encourage à tester d'autres agents pharmacologiques capables de restaurer une activité catécholaminergique centrale et périphérique.

**Mots-clés :** MeCP2, syndrome de Rett, catécholamines.

### ■P590. CARACTÉRISATION D'UNE PROTÉINE NEMO TRONQUÉE ASSOCIÉE À UNE INHIBITION TOTALE DE NF-KB ET IMPLIQUÉ DANS L'INCONTINENTIA PIGMENTI

E. Bal (1), C. Cluzeau (1), S. Hadj-Rabia (2), A. Goldengerd (3), J.P. Bonenfant (1), A. Munnich (1), A. Smahi (1)

(1) U781 INSERM, Département de Génétique, Paris, France ; (2) Service de Dermatologie, Hôpital Necker, Paris, France ; (3) Unité de génétique clinique, CHU de Rouen, Rouen, France

Contact : elodie.bal@inserm.fr

L'Incontinentia Pigmenti est une génodermatose rare dominante liée à l'X et létale chez les garçons au cours de l'embryogenèse. Le gène responsable de l'IP code pour la protéine NF-kB essentiel modulateur (NEMO). Un réarrangement génomique conduisant à la délétion des exons 4 à 10 du gène NEMO est retrouvé chez 75 % des femmes atteintes d'IP. Quelques mutations faux-sens ont été décrites dans une faible proportion de femmes IP. La délétion fréquente résulte en une abolition totale de la voie de signalisation NF-kB. L'identification de mutation dans le gène NEMO reste difficile à cause de l'hétérozygotie des femmes IP et de la présence d'un pseudogène NEMO. Notre étude porte sur l'analyse moléculaire du gène NEMO dans les fibroblastes provenant d'un fœtus mâle spontanément avorté. Ce fœtus ne possède pas la délétion fréquente et nous observons une abolition totale de l'activation NF-kB. Nous avons détecté chez ce fœtus une protéine NEMO tronquée. L'analyse génomique du gène NEMO révèle une mutation du site d'épissage (IVS4+2 T/G) aboutissant à la délétion des exons 4, 5 et 6 au niveau du cDNA. Nous avons montré que la protéine tronquée s'intégrait correctement dans le complexe IKK, qu'elle continuait d'interagir avec les protéines principales

connues comme étant indispensable à l'activation NF-kB TRAF6, TRAF2, et RIP. Cette délétion ne semble pas modifier la structure tertiaire de la protéine en amont et en aval de la mutation. Nous avons également démontré que l'ubiquitination de NEMO est maintenue. Enfin, nous avons montré qu'un défaut d'oligomérisation de la protéine NEMO est probablement responsable de l'inhibition totale de l'activité NF-kB ce qui résulte dans l'Incontinentia Pigmenti avec létalité masculine tôt au cours du développement embryonnaire.

**Mots-clés :** Incontinentia Pigmenti, NEMO, oligomérisation.

### ■P591. IMPLICATION DE L'INTERACTION ENTRE LES VOIES DE SIGNALISATION ECTODYSPLASINE/EDAR/NF-KAPPAB ET WNT/BETA-CATÉNINE DANS LE DÉVELOPPEMENT DES ANNEXES ÉPIDERMiques

C. Cluzeau (1), C. Mou (2), E. Bal (1), C. Babarit (1), S. Fraïtag (3), P.A. Overbeek (4), M. Vekemans (1), G. Courtois (1), C. Perret (5), A. Munnich (1), H. Etchevers (1), D.J. Headon (2), A. Smahi (1)

(1) Université Paris Descartes, et INSERM U781, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France ; (2) The Roslin Institute and Royal (Dick) School of Veterinary Studies, University of Edinburgh, Roslin, Midlothian, United Kingdom ; (3) Service d'Anatomie Pathologique, Hôpital Necker-Enfants Malades, APHP, Université Paris Descartes, Paris, France ; (4) Department of Molecular and Cellular Biology, Baylor College of Medicine, Houston, TX, USA ; (5) Unité INSERM U567, Hôpital Cochin, Paris, France

Contact : celine.cluzeau@inserm.fr

Les dysplasies ectodermiques anhidrotiques ou hypohidrotiques (ou HED) sont caractérisées par des anomalies de différenciation des annexes épidermiques, avec une hypotrichose, une hypo- ou anodontie et hypo- ou anhidrose. Trois gènes sont responsables des HED : le gène EDA, codant l'ectodysplasine, et les gènes EDAR et EDARADD, codant respectivement le récepteur de l'ectodysplasine et la protéine adaptatrice d'EDAR. L'ectodysplasine est le ligand du récepteur EDAR, qui transmet un signal d'activation du facteur de transcription NF-kappaB (NF-kB) via une interaction avec la protéine adaptatrice EDARADD. La voie de signalisation Wnt/beta-caténine (Bcat) joue un rôle central au cours du développement. Récemment son rôle dans la morphogenèse des annexes épidermiques a émergé. Un lien entre la voie ectodysplasine/NF-kB et la voie Wnt/Bcat a été décrit. Nous avons confirmé que le récepteur Edar inhibe la voie Wnt/Bcat, et nous avons démontré que cette inhibition est dépendante de l'activation de la voie NF-kB. Par ailleurs, nous avons pu établir que l'inhibition de la voie Wnt/Bcat n'est pas liée à la dégradation ou à un changement de localisation cellulaire de Bcat, et l'interaction entre Bcat et le facteur de transcription TCF4 est maintenue en présence d'Edar. Nous avons donc émis l'hypothèse qu'HIPK2, une sérine/thréonine kinase connue pour être inhibitrice de la voie Wnt/Bcat, est impliquée dans cette inhibition de la voie Wnt/Bcat par Edar. Nous avons montré que cette protéine interagit fortement avec Bcat en présence d'Edar. Les trois protéines Edar, Hipk2 et Bcat sont exprimées au niveau des mêmes structures à la fois chez l'Homme et la souris, à des différents stades embryonnaires ou en période post-natale. Nous avons également montré que la protéine Hipk2 est exprimée en dehors des zones positives pour l'activité de la voie Wnt/Bcat grâce au modèle murin BAT-gal (exprimant la beta-galactosidase sous contrôle de la voie Wnt/Bcat). Nous avons ensuite démontré que le gène HIPK2 est une des cibles transcriptionnelles de NF-kB. Nous avons confirmé *in vivo* la capacité de NF-kB à réguler l'expression d'Hipk2 sur des embryons de souris Tabby, déficientes pour la signalisation ectodysplasine. La formation et la différenciation des placodes des annexes épidermiques nécessitent des interactions réciproques et séquentielles entre l'épithélium et le mésenchyme, faisant intervenir plusieurs voies de signalisation dont la voie NF-kB médiée par l'ectodysplasine et la voie Wnt/Bcat. Si la voie Wnt/Bcat est nécessaire pour la mise en place des placodes, elle doit également être inhibée afin que la croissance en profondeur des annexes puisse se réaliser, et que le programme de différenciation des différentes couches du follicule pileux mûre puisse se mettre en place. L'inhibition de la voie Wnt/Bcat par la voie ectodysplasine/Edar/NF-kB via la kinase Hipk2 est donc certainement impliquée dans cette étape de la formation des annexes épidermiques.

**Mots-clés :** dysplasie ectodermique, voie ectodysplasine/NF-kappaB, voie Wnt/beta-caténine.

### ■P592. IDENTIFICATION DE NOUVELLES CIBLES TRANSCRIPTIONNELLES DE WT1 DANS LES PODOCYTES DANS UN MODÈLE MURIN DE SYNDROME DE DENYS-DRASH

J. Ratelade (1, 2), C. Arrondel (1, 2), G. Hamard (2, 3), S. Garbay (4), S. Harvey (1, 2), N. Biebuyck (1, 2, 8), H. Schulz (5), N. Hastie (6), M. Pontoglio (4), M.C. Gubler (1, 2), C. Antignac (1, 2, 7), L. Heidet (1, 2, 8,\*)

(1) Inserm, U574, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France ; (2) Université Paris Descartes, Paris, France ; (3) Plate-forme de

*Recombinaison Homologue, Institut Cochin-Port-Royal, Paris, France ; (4) Gene Expression, Development and Disease Laboratory, Developmental Biology Department, Pasteur Institute/CNRS URA 2578, Paris, France ; (5) Max-Delbrück-Center for Molecular Medicine, Berlin, Germany ; (6) MRC Human Genetics Unit, Institute of Genetics and Molecular Medicine, Western General Hospital, Crewe Road, Edinburgh EH4 2XU, United Kingdom ; (7) AP-HP, Département de génétique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France ; (8) Present address : AP-HP, Centre de Référence des Maladies Rénales Héritaires de l'Enfant et de l'Adulte (MARHEA), Service de Néphrologie Pédiatrique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France  
Contact : laurence.heidet@nck.aphp.fr*

Le syndrome de Denys-Drash est caractérisé par l'association d'une néphropathie glomérulaire sévère conduisant à l'insuffisance rénale terminale avant l'âge de 5 ans (sclérose mésangiale diffuse), d'un pseudohermaphrodisme masculin, et d'une prédisposition aux tumeurs de Wilms. Il est associé à des mutations hétérozygotes des exons 8 ou 9 du gène WT1, codant une protéine à doigts de zinc jouant un rôle crucial dans le développement rénal et gonadique. Dans le rein mature WT1 est exprimé dans les cellules épithéliales podocytaires du glomérule. Afin d'identifier de nouvelles cibles transcriptionnelles de WT1 dans les podocytes impliquées dans le développement précoce de la sclérose mésangiale diffuse, nous avons généré un modèle murin porteur d'une mutation WT1 de type Denys-Drash, qui développe, sur certains fonds génétiques, une néphropathie glomérulaire semblable à la maladie humaine. En comparant les patrons d'expression transcriptionnelle nous avons identifié des gènes sur- et sous-exprimés de façon précoce dans les glomérules des souris mutantes, qui sont d'excellents candidats pour modifier la différenciation du podocyte et les voies de signalisation des facteurs de croissance dans le glomérule. Nous avons ainsi montré que le gène Scel, codant la scielline, une protéine de l'enveloppe cornée dans la peau, est fortement exprimé dans les podocytes humains et murins, et que son expression diminue dans les glomérules mutants. L'expression du gène Sulf1, codant une endosulfatase, est aussi diminuée dans les glomérules mutants et ceci est associé à une réduction du marquage des chaînes peu sulfatées des protéoglycanes au niveau de la membrane basale glomérulaire, qui pourrait modifier l'activité de facteurs de croissance (en particulier du FGF) dans le glomérule. La diminution de l'expression de Sulf1 dans les glomérules dépend du fonds génétique et est observée uniquement dans la souche sensible à la néphropathie. La co-expression de Wt1, Scel et Sulf1 est également retrouvée dans une lignée cellulaire de mésonéphros de souris. L'inactivation de WT1 dans cette lignée par siRNA entraîne une baisse d'expression de Sulf1 et Scel. Par immunoprécipitation de chromatine nous avons montré que WT1 lie directement des séquences en cis de ces deux gènes *in vivo*. Enfin, Cyp26a1, codant une enzyme impliquée dans la dégradation de l'acide rétinolique, est surexprimée dans les glomérules mutants et pourrait promouvoir la sclérose glomérulaire par une diminution de l'acide rétinolique. Toutefois, ce gène ne semble pas être une cible de WT1. Ces résultats, en particulier par l'identification de deux nouvelles cibles de WT1, ouvrent de nouvelles perspectives pour la compréhension du fonctionnement du glomérule mature et des voies de signalisation moléculaires impliquées dans la glomérulosclérose.

**Mots-clés :** WT1, Denys-Drash, glomérule rénal.

#### ■P593. TRAITEMENT PHARMACOLOGIQUES DANS LE SYNDROME DE RETT : UTILISATION DU MODÈLE MURIN COMME MODÈLE PRÉCLINIQUE

J.C. Roux (1, 2), A. Ghata (1, 2), N. Panayotis (1, 2), H. Bienayme (3), L. Villard (1, 2)  
(1) INSERM U910, Faculté de médecine de la Timone, Marseille, France ; (2) Université Aix-Marseille, France ; (3) Targeon Pharma, Paris, France  
Contact : jean-christophe.roux@univmed.fr

Le syndrome de Rett est une maladie génétique neurologique atteignant les filles et apparaissant généralement entre 6 et 18 mois de développement normal chez la fille. Ce syndrome qui conduit à un polyhandicap sévère est causé par des mutations dans le gène Mecp2. Il n'existe à ce jour aucun de traitement spécifique à visée curative pour les enfants atteints. Récemment, une équipe écossaise a démontré que la réactivation du gène Mecp2 dans un modèle murin du syndrome de Rett pouvait rétablir presque totalement un phénotype normal. Ce travail exceptionnel montre pour la première fois dans une pathologie génétique une certaine réversibilité qui supporte les futures approches de thérapie génique. En revanche, de telles approches ne sont pas encore envisageable dans le syndrome de Rett due à un certain nombre de difficultés : 1) le tissu à « traiter » est cerveau, 2) le gène Mecp2 est localisé sur le chromosome X ce qui entraîne chez les patientes un mosaïcisme cellulaire et 3) la quantité de protéine Mecp2 dans chaque cellule doit être finement régulée. Bien que de nombreuses équipes se focalisent actuellement sur le développement de telles approches,

d'autres groupes se sont lancés dans le développement de traitements pharmacologiques. En utilisant des souris modèles, déficientes pour le gène Mecp2, nous avons montré que les systèmes monoaminergiques périphériques et centraux étaient profondément touchés au niveau moléculaire, cellulaire, et que les fonctions régulées étaient affectées *in vivo*, en particulier les fonctions cardiorespiratoires. À ce jour, il existe un grand nombre de substances pharmacologiques capables d'agir directement sur ces systèmes monoaminergique. Comme preuve de concept, nous avons déjà démontré qu'un traitement chronique des souris modèles par la désipramine, inhibiteur sélectif de la recapture de la noradrénaline, était capable d'améliorer l'état général des animaux, de stabiliser respiration et de prolonger leur durée de vie. Actuellement, un essai clinique de phase II est en cours d'évaluation avec cette molécule. Sur le même principe que nos travaux portant sur l'évaluation de la désipramine, nous sommes actuellement en train de tester d'autres candidats potentiels sur nos souris modèles. Les différentes drogues vont être d'abord testés *in vivo* sur la base d'améliorations autonomes et motrices. À la suite de ce pré-screening *in vivo*, les molécules les plus efficaces vont être étudiées de manière plus poussée au niveau moléculaire et cellulaire. Le but final de ce travail est de pouvoir proposer à terme une molécule dont l'efficacité et la tolérance serait supérieure à celle de la désipramine.

**Mots-clés :** Mecp2, traitement, syndrome de Rett.

#### ■P594. UNREVEALING THE COMPLEXITY OF THE COMBINATORIAL GENETIC CODE OF DOWN SYNDROME USING THE ANEUPLOIDY ZOO: A RESOURCE OF NEW MOUSE MODELS TO STUDY ANEUPLOIDIES INVOLVING HUMAN CHROMOSOME 21

V. Brault (1, 2), P. Lopes Pereira (1, 2), I. Aabizanda (3), A. Duchon (1, 2), P. Prandini (4), E. Dalloneau (1, 2), M. Raveau (1, 2), D. Maréchal (1), V. Nalesso (1, 2), J.C. Bizot (5), B. Chadefaux-Vekemans (6), S. Deutsch (4), C. Borel (4), F. Trovero (5), S.E. Antonarakis (4), M. Dierssen (3), Y. Hérault (1, 2, 7, 8)  
(1) IGBMC, Illkirch, France ; (2) CNRS, UMR6218, MIE, Orléans, France ; (3) Genes and Disease Program, Center for Genomic Regulation, Barcelona, Spain and CIBER de Enfermedades Raras (CIBERER), Barcelona, Spain ; (4) Department of Genetic Medicine and Development, University of Geneva Medical School, Geneva, Switzerland ; (5) Key-Obs S.A., Orléans, France ; (6) Service de Biochimie Métabolique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Faculté de Médecine, Université Paris Descartes, France ; (7) CNRS, UPS44, TAAM, Institut de Transgenèse, Orléans, France ; (8) ICS, Illkirch, France.  
Contact : herault@igbmc.fr

50 ans après la découverte de la trisomie 21, comme base génétique du syndrome de Down (DS), les relations génotypes – phénotypes du DS ne sont toujours pas complètement élucidées. Actuellement, il est admis que les interactions entre « gènes à effets de dose » localisés sur le HSA21 sont responsables des phénotypes associés à la pathologie. Les gènes de la souris, orthologues de ceux du HSA21, se retrouvent dans le même ordre et la même orientation relative sur les chromosomes de souris (Mmu) 16, 17 et 10. Les souris modèles de DS disponibles jusqu'à présents sont trisomiques d'une partie de la région Mmu16 homologue. Ces modèles présentent une partie importante des caractéristiques de la DS, mais pas toutes. Afin de compléter ces modèles et de déchiffrer les interactions génotype-phénotype dans le SD, nous avons créé de nouvelles trisomies partielles et monosomies pour les différentes régions sur Mmu10, 16 et 17 qui sont des homologues de HSA21 et nous avons réussi à obtenir la série complète des modèles de souris trisomiques ou monosomiques. Grâce à une telle série, nous déterminons le rôle de chaque région dans l'induction des phénotypes de la Trisomie 21, de leurs interactions et à terme, d'identifier les voies des signalisations qui sont affectées, avec l'espoir que cela mènera à l'élaboration de nouvelles approches thérapeutiques. Nous rapportons ici les résultats obtenus jusqu'à présent et les nouvelles hypothèses tirées de ces travaux afin de mieux comprendre la physiopathologie de la maladie.

**Mots-clés :** trisomie 21, cognition, malformation.

#### ■P595. PHENOTYPIC CONSEQUENCES OF THE TRISOMY FOR THE STCH-APP REGION IN A NEW MOUSE MODEL OF DOWN SYNDROME

V. Brault (1, 2), S. Pothion (3) A. Duchon (1, 2), P. Lopes Pereira (1, 2), I. Abizanda (4), E. Dalloneau (1, 2), M. Raveau (1, 2), V. Nalesso (1, 2), J.-C. Bizot (5), C. Borel (6), F. Trovero (5), S.E. Antonarakis (6), M. Dierssen (4), Y. Hérault (1, 2, 3, 7)  
(1) IGBMC, Illkirch, France ; (2) CNRS, UMR6218, MIE, Orléans, France ; (3) CNRS, UPS44, TAAM, Institut de Transgenèse, Orléans, France ; (4) Genes and Disease Program, Center for Genomic Regulation,

Barcelone, Espagne et CIBER de Enfermedades Raras (CIBERER), Barcelone, Espagne ; (5) Key-Obs S.A., Orléans, France ; (6) Department of Genetic Medicine and Development, University of Geneva Medical School, Genève, Suisse ; (7) ICS, 1 rue Laurent Fries, Illkirch, France  
Contact : veronique.Brault@igbmc.fr

L'importance de la variabilité du nombre de copies d'un gène (CNV) en tant que forme particulière de polymorphisme est apparue récemment de part son ampleur. Ainsi, plus de 12 % du génome humain serait concerné, et les CNVs pourraient donner les clefs pour la compréhension de la pénétrance et de la variabilité phénotypique de certaines maladies, ainsi que de la prédisposition de certains à des maladies communes comme le diabète, certains cancers, la maladie d'Alzheimer ou l'obésité. En tant qu'aberration chromosomique impliquant la présence en trois copies au lieu de deux de tous les gènes présents sur le chromosome 21, le syndrome de Down (SD) ou trisomie 21 (T21) représente un modèle intéressant pour l'étude des conséquences des effets de dose des gènes sur le développement et le fonctionnement d'un organisme. Cette pathologie affecte une naissance sur 700, soit environ 300 000 personnes en Europe. Elle regroupe un ensemble d'altérations de la morphologie et la physiologie de plusieurs organes, comme le cœur, le squelette, le tractus gastro-intestinal et le système nerveux. Mais elle est aussi surtout la première cause de retard mental parmi les maladies d'origine génétique. Toutefois, 50 ans après sa découverte, les bases moléculaires du SD ne sont toujours pas définies et aucun des environ 300 gènes présents sur le chromosome humain (Hsa21) n'a pu être assigné à un phénotype particulier. La théorie avancée et que des interactions entre gènes dits « sensibles aux effets de dose » le long du Hsa21 seraient responsables du phénotype complexe observé. Des orthologues des gènes du Hsa21 sont présents en 3 régions de synténie sur les chromosomes murins (MMU), 16, 17 et 10. Le modèle murin le plus ancien et le plus étudié, Ts65Dn, est trisomique pour la région du MMU16 allant du gène Mrp139 au gène au gène Zfp295 et présente de nombreuses caractéristiques liées à la T21, tandis que les modèles Ts1Cje et Rs1Rhr, portant sur des sous régions du modèle Ts65Dn, ont des phénotypes moins prononcés. D'autres modèles plus complets, le modèle Ts1Yu portant sur la région complète de synténie du Mmu16 et le modèle transchromosomique Tc1 contenant un Hsa21 humain presque complet, sont en cours d'étude. Afin de compléter ces modèles, nous avons créé de nouveaux modèles de trisomies et monosomies pour différentes régions des Mmu16, 17 et 10. Ici, nous présenterons l'analyse phénotypes de deux nouveaux modèles trisomique et monosomique pour la région allant du gène Stch au gène App, complémentaire du modèle TS65Dn sur le Mmu16.

**Mots-clés :** trisomie 21, comportement, modèles animaux.

**■P596. THE CSTB-PRMT2 TELOMERIC REGION DOES NOT CONTAIN DOSAGE SENSITIVE GENES NECESSARY FOR THE BEHAVIORAL AND COGNITIVE PHENOTYPES OF TC1, A TRANSCROMOSOMIC MODEL OF DOWN SYNDROME**

A. Duchon (1, 2), S. Pothion (3), V. Tybulewicz (4), E.M. Fisher (5), Y. Héroult (1, 2, 3, 6)

(1) IGBMC, Illkirch, France ; (2) CNRS, UMR6218, MIE, Orléans, France ; (3) CNRS, UPS44, TAAM, Institut de Transgenèse, Orléans, France ; (4) Division of Immune Cell Biology, MRC National Institute for Medical Research, The Ridgeway, Mill Hill, London, UK ; (5) Department of Neurodegenerative Disease, Institute of Neurology, Queen Square, London, UK ; (6) ICS, Illkirch, France  
Contact : duchon@cnrs-orleans.fr

Le syndrome de Down ou trisomie 21 est une maladie congénitale complexe, neuro-dégénérative, qui affecte le développement embryonnaire. Elle est l'aneuploïdie la plus fréquente chez l'homme et la principale cause de retard mental. Ce syndrome résulte de la présence en trois copies de tout ou partie du chromosome 21. L'homologie entre le HSA21 et les chromosomes murins est maintenant bien définie et approximativement 99 % des gènes murins possèdent un orthologue chez l'homme. Trois régions chromosomiques murines regroupent la quasi-totalité des gènes du HSA21. La plus importante (22,59 Mb) est sur le chromosome MMU16, du gène Rbm11 à Znf295. La deuxième est portée par le chromosome MMU17 (1,1 Mb), du gène Umodll1 à Rrp1b et enfin sur le chromosome MMU10 pour une région de 2,23 Mb, du gène Pdxk à Prmt2. Plusieurs modèles murins existent et ont été largement étudiés, mais tous ne reproduisent pas la totalité du phénotype observé chez l'homme et ces modèles sont des duplications de région uniquement localisées sur le chromosome 16 murin. Au sein de notre laboratoire, nous avons créé un modèle qui porte la délétion de la région télomérique du HSA21, localisée sur le MMU10. Avec ce modèle, nous avons réalisé une expérience de sauvetage de phénotype visant à réduire le nombre de copie fonctionnelle des gènes de cette région (Prmt2-Cstb) dans le modèle trans-chromosomique Tc1 (O'Doherty *et al.*

2005). La lignée Tc1 est un modèle de souris trisomiques pour l'ensemble des gènes homologues du chromosome 21. Elle présente un ensemble d'altérations morphologiques, comportementales et physiologiques similaires aux défauts observés chez les patients. Pour isoler les éventuelles relations spécifiques gènes-phénotypes, la lignée Tc1 a été examinée dans le contexte Tc1-Ms4Yah. Une colonie d'animaux mâles portant les 4 génotypes WT, Ms4Yah, TC1 et TC1Ms4Yah ont servi à un crible phénotypique composé de tests d'apprentissage, cognitifs et moteurs précédemment décrit (Odoherly *et al.* 2005, Morice *et al.* 2008, Galante *et al.* 2009). Les résultats que nous avons obtenus montrent la robustesse du modèle TC1, puisque les phénotypes caractérisés ont été retrouvés dans nos expériences, malgré l'utilisation d'un fond génétique différent de celui d'origine. Cependant, nous n'avons pas obtenus de sauvetage de phénotypes dans les tests que nous avons réalisés en réduisant le nombre de copie de la région Cstb-Prmt2 dans ce modèle trisomique. Ces résultats tendent à montrer que la présence en 3 copies des gènes de cette région n'est pas nécessaire pour induire les altérations comportementales détectées dans le modèle et permettent de réduire le nombre de candidats responsables des atteintes comportementales de la Trisomie 21.

**Mots-clés :** down syndrome, cognition, genotype-phenotype relationship.

**■P597. DOSAGE SENSITIVE GENES FROM THE TELOMERIC PART OF THE HSA21 REGULATES LPS-INDUCED INFLAMMATORY RESPONSE**

E. Dalloneau (1, 2), V. Brault (1, 2), E. Desale (3), E. Nabel (4), Y. Héroult (1, 2, 5)

(1) IGBMC, Illkirch, France ; (2) CNRS, UMR6218, MIE, Orléans, France ; (3) CNRS, UPS44, TAAM, Institut de Transgenèse, Orléans, France ; (4) Cardiovascular Branch, National Heart, Lung, and Blood Institute, National Institutes of Health, Bethesda (MD), USA ; (5) ICS, Illkirch, France

Contact : edallone@cnrs-orleans.fr

Les CNV (Copy Number Variation) couvrent environ 12 % du génome humain et sont retrouvées dans le modèle souris. Ces CNV sont les variations les plus communes du génome humain et pourraient donc expliquer des susceptibilités à des pathologies plus ou moins complexes. Une variation du nombre de copies des gènes du chromosome 21 humain (HSA12) entraîne des anomalies morphologiques et physiologiques d'un grand nombre d'organes chez les patients. La Trisomie 21, ou Syndrome de Down et les monosomies partielles du HSA21 conduisent à des phénotypes complexes et variables. Afin d'identifier les gènes du HSA21 sensibles aux effets de dose, nous avons développé un modèle monosomique pour la région Prmt2-Col6a1 du chromosome murin 10 (MMU10). Ce modèle comprend la région homologue au CNV humain CNP1359 qui affecte les gènes Prmt2, S100b et Dip2. L'analyse de ce modèle, Ms1Yah, a montré que les souris ont une réponse pulmonaire et inflammatoire modifiées, suite à une instillation de LPS (Besson *et al.*, 2007, Hum Mol Genet 16, 2040-2052). Le gène Prmt2, connu comme étant un inhibiteur de la voie NF- $\kappa$ B apparaît comme un bon candidat pour expliquer une augmentation de la production des cytokines pro-inflammatoires. Nous avons entrepris l'étude de la réponse inflammatoire chez les souris Ms1Yah ainsi que chez un modèle KO pour Prmt2, en réponse à une stimulation par le LPS. Seront présentés les résultats montrant que Prmt2 est un gène sensible au effet de dose et qui intervient, avec d'autre(s) gène(s) dans la réponse inflammatoire.

**Mots-clés :** gene dosage effect, inflammation.

**■P598. MOUSE MODELS FOR AUTISM SPECTRUM DISORDERS**

C. Leblond, E. Ey, J.P. Bourgeois, N. Torquet, A.M. Lesourd, R. Toro, T. Bourgeron

Institut Pasteur, Université Paris 7, CNRS URA 2182, Paris, France

Contact : thomasb@pasteur.fr

The implication of mutations in genes coding for synaptic proteins has been established in autism spectrum disorders (ASD). Especially, the cell adhesion molecules neuroligins and neurexins, as well as the scaffolding protein SHANK3 were repeatedly associated in independent cases of patients with ASD. Mouse models carrying these mutations allows to explore *in vivo* the effects of the different mutations at the functional (i.e. transcriptomes) and the behavioural levels in regard to the three key symptoms of ASD. We first performed RNA profiling of the cortex, the cerebellum and the hippocampus of the Nlgn4 KO mice in standard and enriched environment. This analysis is performed with the Affymetrix Gene1.ST array from post natal day P3 to P14 (corresponding to an intense phase of the synaptogenesis) and at the adult stage. In a second phase, the behaviour of the mice are tested in the domain of social interactions, communication, as well as stereotyped behaviours. We previously shown



that Nlgn4 KO mice show deficits in social interactions and ultrasonic vocalizations. In this poster, we will present new data on the development of the Nlgn4 KO mice.

**Mots-clés :** autism, synapse, vocalization.

**■P599. GENERATION OF CREERT2 TRANSGENIC MOUSE LINES FOR TIME AND CELL SPECIFIC CONDITIONAL GENE INACTIVATION**

L. Venteo (1), N. Charatoire (1), F. Augé (1), O. Wendling (1), M. Koch (1), J.L. Mandel (1, 2), M.C. Birling (1), G. Pavlovic (1)

(1) *Institut Clinique de la Souris, Illkirch, France* ; (2) *Institut de Génétique et de Biologie Moléculaire et Cellulaire, Illkirch, France*  
Contact : [lydie.vente@igbmc.fr](mailto:lydie.vente@igbmc.fr)

The generation of mouse mutants using conventional knock out approach is a powerful tool to study the role of specific genes. However, this technology shows two major limitations : (i) disruption of many genes result in lethal phenotypes (ii) it does not allow site specific and time controlled inactivation of the gene of interest. The conditional knock-out strategy overcomes these limitations. The Cre-loxP system, in which the allele of interest is flanked by recognition sites for the Cre recombinase (loxP sites), is probably the most successful one. When such "floxed" mice are bred with transgenic mice expressing the Cre recombinase in a tissue/cell-specific manner, the gene of interest is knocked out/altéré only in this particular tissue or cell type. An added sophistication is the inclusion of temporal control, which can be achieved using a ligand-activated chimeric recombinase, composed of the fusion of the Cre recombinase with the ligand binding domain of a mutated form of the estrogen receptor (ER), which can only be activated by synthetic ER ligands (e.g. tamoxifen), but not by natural estrogens (Cre-ERT2, Indra *et al.* 1999). A large-scale international mouse mutagenesis program was recently started in Europe, the US and Canada (EUCOMM, NorCOMM and KOMP) with the aim of providing conditional knock-out of most mouse genes. As these lines are becoming available to the whole scientific community, the need of a large variety of cell specific deleter lines seems essential. At the Institut Clinique de la Souris, we have generated about 50 Cre transgenic mouse lines expected to express the tamoxifen inducible CreERT2 recombinase in different target tissues and cells. These include different neuronal populations, adipose tissue, different cell populations in the digestive tract, pancreas, muscle, bone, immune system, reproductive tract, skin... Characterization of the efficacy and specificity of such lines is demanding, and we have devised a multistep standardized flow-scheme scheme (F. Gofflot *et al.* submitted). Various lines are at different stages of characterization. We will provide the list of promoters and targeted cells/tissues. These lines will be available to the research community and will be a powerful tool for the study of disease genes function, the creation of disease models and to answer questions on the cell/organ autonomous or not character of various pathological phenotypes.

**Mots-clés :** modèles souris, souris KO, inactivation de gènes.

**■P600. L'INSTITUT CLINIQUE DE LA SOURIS (ICS), UNE PLATEFORME DIVERSIFIÉE POUR LE DÉVELOPPEMENT ET LA CARACTÉRISATION DE MODÈLES SOURIS DE PATHOLOGIES HUMAINES MONOGÉNIQUES OU MULTIFACTORIELLES**

T. Sorg (1), M.C. Birling (1), G. Pavlovic (1), A. Ayadi(1), J.L. Mandel (1, 2), Y. Herault (1, 2)

(1) *Institut Clinique de la Souris (ICS), Illkirch, France* ; (2) *IGBMC (CNRS, INSERM, Université de Strasbourg), Illkirch, France*  
Contact : [ics@igbmc.fr](mailto:ics@igbmc.fr)

L'ICS, créé en 2002 à partir du service de transgénèse et recombinaison homologue de l'IGBMC, est une plateforme qui propose une gamme très complète de services spécialisés pour la communauté académique française et européenne, et pour l'industrie pharmaceutique : analyse de la fonction physiologique de gènes, création de modèles de pathologies humaines, caractérisation et validation de nouvelles cibles thérapeutiques, par utilisation de souris génétiquement modifiées. L'ICS combine la capacité de générer des mutants à façon avec une analyse étendue et à « haut-débit » du phénotype de souris mutantes ou de lignées de type recombinant inbred pour l'analyse génétique multifactorielle (cf Koutnikova *et al.* PloS Genet 2009) L'ICS est organisé en 3 départements : – le département de transgénèse, mutagenèse et phénotypage moléculaire crée des souris génétiquement modifiées (KO, KO conditionnel, Knock-in, transgéniques à partir de clones Bacs recombinés, souris rapportrices etc..) ; il propose également la caractérisation moléculaire et la validation des lignées mutantes. Ce département a développé une collection de souris Cre ERT2 pour l'inactivation conditionnelle (spatiale et temporelle) de gènes « floxés »(cf poster Venteo *et al.*), un programme initié par P. Chambon et D. Metzger. Ce

département a ainsi créé plus de 300 lignées de souris mutantes, dont plus de 40 dans le cadre d'un programme du GIS maladies rares. – le département de phénotypage propose, sous la responsabilité de scientifiques experts, une vaste gamme de tests de phénotypage : métabolisme, biochimie clinique, hématologie et immunologie, neurologie, comportement et cognition, système cardiovasculaire et respiratoire, anatomopathologie... Les protocoles ont été standardisés et validés, notamment dans le cadre de programmes européens (EUMORPHIA, EUMODIC). Ce département est particulièrement impliqué dans le programme EUMODIC (cf poster Ayadi *et al.*) – le dernier département comporte les services d'animalerie, microinjection, cryopréservation, permettant la génération de souris mutantes et de cohortes expérimentales, l'archivage et la distribution des lignées, et participe au programme européen EMMA. – des composantes transversales (informatique et bioinformatique, assurance qualité) garantissent l'efficacité du stockage et analyse des données, et leur traçabilité. Chaque projet est suivi par des experts, selon des protocoles et pipelines adaptés au projet individuel. L'ICS est donc une composante majeure des grands programmes de génomique fonctionnelle, tout en restant disponible pour des projets académiques individuels, tels ceux concernant des maladies génétiques.

**Mots-clés :** modèles souris, phénotypage, mutagenèse ciblée.

**■P601. LA DÉLÉTION DE LA LYSINE 32 DES LAMINES A/C, RENSEMBLE DE FORME SÈVÈRE DE LAMINOPATHIE, ENTRAÎNE DE GRAVES DÉFAUTS DE MATURATION POST NATALE DES MUSCLES STRIÉS**

A.T. Bertrand (1, 2), L. Renou (1, 2), L. Gueneau (1, 2), V. Decostre (1, 2), E. Lacène (1, 2), T. Arimura (1, 2), G. Bonne (1, 2, 3)

(1) *Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale, U974, IFR14, Institut de Myologie, Paris, France* ; (2) *Université Pierre-et-Marie-Curie-Paris VI, Faculté de médecine, Paris, France* ; (3) *AP-HP, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, U.F. Myogénétique et Cardiogénétique, service de Biochimie Métabolique, Paris, France*

Contact : [g.bonne@institut-myologie.org](mailto:g.bonne@institut-myologie.org)

Le gène LMNA code pour les lamines A et C, protéines ubiquitaires formant la lamina nucléaire. Les lamines A/C sont impliquées dans des interactions avec de nombreuses protéines ainsi qu'avec l'ADN. Ces protéines auraient un rôle majeur dans la résistance mécanique des cellules ainsi que dans la régulation de l'expression des gènes. Les mutations du gène LMNA sont responsables d'un vaste spectre de pathologies, les laminopathies, affectant les tissus de façon isolée (troubles rythmiques et/ou conductifs et cardiomyopathie dilatée associés ou non une dystrophie musculaire, lipodystrophies, neuropathies axonales) ou combinée (syndromes de vieillissement prématuré). Nous avons reproduit par recombinaison homologue chez la souris, la délétion de la lysine 32 (DelK32) responsable chez l'homme d'une forme très sévère de dystrophie musculaire d'Emery-Dreifuss, maladie caractérisée par une double atteinte musculaire et cardiaque. Chez les souris porteuses de la mutation à l'état homozygote, la délétion K32 conduit une diminution de 80 % de la quantité des lamines A/C dans les différents organes testés (foie, rein, cœur, muscle). La lysine 32 étant localisée dans le domaine de dimérisation des lamines A/C, il est vraisemblable que la délétion de cet acide aminé conduise à une protéine instable qui serait donc dégradée. En terme de phénotype, les souris homozygotes pour la mutation, présentent un fort retard de croissance post-natale et meurent à deux semaines. Elles présentent de nombreux défauts métaboliques et un retard de maturation post-natale des muscles striés squelettiques et cardiaque. Le tissu adipeux blanc, qui se forme après la naissance, est extrêmement peu développé chez les souris mutantes. D'autre part, alors que le cœur embryonnaire utilise majoritairement le glucose comme substrat énergétique, il passe à l'utilisation préférentielle des lipides après la naissance. Cette transition est partiellement défaillante chez les souris mutantes qui n'arrivent pas à activer des enzymes clés pour l'utilisation des lipides et continuent à exprimer fortement des enzymes nécessaires à l'utilisation du glucose. Leur cœur présente une surcharge lipidique importante signant le défaut d'utilisation des lipides. Enfin, les souris mutantes développent progressivement une hypoglycémie qui vraisemblablement est responsable de leur mort, notamment par défaut de substrat énergétique pour le cœur. Au total, l'expression de 20 % lamine A/C mutées conduit à un retard de maturation post-natale des muscles striés conduisant au décès précoce des souris, ce qui est beaucoup plus sévère que ce qui est observé en absence complète de lamines A/C chez les souris KO-Lmna-/- qui elles développent une dystrophie musculaire et une cardiomyopathie et décèdent à 8-10 semaines.

**Mots-clés :** maturation post-natale, métabolisme, cœur.



## ■P602. FGFR3 MUTÉ PERTURBÉ À LA FOIS LE CARTILAGE DE CROISSANCE ET L'OS PRIMAIRE

E. Mugniery (1), C. Marty (2), R. Dacquin (3), C. Benoist-Lasselin (1), A. Munnich (1), V. Geoffroy (2), L. Legeai-Mallet (1)

(1) *INSERM U781 Génétique et épigénétique des maladies métaboliques, neurosensorielles et du développement, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris, France*; (2) *INSERM-U606 Laboratoire os et articulation, Hôpital Lariboisière, Paris, France*; (3) *Institut de génomique fonctionnelle de Lyon, ENS Lyon, France*

Contact : emilie.mugniery@inserm.fr

FGFR3 (Fibroblast Growth Factor Receptor 3) est un récepteur à activité tyrosine kinase impliqué dans 3 formes de chondrodysplasie : l'achondroplasie, l'hypochondroplasie et le nanisme thanatophore. Les mutations identifiées entraînent une activation constitutive du récepteur en l'absence de ligand. Afin de comprendre la fonction exacte de FGFR3 dans la formation de l'os nous avons étudié deux modèles de souris knock-in. Ces souris expriment la mutation activatrice Y367C responsable d'une forme sévère de chondrodysplasie. L'expression de FGFR3 muté a été ciblée, à la fois dans l'os et le cartilage dans le premier modèle (Fgfr3Y367C/+CMV), alors que dans le second modèle (Fgfr3Y367C/+Col1) la mutation est exprimée uniquement dans les ostéoblastes. Les souris Fgfr3Y367C/+CMV présentent une chondrodysplasie caractérisée par des os longs courts et trapus et une plaque de croissance sévèrement désorganisée. L'étude des fémurs de souris âgées de 3 semaines en micro scanner ( $\mu$ CT) a révélé une diminution importante du volume osseux (BV/TV) due à un nombre de travées très réduit. Les études histologiques confirment les résultats obtenus en  $\mu$ CT. Au niveau du front de minéralisation, nous avons également observé des travées osseuses épaisses et peu nombreuses et une matrice collagénique abondante signe d'un défaut majeur de l'ossification primaire. Afin de déterminer si les défauts d'ossifications sont la conséquence des anomalies de la plaque de croissance ou bien sont liés à l'ostéoblaste lui-même, nous avons étudié le deuxième modèle murin où l'expression de la mutation est ciblée dans les ostéoblastes grâce au promoteur du collagène de type I. Les souris Fgfr3Y367C/+Col1 âgées de 3 semaines ne présentent pas de chondrodysplasie ni d'anomalie osseuse. En revanche à l'âge adulte (3 mois), l'étude densitométrique de ces souris nous a permis de mettre en évidence une légère augmentation de l'aire fémorale et vertébrale. L'étude histomorphométrique des fémurs a révélé une légère augmentation de la largeur métaphysaire, de la taille des travées, de la surface osseuse et de la vitesse de minéralisation. L'expression augmentée de marqueurs ostéoblastiques tels que l'Ostéocalcine et le Collagène de type I chez les souris Fgfr3Y367C/+Col1 comparée à leurs contrôles confirme ces modifications de l'activité ostéoblastiques. Ces résultats sont en faveur d'une action directe de FGFR3 sur le modelage osseux. L'ensemble de ces résultats nous permet de conclure que lorsque le récepteur FGFR3 est activé, il perturbe fortement la plaque de croissance ce qui entraîne des anomalies sévères de l'os primaire. Au niveau de l'os mature des défauts de modelages osseux sont observés signant l'effet direct du récepteur sur l'ostéoblaste.

**Mots-clés :** FGFR3, chondrodysplasie, ossification.

## ■P603. CHARACTERISATION OF A NEW MOUSE MUTANT AFFECTING THE MORPHOLOGY OF THE SKULL, CONSEQUENCES ON HUMAN MONOGENIC DISEASES

A. Saleh (1, 2), V. Brault (1, 2), V. Nalesso (1, 2), Y. Herault (1, 2, 3, 4) (1) *IGBMC, Illkirch, France*; (2) *CNRS, UMR6218, MIE, Orleans, France*; (3) *CNRS, UPS44, TAAM, Institut de Transgenose, Orléans, France*; (4) *ICS, Illkirch, France*.

Contact : abdel salam.saleh@cnrs-orleans.fr

Depuis quelques années, la séquence complète du génome humain est disponible, et l'ère post-génomique a débuté avec l'analyse systématique de la fonction génique et son rôle dans les maladies humaines. L'annotation des séquences (description des fonctions biologiques des gènes) est un important challenge car, à ce jour, moins d'un gène sur sept a une fonction précisément connue. Cette annotation passe par l'analyse systématique de phénotypes mutés chez des organismes modèles tels que la souris. Le challenge de ces dernières années réside donc dans la mise en place de stratégies appropriées pour augmenter les ressources en mutants. La mutagenèse chimique aléatoire du génome permet de créer de multiples variants alléliques qui sont isolés sur la base d'une analyse phénotypique. Cette méthode permet l'identification de nouveaux gènes et voies génétiques ainsi que la dissection de pathologies complexes. Le mutant nommé GEM184 ou Whc2 (pour « white coat 2 ») que nous présenterons ici, est issu d'un programme de mutagenèse chimique à l'ENU (PhenHoMut) mis en place par le laboratoire d'Embryologie Moléculaire à Orléans et le Centre

National de Génotypage (CNG) à Évry. L'ENU provoque des mutations ponctuelles aléatoires principalement de type substitution qui ont été identifiées lors d'un crible basé des anomalies de la morphologie du squelette ou du développement. Ce mutant porte une mutation semi dominante qui induit des changements dans la couleur du pelage (tâche blanche ventrale, dépigmentation des pattes et de la queue) et dans la morphologie chez les individus hétérozygotes. Nous avons mis en évidence des malformations faciales et crâniennes (brachycéphalie, sutures non jointives, déviation nasale et anomalie de l'oreille interne), ainsi que cérébrales (hydrocéphalie, hypertrophie du ventricule latéral et atrophie du cortex temporal) importantes. Le spectre des anomalies observées suggère un défaut dans la formation ou la migration des cellules de la crête neurale impliquées dans la différenciation des mélanocytes et à l'origine des os crâniens. Des analyses des cellules des crêtes neurales au cours du développement embryonnaires sont en cours afin d'essayer d'identifier l'origine embryonnaire des malformations observées. L'analyse d'embryons homozygotes a montré que la mutation GEM184 à l'état homozygote induit un phénotype léthal au stade de la gastrulation. La cartographie de la mutation a permis d'isoler une région de 6 Mb sur le chromosome 11 entre les marqueurs rs13481014 et D11mit310 sur laquelle plusieurs gènes candidats ont été identifiés. Parmi ces gènes, le gène Ppp2ca a plus particulièrement retenu notre attention car son inactivation entraîne une létalité embryonnaire au même stade que celle observée chez nos mutants. Ce gène est en cours de séquençage afin de détecter une éventuelle mutation. Le mutant GEM184 pourrait ainsi mettre en évidence une nouvelle voie moléculaire impliquée dans la formation crâniofaciale.

**Mots-clés :** craniofacial development, chemical mutagenesis, mouse model.

## ■P604. HÉTÉROGÉNÉITÉ GÉNÉTIQUE DE LA DYSPLASIE GÉLÉOPHYSIQUE

C. Le Goff (1), N. Dagonneau (1), P. Stephan (1), I. Diebold-Pressac (1), V. Drouin-Garraud (2), Y. J. Crow (3), R.C. Hennekam (4), J. Hurst (5), D. Krakow (6), S. Mansour (7), G. Mortier (8), M. Splitt (9), A. Superti-Furga (10), S. Unger (10), D. Williams (11), M. Le Merrer (1), A. Munnich (1), V. Cormier-Daire (1)

(1) *Département de Génétique, INSERM U781, Université Paris Descartes, Hôpital Necker, Paris, France*; (2) *Département de Génétique Médicale, Hôpital Charles-Nicolle, Rouen, France*; (3) *Institut de Médecine moléculaire, Leeds, United Kingdom*; (4) *Département de Pédiatrie, Amsterdam, The Netherlands*; (5) *Département de Génétique Clinique, Oxford, United Kingdom*; (6) *Centre Médical du Cedars-Sinai, Los Angeles, USA*; (7) *Unité de Génétique Médicale, St George's London, United Kingdom*; (8) *Département de Génétique Médicale, Ghent, Belgium*; (9) *Institut de Génétique Humaine, Newcastle, United Kingdom*; (10) *Département de Pédiatrie, Freiburg, Germany*; (11) *Département de Génétique Clinique, Women's Hospital, Birmingham, United Kingdom*

Contact : carine.le-goff@inserm.fr

La dysplasie géloéophysique (OMIM 231050, DG) est une chondrodysplasie transmise sur un mode autosomique récessif et caractérisée par une petite taille, une peau épaisse, des rétractions articulaires et une brachydactylie avec épiphyses en cône, retard d'âge osseux et des os longs trapus. Les patients présentent une atteinte cardiaque progressive avec une dilatation et un épaississement des valves mitrale, pulmonaire et aortique conduisant souvent à un décès précoce avant l'âge de 5 ans. L'étude de six familles consanguines DG nous a permis d'identifier 4 mutations faux sens et une mutation stop dans le gène A Disintegrin And Metalloprotease with Thrombospondin repeats- like 2 (ADAMTSL2). Ce gène code pour une glycoprotéine sécrétée, qui appartient à la sous famille des ADAMTS-like, protéines homologues aux domaines ancillaires des ADAMTS mais sans domaine catalytique et donc sans activité enzymatique. Leur fonction est inconnue à ce jour. Des études fonctionnelles sur cellules HEK293 montrent que les mutations d'ADAMTSL2 conduisent à une synthèse normale des protéines mais à un défaut de leur sécrétion potentiellement dû à un changement de leur conformation. Utilisant un criblage double hybride, nous avons identifié comme partenaire d'ADAMTSL2, Latent TGFbeta Binding Protein 1 (LTBP1). La mesure du taux de TGFbeta dans les fibroblastes de patients DG a montré une augmentation du niveau TGFbeta actif et de SMAD2 phosphorylé suggérant une implication d'ADAMTSL2 dans le réseau microfibrillaire et dans la voie de signalisation de TGFbeta. Depuis ces premiers travaux, nous avons analysé 12 nouvelles familles DG répondant toutes aux critères diagnostiques de la DG. Nous avons identifié des mutations d'ADAMTSL2 dans 6 familles incluant 7 nouvelles mutations. Nous n'avons pas identifié de mutations dans les 6 autres familles. De plus, nous avons observé une augmentation du taux de TGFbeta dans les fibroblastes de patients non



mutés similaire à celle observée chez les patients mutés. Au total, l'identification de mutations dans ADAMTSL2 dans 12/18 familles DG nous permet de conclure qu'ADAMTSL2 est le gène majeur de la DG. L'absence de mutations dans 6/18 familles suggère une hétérogénéité génétique contrastant avec une homogénéité clinique. Les études en cours devraient nous permettre l'identification du deuxième gène responsable de la DG qui est probablement également impliqué dans le réseau microfibrillaire et dans une dysrégulation de la voie de signalisation de TGFbeta.

**Mots-clés :** chondrodysplasie, TGFbeta, ADAMTS.

## Prénatal : DPN, DPI

### ■P605. DIAGNOSTIC ANTENATAL DE DÉLÉTION XQ26.2 EN CGH-ARRAY, RESPONSABLE D'UN SYNDROME DE SIMPSON-GOLABI-BEHMEL : À PROPOS D'UNE FAMILLE

F. Petit (1), M. Holder-Espinasse (1), S. Bouquillon (2), P. Deruelle (3), G. Vaksman (4), A. Dubois (5), S. Petit (6), L. Devisme (6), S. Manouvrier-Hanu (1), J. Andrieux (2)

(1) Service de Génétique Clinique, Hôpital Jeanne-de-Flandre, CHRU de Lille, France ; (2) Département de Cytogénétique, Hôpital Jeanne-de-Flandre, CHRU de Lille, France ; (3) Service de Gynécologie-Obstétrique, Hôpital Jeanne-de-Flandre, CHRU de Lille, France ; (4) Service de Cardiologie, Clinique de la Louvière, Lille, France ; (5) Service de Pédiatrie, Centre Hospitalier de Calais, France ; (6) Service d'Anatomopathologie, Centre de Biologie-Pathologie, CHRU de Lille, France  
Contact : florence.petit@chru-lille.fr

Le syndrome de Simpson-Golabi-Behmel (SGBS, OMIM#312870) est caractérisé par une avance de croissance globale pré et postnatale, une dysmorphie faciale et des malformations viscérales et squelettiques, d'expressivité variable. Il peut exister de façon inconstante une déficience intellectuelle, généralement légère. Le risque de néoplasie embryonnaire est accru, estimé à 10 %, nécessitant une surveillance régulière durant les premières années de vie. Il s'agit d'une affection liée à l'X dont le gène principal, GPC3, a été identifié en Xq26. Il code pour une protéoglycane extracellulaire, le glypican 3, principalement exprimée dans les tissus dérivés du mésoderme, qui interagit avec IGF2 (insulin-like growth factor 2). Le diagnostic prénatal précoce du SGBS est réalisable par analyse moléculaire lorsqu'une mutation a été identifiée précédemment chez un cas index. En l'absence d'antécédents familiaux, le diagnostic peut seulement être suggéré durant la grossesse devant des signes d'appel échographiques. Nous rapportons le cas d'une grossesse gémellaire bichoriale biamniotique marquée par la découverte d'un syndrome polymalformatif chez les deux fœtus. Le premier jumeau présentait une malformation cardiaque complexe associée à une hépatocèle et à une agénésie rénale unilatérale. Le deuxième jumeau présentait une fente labio-palatine unilatérale associée à une communication inter-ventriculaire. Les caryotypes fœtaux sur ponction de liquide amniotique étaient normaux 46,XY. Pour les deux jumeaux, il existait une discordance entre le sexe chromosomique et l'aspect échographique féminin des organes génitaux externes. Devant l'ensemble de ces données, une analyse pangénomique par CGH-array était réalisée. La mise en évidence d'une délétion cryptique Xq26.2 d'au moins 1,6 Mb emportant 6 gènes, dont GPC3, permettait de poser le diagnostic de SGBS en anténatal. Cette délétion était retrouvée a posteriori chez la mère à l'état hétérozygote, ainsi que chez son quatrième enfant, décédé à la première heure de vie dans un contexte de hernie diaphragmatique. Les 2 jumeaux sont décédés au 6ème jour de vie. Il s'agit à notre connaissance de la première description d'une délétion complète du gène GPC3, mais également du premier cas rapporté de SGBS identifié et confirmé en anténatal.

**Mots-clés :** CGH-array, Simpson-Golabi-Behmel.

### ■P606. DIFFICULTÉS D'INTERPRÉTATION D'UN REMANIEMENT CHROMOSOMIQUE COMPLEXE EN PRÉNATAL

J. Puechberty (1, 2), A. Schneider (2), C. Coubes (1), M.J. Perez (1), M. Tournaire (2), M. Girard (2), C. Pebrel-Richard (3), N. Bigi (1), P. Vago (3), D. Geneviève (1), P. Sarda (1), G. Lefort (2)

(1) Centre de Référence « Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs », Service de Génétique Médicale, C.H.R.U. Montpellier, France ; (2) Laboratoire de Génétique Chromosomique, Service de Génétique Médicale, C.H.R.U. Montpellier, France ; (3) Service de Cytogénétique Médicale, C.H.U. Clermont-Ferrand, France.  
Contact : j-puechberty@chu-montpellier.fr

Les remaniements chromosomiques complexes sont des événements considérés comme rares, mais, avec l'apport des techniques moléculaires de cytogénétique, leur fréquence augmente. Le risque de déséquilibre dans la

descendance ne peut pas être déterminé précisément mais le risque de fausses couches ou de naissance d'un enfant anormal est élevé. Il est dû soit à une malségrégation des chromosomes dérivés, soit à une recombinaison chromosomique méiotique. Nous décrivons le cas d'un jeune couple non consanguin sans histoire médicale personnelle particulière mais avec un antécédent de 3 fausses couches très précoces (FCS). Sur le plan familial, la mère est issue d'une fratrie de 6 incluant 2 FCS. Pour le conjoint, une demi-sœur du côté maternel aurait eu une interruption médicale de grossesse pour syndrome polymalformatif non précisé. Pour la 4<sup>e</sup> grossesse, l'échographie obstétricale du 1<sup>er</sup> trimestre n'a pas montré d'anomalie morphologique et le dosage des marqueurs sériques maternels n'a pas donné de risque accru de trisomie 21 fœtale. Cependant, l'examen échographique du 2<sup>e</sup> trimestre a montré une dysmorphie faciale (fente labio-alvéolo-palatine droite, angle fronto-nasal plat, hypertélorisme). Le caryotype fœtal réalisé sur culture de liquide amniotique (LA) et analysé en bandes RHG et GTG évoquait un remaniement chromosomique complexe (RCC) apparemment équilibré de type translocation t(2;8;18) intéressant les extrémités des bras longs. Les caryotypes parentaux ont donné une formule chromosomique normale pour le père et un RCC ressemblant à celui trouvé chez le fœtus pour la mère. Une étude en cytogénétique moléculaire M-FISH sur culture de LA a confirmé la présence d'un échange entre les bras longs des chromosomes 2, 8 et 18 mais de façon déséquilibrée (trisomie 8q distale, monosomie 18q distale). Par contre, l'étude sur le prélèvement sanguin maternel a montré un remaniement chromosomique plus complexe associant une insertion de matériel 8q en 2q, une translocation de matériel 2q sur 8q et une translocation de matériel 8q sur 18q, soit un remaniement impliquant 4 points de cassure, apparemment équilibré. Les parents ont demandé une IMG. L'examen fœto-pathologique a retrouvé une dysmorphie faciale et une anomalie positionnelle des extrémités. À la lumière de cette anomalie maternelle associant événement insertionnel et translocations, nous avons émis l'hypothèse d'un événement de recombinaison méiotique entre le dérivé chromosomique 2 et le dérivé chromosomique 8, qui explique le profil caryotypique observé chez le fœtus. L'étude par puces à ADN a permis de confirmer les points de cassures chromosomiques (8q23.3 et 18q21.33) et d'estimer la taille des morceaux chromosomiques en déséquilibre. Ce RCC découvert lors d'un diagnostic prénatal, qui était à première vue un échange apparemment équilibré entre 3 chromosomes, est en fait le produit d'une recombinaison méiotique d'un RCC maternel. Cette recherche a été financée grâce à un PHRC (n° 7855).

**Mots-clés :** diagnostic prénatal, remaniement chromosomique complexe, recombinaison.

### ■P607. APPORT DE CHACUNE DES 3 TECHNIQUES : CARYOTYPE, FISH ET CGH ARRAY DANS LA TRANSMISSION D'UNE INVERSION PÉRICENTRIQUE DU CHROMOSOME 8 : INV(8)(P23.1Q24.3)

N. Gruchy (1), C. Latour (1), G. Benoist (2), C. Jeanne-Pasquier (3), M. Herlicoviez (2), J. Andrieux (4), N. Leporrier (1)

(1) Laboratoire de Cytogénétique prénatale, CHU de Caen, France ; (2) Service de Gynécologie Obstétrique, CHU de Caen, France ; (3) Laboratoire d'anatomie pathologique, CHU de Caen, France ; (4) Laboratoire de Génétique médicale, CHRU de Lille, France  
Contact : gruchy-n@chu-caen.fr

Lors de la 1<sup>re</sup> grossesse d'une femme de 28 ans, un caryotype fœtal est effectué sur trophoblaste à 13 semaines d'aménorrhée (SA) pour hygroma colli et œdème sous-cutané généralisé : aucune anomalie chromosomique n'est observée. La découverte d'un syndrome polymalformatif lors de l'échographie du 2<sup>e</sup> trimestre motive la décision d'une interruption médicale de grossesse à 24 SA. L'examen fœtopathologique objective une cardiopathie complexe, une agénésie pancréatique et une malposition du cadre mésentérique. L'ADN des cellules fœtales est passé en CGH par puces BACs qui met en évidence une microdélétion de 11,8 Mb du bras court du chromosome 8. Le caryotype des parents révèle alors la présence chez le père d'une inversion péricentrique du chromosome 8 : 46,XY,inv(8)(p23.1q24.3). Le fœtus a donc hérité d'un recombinant du chromosome 8 inversé de son père avec la constitution d'une duplication déficience des segments distaux par rapport aux points de cassure. Une étude rétrospective plus résolutive de l'ADN par CGH avec puces oligonucléotidiques et puces BACs après traitement à la protéinase K confirme qu'en plus de la délétion 8p23.3p23.1 de 11,8 Mb, il existe bien une duplication 8q24.3 de 3,3 Mb. Le caryotype sur trophoblaste, du fait de sa résolution, n'a pu mettre en évidence la transmission du der(8). En revanche une technique d'hybridation *in situ* (FISH ciblé) avec des sondes télomériques 8p et 8q montre sans difficulté la délétion (1 spot) et la duplication (3 spots). Ainsi, au cours de la 2<sup>e</sup> grossesse de la patiente, un diagnostic prénatal est proposé sur indication d'anomalie chromosomique parentale pour caryotype et FISH. Il n'a pas été nécessaire d'utiliser la technique de

CGH array. Le caryotype associé à la FISH avec des sondes télomériques 8p et 8q a permis de diagnostiquer la transmission de l'inversion du chromosome 8 paternelle. La grossesse s'est poursuivie sans particularité. Des 2 techniques d'étude pangénomique utilisées, caryotype et CGH array, c'est la CGH, par son pouvoir de résolution, qui a permis d'objectiver le désordre génomique et de solliciter l'étude des caryotypes parentaux. C'est le caryotype paternel, par la mise en évidence de l'inversion péricentrique, qui a permis d'élucider la mécanique chromosomique. Quant à la FISH, technique ciblée non pangénomique, c'est elle, en seconde intention qui permet d'affirmer la normalité, en visualisant ou non l'inversion équilibrée (2 spots pour chaque télomère du 8) ou l'anormalité, transmission d'un recombinant avec duplication déficience (3 spots d'un télomère du 8 et 1 spot de l'autre). Le choix raisonné des techniques permet d'optimiser leur complémentarité et d'assurer un diagnostic précis dans un temps minimum requis en prénatal. La CGH array a induit l'étude familiale, le caryotype et la FISH confirment les données, permettent d'expliquer l'anomalie, condition indispensable pour le conseil génétique, et apportent un diagnostic aisé lors d'une grossesse ultérieure.

**Mots-clés :** inversion péricentrique, recombinaison, techniques.

**■P608. PREMIER CAS D'UNE DÉLÉTION PROXIMALE DU BRAS LONG D'UN CHROMOSOME 12 DIAGNOSTIQUÉE EN PRÉNATAL**

A. Schneider (1), J. Puechberty (1, 2), M.J. Perez (2), N. Bigi (2), M. Tournaire (1), M. Girard (1), A.M. Chaze (1), D. Geneviève (2), G. Lefort (1), P. Sarda (2)

(1) *Laboratoire de Génétique Chromosomique, Service de Génétique Médicale, CHRU de Montpellier, France ; (2) Centre de Référence « Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs », Service de Génétique Médicale, CHRU de Montpellier, France*  
*Contact : a-schneider@chu-montpellier.fr*

Les signes d'appel échographiques sont l'une des principales indications à la réalisation de caryotypes fœtaux. Nous rapportons le cas d'un couple, sans antécédent personnel ou familial particulier, chez lequel a été réalisé une biopsie de trophoblaste à la suite de la découverte d'un hygroma kystique cervical isolé de 5,8 mm à 12 semaines d'aménorrhée. Nous n'avons pas retenu d'anomalie à l'examen direct. Après culture, une délétion de petite taille intéressant la partie proximale du bras long d'un chromosome 12 a été observée : 46,XY,del(12)(q12q12). Les caryotypes réalisés chez les parents ont montré des formules chromosomiques apparemment normales. L'échographie morphologique intermédiaire a mis en évidence un syndrome polymalformatif avec persistance de l'hygroma, aspect élargi du 4ème ventricule, suspicion de rétromandibulie et lame d'épanchement péricardique avec une discrète hypertrophie des parois ventriculaires. L'échographie du second trimestre a montré une aggravation du phénotype. Les délétions interstitielles du bras long du chromosome 12, particulièrement proximales, sont rarement décrites dans la littérature. Seuls 3 cas ont été rapportés avec une délétion de la région chromosomique 12q12 diagnostiquée en postnatal et peu d'éléments de la période prénatale ont été notés hormis un retard de croissance intra-utérin et une diminution des mouvements fœtaux. Même si les malformations majeures d'organes ne semblent pas faire partie du tableau clinique, ces patients présentent une association d'éléments phénotypiques : un retard psychomoteur, un retard de croissance, des anomalies oculaires associées à une dysmorphie crânio-faciale caractéristique, une clinodactylie et une cryptorchidie. Lors d'une consultation en génétique, la gravité du pronostic fœtal a été exposé au couple qui a demandé une interruption de grossesse pour raison médicale. L'examen fœtopathologique a permis de préciser les éléments dysmorphiques fœtaux, en corrélation avec ceux décrits dans la période postnatale. Nous avons, par ailleurs, caractérisé cette anomalie en utilisant une puce à ADN Affymetrix. Nous avons pu préciser les points de cassure et ainsi estimer la taille de cette délétion à 10,44 Mb. À notre connaissance, nous rapportons ici le premier cas d'une délétion 12q proximale diagnostiquée en prénatal sur signes d'appel échographiques.

**Mots-clés :** diagnostic prénatal, délétion 12q, syndrome polymalformatif.

**■P609. TRISOMIE 5P PAR REMANIEMENT CHROMOSOMIQUE COMPLEXE DÉSÉQUILIBRÉ DE NOVO DIAGNOSTIQUÉE EN ANTÉNATAL ET CARACTÉRISÉE EN CGH ARRAY ET EN FISH G. Egea (1), A. Labalme (1), A. Zetoune (1), M.P. Cordier (2), C. Monot Vavasseur (3), P. Gaucherand (3), M. Till (1), A. Rafat (1), P. Ederly (1, 4), D. Sanlaville (1, 4)**

(1) *Service de Cytogénétique Constitutionnelle, GHE, CHU de Lyon, France ; (2) Service de Génétique, Hôtel Dieu, CHU de Lyon, France ; (3) Service de Gynécologie Obstétrique, GHE, CHU de Lyon, France ; (4) EA 4171, Université Claude Bernard, Lyon 1, France*  
*Contact : gregoryegea@gmail.com*

Nous rapportons le cas de Mme L., 35 ans, GIVPII, pour laquelle un caryotype fœtal a été demandé suite à la mise en évidence d'une dilatation digestive avec péristaltisme lors de l'échographie de 35 semaines d'aménorrhée. On note dans les antécédents une mort fœtale in utero en 2007 (3<sup>e</sup> grossesse). Le caryotype fœtal réalisé sur amniocytes a révélé la présence d'un add(16)(q24) sur les 17 clones analysés. Le caryotype des parents est normal. Afin de caractériser le déséquilibre chromosomique, une CGH array a été réalisée sur l'ADN extrait de la culture d'amniocytes. Cet examen a permis d'objectiver un gain en 5p15.33p13.2 d'environ 35 Mb et une perte en 16q24.3 de 435.2kb interstitielle sans perte de la région terminale. Les vérifications en FISH ont été réalisées avec les sondes 5pter, 16qter, peinture des 5 et 16. Les sondes de peinture chromosomique confirment la translocation déséquilibrée (5p ; 16q). La sonde 5pter est bien transloquée en 16q confirmant la trisomie 5 pter. De façon plus inattendue, le télomère 16q qui n'était pas délété en CGH array est bien présent mais il est transloqué en 1pter et absent du dérivé 16. La sonde 1pter est quant à elle bien en place et le profil en CGH array du 1 ne montre pas de remaniement 1pter. Au total le fœtus est porteur d'une trisomie 5p partielle, d'une délétion 16q24 interstitielle et d'une transposition 16qter en 1pter. La formule chromosomique est donc la suivante : 46,XX,add(16)(q24).ish der(1)(16qter148+,CEB108/T7+),der(16)(16pter).

**Mots-clés :** trisomie 5p, CGH array, délétion 16q.

**■P610. CONTRIBUTION DE LA CGH-ARRAY POUR LE PROGNOSTIC ET LE CONSEIL GÉNÉTIQUE DE MARQUEURS CHROMOSOMIQUES SURNUMÉRIQUES LORS DU DIAGNOSTIC PRÉNATAL**

P. Callier (1), N. Marle (1), D. Sanlaville (2), J. Andrieux (3), E. Flori (4), G. Joly-Helas (5), S. Fert Ferrer (6), B. Quilichini (7), N. Chelloug (7), H. Stora (8), F. Girard-Lemaire (4), M.P. Cordier (2), A.L. Mosca (1), V. Kremer (4), T. Rousseau (9), C. Aguilera-Devaud (10), S. Manouvrier (11), J.B. Savary (3), S. Bouquillon (3), C. Thauvin-Robinet (1), A. Masurel-Paulet (1), R. Favre (12), L. Marcellin (13), N. Laurent (14), M. Payet (1), C. Rangon (1), B. Aral (1), P. Sagot (9), L. Faivre (1), F. Mugneret (1), Réseau Français CGH-array

(1) *Département de Génétique, Hôpital Le Bocage, Dijon, France ; (2) Service de Cytogénétique Constitutionnelle, Lyon, France ; (3) Laboratoire de Génétique Médicale, Lille, France ; (4) Service de Cytogénétique, Strasbourg, France ; (5) Laboratoire de Cytogénétique, Rouen, France ; (6) Laboratoire de Génétique Chromosomique, Chambéry, France ; (7) Laboratoire Biomnis, Lyon, France ; (8) Laboratoire Genazur, Nice, France ; (9) Service de Gynécologie-Obstétrique, CHU le Bocage, Dijon, France ; (10) Unité de Diagnostic Prénatal, Centre Hospitalier du Belvédère, Mont-Saint-Aignan, France ; (11) Service de Génétique Clinique, Lille, France ; (12) CMCO-SICHUS, Schiltigheim, France ; (13) Département de Pathologie, Strasbourg, France ; (14) Service d'Anatomopathologie, Dijon, France*  
*Contact : patrick.callier@chu-dijon.fr*

La fréquence des marqueurs chromosomiques surnuméraires (sSMC) en période prénatale est estimée à 0,075 %. Les sSMC sont difficiles à identifier en cytogénétique conventionnelle en raison de leur petite taille et de leur perte après culture. Les sSMC constituent un groupe hétérogène d'anomalies chromosomiques de structure variable, pouvant être associés ou non à des anomalies du phénotype. La présence d'un marqueur sSMC *de novo* soulève une question difficile pour le conseil génétique en période prénatale, en raison du risque de retard mental et/ou de malformations pour le fœtus. Grâce au développement des techniques de cytogénétique moléculaire, il est devenu possible de déterminer l'origine et la composition d'un sSMC. Le but de notre étude était d'analyser par CGH-array une série de marqueurs surnuméraires en mosaïque et *de novo* afin de les identifier et/ou de les caractériser pour proposer un conseil génétique adapté. Des puces à ADN 4\*44k Agilent ont été utilisées pour l'analyse de 7 sSMC recrutés dans différents laboratoires du réseau français de CGH-array. Ces marqueurs ont été diagnostiqués sur caryotypes réalisés pour les indications suivantes : signes d'appel échographiques (2), antécédent d'anomalie chromosomique (1), âge maternel (3) et marqueurs sériques élevés (1). 5 sSMC avaient été identifiés par FISH (sSMC des chromosomes 10, 11, 18, 20 et 22 avec des mosaïques respectivement à 75 %, 60 %, 30 %, 75 % et 50 %). L'analyse par CGH-array a mis en évidence de l'euchromatine pour quatre d'entre eux (taille variant de 1.3 à 12.2 Mb) et un profil normal pour le cinquième. Pour les 2 sSMC non révélés par FISH l'analyse par CGH-array a mis en évidence de l'euchromatine. Le premier marqueur dérivait du chromosome 10, en mosaïque à 20 % avec une duplication 10p11.22 de 4.8 Mb. Le deuxième marqueur était un isochromosome 18p11.32p11.21 de 15Mb en mosaïque à 50 %. Cette analyse a permis un conseil génétique adapté, une interruption médicale de grossesse a été



réalisée pour 4 des 6 marqueurs composés d'euchromatine. L'examen fœtopathologique réalisé à l'issue de ces IMG a mis en évidence un syndrome polymalformatif pour deux fœtus sSMC(20) et sSMC(22), un examen normal pour un (sSMC(11)) et a été refusé pour l'isochromosome 18. Pour les 2 grossesses poursuivies, une malformation rénale a été détectée à la naissance pour l'un, une tétralogie de Fallot a été mise en évidence à 34SA dans l'autre cas. Cette étude nous a permis de montrer que les sSMC en mosaïque peuvent être désormais identifiés et caractérisés par la technique de CGH-array. Cette technique permet de déterminer rapidement la taille et l'origine du marqueur chromosomique surnuméraire. Celle-ci permet de détecter la présence ou non d'euchromatine afin d'améliorer les corrélations génotypes-phénotypes et d'affiner le conseil génétique. En conclusion, la CGH-array est particulièrement indiquée en diagnostic prénatal afin de faciliter l'évaluation des risques en temps opportun.

**Mots-clés :** CGH-array, marqueurs chromosomiques surnuméraires, conseil génétique.

#### ■P611. INTÉRÊT DE LA MLPA EN PRÉNATAL POUR LA RECHERCHE DE DÉSÉQUILIBRÉS GÉNOMIQUES CRYPTIQUES

C. Goumy, L. Gouas, E. Eymard-Pierre, C. Richard-Pebrel, K. Haoud, L. Véronèse, A. Tchirkov, P. Vago

Univ Clermont 1, UFR Médecine, Histologie Cytologie Embryologie Cyto-génétique, Clermont-Ferrand ; CHU Clermont-Ferrand, Cytogénétique Médicale, Clermont-Ferrand, France

Contact : lgouas@chu-clermontferrand.fr

Introduction : Les déséquilibres génomiques sont une cause importante de malformations congénitales. Récemment des techniques moléculaires comme la CGH array, la MLPA ou la QMPSF ont été développées pour rechercher des déséquilibres de petite taille, non détectés au caryotype standard. Cependant, ces techniques sont encore peu utilisées en routine dans le cadre du diagnostic chromosomique en prénatal notamment en raison de la détection possible de polymorphismes de nombre de copies de séquence génomique qui rendent parfois l'interprétation des résultats délicate. Matériels et méthodes : Nous avons exploré par MLPA 61 fœtus porteurs de malformations à l'échographie et dont le caryotype standard était normal (400 bandes). Après culture cellulaire (villosités chorales et amniocytes), l'ADN génomique a été extrait (NucleoSpin Blood, Macherey-Nagel). Les sondes de MLPA ciblaient les régions subtélomériques (SALSA P036 et P070, MRC Holland) et 21 régions chromosomiques impliquées dans des retards mentaux syndromiques (MRS-MLPA, SALSA P245, MRC Holland). Les déséquilibres mis en évidence par MLPA ont été vérifiés par FISH (Vysis, Cytocell Technology). Résultats : Quatre déséquilibres chromosomiques ont été mis en évidence (6,5 %) : deux réarrangements subtélomériques, une délétion 9pter isolée et une amplification 5pter associée à une délétion 18pter ; deux délétions interstitielles, une délétion 15q11q13 et une délétion 22q11 à phénotype atypique. Ces anomalies ont été confirmées par FISH. Après conseil génétique, deux couples ont eu recours à une interruption médicale de grossesse (à 19 et 36 semaines d'aménorrhée). Conclusion : L'exploration par MLPA de 61 fœtus porteurs de malformations et sans anomalie détectée au caryotype standard a permis de mettre en évidence 4 déséquilibres génomiques, soit 6,5 % d'anomalies, fréquence comparable à celle des anomalies déséquilibrées détectées chez les enfants présentant un retard mental syndromique. Notre étude montre pour la première fois la contribution de la MLPA subtélomérique associée à la MRS-MLPA dans la détection des déséquilibres génomiques cryptiques durant la période prénatale. Moins onéreuse et plus facile à mettre en œuvre que la CGH array, la MLPA trouve toute sa place en prénatal, en deuxième intention après le caryotype standard, pour rechercher des déséquilibres génomiques cryptiques chez des fœtus malformés.

**Mots-clés :** diagnostic prénatal, MLPA, malformations.

#### ■P612. PLACE DE LA CGH ARRAY DANS LA PRISE EN CHARGE DES FŒTUS AVEC ANOMALIES ÉCHOGRAPHIQUES : RÉSULTATS D'UNE ÉTUDE PROSPECTIVE SUR 50 CAS

A. Coussement (1), A. Choiset (1), A. Lebbar (1), F. Lewin (2), V. Tsatsaris (2), G. Grangé (2), F. Goffinet (2), J.M. Dupont (1)

(1) Université Paris Descartes, AP-HP, Laboratoire de Cytogénétique, Groupe Hospitalier Cochin – Saint Vincent de Paul, Paris, France ; (2) Université Paris Descartes, AP-HP, Service de Gynécologie Obstétrique, Groupe Hospitalier Cochin – Saint Vincent de Paul, Paris, France

Contact : aurelie.coussement@svp.aphp.fr

Le caryotype après culture des cellules du liquide amniotique ou des villosités chorales est la technique de référence en diagnostic prénatal depuis

une trentaine d'années. Le taux de détection des anomalies chromosomiques est de 12,8 % orsque l'indication est un signe d'appel échographique. La CGH-array ou « caryotype moléculaire » est une technique rapide et sensible permettant une analyse globale du génome dont l'utilisation en cancérologie et dans l'exploration des retards mentaux s'est largement développée. En revanche, son utilisation dans le cadre du diagnostic prénatal fait encore l'objet de nombreuses réserves en raison des risques d'incertitude diagnostique liés à l'existence de très nombreux CNV (Copy Number Variant) dans le génome humain au retentissement inconnu. Nous présentons ici les résultats de la première étude prospective visant à évaluer l'apport de la CGH-array dans la prise en charge de grossesses à risque d'anomalie chromosomique. 50 fœtus présentant un ou plusieurs signes d'appel échographiques et un caryotype normal ont été inclus dans l'étude, dont 23 pour lesquels les grossesses ont été poursuivies après le diagnostic prénatal et qui sont nés vivants. Les ADN ont été analysés dans un premier temps avec une puce BAC de première génération (résolution moyenne de 1 Mb), puis ultérieurement avec une puce oligonucléotide haute résolution. L'analyse avec une puce bac de première génération (intégrant résolution 1 Mb) n'a pas mis en évidence d'anomalie d'une taille supérieure à 1 Mb. En raison des publications rapportant un taux d'anomalies supérieur à 10 % sur des séries de fœtus polymalformés intérompus, nous avons jugé nécessaire de réanalyser ces ADN avec une puce oligonucléotidique avant de conclure sur le bénéfice clinique de la CGH-array par rapport au caryotype pour la prise en charge des fœtus avec signes d'appel échographiques.

**Mots-clés :** DPN, CGH array, anomalie échographique.

#### ■P613. DIAGNOSTIC PRÉNATAL PAR CGH-ARRAY D'UNE MICRODÉLÉTION 15Q26.2Q26.3 DE NOVO DE 6.5 MB

V. Rozé (1), M.A. Collonge-Rame (1), A. Martin (2), F. Arbez-Gindre (3), M. Béri (4), C. Bonnet (4), J.L. Bresson (1)

(1) Service de Génétique-Histologie-BDR, CHU Besançon, France ; (2) Service de Gynécologie-Obstétrique, CHU Besançon, France ; (3) Service d'Anatomie Pathologique, CHU Besançon, France ; (4) Laboratoire de Génétique, CHU Nancy, France

Contact : vroze@chu-besancon.fr

L'identification par CGH array des petits déséquilibres chromosomiques est aujourd'hui de plus en plus accessible en diagnostic post natal, notamment en présence d'un retard mental associé ou non à un syndrome polymalformatif. La question de l'utilisation de cette technique en diagnostic prénatal est par contre sujette à débat, sauf peut être en cas de signes d'appel échographiques très évocateurs d'anomalie chromosomique, et de caryotype conventionnel normal. Nous présentons un cas de délétion terminale de 6.5Mb en 15q26.2q26.3 de novo identifiée par CGH-array oligo 105A (Agilent) et contrôlée par FISH, chez un fœtus présentant à l'échographie une cardiopathie avec hypoplasie de l'arche aortique et un retard de croissance intra utérin. L'examen foeto-pathologique a montré de plus une CIA, une légère microcéphalie et une hypoplasie rénale. Quelques cas de délétions terminales au niveau du bras long du chromosome 15 ont été publiés et semblent associés à syndrome incluant notamment un retard de croissance sévère. Plusieurs gènes sont présents dans cette région, le meilleur candidat étant le gène codant le récepteur au facteur de croissance IGF1R (insulin-like growth factor1 receptor).

**Mots-clés :** cgh – array, 15q26 microdeletion, IGF1R.

#### ■P614. CARACTÉRISATION PAR CGH ARRAY D'UN MARQUEUR CHROMOSOMIQUE SURNUMÉRAIRE DÉRIVÉ DU 8 DE DÉCOUVERTE PRÉNATALE, CORRÉLATION GÉNOTYPE PHÉNOTYPE

L. Kraoua (1), A. Aboura (1), M. Rajguru (2), S. Drunat (3), N. LeDù (4), M.L. Maurin (1), A. Delahaye (5), S. Omnes (6), C. Huel (7), J.F. Oury (7), S. Serero (4), B. Benzacken (1, 5), AC. Tabet (1)

(1) Unité fonctionnelle de Cytogénétique, Hôpital Robert-Debré, Paris, France ; (2) Service de Néonatalogie, Hôpital Robert-Debré, Paris, France ; (3) Service de Biochimie Génétique, Hôpital Robert-Debré, Paris, France ; (4) LABM, Évreux, France ; (5) Service d'Histologie-Embryologie et Cytogénétique, Biologie de la Reproduction, Hôpital Jean-Verdier, Bondy, France ; (6) Service de Gynécologie-Obstétrique, Hôpital Bichat, Paris, France ; (7) Service de Gynécologie-Obstétrique, Hôpital Robert Debré, Paris, France

Contact : kraoua\_lilia@yahoo.fr

Les chromosomes marqueurs chromosomiques surnuméraires dérivés du chromosome 8 (mar(8)) sont relativement fréquents. Le phénotype est très variable et la corrélation génotype-phénotype est mal définie. Les techniques de cytogénétique standard ne permettent pas leur caractérisation. Les techniques d'hybridation *in situ* fluorescente (FISH) et plus récemment la



CGH array, ont permis de mieux les définir. Dans la littérature, le contenu en matériel dupliqué des marqueurs du chromosome 8 rapportés, est rarement précisé. Ainsi, la découverte d'un tel marqueur en diagnostic prénatal rend le conseil génétique difficile et en particuliers en absence d'anomalies échographiques. Nous rapportons un nouveau cas de mar(8) en mosaïque survenu *de novo* et de découverte prénatale lors d'une amniocentèse faite pour âge maternel. Ce marqueur a été retrouvé dans 30 % des cellules amniotiques cultivées. La FISH réalisée sur les cellules fœtales avec la sonde péricentromérique spécifique du chromosome 8, RP11-73M19 (8p11.2), nous a permis de confirmer la présence d'euchromatine sur le marqueur et de retenir le diagnostic de trisomie 8p partielle. Le suivi échographique ainsi que l'IRM cérébrale n'ont pas montré d'anomalies. Après conseil génétique, les parents ont décidé de poursuivre la grossesse. Une petite fille est née à terme en bonne santé apparente. Un caryotype sanguin postnatal a permis de confirmer la présence du mar(8) dans 40 % des lymphocytes. L'examen clinique à l'âge de 1 mois et à l'âge de 9 mois était normal en dehors d'un stridor laryngé. Afin de mieux caractériser le mar(8), une CGH array haute résolution (HumanCNV370-Duo DNA Analysis BeadChip, Illumina, San Diego, CA, USA) a été réalisée et a permis de mieux préciser le contenu en euchromatine du marqueur. Ce dernier correspond à la région 8p11.1-21.1 qui contient environ 110 gènes. Parmi ces gènes, on cite les gènes WRN, NRG1, ADRB3, FGFR1, MYST3, PLAT, DKK4 et HGNAT impliqués dans plusieurs pathologies dont la schizophrénie, certaines maladies métaboliques, des leucémies, des anomalies cardiaques, etc. L'étude de l'origine parentale du mar(8) est en cours. Le suivi clinique de la patiente nous permettra de contribuer à une meilleure connaissance de la corrélation génotype-phénotype en présence d'une trisomie 8p partielle.

**Mots-clés :** diagnostic prénatal, mar(8), CGH array.

#### ■P615. DIAGNOSTICS PRÉNATALS RÉALISÉS AU PREMIER TRIMESTRE DE LA GROSSESSE POUR CLARTÉ NUCHALE AUGMENTÉE ; LA FIABILITÉ DE LA FISH INTERPHASIQUE EFFECTUÉE À PARTIR DE L'AXE MÉSENCHYMATEUX

J. Toutain, F. Coateven, F. Vandenbosche, J. Horovitz, R. Saura  
Centre de médecine fœtale, maternité CHU de Bordeaux, France  
Contact : jerome.toutain@chu-bordeaux.fr

Objectifs de l'étude : Cette étude vise à examiner la stratégie cytogénétique à appliquer lorsque le diagnostic prénatal est réalisé pour une clarté nuchale augmentée au premier trimestre de la grossesse. Matériel et méthodes : 386 patientes ont bénéficié d'un diagnostic prénatal par ponction de villosités chorales pour une clarté nuchale augmentée au premier trimestre de la grossesse. Dans un premier temps, une technique d'hybridation *in situ* en fluorescence (FISH) sur noyaux interphasiques étudiant les principales aneuploïdies (trisomies 13, 18, 21 et aneuploïdies des gonosomes) a été réalisée, après dissociation enzymatique spécifique des villosités chorales, au niveau de l'axe mésoenchymateux. Le caryotype conventionnel a ensuite été établi après culture des villosités chorales. Afin de mettre en évidence d'éventuels faux négatifs de l'analyse « directe », cette méthode a été réalisée rétrospectivement lorsqu'une anomalie chromosomique était observée avec la technique de FISH interphasique et/ou la culture des villosités chorales. Résultats : 85 anomalies chromosomiques (soit 22,0 % des diagnostics prénatals réalisés) ont été mises en évidence par la technique de FISH interphasique et ont conduit à des interruptions médicales de grossesse (IMG) précoces par aspiration avant la 14<sup>ème</sup> semaine d'aménorrhée. Après culture des villosités chorales, 3 autres anomalies chromosomiques, non détectables par la technique de FISH interphasique employée, ont été observées et ont conduit à la réalisation d'IMG tardives. Aucune discordance entre les résultats obtenus par culture des villosités chorales et la technique de FISH interphasique appliquée à l'axe mésoenchymateux n'a été à déplorer pour les aneuploïdies étudiées. Trois faux négatifs (soit 3,41 % des anomalies chromosomiques détectées) ont été observés avec la technique « directe ». Conclusion : La technique de FISH interphasique réalisée à partir de l'axe mésoenchymateux des villosités chorales a permis d'obtenir des résultats cytogénétiques rapides et fiables pour les principales aneuploïdies. Inversement, nous avons observé un nombre important de faux négatifs avec la technique « directe » étudiant les cellules du cytotrophoblaste. Par ailleurs, les faux positifs de cette technique « directe » (estimés à environ 1 % des biopsies de trophoblaste et non étudiés dans cette étude) posent des problèmes d'interprétation cytogénétique. Finalement, chez les patientes bénéficiant d'un diagnostic prénatal pour clarté nuchale augmentée au premier trimestre de la grossesse, l'examen cytogénétique rapide devrait être réalisé à partir des cellules composant l'axe mésoenchymateux plutôt qu'à partir des cellules du cytotrophoblaste.

**Mots-clés :** clarté nuchale, FISH, axe mésoenchymateux.

#### ■P616. ANOMALIES CHROMOSOMIQUES LIMITÉES AU PLACENTA IMPLIQUANT LES CHROMOSOMES 16 ET 22 : RELATION AVEC LES FACTEURS SÉRIQUES MATERNELS (BETA-CGH) ET CONSÉQUENCES SUR LE DÉVELOPPEMENT FÉTAL

J. Toutain, F. Vandenbosche, F. Coateven, J. Horovitz, R. Saura  
Centre de médecine fœtale, maternité CHU de Bordeaux, France  
Contact : jerome.toutain@chu-bordeaux.fr

Objectifs de l'étude : Examiner les valeurs des facteurs sériques maternels (hormone chorionique gonadotrope (beta-HCG)) au deuxième trimestre de la grossesse et les issues des grossesses lorsque des anomalies chromosomiques limitées au placenta (ACLPL) impliquent les chromosomes 16 et 22. Matériel et méthodes : Les ACLPL impliquant les chromosomes 16 et 22 ont été mises en évidence après culture d'une série de 15 427 biopsies de trophoblaste. Le type d'ACLPL (type 2 ou 3) a ensuite été caractérisé après analyse du cytotrophoblaste (analyse « directe »). En cas d'ACLPL impliquant le chromosome 16, un contrôle par amniocentèse a été proposé aux patientes afin de rechercher une éventuelle disomie uniparentale (DUP). L'hypotrophie néonatale était définie par un poids de naissance inférieur au 10<sup>ème</sup> percentile. Résultats/discussion : 8 ACLPL (soit 0,52 % des biopsies de trophoblastes) impliquaient les chromosomes 16 (N = 6 composées par 1 ACLPL de type 2 et 5 ACLPL de type 3) et 22 (N = 2 composées par 1 ACLPL de type 2 et 1 ACLPL de type 3). Nos résultats, comme ceux de la littérature, montraient que les ACLPL impliquant les chromosomes 16 et 22 étaient habituellement associées à des valeurs de beta-HCG importantes au deuxième trimestre (> 5 MdM). Ces ACLPL étaient toujours dans notre série de type 3 (homogène ou en mosaïque). De façon plus originale, les 2 ACLPL impliquant les chromosomes 16 et 22 de type 2 (homogène ou en mosaïque) présentaient des valeurs normales de beta-HCG ( $\leq 1,31$  MdM). Ce résultat pourrait être expliqué par l'absence de remaniement cytogénétique au niveau des cellules du cytotrophoblaste, sécrétant physiologiquement la beta-HCG. Parmi les 6 ACLPL impliquant le chromosome 16, 3 cas d'hétérodisomie maternelle du chromosome 16 ont été identifiés. Aucune influence de la DUP du chromosome 16 sur l'issue de grossesse n'a été mise en évidence. Cette recherche semble d'ailleurs abandonnée par la plupart des centres de médecine fœtale. Une mort in utero à 35 SA (dûe à un suivi obstétrical inadapté) et un décès à 5 semaines (absence de malformation congénitale) ont été à déplorer pour 2 des 5 cas d'ACLPL de type 3 impliquant un chromosome 16 de façon homogène. Lorsque l'issue de grossesse était favorable (N = 6, 75 % des ACLPL impliquant les chromosomes 16 et 22), l'hypotrophie néonatale était constante. Conclusion : Devant des valeurs de beta-HCG au deuxième trimestre supérieures à 5 MdM et/ou un retard de croissance intra-utérin inexplicé, une biopsie de trophoblaste doit pouvoir être proposée afin de rechercher une éventuelle ACLPL (type 2 ou 3). Un suivi obstétrical adapté pourra alors être mis en place, le cas échéant.

**Mots-clés :** anomalies chromosomiques limitées au placenta, beta-CGH, développement fœtal.

#### ■P617. DÉLÉTION EUCHROMATIQUE INTERSTITIELLE ASYMPTOMATIQUE DEL(16)(Q13Q22) CHEZ UN FŒTUS ET SA MÈRE

P. Lochu (1), A. Coussement (2), T. Haag (3), J.M. Dupont (2), A. Choiset (2)  
(1) Laboratoire de cytogénétique, GEN BIO, Clermont-Ferrand, France ;  
(2) Laboratoire de cytogénétique, groupe hospitalier Cochin-Saint-Vincent-de-Paul, AP-HP, Université Paris Descartes, Faculté de Médecine, Paris, France ; (3) Polyclinique La Pergola, Vichy, France  
Contact : philippe.lochu@genbio.fr

Les délétions de segments chromosomiques euchromatiques décelables par les techniques cytogénétiques classiques entraînent généralement des anomalies du phénotype. Cependant, quelques cas, sur différents chromosomes, ont été rapportés où une délétion héritée ne semble pas avoir de conséquence phénotypique (Barber, 2005, Kowalczyk *et al.*, 2007). Nous présentons la découverte fortuite d'une délétion euchromatique interstitielle asymptomatique del(16)(q13q22) chez un fœtus et sa mère. Le diagnostic prénatal sur liquide amniotique a été réalisé à la 20<sup>ème</sup> semaine d'aménorrhée chez une femme de 41 ans, G1P1, pour âge maternel et risque biologique à 1/54. Le caryotype fœtal réalisé sur culture *in situ* d'amniocytes selon les techniques standards (bandes G) a révélé la présence d'une délétion interstitielle sur les bras longs d'un chromosome 16. La délétion a été confirmée par FISH avec une sonde BAC RP11-229O3 (Sanger) localisée en 16q21. Elle a été retrouvée chez la mère qui n'a pas d'antécédent médical personnel, ni obstétrical, ni familial, et n'a pas de dysmorphie apparente. L'échographie fœtale morphologique n'a pas décelé d'anomalie. La CGH array (puce oligonucléotides Nimbelgen HG18 385K) a



permis de préciser sa taille de 5,8 Mb, l'étude du fœtus sera faite à la naissance (grossesse actuellement en cours). L'étude familiale est en cours. Les délétions interstitielles 16q21 sans effet phénotypique apparent sont rares et seuls 2 cas ont été décrits dans la littérature, mais sans analyse en CGH array (Witt *et al.*, 1988, Hand *et al.*, 2000). Ce cas rappelle la nécessité absolue d'obtenir les caryotypes des parents avant d'interpréter une anomalie chromosomique prénatale et de mener le conseil génétique.

**Mots-clés :** délétion 16q21, CGH array.

**■P618. TRANSLOCATION ROBERTSONIENNE ROB(13;15) (Q10;Q10) DE NOVO INSTABLE SANS CONSÉQUENCE PHÉNOTYPIQUE**

P. Lochu (1), M. Rognon (2), A. Choiset (3)

(1) Laboratoire de cytogénétique, GEN BIO, Clermont-Ferrand, France ; (2) Pôle femme-mère-enfant, CH de Belfort-Montbéliard, site André Boulloche, Montbéliard, France ; (3) Laboratoire de cytogénétique, groupe hospitalier Cochin-Saint-Vincent-de-Paul, AP-HP, Université Paris Descartes, Faculté de Médecine, Paris, France  
Contact : philippe.lochu@genbio.fr

Les translocations robertsoniennes représentent un groupe d'anomalies de structure chromosomique assez répandu ; elles sont sans conséquence phénotypique quand elles sont équilibrées. Leur transmission intergénérationnelle est stable. Elles sont également habituellement stables en culture cellulaire. Cependant, de rares cas de translocations robertsoniennes instables ont été décrits dans la littérature. Nous rapportons la découverte fortuite d'une translocation robertsonienne rob(13 15)(q10;q10) *de novo*, instable sans conséquence phénotypique. Un diagnostic prénatal sur liquide amniotique a été réalisé à la 19<sup>e</sup> semaine d'aménorrhée, chez une femme de 38 ans, sans antécédent personnel ou familial, G4P2, pour âge maternel et risque biologique à 1/130. Le caryotype fœtal, réalisé sur culture *in situ* d'amniocytes selon les techniques standards (bandes G), a révélé la coexistence au sein des colonies cellulaires de cellules ayant un caryotype variable. La majorité des cellules d'une même colonie (en moyenne 74 %) montrait une translocation robertsonienne t(13;15)(q10;q10), mais on observait aussi des cellules à caryotype normal, des cellules avec une trisomie 13, des cellules avec une trisomie 15 ou une monosomie 15, des chromosomes 13 ou 15 sans bras courts. Cette grande hétérogénéité de caryogrammes a été observée dans toutes les colonies obtenues. Nous avons démontré en FISH avec des sondes centromériques et la sonde du locus SNRPN que pour cette translocation instable, la minorité des cellules à caryotype variable est la conséquence d'une fission centromérique de la translocation d'origine. Cette translocation est *de novo* (caryotypes parentaux normaux). L'échographie morphologique fœtale n'ayant pas décelé d'anomalie, et les données de la littérature étant rassurantes (Perry *et al.*, 2005), la grossesse a été poursuivie. La patiente a accouché à terme et a donné naissance à une petite fille eumorphique et bien portante.

**Mots-clés :** translocation robertsonienne, instabilité chromosomique, fission chromosomique.

**■P619. MOSAÏQUE DE TRISOMIE 22 CONFINÉE AU PLACENTA AVEC ÉCHOGRAPHIE ANTENATALE NORMALE, PAR CORRECTION DE TRISOMIE AVEC ISODISOMIE UNIPARENTALE MATERNELLE CHEZ UN NOUVEAU NÉ EUTROPHIQUE**

E. Ginglinger (1), E. Montoya (2), C. Cordier (1), P. Houpiez (1), Réseau clinicobiologique régional, E. Jeandidier (1)

(1) Service de Génétique, CH Mulhouse, France ; (2) Service de Gynécologie, CH Mulhouse, France  
Contact : ginglingere@ch-mulhouse.fr

Une biopsie du trophoblaste est réalisée à 11 semaines d'aménorrhée pour « âge maternel » chez une patiente troisième geste, deuxième pare alors âgée de 42 ans. L'échographie du premier trimestre est strictement normale. À l'examen direct, relève une trisomie 22 homogène sur le trophoblaste. L'analyse cytogénétique de la culture retrouve la trisomie 22 mais en mosaïque (mos46,XX[15]/47,XX,+22[5]). Devant la stricte normalité de l'examen échographique à 15 semaines d'aménorrhées, et après consultations multiples avec le couple, la poursuite des analyses est réalisée sur de nouveaux prélèvements tissulaires, liquide amniotique et sang fœtal. Les résultats cytogénétiques sur ces échantillons sont normaux, le caryotype est 46, XX. L'analyse en biologie moléculaire démontre une isodisomie uniparentale d'origine maternelle témoignant à la fois de la réduction de la trisomie 22 en cours de grossesse et de l'origine méiotique maternel de l'erreur. Ce chromosome 22 n'est pas rapporté dans la littérature comme étant soumis à empreinte parentale, argument favorable venant compléter le conseil génétique plutôt rassurant, sous réserve de pathologie autosomique récessive. L'enfant née eutrophique, à terme, avec un caryotype

post-natal réalisé dans un autre laboratoire 46,XX. Les mosaïques placentaires avec discordance examen direct et indirecte sont rares, mais imposent une grande rigueur dans le rendu des résultats et surtout dans le conseil génétique. La réduction de trisomie à l'origine de disomie est souvent incriminée mais rarement mise en évidence ; ce mécanisme chromosomique a pu être démontré dans notre cas clinique.

**Mots-clés :** disomie uniparentale, trisomie 22 en mosaïque, pronostic et conseil génétique antenatal.

**■P620. DIAGNOSTIC PRÉ IMPLANTATOIRE POUR RÉARRANGEMENTS CHROMOSOMIQUES COMPLEXES**

P. Gosset (1), M. Fradin (1), C. Retter (1), M. Schillinger (1), M. Minz (2), F. Vialard (3), S. Viville (1)

(1) Laboratoire de Biologie de la Reproduction, Diagnostic Pré Implantatoire, SIHCUS-CMCO, Schiltigheim, France ; (2) Centre de Cytogénétique – Diagnostic Pré Natal, Laboratoire Clément, Le Blanc-Mesnil, France ; (3) Laboratoire de Biologie de la Reproduction et Cytogénétique, CHI Poissy Saint Germain, Poissy, France  
Contact : philippe.gosset@chru-strasbourg.fr

Les anomalies chromosomiques sont relativement communes puisqu'un individu sur 1 000 environ porte une translocation Robertsonienne, 1/1 000 une translocation réciproque, 1/10 000 une inversion. La probabilité que chaque membre d'un couple porte une anomalie chromosomique est donc d'environ 4,4 par million soit environ 50 couples en âge de procréer pour la France. Le Diagnostic Pré Implantatoire (DPI) permet aux couples susceptibles de transmettre une anomalie génétique ou chromosomique d'éviter la naissance d'enfants gravement atteints. La technique d'hybridation *in situ* fluorescente (FISH), sur cellule embryonnaire, est fréquemment utilisée pour le DPI des anomalies chromosomiques simples. Dans le cas des anomalies chromosomiques complexes (CCR), le DPI est plus difficile car le nombre d'embryons « sains » diminue et la difficulté technique augmente. Nous présentons ici deux demandes de DPI : – Couple 1 : 45,XY,der(14;21)(q10;q10) et 46,XX,inv(10)(p13q11.2) – Couple 2 : 45,XY,der(15;21)(q10;q10) et 46,XX,t(1;9)(q25;q34.1) La proportion d'embryons au caryotype équilibré a été évaluée et jugée suffisante pour proposer le DPI au deux couples. La technique de FISH sur cellule unique a été adaptée par utilisation simultanée de 5 sondes, avec lecture en deux temps, qui permet le diagnostic dans tous les cas de figure, dans un délai court compatible avec une bonne survie des embryons. 3 cycles de DPI ont eu lieu aboutissant à une naissance pour un couple, une fausse-couche et un échec d'implantation pour l'autre. Il semble tout à fait possible de proposer le Diagnostic Pré Implantatoire aux couples porteurs d'anomalies chromosomiques complexes, à condition que la proportion attendue d'embryons sains soit suffisante et qu'un nombre satisfaisant d'ovocytes puisse être obtenu pour la fécondation *in vitro*.

**Mots-clés :** DPI, translocations, CCR.

**■P621. DIAGNOSTIC PRÉ-IMPLANTATOIRE DE TROIS MALADIES NEUROMUSCULAIRES : EXPÉRIENCE DU CENTRE DE MONTPELLIER**

A. Girardet (1), C. Fernandez (1), C. Coubes (2), T. Anahory (3), S. Hamamah (3), L. Reyftman (4), M. Claustres (1)

(1) Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHU de Montpellier et INSERM U827, France ; (2) Service de Génétique Médicale, CHU de Montpellier, France ; (3) Laboratoire de Biologie de la Reproduction, CHU de Montpellier, France ; (4) Service de Gynécologie Obstétrique, CHU de Montpellier, France  
Contact : anne.girardet@inserm.fr

Le diagnostic pré-implantatoire (DPI), autorisé en France depuis 1999, permet à des couples susceptibles de transmettre une maladie génétique d'une particulière gravité à leur descendance, d'avoir des enfants indemnes de cette maladie. Ce diagnostic est réalisé sur 1 à 2 blastomères prélevé(s) sur des embryons de 3 jours, conçus par des techniques de fécondation *in vitro*. En France, seuls trois centres sont à ce jour autorisés à pratiquer le DPI (Paris, Strasbourg et Montpellier). Parmi les nombreuses maladies neuromusculaires, 3 font l'objet de demandes fréquentes de DPI : l'amyotrophie spinale (SMA), la dystrophie musculaire de Duchenne (DMD) et la dystrophie myotonique de Steinert (DM1). Cette étude rapporte l'expérience de Montpellier dans le DPI de ces 3 maladies. Depuis le début de notre activité en 2003, le nombre de dossiers présentés au conseil pluridisciplinaire de DPI est de 41 (SMA), 27 (DMD) et 61 (DM1). Ces dossiers représentent 29,7 % de la totalité des demandes de DPI au CHU de Montpellier. Environ 35 % des couples n'ont pas donné suite à leur demande initiale (couples perdus de vue, grossesse spontanée...). Les prélèvements sanguins nécessaires aux analyses génétiques pré-DPI ont été reçus pour

29 (SMA), 18 (DMD) et 36 familles (DM1). Des protocoles de DPI performants ont été développés pour chacune de ces maladies, combinant l'analyse directe de la mutation causale à l'étude de plusieurs marqueurs microsatellites permettant de réaliser un diagnostic génétique indirect, de vérifier l'absence de contamination, et de déterminer la ploïdie des embryons étudiés (pour le chromosome étudié). À ce jour, 94 cycles de DPI ont été débutés au CHU de Montpellier : 39 cycles pour la SMA (17 couples), 18 cycles pour la DMD (11 couples) et 37 cycles pour la DM1 (19 couples). Une analyse de cellules embryonnaires a pu être réalisée dans 60 cycles, suivie d'un transfert embryonnaire dans 56 cycles ayant abouti à la naissance de 8 (SMA), 3 (DMD) et 6 (DM1) enfants. Une grossesse est actuellement en cours (DMD), 1 grossesse extra-utérine a dû être interrompue (SMA) et 2 grossesses se sont soldées par des fausses couches spontanées précoces (DM1).

**Mots-clés :** DPI, maladies neuromusculaires.

#### ■P622. EXPÉRIENCE DU DIAGNOSTIC PRÉIMPLANTATOIRE À STRASBOURG : BILAN DE 10 ANNÉES D'ACTIVITÉ

C. Moutou (1), N. Gardes (1), J.-C. Nicod (1), N. Becker (1), M. Schillingier (1), C. Retter (1), M.P. Bailly (2), I. Galland (1), O. Pirello (2), C. Wittmer (1), P. Gosset (1), C. Rongières (2), S.E. Viville (1, 3)

(1) *Laboratoire de Biologie de la Reproduction – SIHCUS-CMCO, CHRU de Strasbourg, Schiltigheim, France ; (2) Service de Gynécologie Obstétrique- SIHCUS-CMCO, Schiltigheim, France ; (3) Institut de Génétique et de Biologie Moléculaire et Cellulaire, CNRS/INSERM/ULP, Illkirch, CU de Strasbourg, France*

Contact : [celine.moutou@chru-strasbourg.fr](mailto:celine.moutou@chru-strasbourg.fr)

L'activité de diagnostic préimplantatoire a débuté en France près de dix ans après l'annonce de la première grossesse obtenue en 1990 par l'équipe anglaise du Pr. Handyside. Le centre de DPI de Strasbourg fait partie des trois centres français agréés et a débuté son activité dès 1999. Nous présentons ici un bilan de notre expérience jusqu'en 2008. Depuis 1999, 780 couples nous ont été adressés pour une demande de DPI : 124 (16 %) pour des pathologies autosomiques récessives, 284 (36 %) pour des pathologies autosomiques dominantes, 133 (17 %) pour des maladies liées au chromosome X et 230 (29 %) pour des anomalies du caryotype (73 translocations Robertsoniennes et 143 translocations réciproques). Le nombre de demandes, en constante augmentation, est passé de 53 en 2000 à 149 en 2008. En 10 ans, nous avons développé plus de 160 protocoles pour 41 pathologies monogéniques et mis au point des diagnostics par cytogénétique moléculaire pour 107 couples. Concernant les pathologies monogéniques, en dehors des indications les plus fréquentes, nous nous sommes spécialisés dans les maladies neurodégénératives et en oncogénétique. Nous avons débuté 601 tentatives de DPI pour 280 couples. La stimulation ovarienne a été arrêtée pour 110 tentatives (18 %) et 491 ponctions oocytaires ont été réalisées, aboutissant à 353 transferts (72 % par ponction). Le nombre d'embryons transférés est passé de 2,1 en moyenne en 2000, à 1,5 en 2008, suite à la mise en place en 2006 d'une politique de transfert électif d'embryons, limitant ainsi le risque de grossesses multiples. Nous avons obtenu 116 débuts de grossesse, 89 grossesses cliniques pour 75 couples et 105 enfants sont nés à l'issue de 81 accouchements. Le taux de grossesse clinique moyen est de 25 % par transfert et de 27 % par couple avec au moins une tentative, chiffres comparables à ceux du consortium européen de DPI. Comme en FIV, les taux de réussite sont fortement corrélés à l'âge de la femme au moment de la tentative et passent de 27 % par transfert avant 37 ans à 10 % à partir de 38 ans. L'expertise du laboratoire et les évolutions des techniques ont permis de réduire considérablement les délais de mise au point, permettant de prendre en charge toutes les pathologies retenues par le centre pluridisciplinaire de diagnostic prénatal local. Ceci permet, en théorie, d'assurer une égalité d'accessibilité aux soins aux couples quelle que soit l'indication. Ce bilan montre que le DPI est une solution réaliste pour les couples à risque de transmettre une maladie génétique grave et que les chances de succès sont d'autant plus grandes que la démarche est précoce. Cependant, notre activité augmentant sans mise à disposition de nouveaux moyens, nos délais se sont considérablement accrus remettant en cause la légitimité de la pratique du DPI.

**Mots-clés :** diagnostic préimplantatoire, DPI, bilan.

#### ■P623. DIAGNOSTIC PRÉ-IMPLANTATOIRE DE LA DYSTROPHIE MUSCULAIRE DE DUCHENNE

A. Girardet, C. Fernandez, D. Thorel, D. Méchin, S. Tuffery-Giraud, P. Khau Van Kien, M. Clausdres

*Laboratoire de Génétique Moléculaire, IURC, CHU de Montpellier et INSERM U827, Montpellier, France*

Contact : [anne.girardet@inserm.fr](mailto:anne.girardet@inserm.fr)

La dystrophie musculaire de Duchenne (DMD) est une maladie neuromusculaire de transmission récessive liée à l'X, touchant environ 1 garçon sur 3 500. La DMD est due principalement à des délétions du gène DMD localisé en Xp21.2 (~65 % des cas), mais aussi à des mutations ponctuelles (~30 %) et des duplications (~5 %). Le gène DMD est caractérisé par un taux élevé de recombinaison intragénique (~10-12 %) et par la présence de deux points chauds délétionnels au niveau des exons 2-20 et 43-55. En raison de sa fréquence élevée et de sa gravité, la DMD constitue une demande fréquente de diagnostic pré-implantatoire (DPI) lorsque les femmes sont conductrices. Pour répondre à cette demande, nous développons depuis près de 7 ans, des protocoles de PCR à l'échelle unicellulaire permettant d'analyser différentes séquences du gène DMD, afin d'identifier et de transférer in utero non seulement les embryons féminins mais également les embryons masculins non atteints. Nous avons récemment établi un protocole multiplex très performant permettant d'étudier simultanément 7 exons du gène DMD (4, 9, 21, 44, 45, 48 et 51), 4 marqueurs microsatellites intragéniques (5'-5n4, 5'-7n4, DXS1236 et DXS1214) ainsi que le gène de l'amélogénine (diagnostic de sexe). D'après la base de données de mutations UMD-DMD France (Tuffery-Giraud *et al.*, 2009), ce dernier devrait pouvoir être appliqué à plus de 84 % des couples demandeurs d'un DPI, chez lesquels la conjointe est hétérozygote pour une délétion dans le gène DMD (car les différents exons étudiés ont été choisis dans les points chauds de délétion). L'étude combinée des marqueurs microsatellites permet de détecter la présence éventuelle de contaminations par de l'ADN exogène (source d'erreur en DPI), de réaliser un diagnostic génétique indirect, et, selon les cas, de réaliser un diagnostic direct de la délétion (LOH). Depuis 2003, 18 cycles de DPI-DMD ont été débutés chez 11 couples dans le centre de DPI de Montpellier. Cinq cycles ont été annulés en cours de stimulation ovarienne, et un diagnostic génétique sur 1 à 2 cellules embryonnaires a été réalisé dans 13 cycles. Trois grossesses ont abouti à la naissance de 3 enfants en bonne santé (2 garçons et une fille), et une grossesse est actuellement en cours.

**Mots-clés :** diagnostic pré-implantatoire, DMD.

#### ■P624. ÉTUDE DU PREMIER GLOBULE POLAIRE DANS LE DIAGNOSTIC PRÉIMPLANTATOIRE DES MUTATIONS DE L'ADN MITOCHONDRIAL

N. Gigarel (1), L. Hesters (2), S. Monnot (1), P. Burlet (1), V. Kerbrat (3), G. Tachdjian (2), F. Lamazou (3), R. Fanchin (3), J.P. Bonnefont (1), A. Munnich (1), R. Frydman (3), N. Frydman (2), J. Steffann (1)

(1) *Service de génétique médicale, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France ; (2) Laboratoire de biologie de la reproduction, Hôpital Antoine-Béclère, Clamart, France ; (3) Service de gynécologie obstétrique, Hôpital Antoine-Béclère, Clamart, France*

Contact : [nadine.gigarel@nck.aphp.fr](mailto:nadine.gigarel@nck.aphp.fr)

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). Ces pratiques qui reposent sur la quantification du taux d'hétéroplasmie dans un tissu fœtal (DPN) ou un blastomère (DPI), sont fondées sur des études postnatales ayant montré une corrélation entre ce taux et le risque de développer des symptômes sévères. Cependant, la crainte d'une possible variation des taux d'ADNmt mutant dans les différents tissus/cellules et aux différents termes de la grossesse a freiné le développement des approches anténatales. Le diagnostic préconceptionnel (PCD), qui repose sur l'analyse du premier globule polaire (GP 1), est, sur un plan éthique, préférable au diagnostic préimplantatoire. La possibilité de recourir au PCD pour les mutations de l'ADNmt suppose que le taux d'hétéroplasmie mesuré sur le GP reflète celui de l'ovocyte et/ou de l'embryon total. Afin de tester cette éventualité, nous avons analysé 48 globules polaires et leur embryon/ovocyte correspondant, pour 3 patientes à risque de transmettre un syndrome i) MELAS par mutation m.3243A>G du gène tRNA<sup>Leu</sup> (n = 27), ii) MERRF par mutation m.8344A>G du gène tRNA<sup>Lys</sup> (n = 15) et iii) de Leigh par mutation m.9185T>G du gène de l'ATPase6 (n = 6). Les résultats montrent que i) l'absence de mutation dans le GP 1 (n = 5) était corrélée à l'absence de mutation dans l'ovocyte ou l'embryon total, ii) lorsque le GP 1 était hétéroplasmique (n = 43), la corrélation entre le taux d'hétéroplasmie mesuré sur le GP 1 et son embryon/ovocyte était variable. Globalement, le taux d'hétéroplasmie du GP 1 était supérieur à celui de l'ovocyte/embryon correspondant, mais la différence entre les deux pouvait varier de -34 à +34 %. En fixant le taux seuil d'hétéroplasmie en deçà duquel les embryons seraient « transférables » à 30 %, l'étude des seuls GP 1 aurait amené au transfert de 2 embryons porteurs de taux d'hétéroplasmie supérieur à 30 % et à ne pas transférer 5 embryons portant moins



de 30 % de mutation. Ces différences, qui vont à l'encontre de ce qui a été observé chez l'animal, soulignent la nécessité d'accroître les données concernant la ségrégation des mutations de l'ADNmt chez l'humain. Elles excluent néanmoins la possibilité de recourir au PCD pour les mutations de l'ADN mitochondrial, sauf lorsque l'objectif est le transfert des seuls embryons indemnes de mutation.

**Mots-clés :** globule polaire, DPI, mitochondrie.

#### ■P625. DIAGNOSTIC PRÉNATAL OU PRÉIMPLANTATOIRE : LAISSONS UNE CHANCE À LA NATURE...

A. Driben (1), A. Munnich (2), J. Steffann (2)  
(1) CSE UMR8035 Paris1, France ; (2) INSERM U781 Paris V, France  
Contact : julie.steffann@nck.aphp.fr

Les couples qui ont subi une interruption médicale de grossesse à la suite d'un diagnostic prénatal (DPN), ou lors d'un dépistage génétique positif, expriment souvent une urgence à "trouver refuge" dans le diagnostic préimplantatoire (DPI). Cependant, beaucoup de couples qui font une demande de DPI et arrivent à la première consultation d'admission après plusieurs longs mois d'attente, ne continueront pas dans cette voie. Le motif, fréquemment invoqué est la « survenue » d'une grossesse spontanée. Cette situation nous a amenés à penser, que ces couples n'avaient pas eu suffisamment d'information, ni d'espace de réflexion, avant d'entreprendre cette démarche, et que la consultation de DPI, du fait de sa pluridisciplinarité, rendait difficile l'établissement d'une relation singulière médecin-patient nécessaire à cette réflexion. Ceci nous a conduit à créer un espace de consultation différent de celui du DPN et DPI, ouvert aux patients qui le souhaitent, dont le but est de donner une information détaillée sur cette méthode de diagnostic embryonnaire, et offrir ainsi un temps de réflexion préalable à tout engagement, dans une voie ou dans une autre. Cette consultation, où nous avons reçu 40 couples durant une demi-année, est assurée par 2 praticiens (un généticien et un psychanalyste) qui ont une connaissance pratique du DPN et du DPI. Nous avons analysé la dynamique et les effets de cette consultation en tenant compte i)des antécédents reproductifs des patients, ii)de l'idée qu'ils se font de cette méthode et donc de ce qu'ils en attendent, iii)de la façon dont ils reçoivent et réagissent à l'information délivrée, et iiiii)des codes du langage médical utilisé pour expliquer le DPI, ainsi que ses variantes selon les situations. Nous avons pu observer que le fait même d'avoir accès à cette consultation implique pour ces couples l'espoir de trouver une autre porte de sortie à ce que souvent ils vivent comme une fatalité incontournable. Ils ont besoin de s'assurer que cette porte leur est accessible même si cela ne signifie pas pour autant qu'ils aient clairement l'intention de rentrer dans cette nouvelle voie. L'impact, souvent considérable, produit par les explications détaillées du DPI, en commençant par la procréation « artificielle », révèle chez certains consultants combien l'idée qu'ils se sont forgés de cette méthode est éloignée de la réalité. La possibilité qui leur est offerte par le généticien de les inscrire auprès de l'équipe de DPI, en disposant de la liberté de s'y rendre – ou non – dans un délai d'un an, est un acte d'une valeur symbolique considérable. Elle permet à ces couples d'envisager une grossesse « naturelle », selon l'expression récurrente « nous voudrions laisser une chance à la nature ». L'inscription en DPI ouvrirait ainsi la possibilité de fabriquer de la vie si jamais il ne leur était pas possible de la créer naturellement.

**Mots-clés :** diagnostic prénatal, diagnostic préimplantatoire, conseil génétique.

#### ■P626. PRISE EN CHARGE DES DEMANDES DE DPN/DPI POUR SYNDROME DE MARFAN

V. Cusin (1), F. Mathoret-Philibert (1), S. Funtowicz (1), N. Hanna (2), Ph. Khau Van Kien (3), A. Girardet (3), C. Moutou (4), S. Viville (4), L. Gouya (1), B. Grandchamps (1), G. Jondeau (1), M. Claustres (3), C. Boileau (2)  
(1) Centre de Référence National Syndrome de Marfan, GH Bichât-Claude Bernard, Paris, France ; (2) Laboratoire de Génétique, Hôpital Ambroise Paré, Boulogne-Billancourt, France ; (3) Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHU de Montpellier, France ; (4) HUS Laboratoire de Biologie de la reproduction, CHRU de Strasbourg, France  
Contact : veronica.cusin@wanadoo.fr

Le diagnostic prénatal des affections à début tardif est un sujet controversé. Cette communication se propose d'analyser les demandes et la prise en charge psychologique des couples dont un membre est atteint de Syndrome de Marfan. Cette pathologie est un modèle de variabilité de pénétrance et surtout d'expressivité : un degré très différent d'atteinte est observé parmi les individus au sein d'une même famille, il est donc impossible de prévoir le phénotype sur la base de la simple connaissance de la mutation du gène. La grande hétérogénéité phénotypique rend le conseil génétique pour ces

couples extrêmement complexe. Plusieurs gènes sont en cause. Parmi eux, FBN1 montre une hétérogénéité phénotypique allant de formes classiques de Syndrome de Marfan à des formes isolées d'ectopie cristallinienne et d'anévrismes de l'aorte thoracique en passant par des formes modérées de MASS. Les progrès dans la prévention et la prise en charge des complications cardiovasculaires ont amélioré l'espérance de vie de ces patients qui est maintenant comparable à celle de la population générale. Cependant, la qualité de vie de ces patients a-t-elle été améliorée ? Il existe peu de données dans la littérature sur ce sujet. Un questionnaire de qualité de vie, distribué aux patients suivis au Centre de Référence National afin d'évaluer la douleur physique et morale ainsi que les difficultés de la vie quotidienne, met en évidence des conflits importants concernant l'acceptation de la maladie. La demande de diagnostic prénatal ne doit donc pas être sous-estimée ou méprisée. Cette demande existe depuis la généralisation du test moléculaire et elle était probablement préexistante. De plus, elle semble s'accroître au fil des années comme le démontre la progression du nombre d'analyses de DPN et DPI. L'apparition et la vulgarisation dans les médias du DPI renforce le sentiment de légitimité et d'accessibilité de la demande. Cependant, il est actuellement impossible de quantifier le nombre de couples ayant recours au don de gamètes car il s'agit généralement de couples dont le diagnostic moléculaire a échoué. La demande de renseignements est presque systématique mais la concrétisation se fait rare. Nous avons pu observer que la perception et la prise de risque sont bien différentes selon qu'il s'agisse d'un homme, d'une femme, enceinte ou non, ou encore d'un patient sain ou atteint. En effet, les patientes atteintes enceintes ne souhaitent généralement pas pratiquer l'un ou l'autre des diagnostics. En revanche, les patientes saines sont plus demandeuses et prêtes à poursuivre ce parcours. Pour les hommes, nous avons pu observer l'inverse ; les hommes sains sont beaucoup plus réticents tandis que les hommes atteints sont souvent volontaires. Il est donc essentiel que ces patients aient accès à l'ensemble des informations afin de leur permettre un choix éclairé.

**Mots-clés :** Marfan, DPN, qualité de vie.

#### ■P627. LE DIAGNOSTIC PRÉIMPLANTATOIRE DES MALADIES NEURODÉGÉNÉRATIVES

C. Moutou (1), N. Gardes (1), J.-C. Nicod (1), N. Becker (1), M.-P. Bailly (2), I. Galland (1), O. Pirello (2), C. Rongières (2), C. Wittemer (1), S. Viville (1, 3)  
(1) Laboratoire de Biologie de la Reproduction – SIHCUS-CMCO, CHRU de Strasbourg, Schiltigheim, France ; (2) Service de Gynécologie Obstétrique- SIHCUS-CMCO, Schiltigheim, France ; (3) Institut de Génétique et de Biologie Moléculaire et Cellulaire, CNRS/INSERM/ULP, Illkirch, CU de Strasbourg, France  
Contact : celine.moutou@chru-strasbourg.fr

S'il était initialement destiné aux pathologies sévères de l'enfant, le diagnostic préimplantatoire (DPI) a progressivement vu ses indications évoluer. En effet, la révision du 6 août 2004 de la loi de bioéthique autorise le DPI lorsque l'anomalie a été identifiée chez un ascendant immédiat dans le cas général de pathologie gravement invalidante, à révélation tardive et mettant prématurément en jeu le pronostic vital, confirmant la légitimité de prise en charge de maladies à révélation tardive et, de plus, autorisant le diagnostic préimplantatoire d'exclusion. Nous présentons ici l'expérience strasbourgeoise de DPI dans le cadre des maladies neurodégénératives. L'indication la plus courante concerne la maladie de Huntington (14 % des dossiers). Nous prenons également en charge les ataxies spinocérébelleuses (SCA) de types 2, 3 et 7 et avons développé deux DPI pour des maladies causées par des mutations du gène de la protéine prion (PRNP) : maladie de Gerstmann-Straussler-Scheinker et insomnie familiale fatale. Le DPI de ces pathologies est basé soit sur la recherche de la mutation pour les personnes connaissant leur statut, soit sur un diagnostic d'exclusion pour les personnes à risque ne souhaitant pas réaliser de test présymptomatique. Entre février 2000 et juillet 2009, 122 demandes de DPI pour maladie de Huntington ont été étudiées (61 avec mutation identifiée et 61 sans test présymptomatique), deux pour SCA2, une pour SCA3 et une pour SCA7. Un couple a été adressé pour indication de maladie de Gerstmann-Straussler-Scheinker et un autre pour DPI d'exclusion dans le cadre d'une insomnie familiale fatale. Cent trente sept stimulations ovariennes ont été réalisées chez 57 femmes (132 pour maladie de Huntington et 5 pour SCA2). Quatre cycles ont été réalisés pour obtenir une deuxième grossesse suite à un succès du DPI. Une ponction ovocytaire a été possible dans 113 cycles avec en moyenne 12,8 ovocytes ponctionnés et 10,2 injectés. Une biopsie embryonnaire a été réalisée dans 108 cycles avec en moyenne 5,2 embryons par biopsie. Au total, 210 embryons ont été diagnostiqués indemnes ou sans risque et 132 ont été transférés au cours de 79 transferts. Nous avons obtenu 29 grossesses initiées (bêta-HCG positif),



20 grossesses évolutives (18 pour maladie de Huntington et 2 pour SCA2) pour 16 couples, 23 enfants sont nés (18 accouchements) et 2 grossesses sont en cours. Le taux de grossesse clinique moyen est de 25 % par transfert et de 28 % par couple avec au moins une tentative. Lorsqu'il y a un transfert, chaque couple a une probabilité de 56 % d'initier une grossesse et de 41 % d'avoir une grossesse clinique évolutive. Les taux de succès sont similaires en cas de détection de mutation ou en cas de DPI d'exclusion. Ces résultats montrent que le DPI est une bonne option pour les couples à risque de transmettre une maladie neurodégénérative même lorsque la personne à risque ne souhaite pas avoir recours au test présymptomatique.

**Mots-clés :** diagnostic préimplantatoire DPI, maladies neurodégénératives, exclusion.

#### ■P628. LAISSONS UNE CHANCE À LA NATURE

A. Driben (1), A. Munnich (2), J. Steffann (2)

(1) CSE UMR8035 Paris1, France ; (2) INSERM U781 Paris V, France  
Contact : adriben@wanadoo.fr

Les couples qui ont subi une interruption médicale de grossesse à la suite d'un diagnostic prénatal (DPN), ou lors d'un dépistage génétique positif, expriment souvent une urgence à « trouver refuge » dans le diagnostic préimplantatoire (DPI). Cependant, beaucoup de couples qui font une demande de DPI et arrivent à la première consultation d'admission après plusieurs longs mois d'attente, ne continueront pas dans cette voie. Le motif est souvent la « survenue » d'une grossesse spontanée. Cette situation nous a amené à penser, que ces couples n'avaient pas eu suffisamment d'information, ni d'espace de réflexion, avant d'entreprendre cette démarche, et que la consultation de DPI, du fait de sa pluridisciplinarité, rendait difficile l'établissement d'une relation singulière médecin-patient nécessaire à cette réflexion. Ceci nous a conduit à créer un espace de consultation différent de celui du DPN et DPI, ouvert aux patients qui le souhaitent, dont le but est de donner une information détaillée sur cette méthode de diagnostic embryonnaire, et offrir ainsi un temps de réflexion préalable à tout engagement, dans une voie ou dans une autre. Cette consultation, où nous avons reçu 40 couples durant une demi-année, est assurée par 2 praticiens (un généticien et un psychanalyste) qui ont une connaissance pratique du DPN et du DPI. Nous avons analysé la dynamique et les effets de cette consultation en tenant compte i) des antécédents reproductifs des patients, ii) de l'idée qu'ils se font de cette méthode et donc de ce qu'ils en attendent, iii) de la façon dont ils reçoivent et réagissent à l'information délivrée, et iv) des codes du langage médical utilisé pour expliquer le DPI, ainsi que ses variantes selon les situations. Nous avons pu observer que le fait même d'avoir accès à cette consultation implique pour ces couples l'espoir de trouver une autre porte de sortie à ce que souvent ils vivent comme une fatalité incontournable. Ils ont besoin de s'assurer que cette porte leur est accessible même si cela ne signifie pas pour autant qu'ils aient clairement l'intention de rentrer dans cette nouvelle voie. L'impact, souvent considérable, produit par les explications détaillées du DPI, en commençant par la procréation « artificielle », révèle chez certains consultants combien l'idée qu'ils se sont forgés de cette méthode est éloignée de la réalité. La possibilité qui leur est offerte par le généticien de les inscrire auprès de l'équipe de DPI, en disposant de la liberté de s'y rendre – ou non – dans un délai d'un an, est un acte d'une valeur symbolique considérable. Elle permet à ces couples d'envisager une grossesse « naturelle », selon l'expression récurrente « nous voudrions laisser une chance à la nature ». L'inscription en DPI ouvrirait ainsi la possibilité de fabriquer de la vie si jamais il ne leur était pas possible de la créer naturellement.

**Mots-clés :** conseil génétique, DPI, psychologie.

#### ■P629. GROSSESSE ET MARFAN : QUELLES CONTRE-INDICATIONS POUR LE DPI ?

P. Khau Van Kien (1), A. Girardet (1, 2), C. Baudoin (1), N. Pallares-Ruiz (1), E. Sanchez (1), M. Claustres (1, 2, 3)

(1) Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHU Montpellier, Montpellier, France ; (2) Université Montpellier I, Montpellier, France ; (3) INSERM U827, Montpellier, France

Contact : p-khau\_van\_kien@chu-montpellier.fr

Depuis 2005, notre équipe propose un accès au diagnostic moléculaire de la maladie de Marfan pour de nombreux cliniciens correspondants. À ce jour les prélèvements de plus de 500 cas index/familles ont été analysés ou sont en cours d'analyse. Cet essor a suscité des demandes croissantes de diagnostic préimplantatoire, notamment chez des femmes elles-mêmes atteintes et chez qui la grossesse constitue un facteur aggravant de complications aortiques souvent sévères, pouvant entraîner le décès. Si de multiples exemples de ces complications en cours de grossesse ou dans le

post-partum immédiat sont rapportés dans la littérature, peu de données permettent d'évaluer objectivement le risque aortique avant grossesse. Ceci est particulièrement critique pour évaluer l'acceptabilité d'une demande de DPI où, la notion de santé maternelle semble aussi importante que celles de « particulière gravité et d'incurabilité ». Nous avons été confronté à 7 demandes de DPI au cours des 3 dernières années. 5 d'entre elles concernaient des femmes atteintes. Afin de disposer d'éléments objectifs concernant le risque aortique maternel, nous proposons de colliger l'ensemble des dossiers de patients réunissant les critères de Gand avant ou après analyse moléculaire (diagnostic de certitude) et d'analyser les pedigrees correspondant avec les renseignements disponibles afin de tenter de déterminer le nombre moyen d'enfants chez les femmes Marfan et de recenser les complications aortiques survenues en cours de grossesse dans cette population. Les résultats de cette étude, devraient contribuer à fournir un état des lieux sur les grossesses des femmes Marfan utile pour situer les risques en fonction de 4 situations : aorte à calibre normal, aorte dilatée, aorte opérée avec valve préservée ou remplacée par une bioprothèse (sans traitement anticoagulant) et aorte opérée avec remplacement de la valve aortique par une prothèse mécanique (traitement anticoagulant).

**Mots-clés :** Marfan, grossesse, DPI.

#### ■P630. IDENTIFICATION DE DEUX NOUVELLES MUTATIONS DU GÈNE FOXP3 ET DIAGNOSTIC PRÉNATAL D'IPEX

R. Harbuz (1, 2, 3), J. Lespinasse (4), S. Boulet (5), C. Francanet (6), I. Crevaux (4), P.S. Jouk (1, 2, 3), J. Lunardi (1, 2, 8), P.F. Ray (1, 2, 3)  
(1) UF de Biochimie et Génétique Moléculaire, CHU de Grenoble, France ; (2) Faculté de Médecine-Pharmacie, Université de Grenoble, France ; (3) Laboratoire TIMC-IMAG, UMR 5525, La Tronche, France ; (4) Génétique Chromosomique, CH de Chambéry, Chambéry, France ; (5) Gynécologie Obstétrique, CH de Chambéry, Chambéry, France ; (6) Génétique Médicale, CHU de Clermont-Ferrand, Clermont-Ferrand, France ; (7) UF de Biologie Moléculaire, CHU de Clermont-Ferrand, Clermont-Ferrand, France ; (8) Grenoble Institut des Neurosciences, INSERM U836, Grenoble, France

Contact : pray@chu-grenoble.fr

Le syndrome IPEX pour Immunodérégulation, Polyendocrinopathie, Entéropathie, lié au chromosome X est une pathologie rare auto-immune conduisant généralement au décès des garçons atteints dans la petite enfance. Une mutation du gène FOXP3 est identifiée dans environ 60 % des cas donnant lieu à un dysfonctionnement des lymphocytes T régulateurs impliqués dans l'homéostasie immunitaire. Les cas restants demeurent inexpliqués témoignant d'une probable hétérogénéité génétique pour cette pathologie. Nous présentons ici l'investigation moléculaire et la prise en charge prénatale de deux femmes enceintes suspectées d'être transmettrices d'IPEX. La patiente 1 a perdu deux frères, deux cousins et deux grands oncles d'une pathologie pouvant être IPEX. Elle a eu deux filles et, en l'absence de diagnostic, a eu recours à une interruption médicale de grossesse sur un fœtus masculin. Le diagnostic clinique a été porté au début de sa quatrième grossesse. La patiente 2 a perdu son premier garçon suite aux complications d'une maladie s'apparentant à IPEX. Une deuxième grossesse a été interrompue suite à la détection d'une anomalie chromosomique chez le fœtus. Le diagnostic clinique d'IPEX a été posé lors d'une consultation de génétique réalisée au début de sa 3<sup>e</sup> grossesse. Nous avons séquencé la totalité des séquences codantes et des séquences introniques flanquantes du gène FOXP3 de ces deux patientes. Chacune était porteuse d'un variant non décrit dans la littérature scientifique, localisé dans l'intron 7 (c.816+7 G>C pour la patiente 1 et c.816+4 A>G pour la patiente 2) suspectés d'engendrer l'épissage anormal de l'exon 7. Un transcrit raccourci, dépourvu d'exon 7 a été détecté par RT-PCR et séquençage réalisé à partir des ARN leucocytaires des deux patientes. Aucun de ces variants n'a été détecté sur 200 chromosomes témoins analysés. Les apparentés pour lesquels un prélèvement a pu être obtenu ont par la suite été génotypés. Nous avons pu conclure que les variants identifiés étaient bien pathologiques car : leur ségrégation dans les familles était concordante avec les phénotypes des individus testés, un transcrit tronqué dépourvu de l'exon 7 a été détecté chez les femmes transmettrices et ces variants n'ont pas été retrouvés dans la population générale. Un diagnostic de sexe fœtal non invasif réalisé à partir du sang maternel a pu être réalisé pour chaque patiente indiquant que le fœtus de la patiente 1 était masculin et celui de la patiente 2 féminin. Un diagnostic prénatal a donc été proposé à la patiente 1. L'analyse de l'ADN extrait de villosités chorionales a permis de démontrer que le fœtus n'avait pas hérité de la mutation c.816+7 G>C. Les deux bébés sont nés à terme, sont en bonne santé, et ne présentent actuellement aucun signe d'IPEX.

**Mots-clés :** IPEX, FOXP3, maladie auto-immune.



### ■P631. DIAGNOSTIC PRÉNATAL MOLÉCULAIRE NON INVASIF DE L'ACHONDROPLASIE PAR ANALYSE DE L'ADN FŒTAL CIRCULANT

S. Pedronno (1), A. Benachi (2), M. Kohler (3), H. Stora de Novion (4), B. Le Fiblec (5), M. Voulgaropoulos (6), R. Favre (3), J.M. Costa (1)

(1) *Laboratoire CERBA, Cergy-Pontoise, France*; (2) *Service de Gynécologie-Obstétrique, Hôpital Bécèlère, Clamart, France*; (3) *CMCO-SIHCUS, Schiltigheim, France*; (4) *Laboratoire Genazur, Nice, France*; (5) *Service de Gynécologie-Obstétrique, Centre Hospitalier, Saint-Brieuc, France*; (6) *Service de Gynécologie-Obstétrique, Centre Hospitalier, Gonesse, France*

Contact : [jmcosta@lab-cerba.com](mailto:jmcosta@lab-cerba.com)

L'achondroplasie est la chondrodysplasie la plus fréquente qui touche environ 1 enfant sur 15 000. Il s'agit d'une maladie dont la transmission est de type autosomique dominante et qui résulte dans la majorité des cas d'une mutation *de novo* (la mutation G380R du gène FGFR3 dans plus de 99 % des cas). En période prénatale, le diagnostic d'achondroplasie est évoqué généralement au troisième trimestre de la grossesse devant des signes d'appels échographiques évocateurs (principalement association de fémurs courts et d'un diamètre bipariétal normal ou augmenté). Ces signes conduisent en principe à des explorations complémentaires, soit non invasives (scanner 3D dont l'objectif est de conforter le diagnostic), soit invasives (amniocentèse afin d'apporter la preuve formelle de ce diagnostic par analyse du gène FGFR3). De l'ADN fœtal circulant dans le sang des femmes enceintes, il devrait être envisageable de mettre en évidence l'anomalie moléculaire quasi-unique du gène FGFR3 à des fins de confirmation biologique du diagnostic évoqué échographiquement évitant ainsi le recours à un geste invasif. L'analyse se heurte à deux difficultés majeures : modification génétique mineure (mutation ponctuelle) par rapport au génome maternel et faible proportion de l'allèle fœtal au sein d'un génome maternel majoritaire. Nous avons développé une nouvelle procédure de détection des mutations c.1138G>A et c.1138G>C du gène FGFR3 dans le sang maternel par PCR en temps réel. La méthode a été appliquée avec succès rétrospectivement chez 5 patientes chez lesquelles le diagnostic d'achondroplasie a été évoqué respectivement à 29, 29, 27, 36 et 28 semaines d'aménorrhée. La longueur fémorale était inférieure au 5<sup>e</sup> percentile pour chacune d'entre elles et le diamètre bipariétal au 72<sup>e</sup>, 90<sup>e</sup>, 90<sup>e</sup>, 97<sup>e</sup> et 70<sup>e</sup> percentile respectivement. Toutes les patientes ont bénéficié d'une amniocentèse et la recherche de la mutation G380R s'est avérée positive pour chacun des fœtus à partir des cellules amniotiques. L'analyse du plasma maternel a permis de mettre en évidence dans tous les cas la mutation c.1138G>A. Une étude multicentrique prospective est actuellement en cours afin de valider à grande échelle de cette nouvelle approche non invasive de diagnostic moléculaire de l'achondroplasie fœtale.

**Mots-clés** : achondroplasie, ADN fœtal circulant.

### ■P632. ÉTUDE ÉPIDÉMIOLOGIQUE ET GÉNÉTIQUE ET ÉVALUATION DU DIAGNOSTIC PRÉNATAL DE LA TRISOMIE 21 EN ALSACE : ANALYSE DE 274 CAS ENTRE 1995 ET 2004

B. Doray (1, 2), D. Badila-Timbolschi (2), B. Dott (2), C. Cordier (1), M. Fradin (2), Y. Alembik (2), E. Le Boette (2), R. Favre (3), I. Nisand (4), B. Viville (4), D. Astruc (5), B. Gasser (6), V. Lindner (6), E. Flori (2), F. Girard-Lemaire (2), H. Dollfus (1, 2)

(1) *Laboratoire de Génétique Médicale, EA INSERM 3949, Faculté de Médecine, Université de Strasbourg, France*; (2) *Fédération de Génétique, Hôpitaux Universitaires, Strasbourg, France*; (3) *Service de Gynécologie-Obstétrique, CMCO-SIHCUS, Schiltigheim, France*; (4) *Département de Gynécologie-Obstétrique, Hôpitaux Universitaires, Strasbourg, France*; (5) *Service de Pédiatrie, Hôpitaux Universitaires, Strasbourg, France*; (6) *Service d'Anatomie Pathologique, Hôpital du Moenchberg, Mulhouse, France*

Contact : [berenice.doray@neuf.fr](mailto:berenice.doray@neuf.fr)

Cette étude a pour objectifs d'analyser les données cliniques et épidémiologiques de la trisomie 21 dans le département du Bas-Rhin (région Alsace, France) et d'évaluer l'efficacité et l'impact du diagnostic prénatal. Les données sont issues du Registre de Malformations Congénitales d'Alsace sur une période de 10 ans (1995-2004). Sont inclus 274 dossiers de Trisomie 21 chez les enfants nés-vivants inclus jusqu'à l'âge de 24 mois, les fœtus ayant subi une interruption médicale de grossesse (IMG) quel que soit le terme et les morts-nés dont le terme est supérieur à 22 SA. Les cas se répartissent en 82 nouveaux-nés (30 %), 189 IMG (69 %) et 3 MFUI ou morts-nés (1 %). La prévalence globale est de 2,15 pour 1 000 naissances (1 enfant sur 466) tandis que la prévalence à la naissance n'est que de 0,61 pour 1 000 (1 enfant né vivant sur 1639). Sur le plan cytogénétique, la trisomie 21 est libre et homogène dans la grande majorité des cas

(265/274 : 97 %), en mosaïque dans 2 cas (0,5 %) et résulte d'une translocation dans 7 cas (2,5 %). Au sein de notre population dont l'âge maternel reste stable, le diagnostic cytogénétique de la trisomie 21 est prénatal dans 73 %, postnatal dans 27 %. Le type de prélèvement consiste en une amniocentèse dans 52 % des cas, un prélèvement de trophoblaste dans 44 % des cas, exceptionnellement un prélèvement de sang fœtal. La période 1995-2004 a connu le développement et la diffusion de procédures de dépistage, marqueurs sériques maternels du deuxième trimestre et mesure de la nuque fœtale. Les signes d'appel les plus fréquents du diagnostic prénatal cytogénétique sont les marqueurs sériques (18,5 %), suivis de très près par la nuque fœtale (17,6 %) et l'âge maternel (17,6 %) puis par l'association âge maternel/nuque fœtale (12,5 %) et les malformations fœtales (11,1 %). L'on constate une augmentation du diagnostic prénatal au cours de la période considérée chez les femmes situées dans les deux tranches d'âge 20-28 ans et 29-37 ans ce qui peut rendre compte de la diffusion élargie du dépistage. Au cours de la même période, la proportion de diagnostic prénatal tend à diminuer chez les femmes âgées de plus de 38 ans, pour lesquelles des résultats normaux de mesure de nuque ou de marqueurs sériques viennent moduler le seul risque lié à l'âge. Il s'y associe une tendance à la diminution de l'âge gestationnel aux premiers signes d'appel et au prélèvement fœtal tandis que le terme de l'interruption médicale de grossesse reste stable entre 18 et 19 SA. Parmi les 216 femmes présentant des signes d'appel en cours de grossesse, 200 (93 %) font le choix de réaliser un prélèvement et 189 parmi ces 200 patientes (95 %) décident d'interrompre leur grossesse. Témoins de la politique prénatale de dépistage chromosomique entre 1995 et 2004, ces résultats devront être réévalués avec l'évolution récente du dépistage et l'introduction des marqueurs sériques du premier trimestre.

**Mots-clés** : Trisomie 21, diagnostic prénatal, registre.

### ■P633. DÉTECTION D'UN INTESTIN HYPERÉCHOGÈNE FŒTAL ET MUCOVISCIDOSE : RÉSULTATS PRÉLIMINAIRES D'UNE ÉTUDE DANS LE GRAND-OUEST DE LA FRANCE (BRETAGNE, PAYS-DE-LOIRE, POITOU-CHARENTES)

I. Duguépéroux (1, 2), V. Scotet (1), M.P. Audrézet (1, 2), M. Blayau (3), P. Boisseau (4), S. Schmitt (4), A. Kitzis (5), C. Férec (1, 2)

(1) *Inserm U613, Brest, France*; (2) *Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHU de Brest, France*; (3) *Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHU de Rennes, France*; (4) *Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHU de Nantes, France*; (5) *Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHU de Poitiers, France*

Contact : [ingrid.dugueperoux@chu-brest.fr](mailto:ingrid.dugueperoux@chu-brest.fr)

Objectif : La mucoviscidose est l'une des maladies génétiques autosomales récessives les plus fréquentes dans les populations caucasiennes (incidence : 1/3 500). Cette pathologie particulièrement sévère et incurable peut se manifester in utero par la présence d'un intestin hyperéchogène chez le fœtus et justifie, de ce fait, une proposition d'étude du gène CFTR responsable de la mucoviscidose. L'objectif de cette étude était de rapporter les premiers résultats de l'expérience de régions Bretagne, Pays-de-Loire et Poitou-Charentes dans ce domaine, pour la période 2002-2008. Méthode : Nous avons collecté, via les laboratoires de génétique de Brest, Rennes, Nantes et Poitiers, les études du gène CFTR, réalisées entre le 01/01/2002 et le 31/12/2008 chez les femmes domiciliées dans l'une des 3 régions et dont le fœtus présentait un intestin hyperéchogène. Nous avons pu rapporter la proportion de fœtus atteints, hétérozygotes ou sains, ainsi que les différents génotypes identifiés in utero. Résultats : À l'heure actuelle, nous avons recensé 291 femmes domiciliées dans l'une des 3 régions et qui ont fait l'objet d'une étude du gène CFTR, durant la période 2002-2008. L'analyse moléculaire a permis d'identifier 14 fœtus atteints de mucoviscidose (4,8 % – incidence : 1/20,5). Les proportions de fœtus atteints ne variaient pas significativement entre la région Bretagne (7/147 i.e. 4,7 % – incidence : 1/21) et les deux autres régions (7/144 i.e. 4,9 % – incidence : 1/20,6). Les génotypes de ces fœtus étaient tous associés à une forme de la maladie qualifiée de « sévère ». Plus de la moitié (8/14 – 57,1 %) étaient homozygotes pour la mutation majoritaire F508del. Chacun des autres génotypes n'étaient présents qu'une seule fois (F508del/Q1313X, F508del/937insT, F508del/4005+1G>A, F508del/Y122X, F508del/3121-1G>A, C491R/4005+1G>A). Dix des 14 grossesses ont fait l'objet d'une interruption médicale et 4 ont abouti à la naissance d'enfants atteints de mucoviscidose. Parallèlement, l'analyse du gène CFTR a permis d'identifier 10 fœtus hétérozygotes (3,4 % – incidence : 1/29). Les mutations identifiées étaient : F508del (n = 8), R347P (n = 1), S549N (n = 1). Discussion : Cette étude rapporte les premiers résultats d'un travail réalisé en rétrospectif (période 2002-2008) dans le Grand-Ouest de la France, en matière de diagnostic in utero de mucoviscidose suite à la détection d'un intestin hyperéchogène. En terme de perspectives, il serait pertinent de

réaliser une analyse à un niveau géographique plus fin (département) et de s'intéresser aux étiologies éventuellement identifiées chez les fœtus ayant présenté un intestin hyperéchogène, mais pour lesquels la mucoviscidose n'a pas été identifiée.

**Mots-clés :** mucoviscidose, intestin hyperéchogène.

**■P634. ÉTUDE ÉPIDÉMIOLOGIQUE ET ÉVALUATION DU DIAGNOSTIC PRÉNATAL DES DYSGONOSOMIES EN ALSACE ENTRE 1995 ET 2004**

B. Doray (1, 2), D. Badila-Timbolschi (2), B. Dott (2), C. Cordier (1), M. Fradin (2), Y. Alembik (2), E. Le Boette (2), R. Favre (3), I. Nisand (4), B. Viville (4), D. Astruc (5), B. Gasser (6), V. Lindner (6), E. Flori (2), F. Girard-Lemaire (2), H. Dollfus (1, 2)

(1) Laboratoire de Génétique Médicale, EA INSERM 3949, Faculté de Médecine, Université de Strasbourg, France ; (2) Fédération de Génétique, Strasbourg, France ; (3) Service de Gynécologie-Obstétrique, CMCO-SIHCUS, Schiltigheim, France ; (4) Département de Gynécologie-Obstétrique, Hôpitaux Universitaires, Strasbourg, France ; (5) Service de Pédiatrie, Hôpital de Haute-pierre, Strasbourg, France ; (6) Service d'Anatomie Pathologique, Hôpital du Moenchberg, Mulhouse, France  
Contact : berenice.doray@neuf.fr

Cette étude a pour objectifs d'analyser les données cliniques et épidémiologiques des dysgonosomies dans le département du Bas-Rhin (région Alsace, France) et d'évaluer l'efficacité et l'impact du diagnostic prénatal. Les données sont issues du Registre de Malformations Congénitales d'Alsace sur une période de 10 ans (1995-2004). Sont inclus 90 dossiers d'anomalies des chromosomes sexuels chez les enfants nés-vivants inclus jusqu'à l'âge de 24 mois, les fœtus ayant subi une interruption médicale de grossesse (IMG) et les morts-nés quels que soit le terme. Les anomalies les plus fréquentes sont la monosomie X (syndrome 45,X et formules apparentées) avec 51 cas, le syndrome de Klinefelter (47,XXY) avec 16 cas et le syndrome triploX (47,XXX) avec 14 cas. Plus rarement sont recensés 4 cas de mosaïque 45,X/46,XY avec phénotype masculin, 3 cas de syndrome double Y (47,XXY) et 2 syndromes 49,XXXXY. Concernant la monosomie X, le diagnostic est prénatal dans 48 cas sur 51 (94 %), réalisé majoritairement suite à la découverte échographique d'un hygroma collis. L'issue après diagnostic prénatal consiste en 8 enfants nés-vivants (17 %), 29 IMG (60 %) et 11 morts fœtales in utero (23 %). Pour les formes dont le pronostic est jugé défavorable à l'échographie avec survenue d'un phénotype Bonnevie-Ulrich et anomalies de la vitalité fœtale (34 cas), une MFIU survient dans 35 % et une IMG est décidée dans 65 %. Dans les 15 cas prénataux de pronostic favorable (absence de phénotype Bonnevie-Ulrich ou de malformation mettant en jeu le pronostic vital), l'enfant naît vivant dans 9 cas (60 %) et une IMG est décidée dans 6 cas (40 %). Le diagnostic du syndrome de Klinefelter est prénatal dans 16 cas sur 16 (100 %), de découverte toujours fortuite suite à un prélèvement réalisé pour âge maternel supérieur à 38 ans ou HT21 pathologique ; le diagnostic prénatal conduit à une interruption médicale de grossesse dans 10 cas sur 16 (62 %). En ce qui concerne le syndrome triploX, le diagnostic est prénatal dans 14 cas sur 14 (100 %), toujours fortuit suite à un prélèvement réalisé pour âge maternel ou HT21 pathologique ; l'issue est favorable avec un enfant né vivant dans 12 cas (86 %) ; une IMG est réalisée dans 2 cas (14 %). Cette étude rend compte de la répartition des différentes dysgonosomies diagnostiquées chez le fœtus et l'enfant de moins de deux ans. Elle permet d'opposer la monosomie X des autres dysgonosomies fréquentes, syndrome de Klinefelter et syndrome triploX, en terme de circonstance de diagnostic (anomalie échographique pour la monosomie X, découverte fortuite pour les syndromes Klinefelter et triplo X) et de pronostic foetal (risque élevé de MFIU dans la seule monosomie X). La proportion d'interruption médicale de grossesse est élevée dans la monosomie X et le syndrome de Klinefelter (autour de 60 %) tandis que la découverte d'un syndrome triploX aboutit dans 86 % à la poursuite de la grossesse et la naissance d'un enfant vivant.

**Mots-clés :** dysgonosomies, épidémiologie, diagnostic prénatal.

**■P635. DIAGNOSTIC PRÉNATAL POUR UNE SURDITÉ CONGÉNITALE DFNB1 : À PROPOS DES 2 PREMIÈRES DÉMANDÉS A BORDEAUX**

M.P. Reboul (1), I. Gavilan-Cellie (2), C. Zordan (1), G. Lancelot (1), E. Toussaint (1), R. Saura (1), M.A. Delrue (1), D. Lacombe (1, 3), B. Arveiler (1, 3), C. Goizet (1, 3)

(1) Service de Génétique Médicale, Hôpital Pellegrin, CHU de Bordeaux, France ; (2) Service d'ORL, Hôpital Pellegrin, CHU de Bordeaux, France ; (3) Laboratoire de Génétique Humaine, Université Victor Segalen-Bordeaux 2, France  
Contact : marie-pierre.reboul@chu-bordeaux.fr

La forme de surdité congénitale DFNB1 est une surdité de perception congénitale non progressive, dont la sévérité est très variable mais souvent profonde, avec des courbes audiométriques plates ou descendantes. La tomodynamométrie des rochers et les épreuves vestibulaires caloriques sont normales. Le mode de transmission est autosomique récessif. Les gènes GJB2 (connexine 26) et GJB6 (connexine 30) sont de petites tailles et donc accessibles à un diagnostic de routine. Par contre, la corrélation génotype/phénotype ne peut pas être parfaitement établie et il est donc difficile de prédire précisément le degré de surdité (léger à profond). La possibilité d'un diagnostic moléculaire, et donc de diagnostic prénatal, ne va pas sans soulever des problèmes éthiques. La demande de diagnostic prénatal (DPN) avec une éventuelle demande d'interruption médicale de grossesse (IMG) en présence de mutations des gènes GJB2 et/ou GJB6 s'est posée ces derniers mois à deux reprises dans notre service. Ces 2 demandes ont été discutées par le Centre Pluridisciplinaire de Diagnostic Prénatal et acceptées. 1<sup>re</sup> demande : Un couple ayant un enfant atteint d'une surdité moyenne avec un génotype comportant deux mutations faux sens du gène GJB2, [p.N206S]+[p.P87L]. p.P87L est un variant non décrit dans la littérature. Plusieurs arguments moléculaires, bioinformatiques épidémiologiques et électrophysiologiques sont en faveur d'un effet délétère de ce variant. La demande de DPN est motivée par le désir de se préparer à l'éventualité de la naissance d'un deuxième enfant sourd. 2<sup>e</sup> demande : Un couple avec un enfant sourd profond dont le génotype comporte la mutation stop p.E47X du gène GJB2 et la délétion emportant la connexine 30 del(GJB6-D1351830). Une IMG est souhaitée si le fœtus est atteint. Ces deux premières demandes de DPN dans le cadre d'une surdité non syndromique ont été faites dans un contexte et avec une motivation des parents différents. Elles sont à prendre en considération avec beaucoup de précaution.

**Mots-clés :** surdité, gènes GJB2 et GJB6, diagnostic prénatal.

**■P636. DÉCOUVERTE D'UNE MOSAÏQUE GERMINALE DU GÈNE HSNF5/INI1 LORS D'UN DIAGNOSTIC PRÉNATAL**

A. Combes (1, 2, 3), G. Pierron (4), A. Roque (5), S. Reynaud (4), M. Vincent (1), G. Palenzuela (6), C. Adamsbaum (7), O. Delattre (4), I. Couplier (1, 2)

(1) Service de Génétique Médicale, CHU Arnaud-de-Villeneuve, Montpellier, France ; (2) Unité d'Oncogénétique, CRCL Val D'Aurelle, Montpellier, France ; (3) AFCCG, Association Française des Conseillers en Génétique, Marseille, France ; (4) Unités de Génétique Somatique - Cytogénétique, Institut Curie, Paris, France ; (5) Cabinet de psychothérapie, Saint Jean de Védas, France ; (6) Service de Pédiatrie III, CHU Arnaud-de-Villeneuve, Montpellier, France ; (7) Service de Radiologie, APHP Saint Vincent de Paul, Paris, France  
Contact : i-couplier@chu-montpellier.fr

Les tumeurs rhabdoïdes (TR) sont des tumeurs malignes agressives de l'enfant jeune, atteignant préférentiellement le rein, le cerveau et les tissus mous. Près de 80 % des TR sont dues à l'inactivation biallélique, au niveau somatique, du gène hSNF5/INI1, dont 20 % sont liées à une mutation délétère germinale qui est le plus souvent *de novo*. Les mutations constitutionnelles du gène hSNF5/INI1 prédisposent aux tumeurs rhabdoïdes rénales et extra-rénales, aux carcinomes des plexus choroïdes, aux médulloblastomes et aux tumeurs PNET (Primitive NeuroEctodermal Tumour). Quelques cas familiaux ont été décrits où l'anomalie du gène hSNF5/INI1 se transmettait selon un mode autosomique dominant, mais elle peut également résulter d'une mosaïque germinale, comme c'est le cas dans notre observation. E. est le premier enfant d'un couple non consanguin. Une tumeur de la lame tectale a été découverte à l'âge de 4 mois et a été biopsiée du fait de son augmentation de volume. L'examen anatomopathologique était en faveur d'une tumeur de type EWING/PNET. Les examens immuno-histochimiques complémentaires ont mis en évidence une perte d'expression de INI1 au sein des cellules tumorales, ce qui a conduit au diagnostic de tumeur téroïde rhabdoïde atypique. L'analyse moléculaire constitutionnelle du gène a révélé la mutation R158X(C472T). E. est décédé à l'âge de 2 ans. L'analyse réalisée chez les parents n'a pas retrouvé la mutation d'E. À ce stade, il existait donc deux possibilités : une néo-mutation chez E. ou une mosaïque germinale chez l'un des deux parents. Devant un risque de récurrence lors de la seconde grossesse, un diagnostic prénatal est proposé. La mutation R158X(C472T) est retrouvée chez le fœtus. La maman choisit de poursuivre la grossesse. Une petite fille, V., est née à terme. À l'âge de 8 mois (mai 2009), V. n'avait pas développé de tumeur. Généralement, un diagnostic prénatal conduit à une interruption de grossesse. La grossesse étant poursuivie, nous nous sommes posées les questions suivantes : est-il pertinent de surveiller V. afin de détecter précocement l'apparition de tumeurs rhabdoïdes ? Si oui, par quels examens et à quelle fréquence ? Il a été décidé de réaliser pour V. un suivi mensuel



par échographie abdominale et IRM cérébrale. Une analyse constitutionnelle du gène hSNF5/INI1 est proposée à tout patient atteint d'une tumeur rhabdoïde avec perte d'expression au niveau tumoral de INI1. Les mutations délétères germinales de hSNF5/INI1 sont le plus souvent de novo ; cependant, le risque de mosaïque germinale ne peut être exclu. Lorsqu'un enfant est porteur d'une mutation de novo de hSNF5/INI1 il est proposé aux parents un DPN lors d'une grossesse ultérieure.

**Mots-clés :** tumeurs rhabdoïdes, mosaïque germinale, DPN.

**■P637. UNE INVESTIGATION GÉNÉTIQUE APPROFONDIE EST-ELLE REQUISE POUR TOUT SYNDROME DE TURNER DIAGNOSTIQUE EN PÉRIODE PRÉNATALE ?**

K. Krabchi (1), L. Guillette (1), M. Bronsard (1), M. Langlois (2), I. Mongrain (2), S. Malenfant (3), M. Philips (2), R. Drouin (1)

(1) Service de génétique médicale, Département de pédiatrie, CHUS Fleurimont, Faculté de Médecine et des Sciences de la Santé, Université de Sherbrooke, Sherbrooke, Québec, Canada ; (2) Centre de Pharmacogénomique, Institut de Cardiologie de Montréal, Université de Montréal, Montréal, Québec ; (3) Centre hospitalier régional de Trois-Rivières, Pavillon Sainte-Marie, Trois-Rivières, Québec, Canada

Contact : Kada.Krabchi@USherbrooke.ca

**Introduction :** Le syndrome de Turner (ST) se définit par l'absence complète ou partielle d'un chromosome X et l'absence totale du chromosome Y. Cas clinique : Il s'agit d'une grossesse dont la gestante âgée de 35 ans, a effectué un épistage prénatal qui a montré un risque élevé chiffré à 1/60. Au terme de 17 semaines et 6 jours, une analyse cytogénétique des amniocytes a mis en évidence une monosomie X homogène. Après réflexion, le couple a décidé de poursuivre la grossesse. Une échographie morphologique subséquente a montré la présence d'un fœtus de sexe masculin. Par conséquent, une analyse génétique fœtale plus poussée a été effectuée pour rechercher des marqueurs spécifiques au genre masculin. Méthode : En prénatal : Les analyses suivantes ont été réalisées à partir d'un échantillon de liquide amniotique : caryotype après marquage GTW, technique FISH à l'aide des sondes spécifiques RB1, D21S259, D21S341 et D21S342, et des sondes centromériques des chromosomes 18, X et Y. Une étude de l'ADN fœtal a été faite après purification à partir des amniocytes et amplification par PCR à l'aide d'amorces spécifiques du gène SRY. En per-partum : Les analyses suivantes ont été réalisées à partir d'un échantillon de sang du cordon ombilical : caryotype après marquage GTW, peintures chromosomiques du 11 (Vysis) et du Y (Metasystems), FISH à l'aide des sondes centromériques des chromosomes X et Y, ainsi que les sondes spécifiques ATM (11q22) et SRY, tests génétiques à l'aide des marqueurs microsatellites STS à la recherche de microdélétions du Y (AZFa, AZFb, AZFc). Des analyses par micropuces à ADN sur le patient sont venues compléter l'investigation. Résultats : Un nouveau-né de sexe masculin phénotypiquement normal est né à terme. Mise en évidence d'une translocation 45,X,der(11)(Y;11)(pter->p11.2::q25->pter). Le bras long du chromosome 11 n'a subi aucune perte ou gain significatif. L'analyse par micropuces a révélé qu'un fragment de 5 Mbp de l'extrémité distale du Y a été transloqué à l'extrémité du bras long du 11. Discussion : Le diagnostic d'un ST en période prénatale devrait toujours être suivi d'une recherche de séquences SRY lorsqu'une interruption de grossesse est envisagée. La présence du bras court ou d'une partie du bras court du chromosome Y transloqué sur un autre chromosome amène un phénotype masculin relativement normal. Comme chez la femme avec ST, l'infertilité est présente. Le chromosome Y est souvent atteint dans sa structure chez les hommes infertiles. Le segment du Y transloqué sur la partie distale du 11q25 représente un Y sans centromère et délété de tout son bras long lequel joue un rôle déterminant dans la spermatogenèse. Conclusion : En DPN, il est important chez tout conceptus monosomique X que les parents veulent interrompre de rechercher la présence de matériel génétique spécifique du Y. Dans notre cas, la communication de la présence d'une partie du bras court du Y pourrait amener ces derniers à reconsidérer leur décision.

**Mots-clés :** syndrome de Turner, gène SRY, diagnostic prénatal.

**■P638. DIAGNOSTIC PRÉNATAL ÉCHOGRAPHIQUE DU SYNDROME DE JOUBERT : MISE EN ÉVIDENCE DU « SIGNE DE LA MOLAIRE » À L'ÉCHOGRAPHIE 3D**

M. Montaroux (1), P. Hervé (1), L. Bürglen (2), F. Perrotin (1), A. Toutain (3)

(1) Service de Médecine Foetale, CHU Bretonneau, Tours, France ; (2) Service de Génétique Médicale et CR malformations et maladies congénitales du cervelet, CHU Trousseau, Paris, France ; (3) Service de Génétique, CHU Bretonneau, Tours, France

Contact : toutain@med.univ-tours.fr

Le syndrome de Joubert (SJ), est une affection autosomique récessive cliniquement et génétiquement hétérogène dont le signe cardinal est une

malformation du tronc cérébral avec hypoplasie du vermis cérébelleux. Il associe hypotonie, ataxie, retard psychomoteur, retard mental, troubles oculomoteurs et respiratoires et de façon variable atteinte rétinienne et rénale, dysmorphie et autres malformations (polydactylie, colobome). Le diagnostic repose sur un signe radiologique pathognomonique : le « signe de la molaire » (MTS pour « molar tooth sign ») visible en coupe axiale à l'IRM, et lié à l'hypoplasie du vermis et des pédoncules cérébelleux. Sept gènes, dont le gène MKS3, aussi impliqué dans le syndrome de Meckel, sont identifiés à ce jour dans le SJ. Le diagnostic prénatal est possible soit précocement par étude moléculaire soit au 3<sup>e</sup> trimestre par imagerie. L'échographie permet de suspecter le diagnostic à partir de 18-20 semaines d'aménorrhée (SA) devant une hypoplasie vermienne, mais le MTS qui permet d'affirmer le diagnostic n'a été décrit à ce jour qu'à l'IRM fœtale et au plus tôt à partir de 27 SA. Nous rapportons le premier diagnostic prénatal de SJ par visualisation échographique du MTS chez une femme ayant un premier enfant atteint de SJ. Devant une anomalie de la fosse postérieure à 19 SA une échographie 3 D a permis la mise en évidence à 21 SA d'un MTS identique à celui visible en IRM. En parallèle, l'identification chez le premier enfant atteint d'une mutation homozygote du gène MKS3, présente à l'état hétérozygote chez les deux parents, a permis de confirmer le diagnostic chez le fœtus et d'interrompre la grossesse précocement sans attendre la réalisation de l'IRM cérébrale fœtale. Cette observation illustre l'intérêt potentiel de l'échographie 3D pour le diagnostic prénatal précoce de SJ en l'absence de cas index.

**Mots-clés :** syndrome de Joubert, signe de la molaire, échographie 3D.

**■P639. DIAGNOSTIC PRÉNATAL D'UN HAMARTOME HYPOTHALAMIQUE S'INTÉGRANT DANS UN SYNDROME DE PALLISTER-HALL**

D. Amram (1), C. Varnoux (2), C. Touboul (2), M. Sinico (3), T. Attié-Bitach (4), L. van Maldergem (1), F. Encha-Razavi (3), B. Haddad (2), C. Zirah (2)

(1) Unité de Génétique Clinique CHIC de Créteil, France ; (2) Centre de Diagnostic Prénatal CHIC de Créteil, France ; (3) Service d'Anatomie Pathologie CHIC de Créteil, France ; (4) Département de Génétique Hôpital Necker Paris, France

Contact : daniel.amram@chicreteil.fr

Madame L. 27 ans primigeste primipare, 1<sup>er</sup> échographie à 12 SA normale (longueur crano-caudale à 69mm, clarté nucale à 1,9 mm). 2<sup>e</sup> échographie à 21 SA 6J normale 3<sup>ème</sup> écho à 30 SA 4J fœtus eutrophe liquide amniotique peu abondant. Échographie à 34 SA 5J retrouve l'oligoamnios et au niveau du cerveau on met en évidence dans la citerne prépedonculaire une masse bilobée échostructure homogène identique à celle du parenchyme cérébral, non vascularisée, mesurant 20 mm de largeur, 16 mm de diamètre antéropostérieur, 14,5 mm de hauteur. Le reste est normal. L'IRM fœtale retrouve le processus expansif intra-cranien développé dans la citerne prépedonculaire et la citerne optochiasmatisque faisant évoquer un hamartome hypothalamique. Une IMG est faite à 35 SA 4J. Examen foetopathologique : fœtus au 90eP. Polydactylie médio et post axiale des mains et des pieds. Anomalie de l'épiglotte bifide avec frein. À l'examen neuropathologique présence d'un hamartome, tumeur de la région hypothalamique, fait de foyers neuronaux nodulaires et de fibres avec en périphérie une organisation pseudocorticale. Devant la forte probabilité d'un syndrome de Pallister-Hall une recherche des mutations du gène GLI3 chez le fœtus retrouve une mutation nonsense, hétérozygote dans l'exon 15. Le séquençage de l'exon 15 du gène chez les parents n'a pas mis en évidence cette mutation il s'agit d'une mutation de novo. Une mosaïque germinale ne peut être exclue. Discussion : Le syndrome de Pallister-Hall décrit en 1980 est très rare. Les principales malformations sont : l'hamartome hypothalamique, la polydactylie centrale ou postaxiale, épiglotte bifide. Autres malformations : imperforation anale, anomalies rénales, anomalie de la segmentation pulmonaire, membres courts. Le syndrome de Pallister-Hall est causé par des mutations du gène GLI3, situé en 7q13, codant pour une protéine du développement et de la croissance. La transmission est autosomique dominante, la majorité des cas sont sporadiques. Le pronostic est très variable, dans la littérature, seuls les cas les plus sévères ont été décrits. Le geste le plus urgent est la prise en charge de l'insuffisance surrénalienne et de l'imperforation anale. La mortalité précoce est liée à un panhypopituitarisme et à des malformations de l'arbre respiratoire. L'hamartome est une malformation, la plupart des sujets sont asymptomatique, il n'y a pas d'indication chirurgicale à retirer cette malformation. La complication neurologique la plus fréquente est l'épilepsie gélastique. Les convulsions répondent bien au traitement. Le syndrome de Pallister-Hall a été considéré comme ayant un pronostic très sombre, de nouvelles publications de cas plus légers remettent en cause ce mauvais pronostic. Cependant, le



diagnostic anténatal de ce syndrome est rarissime et l'évaluation pronostique est très difficile.

**Mots-clés :** Hamartome hypothalamique, Pallister-Hall, diagnostic prénatal.

#### ■P640. À PROPOS DE 2 CAS DE SYNDROME DE CORNELIA DE LANGE DIAGNOSTIQUÉS EN ANTÉNATAL

L. Perrin (1), M. Gérard-Blanluet (1), C. Baumann (1), E. Vuillard (2), A.L. Delezoide (3), S. Khung-Savatovsky (3), V. Bodiguel (4), A. Verloes (1)

(1) Service de Génétique Clinique, Hôpital Robert-Debré, Paris, France ; (2) Service de Gynécologie Obstétrique, Hôpital Robert-Debré, Paris, France ; (3) Service de Biologie du développement, Hôpital Robert Debré, Paris, France ; (4) Service d'Anatomie pathologique, Hôpital de Montfermeil, Montfermeil, France

Contact : laurence.perrin@rdb.aphp.fr

Le syndrome de Cornelia de Lange (SCDL) est caractérisé par une dysmorphie faciale typique (cils longs, synophris, philtrum long et bombant, rétrognathie) qui peut être identifiée par l'échographie foetale. Il existe fréquemment un RCIU et une microcéphalie. Les anomalies réductionnelles des membres supérieurs, touchant le premier métacarpien et le rayon cubital sont caractéristiques. Les malformations viscérales sont fréquentes (cardiaques, rénales, génitales et hernie diaphragmatique). Une mutation du gène NIPBL est retrouvée dans 50 % des cas. Nous rapportons deux diagnostics anténatals de SCDL confirmés secondairement par biologie moléculaire après IMG. La première IMG fut réalisée à 28 SA devant la présence d'anomalies de membres supérieurs (présence d'un seul os au niveau des avant-bras, 2 doigts à gauche, achiérie à droite) et d'une dysmorphie faciale évocatrice sans RCIU ni microcéphalie. Une délétion de 4 nucléotides dans le gène NIPBL (c.6679\_6682delGTCA) fut mise en évidence. La deuxième IMG fut réalisée à 32SA pour hernie diaphragmatique, RCIU et dysmorphie faciale sans microcéphalie ni anomalies des membres. La Plasma Associated Protein A (PAPP-A) était à 0,05MoM. L'examen foetopathologique a montré une brachymétopie du pouce et la présence de 13 côtes. Une mutation dans le gène NIPBL (c.1342insC) fut mise en évidence. Le diagnostic prénatal du SCDL est difficile car il existe une grande variabilité phénotypique. En cas de RCIU isolés non vasculaires ou d'anomalies non spécifiques, l'échographe doit rechercher les « petits signes » du SCDL comme la dysmorphie faciale, la présence de 13 côtes ou l'existence d'une clarté nucale. Un scanner multibarrette peut être envisagé pour rechercher une brachymétopie du 1<sup>er</sup> rayon et une luxation de la tête radiale. Une diminution du taux de PAPP-A peut constituer un argument supplémentaire en faveur du diagnostic. La recherche de mutation ne peut s'envisager en prénatal que lorsqu'une mutation est connue chez le cas index.

**Mots-clés :** syndrome de Cornelia de Lange, diagnostic prénatal.

#### ■P641. DIAGNOSTIC PRÉNATAL DE LA MICRODÉLÉTION 22Q11.2 : INDICATIONS, RÉSULTATS ET COMPARAISON AVEC UNE SÉRIE POST-NATALE

M.C. Pellissier (1), F. Bretelle (2), C. Toga (1), C. Missirian (1), A. Moncla (1), N. Philip (1)

(1) Département de Génétique Médicale Hôpital de la Timone, Marseille, France ; (2) Service d'Obstétrique Hôpital Nord, Marseille, France

Contact : nicole.philip@ap-hm.fr

La microdélétion 22q11.2 est caractérisée par une très grande variabilité clinique, ce qui a conduit depuis quelques années à élargir les indications de la recherche de microdélétion 22q11.2. Nous avons fait le bilan des examens réalisés sur une période de 12 ans dans le laboratoire du département de génétique médicale de Marseille. En post-natal, 714 examens ont été réalisés sur des individus âgés de 0 à 50 ans. Dans tous les cas l'indication a été posée par un généticien du service après un examen clinique. Le taux de détection était de 11.8 % (81/714). Parmi ces 81 patients porteurs de la délétion seuls 37 étaient porteurs d'une cardiopathie congénitale, soit 45.7 %. Ce chiffre est très inférieur au taux de 75 % habituellement rapporté dans la littérature. La série prénatale concernait 169 grossesses pour lesquelles une recherche de microdélétion 22q11.2 a été effectuée sur un prélèvement foetal. Dans 147, il s'agissait d'un signe d'appel échographique à type de cardiopathie congénitale. Une microdélétion 22q11.2 a été identifiée dans 8 cas, soit 5.4 % de l'ensemble des cardiopathies. Sept fœtus étaient porteurs d'une cardiopathie de type conotruncal, le 8<sup>e</sup> d'une CIV de type non précisé. Dans 7 cas, les parents ont opté pour une interruption médicale de la grossesse. Le dernier cas concernait un fœtus porteur d'un truncus artérielosus dépisté au 3<sup>e</sup> trimestre de la grossesse. Le père présentait une dysmorphie faciale typique et un retard

mental léger. La mise en évidence de la microdélétion chez le fœtus a entraîné dans le même temps le diagnostic paternel, dont les conséquences familiales (séparation, divorce,) ont été dramatiques. Les résultats de notre série confirment les données de la littérature, la présence d'une cardiopathie de type conotruncal restant la principale indication de recherche de microdélétion 22q11.2 en l'absence d'histoire familiale. Cependant, compte tenu du nombre important de patients sans atteinte cardiaque, certains auteurs ont proposé d'étendre les indications de la recherche prénatale de délétion 22q11.2. Il apparaît que les autres malformations fréquemment associées ce syndrome (fente palatine, malformations rénales ou des extrémités), sont trop peu spécifiques pour justifier cette recherche lorsqu'elles sont isolées. Par contre, une échocardiographie foetale et une échographie du thymus peuvent apporter des arguments supplémentaires. Dans tous les cas, une consultation de génétique préalable est indispensable pour donner une information adéquate sur la variabilité clinique et détecter le cas échéant une atteinte mineure chez un parent.

**Mots-clés :** microdélétion 22q11.2, diagnostic prénatal, variabilité phénotypique.

#### ■P642. HYGROMA COLLI AU PREMIER TRIMESTRE DE LA GROSSESSE : SIGNE D'APPEL DE SYNDROMES GÉNIQUES ?

V. Kremer (1), F. Girard (1), B. Doray (2), M. Kohler (3), R. Favre (3), L. Marcellin (4), V. Lindner (5), B. Gasser (5), C. Acquaviva (6), Y. Morel (6), E. Flori (1)

(1) Laboratoire de Cytogénétique, Hôpital de Haute-pierre, Strasbourg, France ; (2) Service de Génétique Médicale, Hôpital de Haute-pierre, Strasbourg, France ; (3) Service de Gynécologie Obstétrique, CMCO-SIHCUS, Schiltigheim, France ; (4) Laboratoire d'Anatomie Pathologique, Hôpital de Haute-pierre, Strasbourg, France ; (5) Laboratoire d'Anatomie Pathologique, Centre Hospitalier de Mulhouse, France ; (6) Laboratoire de Biochimie Endocrinienne et Moléculaire, Hospices Civils de Lyon, France

Contact : elisabeth.flori@chru-strasbourg.fr

L'hygroma colli est un signe d'appel échographique de pathologies foetales parmi lesquelles, dans 30 à 40 % des cas, des anomalies chromosomiques. Quand le caryotype est normal, l'hygroma colli peut être associé à des malformations dont certaines rentrent dans le cadre de syndromes géniques au premier rang desquels le syndrome de Noonan. Dans une étude prospective réalisée sur 30 fœtus porteurs d'un hygroma colli et dont le caryotype était normal, trois syndromes géniques ont été diagnostiqués : un syndrome de Cornelia de Lange, un syndrome de Smith-Lemli-Opitz et une dysplasie thoracique de Jeune. Toutefois, le syndrome de Cornelia de Lange n'a été reconnu qu'après la naissance, le Smith-Lemli-Opitz à 37 SA et si le diagnostic de « nanisme rhizomélisque » a été porté au deuxième trimestre chez le troisième fœtus, le diagnostic de syndrome de Jeune n'a été authentifié qu'après l'interruption médicale de la grossesse. Ces observations soulignent la difficulté de détecter et d'identifier les syndromes géniques dans la période prénatale. Étant donné leur fréquence élevée (3/30) dans la petite série prospective rapportée, l'hygroma colli peut être considéré comme un très bon signe d'appel de ces syndromes. Seul un suivi échographique approfondi et rapproché peut permettre d'identifier les phénotypes foetaux encore très mal connus de ces pathologies souvent héréditaires et de donner à un couple un conseil génétique approprié pour la grossesse en cours.

**Mots-clés :** Hygroma colli, syndromes géniques, échographie.

#### ■P643. NEPHROMÉGALIE EXTRÊME EN ANTÉNATAL : PRÉSENTATION INHABITUELLE D'UN SYNDROME DE ZELLWEGER

L. Pinson (1), N. Bigi (1), A. Couture (2), C. Rouleau (3), P. Blanchet (1), F. Deschamps (4), A. Schneider (5), P. Boulot (4), G. Lefort (5), M.T. Zabet (6), C. Vianey-Saban (6), P. Sarda (1), D. Genevieve (1)

(1) Service de Génétique Médicale et de Fœtopathologie, CHU Arnaud-de-Villeneuve, Montpellier, France ; (2) Service de Radiologie Pédiatrique, CHU Arnaud-de-Villeneuve, Montpellier, France ; (3) Service d'Anatomie-Pathologie, CHU Lapeyronie, Montpellier, France ; (4) Service de Gynécologie Obstétrique, CHU Arnaud-de-Villeneuve, Montpellier, France ; (5) Service de Cytogénétique, CHU Arnaud-de-Villeneuve, Montpellier, France ; (6) Centre de Biologie et de Pathologie Est, Lyon, France

Contact : l-pinson@chu-montpellier.fr

Le syndrome de Zellweger (ZS) ou syndrome cérébro-hépatorenal, est une maladie métabolique rare se transmettant sur le mode autosomique récessif. Il est dû à un désordre péroxysomal par déficit enzymatique de la bêta-oxydation des acides gras. Il se caractérise par une accumulation des acides gras à très longue chaîne (AGTLC), de précurseurs des acides



biliaires, d'acide pipécolique, d'acide phytanique, ayant pour conséquences de graves problèmes neurologiques et une dysfonction hépatique et rénale. La sévérité du pronostic rend licite la reconnaissance anténatale des formes non familiales. Sont notamment décrits en anténatal une hyperéchogénéicité rénale, une néphromégalie modérée ainsi que des signes tardifs tels l'hypokinésie foetale, la ventriculomégalie et des anomalies de gyration. Nous rapportons la découverte anténatale d'une néphromégalie majeure et évolutive (68 mm pour une normale à 32 mm à 30 semaines d'aménorrhée) associée à des microkystes corticaux chez un fœtus issu de parents en bonne santé, non apparentés et sans antécédents personnels ou familiaux. Le diagnostic de syndrome de Zellweger est suspecté après interruption médicale de grossesse du fait de l'association à cette néphromégalie d'une dysmorphie faciale, de calcifications épiphysaires et patellaires, d'une polymicrogyrie corticale et d'hétérotopies cérébelleuses et bulbaires. Le diagnostic est confirmé par l'étude de la bêta-oxydation des AGTLC dans les amniocytes en culture. À notre connaissance, il s'agit de la première description anténatale d'une néphromégalie majeure et évolutive chez un fœtus atteint de syndrome de Zellweger. Du fait de la diversité de présentation des maladies métaboliques en anténatal, nous suggérons qu'un syndrome de Zellweger soit évoqué devant toute néphromégalie évolutive majeure, qu'elle soit associée ou non à une hépatomégalie ou à d'autres signes du spectre ZS.

**Mots-clés :** syndrome de Zellweger, néphromégalie extrême, diagnostic prénatal.

#### ■P644. DIAGNOSTIC PRÉNATAL DES MALADIES GÉNÉTIQUES CUTANÉES SÉVÈRES : BILAN D'ACTIVITÉ DES 5 DERNIÈRES ANNÉES (73 CAS)

C. Deraison (1), L. Lacaze-Buzy (1), S. Hadj-Rabia (2), M.P. Cordier (3), N. Chassaing (4), M. Titeux (1), A. Guichet (5), A. David (6), C. Abel (7), J. Amiel (8), N.Leporrier (9), C. Bodemer (2), P. Calvas (4), A. Hovnanian (1, 10, 11)

(1) INSERM, U563, Département de Génétique, Toulouse, France ; (2) Service de Dermatologie, Hôpital Necker Enfants Malades, Centre de Référence MAGEC, Paris, France ; (3) Centre de Biotectologie Cellulaire, Bron, France ; (4) Service de Génétique, CHU Purpan, Toulouse, France ; (5) Service de Génétique, CHU d'Angers, Angers, France ; (6) Service de Génétique Médicale, Hôpital de la Mère et de l'Enfant, Nantes, France ; (7) Service de Génétique, Hôpital de la Croix-Rousse, Lyon, France ; (8) Service de Génétique, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris, France ; (9) Département de Génétique et Reproduction, Hôpital Côte de Nacre, Caen, France ; (10) Services de Génétique et de Dermatologie, Hôpital Necker Enfants-Malades, Paris, France ; (11) Université Paris V René Descartes, Paris, France

Contact : alain.hovnanian@inserm.fr

Des progrès majeurs ont été réalisés ces dernières années dans l'identification des gènes de nombreuses maladies génétiques cutanées sévères. L'exemple le plus récent est l'identification du gène de l'ichtyose arlequin, ABCA12, qui représente la forme la plus sévère d'ichtyose héréditaire. Ceci a eu un énorme impact sur le diagnostic prénatal (DPN) de ces maladies, souvent potentiellement mortelles et incurables. Nombre de ces maladies sont génétiquement hétérogènes (épidermolyses bulleuses (EB) héréditaires, 10 gènes connus), ichtyoses héréditaires non syndromiques (6 gènes connus), et des mosaïcismes germinaux ont été décrits donnant lieu à des formes généralisées dans la descendance (syndrome KID, ichtyose épidermolytique). L'étude moléculaire de l'ADN foetal est devenu le « gold standard » pour le DPN de la majorité de ces maladies. Il a très largement remplacé la biopsie cutanée foetale dont les indications sont à présent exceptionnelles. Notre équipe, récemment implantée à l'Hôpital Necker-Enfants Malades à Paris, a réalisé au cours des 5 dernières années, 73 DPN pour des grossesses à risque de maladies génétiques sévères et incurables de la peau. La majorité des cas (49) concernait des familles ayant eu un enfant atteint d'EB héréditaire : 34 EB dystrophiques récessives et 3 dominantes (COL7A1), 9 EB jonctionnelles (LAMA3, LAMB3, LAMC2 et ITGA6) et 3 EB simples (KRT5/KRT14). 24 DPN ont été réalisés pour des maladies de la kératinisation : 6 pour l'ichtyose arlequin (ABCA12), 6 pour l'ichtyose lamellaire (TGM1), 6 pour l'ichtyose épidermolytique (KRT1/KRT10), 5 pour le syndrome de Netherton (SPINK5) et 1 pour la pachyonychie congénitale de type 1 (KRT6A). À noter que 2 des DPN pour IE ont été pratiqués chez des couples ayant eu un enfant atteint d'IE généralisée et dont l'un des parents présentait un mosaïsme somatique et germinale pour une mutation de KRT1. Parmi les 73 DPN réalisés, 16 grossesses ont été médicalement interrompues (fetus prédit atteint) sur les 60 grossesses à risque d'une maladie récessive. Trois grossesses sur 5 dont le fœtus été prédit atteint ont été interrompues sur les 13 grossesses à risque de récurrence d'une maladie dominante. Tous les

diagnostics ont été confirmés post-interruption ou post-partum, sans perte foetale déclenchée par la procédure diagnostique. Ces résultats montrent que ces procédures sont fiables et sûres. Le développement du DPN moléculaire a eu un impact très important sur les couples à risque en leur permettant d'avoir des enfants indemnes. Le diagnostic préimplantatoire offre de nouvelles possibilités qui ont été déjà appliquées dans une forme de dysplasie ectodermique avec fragilité cutanée due à des mutations de la Plakophiline. En l'absence de traitement efficace de ces maladies potentiellement mortelles, le diagnostic prénatal occupe une place essentielle dans le conseil génétique, et représente probablement le bénéfice le plus direct de la recherche à la clinique pour les familles à risque.

**Mots-clés :** diagnostic prénatal, épidermolyses bulleuses héréditaires, ichtyoses.

#### ■P645. DIAGNOSTIC ANTÉNATAL D'UN SYNDROME DE JARCHO-LEVIN

C. Beneteau (1), N. Berlingi (1), P. Bach-Segura (2), V. Valdes (1), R. Desandes (1), P. Journeau (3), L. Bonafe (4), J.M. Hascoet (1), J. Vigneron (1)

(1) Service de Néonatalogie-Génétique, Maternité Régionale Universitaire, Nancy, France ; (2) Service d'imagerie médicale, Maternité Régionale Universitaire, Nancy, France ; (3) Service de Chirurgie Orthopédique Pédiatrique, Hôpital d'Enfants, CHU de Nancy, France ; (4) Division of Molecular Pediatrics, CHU Vaudois, Lausanne, Suisse  
Contact : clbeneteau@yahoo.fr

La dysplasie spondylo-costale est une anomalie rare de segmentation vertébrale et costale. Sa forme sévère et typique ou syndrome de Jarcho-Levin associe une fusion costale bilatérale avec un aspect « en pinces de crabe », des anomalies vertébrales et une insuffisance respiratoire le plus souvent fatale. Peu de cas ont été rapportés dans la littérature, en majorité de diagnostic clinique et radiologique post-natal, surtout parmi la population portoricaine. Nous rapportons deux cas de récurrence intrafamiliale d'un syndrome de Jarcho-Levin chez une famille Algérienne présentant de nombreux apparentements. On note dans la famille 4 cousins décédés en période néonatale dans un contexte de malformations costo-vertébrales. Le premier enfant présentait une brièveté du tronc, un cou court et une lordose très sévère. Il est décédé en Algérie à 11 mois dans un contexte d'hypoplasie pulmonaire. Au cours de la deuxième grossesse du couple, des anomalies osseuses ont été diagnostiquées par imagerie (échographie, scanner 3D) aux deuxième et troisième trimestres. Le fœtus présentait des fusions costales bilatérales et symétriques étagées et des fusions typiques d'un syndrome de Jarcho-Levin. La grossesse a été menée à son terme selon le souhait du couple. L'enfant est né en état de mort apparente au terme de 37 SA + 3j avec une taille de 36 cm (-8 DS), un poids à -1 DS et un PC à 0 DS. Le cou était très court, le tronc très bref avec une saillie sternale antérieure et une lordose extrêmement sévère. Il n'a pas été retrouvé d'autres malformations viscérales ou neurologiques associées. Les examens radiologiques ont confirmé le dysraphisme rachidien les fusions costales étagées. L'enfant est décédé à 3 jours de vie dans un contexte d'insuffisance pulmonaire. Une recherche de mutations dans les gènes DDL3, MESP2 et LFNG est en cours. Nous rapportons une observation typique de syndrome de Jarcho-Levin de diagnostic anténatal.

**Mots-clés :** syndrome de Jarcho-Levin.

#### ■P646. RÉCIDIVE D'ANASARQUE FŒTAL RÉVÉLANT UN SYNDROME D'HYPOGLYCOSYLATION DES PROTÉINES SÉRIQUES (CDG) DE TYPE 1A

N. Léticée (1), B. Bessières (2), T. Dupré (3), S. Vuillaumier-Barrot (3), Y. Ville (1), R. Bouvier (4), N. Seta (3), T. Attié-Bitach (5)

(1) Centre de médecine foetale et Maternité de Necker-Brune, Hôpital Necker-Enfants Malades, APHP, Paris, France ; (2) Service d'anatomofeto-pathologie, Institut de Puériculture, Paris, France ; (3) Biochimie métabolique et cellulaire, Hôpital Bichat-Claude-Bernard, APHP, Paris, France ; (4) Centre de Pathologie Est, Hôpitaux Civils de Lyon, France ; (5) Département de Génétique, et INSERM U781, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France  
Contact : tania.attie@inserm.fr

L'anasarque est l'accumulation anormale de liquide dans au moins 2 compartiments foetaux, incluant les œdèmes, ascites, épanchements pleuraux et péricardiques. En prénatal, peut s'y associer un hydramnios et un placenta hypoplique. Son incidence est de 1/3 000 grossesses et son origine, classiquement, immune ou non-immune. Les causes les plus courantes d'anasarque non-immune sont les anémies foetales, les infections materno-foetales, certaines cardiopathies et les erreurs innées du métabolisme (1-2 % des cas), dont les maladies de surcharge lysosomales ;

cependant, 50 % des anasarques non-immunes restent inexplicables, parmi lesquelles les maladies métaboliques sont certainement sous diagnostiquées. Nous rapportons l'histoire d'un couple non apparenté ayant eu 2 interruptions de grossesse pour anasarque fœtal avec thrombopénie. Le couple a une fille âgée de 9 ans, bien portante. La deuxième grossesse a été interrompue à 33SA +4j pour anasarque foetoplacentaire avec thrombopénie fœtale à 15 G/l sans anémie. Une thrombopénie allo-immune a été infirmée. Ce fœtus présentait une dysmorphie avec hypoplasie de l'étage moyen, des mamelons ombiliqués. L'examen foetopathologique a confirmé l'anasarque fœtale et a retrouvé une hépatomégalie, une hypoplasie thyroïdienne majeure, des lésions hémorragiques diffuses et des dépôts d'hémossidérine en lien avec la thrombopénie, des kystes rénaux et une prolifération des canaux biliaires. Les maladies de surcharge lysosomale ont été exclues. La 3<sup>e</sup> grossesse a été marquée par une hyperclarté nucale dès le premier trimestre (caryotype normal sur biopsie de trophoblaste). À 22 SA, une lame d'épanchement péricardique est notée, et à 24 SA, apparaît également une lame d'ascite associée à un excès de liquide amniotique. Devant la récurrence d'anasarque, différentes hypothèses diagnostiques sont rediscutées dont un syndrome d'hypoglycosylation des protéines sériques (CDG). L'activité phosphomannomutase (PMM) leucocytaire réalisée chez les parents est réduite de moitié, comparé aux témoins ; l'étude moléculaire du gène PMM2 met en évidence une mutation hétérozygote chez chacun des parents : c.357C>A, p.Phe119Leu chez le père et [c.58C>T, p.Pro20Ser]+ [c.66+1G>T] chez la mère. L'analyse moléculaire des 2 fœtus confirme l'hétérozygotie composite et donc, le diagnostic de CDG Ia. L'IMG est réalisée à 31 SA. L'absence de mamelons ombiliqués et d'anomalies histologiques rénale et hépatique chez le 2<sup>e</sup> fœtus, est intrigante. Le CDG est un groupe hétérogène de maladies autosomiques récessives dont la plus fréquente est le Ia. Un cas d'anasarque a déjà été rapporté dans un CDG Ik (Koning 1998, Schwartz 2004) et chez 4 fœtus CDG Ia (Aronica 2005, Noelle 2005, van de Kamp 2007). Ce diagnostic est certainement sous-estimé et seule une étude systématique permettrait de préciser la contribution du CDG aux anasarques fœtaux non expliqués.

**Mots-clés :** CDG Ia, anasarque, PMM2.

**■P647. UN CHIMÉRISME TÉTRAGAMÉTIQUE DOIT ÊTRE ÉVOQUÉ DEVANT LA DISCORDANCE DE PHÉNOTYPE SEXUEL DANS UNE GROSSESSE MONOCHORIALE BIAMNIOTIQUE DIZYGOTE**

F. Amblard (1, 4), A. Loriaux (2), M. Althuser (4), C. Giroux-Lathuille (3), F. Devillard (1, 4), V. Satre (1, 4), V. Delorme (2), E. Andrini (1, 2, 4), P.S. Jouk (1, 4)

(1) Service de Génétique, CHU de Grenoble, France ; (2) Clinique universitaire de gynéco-obstétrique, CHU de Grenoble, France ; (3) EFS Rhône Alpes site de Grenoble, France ; (4) Centre pluridisciplinaire de diagnostic prénatal, CHU de Grenoble, France

Contact : famblard@chu-grenoble.fr

Une chimère est définie comme un organisme dont les cellules sont originaires d'au moins deux zygotes. On parle de chimérisme tétragamétique lorsqu'il y a fusion au stade morula de deux zygotes génétiquement distincts. Nous rapportons le cas d'une grossesse spontanée dont la gémeillarité de type monochoriale biamniotique a été posée lors de l'échographie de 12 SA devant l'association d'une masse trophoblastique unique et l'absence du signe du lambda. L'échographie de 18 SA retrouve une membrane très fine confirmant le type de gémeillarité. Celui-ci est remis en cause à 22 SA du fait du caractère différent des organes génitaux externes des 2 fœtus. Le jumeau masculin décède à 29 SA. Le jumeau féminin naît quelques heures plus tard sans anomalie des organes génitaux externes, le groupage sanguin met en évidence une double population sur les antigènes RH1, RH2, RH3 et KEL1 ; le caryotype sanguin est de type 46, XY(70 %)/46, XX(30 %), le caryotype cutané réalisé à 9 mois ne retrouve que des cellules 46, XX. Ces deux résultats font évoquer une chimère limitée aux lignées sanguines par échange de cellules hématopoïétiques sur une grossesse monochoriale biamniotique par fusion partielle des placentas. C'est le second cas décrit issu d'une grossesse spontanée.

**Mots-clés :** grossesse monochoriale biamniotique, discordance sexe fœtaux, chimérisme.

**■P648. ENDODUPLICATION D'UN CHROMOSOME 14 PATERNEL DE DÉCOUVERTE PRÉNATALE SUR UNE GROSSESSE OBTENUE PAR FIV-ICSI AVEC DÉCONGÉLATION EMBRYONNAIRE**

G. Joly-Helas (1, 2), G. Labadie (3), H. Moiroit (1, 2), V. Barre (3), A. Rossi (2, 4), P. Chambon (1, 2), T. Frébourg (2, 5), B. Macé (1), P. Saugier-Verber (2, 5)

(1) Laboratoire de Cytogénétique, CHU de Rouen, France ; (2) Fédération de Génétique, CHU de Rouen, France ; (3) Unité de Génétique et de Diagnostic Prénatal, Centre Hospitalier du Belvédère, Mont-Saint-Aignan, France ; (4) Laboratoire de Cytogénétique, EFS Normandie Bois Guillaume, France ; (5) Service de Génétique, CHU de Rouen, France  
Contact : geraldine.joly-helas@chu-rouen.fr

Les grossesses obtenues par techniques de procréation médicalement assistée, en particulier celles obtenues par injection intracytoplasmique de spermatozoïde (FIV-ICSI), sont à risque élevé d'anomalies chromosomiques. Il s'agit essentiellement d'aneuploïdies autosomiques, d'anomalies chromosomiques de structure, ainsi que d'anomalies des chromosomes sexuels. Nous rapportons l'observation d'un couple déjà parents d'un enfant bien portant obtenu par FIV-ICSI. Le conjoint souffre d'une polykystose rénale dominante autosomique. Ses spermatozoïdes présentent des anomalies morphologiques au niveau de la tête et du flagelle mises sur le compte de cette pathologie. Une deuxième grossesse a été obtenue par FIV-ICSI avec décongélation embryonnaire. Une amniocentèse pour caryotype fœtal est réalisée au terme de 16 semaines d'aménorrhée en raison d'une omphalocèle de taille moyenne. La biométrie est conforme au terme théorique, la vitalité fœtale est bonne et le reste de l'examen morphologique est normal. Le caryotype fœtal obtenu par trypsination sur trois chambres d'incubation permet la mise en évidence d'une mosaïque *de novo* comportant trois populations cellulaires : une trisomie 14 par translocation robertsonienne (14;14), une translocation robertsonienne équilibrée (14;14) et une monosomie 14. L'analyse de marqueurs microsatellites du chromosome 14 en conditions quantitatives permet de conclure à l'existence d'une isodisomie uniparentale du chromosome 14 d'origine paternelle, avec quelques cellules comportant un chromosome 14 d'origine maternelle. Ce résultat corrélé à celui du caryotype suggère que le dérivé de la translocation (14;14) résulte d'une endoduplication de chromosome 14 et non d'une translocation robertsonienne. Cette endoduplication de chromosome 14 correspond très vraisemblablement à un accident chromosomique initial conduisant à une trisomie 14 avec perte secondaire, soit du chromosome 14 normal, soit du chromosome 14 remanié responsable de la mosaïque. Compte-tenu du pronostic défavorable de la trisomie 14 en mosaïque et de l'isodisomie uniparentale paternelle de chromosome 14, le couple accède à une interruption médicale de grossesse. Il refuse qu'un examen foeto-pathologique soit pratiqué. Cette observation illustre l'utilité d'avoir recherché une disomie uniparentale de chromosome 14 qui a permis de renforcer les arguments pronostiques et de comprendre le mécanisme de l'accident chromosomique ainsi que de réfuter une translocation robertsonienne. La survenue de cet événement chromosomique exceptionnel, dans ce contexte de FIV-ICSI et de décongélation embryonnaire, renforce la notion que cette technique d'assistance médicale à la procréation présente un risque chromosomique, sans que l'on puisse pour le moment déterminer l'étape de survenue de l'accident chromosomique.

**Mots-clés :** isodisomie uniparentale de chromosome 14, trisomie 14, FIV-ICSI.

**■P649. NOUVELLE MUTATION (C1355Y) DU GÈNE CFTR PROBABLEMENT PATHOGÈNE CHEZ UN GRAND PRÉMATURÉ SUSPECT DE MUCOVISCIDOSE DÉCÉDÉ À J13**

M.P. Reboul (1), J. Guichoux (2), S. Bui (3), C. Zordan (1), P. Fergelot (1), S. Labatut (1), M.H. Dealbert (1), C. Bouffard (4), B. Arveiler (1, 5), M. Fayon (3), D. Lacombe (1, 5), A. Iron (1, 5)

(1) Service de Génétique Médicale, Groupe Hospitalier Pellegrin, CHU de Bordeaux, France ; (2) Service de Néonatalogie, Groupe Hospitalier Pellegrin, CHU de Bordeaux, France ; (3) CRCM Pédiatrique, Groupe Hospitalier Pellegrin, CHU de Bordeaux, France ; (4) Association Régionale d'Aquitaine pour la Prévention des Maladies Congénitales, Groupe Hospitalier Pellegrin, CHU de Bordeaux, France ; (5) Laboratoire de Génétique Humaine, Université Victor Segalen-Bordeaux 2, France  
Contact : marie-pierre.reboul@chu-bordeaux.fr

La quasi totalité des diagnostics de mucoviscidose résultant du dépistage néonatal associée à une valeur élevée de la TIR J3 : (1) soit 2 mutations CF à J3 (i.e. causales de mucoviscidose) ; (2) soit une première mutation CF à J3 et une seconde mutation CF plus rare détectée après obtention d'un double test sudoral positif ; (3) soit 2 mutations CF plus rares découvertes après obtention d'une TIR J21 élevée et d'un double test sudoral positif. Environ 10 % des nouveaux nés CF présentent un iléus méconial, dont certains doivent être considérés comme suspects de mucoviscidose indépendamment du taux de TIR J3. Chez les nouveaux-nés suspects de mucoviscidose à J3 (en raison d'une TIR élevée) qui décèdent dans les premiers jours après la naissance (avant que le diagnostic ne puisse être confirmé par le test sudoral), la responsabilité de la mucoviscidose dans le décès est plus facile à établir chez un nouveau-né à terme que chez un

grand prématuré. Sans réalisation du test sudoral, seule l'analyse moléculaire permet de poser le diagnostic. Quand on met en évidence chez le nouveau-né décédé 2 mutations CF, l'incertitude quant à la présence de la mucoviscidose est aisément levée et toute grossesse ultérieure est facilement gérable par le conseil génétique. Il en est tout autrement quand l'analyse moléculaire révèle des anomalies du gène CFTR discutables en termes de pathogénicité. Nous rapportons ici le cas d'un nouveau-né grand prématuré (26 SA + 3 jours) décédé à J13 dans un contexte de défaillance multi-viscérale due à une entéocolite ulcéro-nécrosante et suspect de mucoviscidose en raison d'une TIR J3 élevée et de la présence d'une hétérozygotie pour la mutation CF connue 2183AA>G d'origine maternelle. L'analyse du père du nouveau-né a montré la présence (1) d'anomalies génétiques connues, rapportées comme peu pathogènes mais surtout (2) d'un faux sens (C1355Y, exon 22), non décrit à ce jour et que l'analyse par plusieurs logiciels de prédiction qualifiée de probablement délétère avec des scores de pathogénicité très élevés. Par la suite, la présence de ce faux sens d'origine paternelle a été retrouvée chez le nouveau-né décédé. La description de cette mutation chez ce grand prématuré renforce d'une part la suspicion de mucoviscidose sans toutefois faire avec certitude de cette maladie la cause du décès et peut d'autre part aider le conseil génétique de ce couple en vue d'un nouveau projet parental. Des études fonctionnelles de ce faux sens devraient permettre de confirmer son statut de mutation CF.

**Mots-clés :** mucoviscidose, décès néonatal, mutation C1355Y.

#### ■P651. ÉTIOLOGIES DES HYPERÉCHOGÉNICITÉS INTESTINALES FŒTALES ET DEVENIR PÉDIATRIQUE À COURT TERME. À PROPOS DE 99 CAS PRIS EN CHARGE AU CHRU DE LILLE DE 2004 À 2007

G. Debaecker-Peulmeule (1), F. Petit (2), S. Petit (3), L. Devisme (3), S. Manouvrier-Hanu (2), M. Holder-Espinasse (2)

(1) Service de néonatalogie, Hôpital Jeanne-de-Flandre, CHRU Lille, France ; (2) Service de génétique clinique, Hôpital Jeanne-de-Flandre, CHRU Lille, France ; (3) Service d'anatomo-pathologie, Centre de biologie pathologie, CHRU Lille, France

Contact : m-holder@chru-lille.fr

**Objectifs :** Une hyperéchogénicité intestinale fœtale (HEI) est découverte dans 0,2 à 1,8 % des grossesses. La signification clinique de ce signe échographique n'est pas encore clairement établie à ce jour. Il peut être un variant de la normale au second trimestre de grossesse, ou, même isolé, être associé à une évolution défavorable de la grossesse. Cette étude rétrospective a permis de connaître l'issue de grossesses pour lesquelles une hyperéchogénicité intestinale fœtale isolée ou associée à d'autres anomalies échographiques avait été à l'origine d'un bilan complémentaire. Méthodes : Quatre vingt dix neuf suivis et issues de grossesses ont été étudiés entre 2004 et 2007, à la maternité Jeanne-de-Flandre du CHRU de Lille. Résultats : Les enfants étaient en bonne santé apparente à 2 ans de vie dans 59 % des cas. L'issue de la grossesse était défavorable dans 32 % des cas, correspondant à 21 interruptions médicales de grossesses (IMG), 8 morts fœtales in utero et 3 décès avant 6 mois de vie (une prématurité, un volvulus digestif, un syndrome polymalformatif). Les indications d'IMG regroupaient 5 pathologies materno-placentaires, 5 mucoviscidoses, 4 anomalies chromosomiques, 2 infections : CMV et rubéole, 5 syndromes poly malformatifs. Il n'existait aucun antécédent familial chez les fœtus atteints de mucoviscidose. Dix-sept enfants étaient nés prématurés avec un âge gestationnel moyen de 33 semaines d'aménorrhée. Un retard de croissance intra-utérin était observé dans 28 % des cas. Parmi les 66 enfants nés vivants, 7 présentaient des pathologies : 2 syndromes d'apple-peel, une mucoviscidose, une maladie de Steinert, un syndrome polymalformatif, un syndrome VACTERL et une dilatation pyélocalicielle. Conclusion : Devant une HEI, même isolée, il paraît indispensable de proposer un bilan minimum comprenant un caryotype, une recherche de mucoviscidose, un bilan infectieux ainsi qu'un suivi échographique et une surveillance périnatale. Les parents peuvent, à priori, être rassurés lorsque le bilan complémentaire est négatif et qu'aucune étiologie n'est retrouvée pour expliquer l'HEI isolée.

**Mots-clés :** hyperéchogénicité intestinale, mucoviscidose, syndromes malformatifs.

## Prise en charge des maladies génétiques : du conseil génétique au traitement

#### ■P652. CRÉATION D'UNE NEWSLETTER DU CONSEILLER EN GÉNÉTIQUE

S. Aissaoui (1, 2, 3), N. Pasz (1, 4), E. Consolino (1, 5), E. Chipoulet (1, 6, 7), M.A. Voelckel (1, 8), C. Cordier (1, 9, 10)

M/S hors série n° 1, vol. 26, janvier 2010

(1) Association Française des Conseillers en Génétique, Marseille, France ; (2) Service de Génétique Moléculaire et Médicale, Hôpital Édouard-Herriot, Lyon, France ; (3) Unité Clinique d'Oncologie Génétique, Centre Léon-Bérard, Lyon, France ; (4) Service de Génétique clinique Guy Fontaine, CHRU Hôpital Jeanne-de-Flandre, Lille, France ; (5) Service de Génétique Oncologique, Institut Gustave Roussy, Villejuif, France ; (6) Service d'Oncogénétique, Institut Claudius Regaud, Toulouse, France ; (7) Service d'Oncologie Digestive, CHU de Purpan, Toulouse, France ; (8) Département de Génétique Médicale, Hôpital D'Enfants de la Timone, Marseille ; (9) Service d'Oncogénétique, Institut Claudius Regaud, Toulouse, France ; (10) Service d'Oncologie Digestive, CHU de Purpan, Toulouse, France

Contact : souria.aissaoui@chu-lyon.fr

L'Association Française des Conseillers en Génétique, AFCG, a été créée en 2005 (JO du 18 juin 2005) dès la première année de formation des nouveaux professionnels de santé que sont les conseillers en génétique. L'AFCG a pour but non seulement de promouvoir ce nouveau métier mais également d'informer ses membres de l'évolution de la profession. Ainsi, afin d'apporter une dynamique supplémentaire au site internet de l'association, cinq bénévoles rédigent une lettre d'information électronique trimestrielle, la « newsletter » de l'AFCG. Y sont mentionnés les informations générales sur les démarches administratives, les questions d'actualité, l'étude de publications, les congrès et réunions de travail à venir ainsi que les postes à pourvoir. L'équipe en charge de cette mission est composée d'un rédacteur en chef, une secrétaire chargée de communication, une chargée d'actualités, une chargée de relations ainsi que d'une chargée d'études. La création de ce moyen d'information montre l'engagement de ces professionnels pour leur métier, leur volonté de s'impliquer pleinement dans sa reconnaissance et de contribuer à son évolution. La première newsletter, sortie en Mars 2009, a été distribuée, grâce à une mailing liste, à la totalité des membres de l'AFCG (92 à ce jour). Elle est disponible sur le site. Monsieur le Professeur Jean-François MATTEI, ancien Ministre de la Santé, Président de la Croix Rouge Française, nous a fait l'honneur d'inaugurer ce document en rédigeant l'éditorial. Il y fait part de la « nécessité des conseillers en génétique ».

**Mots-clés :** newsletter, information, conseil génétique.

#### ■P653. POUR LA CRÉATION DE RELAIS ENTRE LES ASSOCIATIONS DE PATIENTS ATTEINTS DE MALADIE GÉNÉTIQUE ET LES CONSEILLERS EN GÉNÉTIQUE

N. Pasz (1, 2), S. Devaux (3, 2), B. Troude (4, 2), L. Monteil (5, 2), M.A. Voelckel (6, 2)

(1) Service de Génétique Clinique, CHRU de Lille, France ; (2) Association Française des Conseillers en Génétique, France ; (3) Services de Génétique Oncologique et d'Urologie, CHU de Bicêtre, Hôpital Necker, France ; (4) Service de Génétique Médicale, CHU de Clermont-Ferrand, France ; (5) Service de Génétique Médicale, Hôpital PURPAN, CHU de Toulouse, France ; (6) Département de Génétique Médicale, APH Marseille, France

Contact : n-pasz@chru-lille.fr

L'Association Française des Conseillers en Génétique (AFCG), créée en mai 2005, compte parmi ses nombreux objectifs l'information sur les maladies génétiques et la médecine prédictive, sous toutes ses formes, à l'attention des médecins, des professionnels de santé, des familles, du public et des associations de patients. Une commission de l'AFCG baptisée « Relais avec les associations » existe depuis 2007. Les desseins de cette commission se sont progressivement développés autour de différents points. Tout d'abord, celui de l'amélioration et de l'optimisation de la prise en charge des patients atteints de maladie génétique dans leur parcours de soin, puis celui d'une meilleure compréhension de la part des patients et de leur famille par une vulgarisation du langage médical, et enfin celui d'une information et d'une sensibilisation du grand public, toujours en collaboration avec les associations. Des actions ont déjà été menées dans ce sens, que ce soit par la collaboration entre l'AFCG et Orphanet (participations à l'Encyclopédie Grand Public, au forum Internet Orphanet en 2006), par la présence de certains membres de l'AFCG à des réunions d'information d'associations de patients (Association du Syndrome de Prader Willi, Association HNPCC France, etc.), ou encore par des interventions lors de l'émission télévisée Téléthon (« Paroles de nuit » en 2005, « Marche des maladies rares » en 2007 et 2008). Le but de notre étude est d'évaluer les attentes et les besoins des associations de malades et de leur famille pour pouvoir mener des actions en conséquence. Pour réaliser ce projet, nous sommes intervenus lors d'une réunion d'information des membres de l'Alliance Maladies Rares en mai 2009 afin de sensibiliser un maximum d'associations. Cette intervention nous a permis, non seulement de présenter et de promouvoir notre métier, mais aussi de répondre à un certain





nombre d'interrogations et de recevoir des commentaires en faveur d'une collaboration plus active entre les associations et les conseillers en génétique. L'intervention s'est terminée par la distribution d'une lettre d'information et d'un questionnaire. D'autres associations, qui n'étaient pas présentes à cette journée, ont été sollicitées en recevant les mêmes documents par message électronique. Nous rapporterons les résultats du recueil et de l'analyse de ces questionnaires afin de planifier des actions efficaces répondant précisément à leurs attentes.

**Mots-clés :** conseillers en génétique, association de malades, relais.

**■P654. LE CONSEIL GÉNÉTIQUE APRÈS DÉPISTAGE NÉONATAL DE LA MUCOVISCIDOSE EN LANGUEDOC-ROUSSILLON**

E. Haquet (1), F. Counil (2), K. Baudry (1), J. Puechberty (1), P. Sarda (1), C. Coubes (1)

(1) Service de génétique médicale, Hôpital Arnaud-de-Villeneuve, Montpellier, France ; (2) Centre de Ressources et de Compétences de la Mucoviscidose, Hôpital Arnaud-de-Villeneuve, Montpellier, France

Contact : e-haquet@chu-montpellier.fr

Le dépistage néonatal systématique de la mucoviscidose a été mis en place en France depuis 2002. Il associe un dosage de la trypsine immunoréactive (TIR) à une analyse en biologie moléculaire de l'ADN du patient si le dosage est élevé. Les enfants ainsi dépistés sont invités à consulter au Centre de Ressources et de Compétences de la Mucoviscidose (CRCM), afin que soient pratiqués des examens complémentaires (test de la sueur...) et de poser ou non le diagnostic de mucoviscidose. Pour les patients « faux positifs » (chez qui la mucoviscidose n'a pas été confirmée), seules les mutations fréquentes sont recherchées. Pour les enfants malades, le laboratoire s'attache à rechercher les deux mutations parentales impliquées. Une consultation spécialisée en génétique est recommandée dès lors qu'une mutation est retrouvée. En collaboration avec le CRCM du Languedoc-Roussillon, nous avons comparé la liste des patients présentant une ou deux mutations à la liste des patients vus en consultation de génétique. Nous avons reçu 38 % des parents d'enfant avec une ou deux mutations. Parmi ces patients, nous avons vu une proportion plus importante de parents d'enfants non malades (42 %) que de parents d'enfants malades (26 %). Les parents d'enfants non malades viennent beaucoup plus rapidement en consultation : plus de 50 % viennent dans les 5 mois suivant la naissance de l'enfant. Les parents d'enfants malades viennent plus tardivement, dans la deuxième année de vie de l'enfant. Ces différences peuvent en partie s'expliquer par la priorité de la prise en charge pour les enfants malades et au fait que le prélèvement sanguin des parents est fait par le CRCM à la demande du laboratoire de diagnostic moléculaire pour vérifier la contribution bi-parentale des mutations. Ainsi les parents d'enfants malades viennent rarement pour un conseil génétique immédiat pour la mucoviscidose, mais seulement lorsqu'il y a un nouveau désir d'enfant ou une grossesse en cours. Bien que le dépistage néonatal n'ait pas pour vocation de dépister les nouveaux-nés hétérozygotes, le taux d'hétérozygotes parmi les « faux positifs » est très élevé (55 % contre 4 % attendu). Parmi nos patients, nous avons ainsi découvert un couple à risque (1/46, ce qui était statistiquement attendu pour un tel taux d'hétérozygotes). La Haute Autorité de Santé (HAS) a fait en janvier 2009 un état des lieux du dépistage néonatal de la mucoviscidose. Elle mentionne que la fédération des CRCM élabore des recommandations pratiques sur l'information à transmettre aux patients dans le cadre du conseil génétique. L'étude des données recueillies ici et la connaissance du fonctionnement du CRCM et du service de génétique en Languedoc-Roussillon nous incite à modifier notre façon de travailler ensemble. Ainsi, au cours de la première année de vie de l'enfant, une consultation de génétique sera proposée systématiquement par le CRCM aux parents d'enfants malades le même jour qu'une consultation de suivi de leur enfant.

**Mots-clés :** conseil génétique, mucoviscidose, dépistage néonatal.

**■P655. FIRST REPORT OF A GERMINAL AND SOMATIC MOSAICISM FOR A MUTATION OF THE RYANODINE RECEPTOR TYPE 2 GENE: IMPLICATION FOR GENETIC COUNSELLING AND PATIENT CARING**

N. Roux-Buisson (1), I. Denjoy (2, 3), F. Extramania (2), A. Leenhardt (2), P. Guicheney (3, 4), J. Lunardi (1, 5)

(1) Biochimie et Génétique Moléculaire, CHU Grenoble, Grenoble, France ; (2) Centre de Référence des Maladies Rythmiques Hérititaires, Hôpital Lariboisière, Paris, France ; (3) Inserm U956, G H Pitié-Salpêtrière, Paris, France ; (4) UMR 956, UPMC, Paris, France ; (5) Inserm U836, Grenoble Institut des Neurosciences, Grenoble, France

Contact : JLunardi@chu-grenoble.fr

Catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia (CPVT) is a severe hereditary arrhythmogenic disease, characterized by syncope or sudden death induced by emotional or physical stress. The mortality rate in untreated individuals is 50 % by age 40. Early diagnosis through clinical and genetic screening is very useful in order to prevent sudden death by beta blockers treatment and/or implantable cardioverter defibrillator (ICD). Mutations in the cardiac isoforms of the ryanodine receptor gene (RYR2) and of the calsequestrin gene (CASQ2), which are involved in the calcium homeostasis in cardiomyocytes, have been associated with CPVT. We reported the case of a 7-year-old girl referred for CPVT. She was treated by nadolol and ICD was implanted after recurrent syncopal episodes and positive exercise stress test under treatment. CPVT was strongly suspected into her youngest brother who suddenly died during a soccer game. Molecular analysis by sequencing RYR2 in the index case identified a heterozygous c.7202G>A ; p.Arg2401His mutation. Genetic screening by dHPLC and DNA sequencing showed that the mutation was absent in the asymptomatic father's and the alive siblings while it suggested the presence of a somatic mosaic in the mother. Unfortunately, DNA from the deceased child was not available. An amplification refractory mutation system (ARMS)-PCR assay confirmed the presence of the mutant allele in the mother's DNA. We performed a semi-quantitative assay by High Resolution Melting and determined a low level of mosaicism ranging between 5 and 10 % in mother's buccal, urinary and leukocytes cells. Haplotyping using intragenic SNPs showed that the proband and her alive siblings inherited different alleles from the mother. Based on the somatic maternal mosaicism and the existence of two children presenting with a CPVT phenotype, occurrence of a germline maternal mosaicism was therefore highly probable. To our knowledge, this is the first reported case of mosaicism for a mutation of RyR2. This report must help to alert physicians and genetic counsellors for the possible presence of a mosaicism in families with RYR2 mutations, even if standard methods failed to clearly detect a mutation in the father or the mother of the proband. In such a situation, sporadic cases of CPVT are usually thought to be caused by occurrence of a *de novo* mutation in the proband. In order to rule out the presence of a germline mosaicism in one of the parent, genetic screening of the siblings of a sporadic proband should be systematically realized. If a mutation occurs at a very early stage in the embryo the mosaicism would be germinal and somatic. In that case and depending on the level of mosaicism in the heart tissue, the parent that would present with such a mosaicism would therefore be at risk for CPVT and a specific caring will have to be set up. This illustrates the potential benefits of extensive genetic analysis in these CPVT families.

**Mots-clés :** CPVT, RyR2, mosaicism.

**■P656. REMPLISSAGE D'UN QUESTIONNAIRE EN PRÉVISION DE LA CONSULTATION D'ONCOGÉNÉTIQUE ET VARIABLES FAMILIALES ET SOCIO-DÉMOGRAPHIQUES : QUELLES ASSOCIATIONS ?**

D. Molière (1), P. Laurent-Puig (1), B. Buecher (1), K. Lahlou-Laforet (2) (1) UF d'Oncogénétique, HEGP (AP-HP), Paris, France ; (2) Service de Psychologie Clinique et Psychiatrie de Liaison, HEGP (AP-HP), Paris, France

Contact : diane.molier@egp.aphp.fr

Introduction et objectif : En amont de la consultation d'oncogénétique digestive et gynécologique de l'HEGP, un questionnaire est adressé aux futurs consultants afin de leur permettre de rassembler à l'avance leurs antécédents familiaux sur trois générations au moins. Ce procédé facilite le tracé de l'arbre généalogique qui est une étape essentielle pour décider de l'indication à un test génétique lors de la première consultation. L'objectif de cette étude rétrospective est d'évaluer le remplissage de ce questionnaire et de rechercher des associations entre ce taux et certaines variables. Patients et méthode : Les sujets inclus dans cette étude sont les 267 proposants vus en consultation d'oncogénétique par la conseillère en génétique, préalablement à la consultation avec l'oncogénéticien, entre janvier 2007 et juillet 2009. Selon le remplissage du questionnaire, les sujets ont été classés initialement en deux groupes : le premier est composé des consultants l'ayant rempli et le second des consultants ne l'ayant pas rempli. Dans un second temps, le premier groupe a été subdivisé entre les sujets ayant rempli exhaustivement le questionnaire (informations concernant les apparentés atteints et indemnes) et ceux l'ayant rempli partiellement (informations concernant uniquement sur les apparentés atteints). Les variables étudiées sont : le sexe, l'âge, le statut de parent, l'atteinte personnelle (quel que soit le type de prédisposition), le délai disponible pour effectuer ce travail, l'ancienneté du diagnostic personnel et le nombre d'apparentés atteints. Résultats : Les consultants ayant rapporté leur questionnaire rempli sont au nombre de 209 (78 %). Aucune des variables



étudiées ne s'est révélée être un facteur associé à l'acceptabilité par les consultants. Cependant, plus le consultant a d'apparentés atteints, plus il a tendance à effectuer ce travail préparatoire ( $p = 0,0518$ ). Au sein du premier groupe, le remplissage exhaustif (148 sujets sur 209, soit 71 %) ou partiel (61 sujets sur 209, soit 19 %) est par contre significativement associé à deux variables. Plus leur diagnostic personnel est récent, plus les consultants ont tendance à remplir partiellement le questionnaire ( $p = 0,021$ ). De même, plus les consultants ont d'apparentés atteints, plus ils ont tendance à remplir partiellement le questionnaire ( $p = 0,013$ ). Discussion : L'envoi systématique d'un questionnaire sur l'histoire familiale en amont de la consultation d'oncogénétique est donc un procédé bien accepté par les proposants. Par ailleurs, la qualité du remplissage semble dépendre du temps qui s'est écoulé depuis le diagnostic et du nombre d'apparentés atteints. La focalisation sur les apparentés atteints est probablement dépendante de l'angoisse liée à la maladie, amenant éventuellement les consultants à surévaluer leur risque. L'information délivrée à ce sous-groupe de consultants devrait être davantage personnalisée au moment de la consultation afin que le risque subjectif concorde mieux avec le risque réel.

**Mots-clés** : première consultation d'oncogénétique, questionnaire, histoire familiale.

#### ■P657. HNPCC SYNDROME : IMPACT OF GENETIC COUNSELLING ON THE RELATED

E. Chipoulet (1, 2), D. Bonnet (2), J. Selves (2), C. Toulas (1), L. Gladieff (1), V. Feillel (1), R. Guimbaud (1, 2)  
(1) *Service d'Oncogénétique, Institut Claudius Regaud, Toulouse, France* ;  
(2) *Pôle digestif, CHU de Toulouse, France*  
Contact : guimbaud.rosine@claudiusregaud.fr

Le syndrome HNPCC, lié à une mutation germinale d'un gène MMR, expose à un haut risque de cancers du côlon et de l'endomètre. L'identification de la mutation familiale permet la réalisation de tests prédictifs chez les apparentés majeurs. Des mesures efficaces de dépistage peuvent alors être proposées aux apparentés porteurs. Il est donc nécessaire que l'information diffuse au sein de la famille. À ce jour, en France, cette information ne peut s'effectuer que par l'intermédiaire des « cas index » ayant directement consulté en oncogénétique ; cette tâche peut être perçue avec difficulté. Le but de notre travail a été d'évaluer l'impact et les caractéristiques de la démarche oncogénétique des cas index HNPCC, sur leurs apparentés, en terme de test prédictif. Quarante-trois familles, pour lesquelles une mutation constitutionnelle délétère de l'un des gènes MMR a été identifiée en consultation d'oncogénétique et dont le résultat a été rendu avant juin 2007, ont été étudiées (âge moyen des cas index : 53 ans ; 4 décédés pendant la procédure). Pour chaque famille les apparentés ayant eu un test prédictif ont été recherchés et leurs caractéristiques ont été recueillies. Les données provenaient exclusivement des dossiers familiaux oncogénétiques. Parmi les 583 apparentés vivants et majeurs identifiés sur les arbres généalogiques ( $n = 196$  au 1<sup>er</sup> degré et  $n = 387$  au 2, 3 ou 4<sup>e</sup> degré) : 119 (20 %) sont venus en consultation d'oncogénétique (2/3 d'apparentés au 1<sup>er</sup> degré, soit 2 par famille et 1/3 d'apparentés ? 2<sup>e</sup> degré, soit 1 par famille). Cinquante cinq % des apparentés au 1<sup>er</sup> degré venus en consultation étaient des femmes contre 72 % pour les apparentés ? 2<sup>e</sup> degré ( $p < 0,05$ ). Il n'y avait pas de modification du taux de participation des apparentés au 1<sup>er</sup> degré, ni des apparentés ? 2<sup>e</sup> degré, en fonction du sexe du cas index (le taux de participation des apparentés au 1<sup>er</sup> et ???).

**Mots-clés** : syndrome HNPCC, Conseil génétique, diagnostic prédictif.

#### ■P658. « LES COULEURS DE JEANNE » : UN LIVRE POUR EXPLIQUER LA POLYPOSE ADÉNOMATEUSE FAMILIALE AUX ENFANTS À RISQUE

S. Fosse (2, 3), S. Maddonni (4), Roche Diagnostics (5), C. Colas (1)  
(1) *Département de Génétique, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, AP-HP, Paris, France* ; (2) *Service de Pédiopsychiatrie, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, AP-HP, Paris, France* ; (3) *Service de Pédiopsychiatrie, CHR, Laval, France* ; (4) *Dessinatrice, France* ; (5) *Société Roche Diagnostics, France*  
Contact : chrystelle.colas@psl.aphp.fr

La Polypose Adénomateuse Familiale (PAF) est une prédisposition au cancer colorectal de transmission autosomique dominante liée au gène APC. Les patients présentent de très nombreux polypes adénomateux au niveau colorectal dont l'évolution aboutit systématiquement au cancer en l'absence d'un diagnostic précoce et d'une prise en charge appropriée par une colectomie prophylactique. Les enfants des patients atteints ont 50 % de risque d'avoir reçu la mutation du gène APC responsables de la polypose. Les polypes peuvent commencer à se développer dans l'enfance et

les recommandations de prise en charge préconisent de débiter la surveillance endoscopique vers 12 ans. En France, le test génétique chez ces enfants mineurs est habituellement proposé à partir de 10 ans. Il est maintenant bien établi que les tests génétiques chez les mineurs doivent être encadrés et accompagné d'un conseil génétique approprié pour s'assurer de la compréhension de la maladie et du test génétique. Notre expérience avec ces enfants à risque de polypose venant pour le test génétique a mis en évidence que les discussions autour de la maladie étaient souvent difficiles voire inexistantes entre ces enfants et leurs parents. Les informations sur la transmission génétique et les risques de cette maladie sont des notions complexes qui sont difficiles à aborder avec de jeunes enfants. Pour améliorer la communication au sein de ces familles et aider les professionnels qui s'occupent du conseil génétique dans cette maladie, nous avons créé un livre à destination de ces enfants. Une dessinatrice professionnelle a illustré l'histoire de Jeanne, une jeune fille dont le père a une PAF et qui va elle-même faire le test génétique. Roche Diagnostics nous a aidé à concrétiser ce projet en nous apportant une aide technique et financière. Ce livre a été envoyé à tous les centres de Français d'oncogénétique qui travaillent sur cette maladie et est disponible sur demande. Nous espérons qu'il aidera à améliorer la prise en charge de ces enfants et de leur famille.

**Mots-clés** : polypose, test présymptomatique, mineurs.

#### ■P659. ÉVALUATION DE LA TRANSMISSION DE L'INFORMATION AUX APPARENTÉS DANS LES FAMILLES À RISQUE DE PARANGLIOMES/PHEOCHROMOCYTOMES INTÉRÊT DE LA CGH ARRAY

C. Oheix (1, 2, 3), T. Kogut-Kubiak (1, 2, 3), P. Van Vaeck (1, 4), K. Lahlou-Laforêt (1, 4), A.P. Gimenez-Roqueplo (1, 2)  
(1) *Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, consultation multidisciplinaire d'oncogénétique, phéochromocytomes, paragangliomes et autres tumeurs endocrines, Hôpital européen Georges-Pompidou, Paris, France* ; (2) *Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Hôpital Européen Georges-Pompidou, Service de génétique, Paris, France* ; (3) *Étudiante de master 2 conseil en génétique-Université de la Méditerranée, Aix-Marseille II, France* ; (4) *Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Hôpital Européen Georges-Pompidou, Service de Psychologie Clinique et Psychiatrie de Liaison, Paris, France*

Contact : anne-paule.gimenez-roqueplo@egp.aphp.fr

Introduction L'identification d'une mutation prédisposant aux formes héréditaires de paragangliomes/phéochromocytomes présente, outre l'intérêt direct pour le sujet testé, un intérêt pour ses apparentés qui souhaiteraient connaître leur statut génétique, à condition qu'ils aient été informés. Nous disposons de peu de moyens standardisés pour apprécier la transmission de cette information par le sujet testé. Objectif de l'étude L'objectif de cette étude est d'évaluer la transmission effective de l'information génétique dans les familles mutées sur un gène de prédisposition, et de tester un outil permettant d'évaluer cette transmission. Patients et Méthodes Après avoir repris l'ensemble des dossiers des 890 consultants qui ont été reçus par la consultation multidisciplinaire d'oncogénétique des tumeurs endocrines de l'HEGP pour une suspicion de prédisposition héréditaire au phéochromocytome et/ou au paragangliome, nous avons sélectionné les familles chez lesquelles une mutation sur SDHB, SDHD, SDHC, VHL ou RET a été identifiée. Nous avons estimé la transmission du risque génétique comme effective lorsque nous avions connaissance de l'ensemble des résultats de dépistage des apparentés à risque, ou éventuellement sur l'affirmation d'un membre de la famille que les apparentés non encore testés ont été correctement informés. La transmission a été estimée comme incertaine lorsque le dépistage familial ne semblait pas finalisé alors que la dernière consultation avec un membre de la famille remontait à plus d'un an. Un questionnaire comportant trois questions rédigé à cet effet a été adressé à la personne chargée de transmettre l'information auprès de ses apparentés, afin de savoir si ces derniers ont été informés et/ou s'ils ont réalisé le dépistage génétique. Une nouvelle consultation centrée sur les éventuels problèmes posés par la transmission de l'information est proposée à la fin du questionnaire. Résultats Parmi les 268 familles suivies, 99 d'entre elles ont une mutation délétère identifiée. Le dépistage familial a été terminé pour 30 familles et est en cours pour 22 autres. Le questionnaire a été envoyé en septembre 2009 à 34 familles pour lesquelles la transmission a été jugée incertaine afin d'évaluer la transmission de l'information génétique et/ou de relancer le processus de dépistage. Treize familles suivies par d'autres centres n'ont pas fait l'objet de l'envoi du questionnaire. Discussion et Conclusion Cette étude a permis de quantifier la transmission et d'identifier les familles rencontrant des difficultés à transmettre l'information génétique. Nous aurons les résultats du retour des questionnaires pour les 5<sup>es</sup> Assises de Génétique. L'envoi du questionnaire pourrait

devenir systématique après un an sans nouvelles d'une famille à risque, si cette méthode s'avérait concluante.

**Mots-clés :** information familiale, paragangliome, phéochromocytome.

**■P660. ÉTUDE FRANÇAISE RÉTROSPECTIVE DE L'INFLUENCE DE LA GROSSESSE SUR LES HÉMANGIOBLASTOMES DANS LA MALADIE DE VON HIPPEL-LINDAU**

C. Abadie (1, 11), I. Coupier (1, 2, 11), S. Bringuier-Branchereau (3), G. Mercier (4), F. Séguret (4), N. Aghakhani (5, 11), P. David (5, 11), F. Parker (5), D. Le Gars (6, 11), G. Robert (7), P. Pencalet (8), J.P. Houtteville (9), P. Mercier (10, 11), S. Deveaux (11), S. Richard (11, 12) pour le Réseau National et le Centre de Références INCA « Maladie de VHL et prédispositions héréditaires au cancer du rein de l'adulte »

(1) Service de Génétique Médicale, Unité d'Oncogénétique, CHU Montpellier, France ; (2) Service d'Oncogénétique, CRLCC Val d'Aurelle, Montpellier, France ; (3) Service d'Anesthésie Réanimation A, CHU Montpellier, France ; (4) Département d'Informatique Médicale, CHU Montpellier, France ; (5) Service de Neurochirurgie, Hôpital de Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre, France ; (6) Service de Neurochirurgie, Hôpital Nord, Amiens, France ; (7) Service de Neurochirurgie, Fondation Ophthalmologique Rothschild, Paris, France ; (8) Service de Neurochirurgie, Hôpital Foch, Suresnes, France ; (9) Service de Neurochirurgie, Centre Hospitalo-Universitaire, Caen, France ; (10) Service de Neurochirurgie, Centre Hospitalo-Universitaire, Caen, France ; (11) Réseau National et Centre de Référence Cancers Rares INCa « Maladie de VHL et prédispositions héréditaires au cancer rénal de l'adulte » (PREDIR), Service d'Urologie, AP-HP, Hôpital de Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre, France ; (12) Laboratoire de Génétique Oncologique EPHE, CNRS FRE 2939, Faculté de Médecine Paris-Sud, Le Kremlin-Bicêtre et Institut de Cancérologie Gustave Roussy, Villejuif, France

Contact : [abadie\\_caro@yahoo.fr](mailto:abadie_caro@yahoo.fr)

La maladie de von Hippel-Lindau (VHL) [OMIM 193300] est une affection héréditaire de transmission autosomique dominante prédisposant à de multiples tumeurs richement vascularisées : hémangioblastomes du système nerveux central (SNC) et de la rétine, cancers du rein à cellules claires, kystes rénaux et pancréatiques, phéochromocytomes, tumeurs neuroendocrines du pancréas et tumeurs du sac endolymphatique. Cette affection est liée à des mutations constitutionnelles délétères du gène suppresseur de tumeur VHL localisé dans la région 3p25-26 qui joue un rôle majeur dans la réponse tissulaire à l'hypoxie et l'angiogenèse. Les hémangioblastomes du SNC et de la rétine, manifestations emblématiques de l'affection, surviennent respectivement chez environ 75 % et 60 % des patients atteints par la maladie de VHL. Jusqu'ici, seules quelques observations isolées et une étude sur une petite série de patients [1] se sont interrogées sur le rôle potentiellement délétère de la grossesse sur les hémangioblastomes qui expriment fortement des récepteurs aux oestrogènes et à la progestérone. Nous avons donc réalisé une étude française rétrospective comparative chez 269 patientes issues de 172 familles extraites de la base de données VHL nationale et réparties en deux groupes selon leur statut gestationnel. L'étude s'est intéressée spécifiquement à l'apparition de nouveaux hémangioblastomes, à l'accroissement de lésions déjà connues et à la survenue d'éventuelles complications cliniques nécessitant une prise en charge thérapeutique. Dans ce but, les données disponibles des imageries de surveillance du SNC et de la rétine ont été collectées chez 176 femmes ayant eu au moins une grossesse et chez 93 femmes nulligestes. À notre connaissance, il s'agit de la seule étude analysant l'effet de la grossesse sur une série composée d'un effectif de patientes aussi important dans la maladie de VHL. Les résultats préliminaires montrent un nombre significativement plus élevé de nouvelles tumeurs et de complications dans le groupe des patientes ayant été enceintes. En particulier, l'exérèse chirurgicale d'hémangioblastomes du SNC a été nécessaire au cours de la grossesse chez trois patientes en raison d'une hypertension intracrânienne liée à une augmentation de la taille tumorale. Trois autres patientes ont subi une exérèse tumorale en urgence dans le premier mois du post-partum. En conclusion, l'augmentation potentielle de taille des hémangioblastomes du SNC ou l'apparition en quelques semaines d'un kyste compressif souligne la nécessité d'une surveillance étroite des patientes avec maladie de VHL au cours de la grossesse. Une IRM sans injection de Gadolinium est ainsi systématiquement préconisée au quatrième mois de grossesse chez toute patiente présentant une atteinte préalable du SNC.

**Référence**

1. Grimbirt *et al.* Pregnancy in von Hippel-Lindau disease. *Am J Gyn Obst* 1999 ; 180 : 110-1.

**Mots-clés :** maladie de von Hippel-Lindau, grossesse, hémangioblastomes.

**■P661. 5 ANS DE RECUIL SUR LA CONSULTATION PSYCHOLOGIQUE EN ONCOGÉNÉTIQUE À L'INSTITUT DE CANCÉROLOGIE GUSTAVE ROUSSY**

I. Léger (1), V. Byrde (2), E. Consolino (2), O. Caron (2), S. Dauchy (1)  
(1) Unité de psycho-oncologie, DISSPO, IGR, Villejuif, France ; (2) Consultation d'oncogénétique, département de médecine, IGR, Villejuif, France

Contact : [isabelle.leger@igr.fr](mailto:isabelle.leger@igr.fr)

La mise en place initiale de la prise en charge multidisciplinaire en oncogénétique à l'Institut Gustave Roussy, en 2004, reposait sur une proposition systématique de la consultation psychologique par le généticien, mais de façon disjointe de la sienne. La proportion de patients ultérieurement rencontrés par la psychologue restait faible (3,5 %). Or l'intervention du psychologue dans la démarche d'oncogénétique est souvent nécessaire. En effet, au-delà de la prévention, de l'évaluation et de la gestion du retentissement émotionnel, d'autres missions lui incombent : soutien du demandeur, évaluation des motivations et du contexte de la démarche, l'accompagnement à la transmission familiale de l'information, aide à la gestion de l'information et de l'incertitude. Autant d'objectifs souvent méconnus du patient, et qui ajoutés aux habituelles résistances rendent précaire le fait de faire reposer leur accès au psychologue sur leur simple demande en début de démarche. Nous avons donc depuis début 2007 choisi de proposer plutôt des consultations en binôme dans les situations les plus difficiles (Foster (2002), Hopwood (2005)), pour les patients de moins de 30 ans lors de la première consultation de génétique, et pour les rendus de résultats positifs ou non. Cette consultation en binôme systématique (sauf refus du patient) a permis d'augmenter la proportion de patients rencontrés par la psychologue à la suite de ce premier contact (27 %). Nous avons évalué la pertinence de cette augmentation en évaluant la perception de la présence du psychologue par les patients à l'aide d'un sondage (500 questionnaires distribués avec 400 réponses). Au moment de la première consultation de génétique avec la psychologue, 65 % des patients ont souhaité sa présence au moment du rendu de résultat. À noter que 42 % des patients ont également souhaité sa présence au moment du rendu de résultat alors qu'elle avait été absente lors de la première consultation de génétique. Concernant les rendus de résultats positifs, la présence de la psychologue a rassuré les patients dans 50 % des cas, dans 45 % cela n'a rien changé et aucun patient ne dit n'avoir été gêné. Lors des rendus de résultats négatifs, 44 % de patients étaient rassurés par sa présence, pour 44 % d'entre eux cela n'a rien changé et dans 9 % des cas ils ont été gênés. En conclusion, notre organisation en binôme ne semble pas gêner les patients et permet de passer d'un taux de suivis psychologiques de 3,5 % à 27 %.

**Mots-clés :** impact psychologique, oncogénétique, organisation.

**■P662. QUEL EST LE NOMBRE DE SUJETS QUI NE VIENNENT FINALEMENT PAS EN CONSULTATION D'ONCOGÉNÉTIQUE ? UNE ESTIMATION MONOCENTRIQUE**

E. Consolino, V. Byrde, D. Malka, O. Caron  
Consultation d'Oncogénétique, Département de Médecine, Institut Gustave Roussy, Villejuif, France  
Contact : [olivier.caron@igr.fr](mailto:olivier.caron@igr.fr)

Contexte : Le nombre (nb) de sujets (sj) vus en consultation d'oncogénétique (CSO) croît de manière importante en France. En revanche, le nb de sj ne venant pas à une CSO prévue reste mal connu. Méthodes : Dans cette étude monocentrique à partir de données prospectives, nous avons comptabilisé sur l'année 2008 (date de point : 30/09/09) : 1) le nb de CSO programmées pour des sj adressés « en interne » par des médecins de notre centre (rendez-vous programmé dès lors que le sj donne son accord pour une CSO) ; 2) le nb de contacts pour des sj « de l'extérieur » (demande d'avis par courrier ou téléphone de leur médecin,...), systématiquement répertoriés dans l'attente d'une prise de contact de leur part ; 3) le nb de CSO effectivement réalisées (total et en fonction du mode d'adressage du patient, « interne » ou « externe ») ; le nb de CSO 4) prévues et 5) réalisées pour rendu de résultats à des sj apparentés asymptomatiques (APS). Résultats : Sur 1486 CSO de cas index prévues en 2008, 1370 (92 %) ont été réalisées à la date de point, soit un taux d'attrition de 8 % (116 sj : 73 des 822 sj adressés « en interne » [8,9 %] et 43 des 664 sj adressés « de l'extérieur » [6,5 %]). Sur 109 CSO prévues pour rendu de résultats à des APS, 13 n'ont pas été réalisées (12 %). Conclusion : Le taux d'attrition global de notre activité de CSO est de 8 %. Ce taux, relativement bas, est probablement surestimé dans la mesure où il ne tient pas compte des sj vus en CSO dans un autre centre ou qui viendront en CSO dans notre centre au-delà de la date de point. Bien qu'il semble a priori plus pratique aux sj adressés en interne de venir en CSO, le taux d'attrition de cette population (8,9 %) est supérieur à celui des sj « de l'extérieur » (6,5 %) ; cependant, ce dernier est probablement sous-estimé, ne tenant pas compte de sj

pour lesquels le médecin extérieur n'a pris aucun contact. Au total, les contraintes d'adressage en CSO (impossibilité de convoquer un sj, démarche volontaire et active de celui-ci, accessibilité limitée des CSO) ne semblent pas avoir un impact fort sur le taux d'attrition de notre CSO, inférieure à celui observé pour rendu de résultats à des APS (12 %), pourtant a priori « motivés ». Ces données devraient être vérifiées par une étude prospective multicentrique, visant notamment à préciser les causes de non venue en CSO.

**Mots-clés :** oncogénétique, test génétique, taux d'attrition.

#### ■P663. COMPLICATION DE LA CHIRURGIE GASTRIQUE PROPHYLACTIQUE POUR MUTATION DU GÈNE CDH1

J.P. Fricker, C. Degermann, H. Nehme-Schuster, P. Dufour  
Unité d'oncogénétique, CLCC Paul-Strauss, Strasbourg, France  
Contact : Jfricker@strasbourg.fnclcc.fr

Les mutations du gène CDH1 sont responsables d'une prédisposition au cancer gastrique diffus héréditaire, à laquelle s'ajoute chez les femmes un risque de cancer lobulaire du sein. La découverte d'une mutation du gène CDH1 chez un sujet asymptomatique conduit à recommander une gastrectomie prophylactique. Nous rapportons le cas d'une gastrectomie totale réalisée à titre prophylactique chez un homme de 46 ans porteur asymptomatique d'une mutation du gène CDH1. Les complications du geste chirurgical ont entraîné une morbidité prolongée, nécessitant un arrêt de travail plus de 6 mois après l'intervention, et une possible réintervention. Les indications de la gastrectomie prophylactique dans ce contexte sont peu nombreuses, et les complications difficiles à évaluer. Comme pour toute chirurgie prophylactique, il importe de prendre en compte le rapport bénéfice/risque, et les complications médicales, psychologiques et socio-professionnelles du geste proposé. En raison de ses implications médico-légales possibles, cette observation est l'occasion de rappeler la nécessité impérieuse d'une décision multidisciplinaire impliquant chirurgien, spécialiste d'organe, oncogénéticien et psychologue.

**Mots-clés :** prédisposition génétique, CDH1, prophylaxie chirurgicale.

#### ■P664. MIRAGE : GESTION DES DONNÉES CLINIQUES SOUS FILEMAKER PRO

A. Laugé (1), S. Miglierina (1), I. Eugène (1), C. Rougeron (1), C. Gilbon (1), M. Belotti (1), D. Stoppa-Lyonnet (1, 2)  
(1) Génétique oncologique, Institut Curie, Paris, France ; (2) Université Paris Descartes, Paris, France  
Contact : alg@curie.net

Actuellement l'ensemble des données cliniques du laboratoire de génétique de l'Institut Curie sont saisies dans un logiciel développé sous 4D™ : GenSource®. Ce logiciel a été développé par la société Micro6® en partenariat avec le Pr D. Stoppa-Lyonnet entre 1992 et 1994 et montre aujourd'hui certaines limites de souplesse et d'évolutivité. Depuis fin 2004, la gestion des analyses, des résultats et des comptes rendus est faite grâce à une base de données sous FileMaker Pro®. Cette migration ayant été une réussite, nous avons retenu le même modèle pour gérer les données cliniques. De plus, ceci permettait des développements futurs plus faciles. Le développement de MIRAGE (Module Informatisé de Référencement des Analyses Génétiques) a été confié à C. Baldassara (prestataire de service ayant réalisé la base dédiée au laboratoire) en collaboration avec le référent SIH (Système d'Information Hospitalier) du service. Le cahier des charges de MIRAGE a été établi conjointement avec les secrétaires médicales en adéquation avec leur organisation de travail. MIRAGE s'articule autour d'un enregistrement du patient (vu ou non en consultation) et de plusieurs enregistrements satellites : renseignements sur la famille, tumeurs développées, prélèvements disponibles, études génétiques, consultations, courriers, participation à différentes études. À chaque patient est attribué un identifiant unique composé d'un numéro de famille et d'un numéro d'individu dans la famille. Ce numéro permet de regrouper facilement les patients par famille et de retrouver les informations relatives à leur famille. En plus d'avoir une structure simple pour la maintenance et la navigation, les principaux avantages de MIRAGE sont de (i) centraliser les informations disponibles au sein du service pour chaque patient, (ii) simplifier les saisies pendant les consultations, (iii) récupérer automatiquement les informations du patient grâce à son numéro personnel d'identification, (iv) automatiser l'impression des ordonnances ou l'assignation dans une série d'analyse, (v) visualiser les données du patient disponibles dans l'Hôpital, (vi) générer un courrier type et (vii) exporter les données de la famille pour le dessin de l'arbre familial et le calcul de risque. Le dossier patient informatisé permettra une disponibilité immédiate des informations du patient et donc un gain de temps pour les membres du service. De plus la centralisation des informations permet de croiser les données cliniques et les données

d'analyses afin de mettre en évidence des corrélations génotype/phénotype ou de créer des cohortes d'étude par simple requête. MIRAGE permet un élargissement des champs d'application en offrant la possibilité d'approfondir les connexions avec les autres bases de l'hôpital et d'inclure les documents numérisés relatifs aux patients.

**Mots-clés :** Filemaker Pro, base de données, génétique.

#### ■P665. L'OFFRE DE TESTS GÉNÉTIQUES EN FRANCE : COMMENT OPTIMISER LE DISPOSITIF ?

M. Jovanovic, I. Caron, A. Rath, M. Hanauer, S. Ayme  
Inserm, SC11 – Orphanet, Paris, France  
Contact : segolene.ayme@inserm.fr

La base de données Orphanet s'efforce depuis douze ans de collecter l'information sur les tests disponibles pour le diagnostic des maladies rares, en France et dans une trentaine de pays européens, en particulier grâce à un partenariat avec EuroGentest. Toutes les maladies mendéliennes étant rares, cela inclut donc une collecte de l'information sur les tests génétiques. Elle est effectuée auprès des laboratoires publics et privés avec une mise à jour annuelle. Elle repose sur les déclarations des professionnels responsables. En Septembre 2009, le nombre de laboratoires effectuant des tests de génétique moléculaire en France est de 181. Ces laboratoires testent 861 gènes sur les 1 467 gènes testés en Europe. Aucun pays européen n'est en mesure d'offrir tous les tests, ce qui montre la nécessité d'organiser les règles de coopération entre pays européens. Seules les mutations du gène CFTR sont analysées dans tous les pays. Les tests les plus disponibles par ordre décroissant sont : mucoviscidose, hémochromatose, myopathie de Duchenne, X fragile, surdité non syndromique, Angelman, cancer du sein familial, deletion de l'Y, Huntington, Prader-Willi, cancer du colon non polyposique familial, déficit en facteur II et facteur V, syndrome de Rett, syndrome de Williams, myotonie de Steinert et Achondroplasie. Ces données interrogent sur l'organisation optimale de l'offre de tests au moment où la France régionalise son système de santé et regroupe ses laboratoires dans de grandes plateformes. À l'évidence les tests génétiques ne doivent pas être vus comme devant faire partie de l'offre régionale, mais à intégrer dans une politique nationale et européenne. Les données région par région seront présentées et des solutions possibles à une organisation de l'offre seront discutées.

**Mots-clés :** tests génétiques, organisation des soins, génétique moléculaire.

#### ■P666. ÉTUDE DE LA PERCEPTION DES PATIENTS FACE À LA RÉCEPTION D'UNE COPIE DU COMPTE RENDU ADRESSÉ À LEURS MÉDECINS RÉFÉRENTS À L'ISSUE DE LA CONSULTATION DE GÉNÉTIQUE

C. Cassini (1), C. Thauvin-Robinet (1), S. Vinault (2), C. Binquet (2), F. Coron (1), S. Mercier (3), N. Laguet (3), N. Herman (3), L. Faivre (1)  
(1) Centre de Génétique, Hôpital d'enfants, CHU Bodge Dijon ; (2) Centre d'Investigations Clinique – Épidémiologie Clinique, Faculté de Médecine, CHU Dijon ; (3) Direction des Droits des Patients, de la Qualité et de la Gestion des Risques, CHU Bodge, Dijon  
Contact : cecile.cassini@chu-dijon.fr

Les recommandations de bonnes pratiques de l'HAS pour l'information des patients, éditées en Mars 2000, rappellent l'obligation d'information du patient par le corps médical sur son état de santé. La primauté de l'information orale est pointée, les documents écrits pouvant en être un complément. Ces données sont reprises dans la loi du 4 Mars 2002 relative au droit des patients. Il apparaît que les pratiques des différents services de Génétique en France sont très hétérogènes (envoi systématique, à la demande, courrier spécifique aux patients...). Avant de généraliser l'envoi du double du courrier médical au décours de leur consultation de génétique, nous avons souhaité initier, dans le cadre d'une évaluation des pratiques professionnelles, une étude visant à évaluer l'intérêt, le ressenti et surtout l'absence de caractère délétère de la réception de ce courrier par les parents/patients. Au cours de 4 mois d'activité de 2 médecins généticiens et d'une conseillère en génétique du centre de Génétique du CHU de Dijon (1<sup>er</sup> septembre-31 décembre 2008), il a été proposé aux patients de recevoir un double du courrier adressé aux médecins référents. Sur un total de 379 consultations, 353 questionnaires ont été envoyés. 15 patients (4 %) ont refusé de recevoir ce double du courrier, et le consultant a jugé cet envoi inadapté pour 11 patients (3 %, en général quand un enfant n'était pas accompagné de ses parents). 226 questionnaires ont été retournés (60 %). Les consultations concernaient des adultes dans 73 % des cas, des enfants dans 27 %. 32 % des consultations avaient un but diagnostique, 47 % de conseil génétique, 14 % de résultats et 7 % de suivi. 99 % des patients ont été satisfaits de recevoir ce double du courrier. Ce courrier a été perçu comme une aide à la compréhension des informations médicales



dans 72 % des cas (et ce d'autant moins que le niveau d'études est élevé), et cela a permis de retrouver des informations oubliées après la consultation pour 17 % des patients. Pour 82 % des patients, ce courrier était considéré comme un reflet fidèle de la consultation, pour les 18 % restants, le courrier était plutôt jugé plus complet que la consultation. Les termes employés ont été ressentis comme compréhensibles dans 97 % des cas, mais trop médicaux dans 20 %, et choquants dans seulement 3 % des cas. Il n'existait pas de différence pour les différents paramètres suivant le motif de la consultation, ou si le patient était un enfant ou un adulte. 65 % des patients faisaient part de leur intention d'utiliser par la suite cette copie, pour la communication avec le milieu médical et/ou la famille, ou pour initier des démarches particulières. 63 % signalent habituellement récupérer secondairement une copie du courrier envoyé par leur médecin référent. Enfin, 58 % des patients souhaiteraient plutôt un courrier spécifique adapté, qui leur serait personnellement destiné. En conclusion, cette étude montre la satisfaction des patients face à cette démarche, et l'absence de caractère délétère de celle-ci. La réception de ce courrier assure une meilleure intégration des données transmises lors de la consultation par le patient, et représente un support écrit qui peut faciliter la transmission correcte des informations à la famille.

**Mots-clés :** information médicale, questionnaire patients, évaluation des pratiques professionnelles.

#### ■P667. CODIFICATION ET CLASSIFICATION DES MALADIES GÉNÉTIQUES POUR LES BESOINS DES SYSTÈMES DE SANTÉ ET CEUX DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

A. Rath, B. Bellet, Marie Georget, S. Aymé  
*Inserm, SC11 – Orphanet, Paris, France*

Contact : [segolene.ayme@inserm.fr](mailto:segolene.ayme@inserm.fr)

Les systèmes d'information sont maintenant des outils indispensables à la gestion des systèmes de santé comme à la recherche biomédicale. Ils nécessitent la standardisation des concepts à l'intérieur d'un groupe d'usage. Ainsi le codage des maladies se doit de refléter la réalité perçue par les professionnels de santé, par les patients et leur entourage, les noms de maladie servant à communiquer. Ce codage doit pouvoir servir aussi la Santé Publique, en organisant les maladies hiérarchiquement, permettant ainsi des agrégations à des fins statistiques, organisationnelle ou économiques. C'est le codage de la morbidité et de la mortalité. Les chercheurs travaillant sur l'étiologie, la physiopathologie et les cibles thérapeutiques ont d'autres besoins et d'autres types de représentation. Ils ont besoin de manipuler l'information au niveau des phénomènes avec un niveau de granularité le plus fin possible (corrélation génotype-phénotype). Le degré de granularité de l'information nécessaire peut ainsi varier grandement. La Classification Internationale des Maladies (CIM10) est adaptée aux besoins des gestionnaires de la santé mais insatisfaisante pour les besoins des professionnels de santé en génétique car seules 200 maladies génétiques ont un code CIM spécifique. Il en va de même de Snomed CT. Le catalogue OMIM est largement utilisé par les généticiens et les chercheurs mais il n'est pas adapté au codage des bases de données de patients car c'est un catalogue de gènes et de phénotype comme proxy de gène, et non un catalogue de maladies au sens clinique du terme. Dans ce contexte, Orphanet a développé un système de codage et une classification polyhiérarchique maintenant à la disposition de la communauté internationale. Chaque niveau de granularité est interfacé avec les autres systèmes de codage, permettant un transcodage automatique. Les choix conceptuels seront explicités et les modes d'utilisation de la nomenclature Orpha seront présentés. Celle-ci sert actuellement à la révision de la Classification Internationale des Maladies (vers la CIM11), processus ouvert auquel tous les généticiens devraient s'intéresser en raison des enjeux pour la visibilité des maladies génétiques dans les systèmes de santé.

**Mots-clés :** codage des maladies génétiques, classification des maladies génétiques, systèmes d'information.

#### ■P668. ORPHANET VU PAS SES UTILISATEURS : LEÇONS POUR L'AVENIR

C. Rodwell, C. Angin, M. Hanauer, S. Aymé  
*Inserm, SC11 – Orphanet, Paris, France*

Contact : [segolene.ayme@inserm.fr](mailto:segolene.ayme@inserm.fr)

Orphanet est un portail d'information sur les maladies rares, dont toutes les maladies génétiques. Créé il y a douze ans, il en est à sa quatrième version majeure pour offrir des services répondant aux besoins de ses utilisateurs. Le nouveau portail fut lancé en Avril 2008, suivi un après d'une enquête. Le questionnaire était proposé en ligne via un pop up sur les différentes pages. L'internaute avait le loisir de répondre à l'enquête ou

d'ignorer l'invitation. La durée de cette enquête fut limitée à l'obtention de 1 000 questionnaires en langue française remplis, conformément à ce qui avait été fait par le passé. Les utilisateurs sont pour 61 % des professionnels, pour 26 % des malades, familles ou entourage et pour 13 % des personnes autres. Parmi les professionnels, ce sont les médecins hospitaliers qui sont les plus nombreux (23 % de tous les professionnels), les médecins généralistes en représentant 9 %. La ventilation détaillée est très semblable à celle des enquêtes précédentes. Les utilisateurs francophones viennent de France (80,5 %), du Canada (5 %), d'Algérie (2,7 %), de Suisse (2,2 %), de Belgique (2,1 %), de Tunisie (1,9 %), du Maroc (1,7 %) et de plus de cinquante autres pays. Plus de 46 % des utilisateurs sont titulaires d'un doctorat et seulement 3,4 % n'ont aucun diplôme, montrant une fois de plus la fracture numérique. Les femmes représentent les deux tiers des internautes du site. Google est le mode majoritaire de découverte du site (46 %), suivi par le conseil d'un médecin (14 %), un site d'hôpital (8 %), puis un site d'association de malades (7 %). L'information la plus recherchée est l'information sur une maladie précise (85 %), puis celle sur un laboratoire de diagnostic (20 %), sur une consultation experte (18 %) et sur une association de malades (17 %). Orphanet a des utilisateurs réguliers : 27 % viennent plus de deux fois par an, 32 % plus de deux fois par mois et 19 % plus de deux fois par semaine. Les quatre produits les plus plébiscités sont les textes sur les maladies, la nomenclature et les classifications, puis la recherche par signe, enfin les recommandations pour la pratique d'urgence, les listes de centres de référence et le répertoire des laboratoires médicaux. Les utilisateurs d'Orphanet sont aussi utilisateurs de PubMed (43 %), de Wikipedia (37 %), de sites de sociétés savantes (18 %) et d'OMIM (17 %). Les suggestions d'amélioration portent essentiellement sur une demande d'actualisation du site plus fréquente, sur une information plus détaillée sur chaque maladie, sur plus de convivialité dans la recherche par signe et sur l'ajout de banques d'image, mais surtout... sur la possibilité de faire des demandes à des experts pour des cas cliniques non résolus. Comment aller vers cette téléexpertise ?

**Mots-clés :** base de données, Internet, Information.

#### ■P669. CARACTÉRISTIQUES DES PATIENTS ATTEINTS D'HTAP PORTEURS D'UNE MUTATION ACVRL1

B. Girerd (1, 2), D. Montani (1), F. Coulet (3), B. Sztrymf (1), A. Yaici (1), X. Jaïs (1), D. Tregouet (3), O. Sitbon (1), G. Simonneau (1), F. Soubrier (3), M. Humbert (1)

(1) *Centre National de Référence de l'Hypertension Pulmonaire Sévère, Service de Pneumologie et Réanimation Respiratoire, Hôpital Antoine-Béclère, AP-HP, Clamart, France*; (2) *AFCC, Association Française des Conseillers en Génétique, Marseille, France*; (3) *Université Pierre-et-Marie-Curie-Paris 6, Laboratoire d'Oncogénétique et Angiogénétique Moléculaire, UMRS 956 INSERM, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France*

Contact : [barbara.girerd19@gmail.com](mailto:barbara.girerd19@gmail.com)

Introduction : Les mutations du gène ACVRL1 prédisposent pour la maladie de Rendu-Osler et/ou pour l'hypertension artérielle pulmonaire (HTAP). L'objectif de cette étude est de décrire les caractéristiques des patients ayant une HTAP et une mutation du gène ACVRL1. Méthodes : Les caractéristiques cliniques, fonctionnelles et hémodynamiques de 32 patients ayant une HTAP et une mutation ACVRL1 ont été analysées (9 patients suivis dans le centre national de référence de l'HTAP). Les caractéristiques de ces patients ont été comparées à celles de 370 patients souffrant d'HTAP (93 ayant une mutation BMPR2, et 277 n'ayant pas de mutation identifiée). La distribution des mutations sur le gène ACVRL1 retrouvées chez les patients ayant une HTAP a été comparée à celle des patients avec un Rendu-Osler sans HTAP. Résultats : Au moment du diagnostic d'HTAP, les porteurs d'une mutation ACVRL1 sont significativement plus jeunes (21,8 +/- 16,7 ans) que les porteurs d'une mutation BMPR2 et que les non porteurs de mutation (35,7 +/- 14,9 et 47,6 +/- 16,3 ans respectivement, p<0.0001). Les porteurs de mutation ACVRL1 étaient caractérisés par une hémodynamique moins sévère au diagnostic, une absence de réactivité en aigo au NO et un pronostic plus sombre. Chez les patients ayant une HTAP, il a été retrouvé significativement plus de mutation du gène ACVRL1 dans l'exon 10 par rapport aux patients ayant un Rendu-Osler sans HTAP (33,3 % et 5 %, p<0.0001). Conclusion : Les patients atteints d'HTAP et porteurs d'une mutation ACVRL1 sont caractérisés par un plus jeune âge au diagnostic, une hémodynamique moins sévère et un pronostic plus sombre que les autres patients ayant une HTAP, suggérant une progression plus rapide de la maladie.

**Mots-clés :** bone morphogenetic protein receptor type 2, BMPR2, hypertension artérielle pulmonaire, maladie de Rendu-Osler.

### ■P670. CLINICAL PHENOTYPES OF COL4A1 MUTATIONS CARRIERS ARE EXTREMELY VARIABLE. IMPORTANCE FOR CLINICAL CARE AND GENETIC COUNSELING

M. Mine (1, 2), M.L. Moutard (3), D. Hervé (4), A. Roubertie (5), M. Sevin (6), D. Rodriguez (3), K. Maincent (3), E. Berger (7), F. Rouannet (8), B. Echenne (5), K. Vahedi (4), E. Tournier-Lasserre (1, 2, 9)

(1) Laboratoire de Génétique, Hôpital Lariboisière, Paris, France ; (2) Inserm UMR-S 740, Paris, France ; (3) Service de neuropédiatrie, Hôpital Trousseau, Paris, France ; (4) Service de neurologie, Hôpital Lariboisière, Paris, France ; (5) Service de neuropédiatrie, Hôpital Gui de Chauliac, Montpellier, France ; (6) Service de neurologie, CHU de Nantes, France ; (7) Service de neurologie, CHU de Besançon, France ; (8) Service de neurologie, CHU de Bordeaux, France ; (9) UFR de médecine Paris7 Denis Diderot, Paris, France

Contact : tournier-lasserve@univ-paris-diderot.fr

Background : Col4A1 encodes the alpha1 chain of type IV collagen, a major component of basement membranes, including vascular basement membrane. Mutations of Col4A1 have been shown in 2005 to cause porencephaly and Intra Cerebral Hemorrhage (ICH) in mouse and man. Only 14 Col4A1 mutated families have been reported so far ; a variety of additional phenotypes including retinal arteriolar tortuosities, HANAC and Axenfeld Rieger syndromes have been detected in some of them. Intracerebral hemorrhage (ICH) is the most severe manifestation in COL4A1 mutants. Prevention of ICH and genetic counseling are very important in carriers. One major question is when should we suspect a Col4A1 mutation and conduct a genetic testing in both infants and adults showing an ICH (which occurs in 10 % of stroke patients). Aims : our main objective is to establish the full spectrum of COL4A1 related syndromes Patients and families: 16 unrelated index patients and their relatives were included. The 52 COL4A1 exons and exon/intron boundaries were sequenced Results: 16 probands/8 affected relatives included. Age at clinical onset in probands ranged from pre/perinatal period or infancy (7 cases), childhood (3 cases), adult life (6 cases/17-60 yo). Early onset cases showed a combination of IUGR, developmental delay, microcephaly, seizures, ICH and leukoencephalopathy (all patients), porencephaly (3 patients), micropthalmia, congenital cataract and /or optic atrophy (3 patients). None of them showed detectable renal anomalies and retinal arteriolar tortuosities. 4/7 of these patients have a *de novo* mutation and 3 of them have inherited their mutation from an asymptomatic parent (2 patients) or a parent showing only mild symptoms (glaucoma at 37 yo). In 4/6 patients with an adult onset, the initial manifestation was an ICH associated with a leukoencephalopathy and no associated symptom. In the 2 last ones, diagnosis was suspected on the association of leukoencephalopathy and microbleeds on an MRI performed for an unrelated reason. Mutations were a Gly substitution in COL4A1 triple helix (9/16), a splice site mutation (2/16), a del or dup mutation (2) and a Gly substitution in the NC1 c-term domain (1). Conclusions: Col4A1 mutations may lead to very severe early onset manifestations and developmental delay caused by both *de novo* and inherited mutations. ICH and leukoencephalopathy, a commonly encountered association in adult stroke patients, can be the only manifestation in an adult patient. These data raise important issues for genetic counseling.

**Mots-clés :** COL4A1, hémorragie cérébrale, leukoencephalopathie.

### ■P671. MALADIE DE FABRY : ATTEINTE CÉRÉBRO-VASCULAIRE ET CARDIAQUE DES PATIENTS HÉMIZYGOTES EN INSUFFISANCE RÉNALE TERMINALE

T.C. Tran (1, 2), F. Colas (3), K. Benistan (1, 2), R. Carlier (3), F. Jabbour (4), C. Perronne (5), F. Bellazreg (5), D. P. Germain (1, 2, 6)

(1) Centre de référence de la maladie de Fabry et des maladies héréditaires du tissu conjonctif, CHU Raymond-Poincaré, Garches, France ; (2) Unité Fonctionnelle de Génétique Médicale, CHU Raymond-Poincaré, Garches, France ; (3) Service de Radiologie, CHU Raymond-Poincaré, Garches, France ; (4) Laboratoire de biochimie et génétique médicale, CHU Raymond-Poincaré, Garches, France ; (5) Département de médecine aigue, CHU Raymond-Poincaré, Garches, France ; (6) Université de Versailles – St-Quentin-en-Yvelines, Versailles, France

Contact : dominique.germain@rpc.aphp.fr

Introduction : La maladie de Fabry (MF, OMIM #301500) est une maladie héréditaire du métabolisme, de transmission génétique liée au chromosome X, due à un déficit en alpha-galactosidase A conduisant à l'accumulation lysosomale de glycosphingolipides dans de nombreux types cellulaires. Le déficit enzymatique s'accompagne d'une maladie multisystémique avec une morbi-mortalité élevée essentiellement due à une insuffisance rénale chronique (IRC) aboutissant à la dialyse ou la transplantation, et des atteintes cardiaques et cérébro-vasculaires à type de

cardiomyopathie hypertrophie (CMH) et d'accidents vasculaires cérébraux. Peu de données sont disponibles dans la littérature sur les relations entre ces différentes atteintes. Dans cette étude, l'atteinte cérébro-vasculaire a été évaluée pour le sous-groupe des patients en insuffisance rénale terminale bénéficiant d'une épuration extra-rénale : dialyse ou transplantation. Patients et méthodes : 14 patients hémizygotes (âge : 48 ± 8 ans, intervalle : 38-66 ans) furent inclus dans cette étude. Le diagnostic fut dans tous les cas confirmé par une activité alpha-galactosidase A effondrée et l'identification de la mutation dans le gène GLA. Une IRM cérébrale avec injection et une échographie cardiaque furent réalisées chez tous les patients pour étude de la vascularisation cérébrale et de la morphologie cardiaque, respectivement. Résultats : une ou des lacunes cérébrales furent identifiées 56 % des cas (5/9), des séquelles d'accident vasculaire cérébral (AVC) dans 14 % (2/14), une leucoencéphalopathie sévère avec un score de Fazekas entre 8 et 9 dans 50 % des cas (7/14), un diamètre élevé du tronc basilaire (>4,7 mm) dans 75 % des cas mesurés (9/12) et un diamètre élevé des artères cérébrales moyennes (M1 > 3,7 mm) dans 50 % des cas (7/14). Un hypersignal T1 des pulvinaires, signe très spécifique de la MF fut retrouvé dans 57 % des cas. Enfin, 11 patients sur 14 (79 %) étaient porteurs d'une CMH. Douze mutations différentes du gène GLA furent identifiées : p.Arg227Stop, p.Met42Arg, p.Cys52Arg, p.Phe295Cys, p.Gly183Asp, p.Gln306Stop, p.Lys168Asn, p.Ser345del2pb, p.Leu243Phe, p.Asp266Glu, p.Glu358Gly, p.Cys202Trp ; parmi lesquelles 2 mutations non-sens, 9 mutations faux-sens, et une délétion de petite taille. La majorité des mutations identifiées perturbe la structure tridimensionnelle de l'alpha-galactosidase A [2]. Aucune corrélation génotype – phénotype n'a pu être établie. Discussion : Une prévalence élevée d'AVC, de lacunes cérébrales, de leucoencéphalopathie sévère, de dolichoectasies et de CMH fut observée chez ces patients en IRC terminale, justifiant l'indication d'une thérapie enzymatique substitutive en prévention ou traitement des atteintes cardiaques et cérébro-vasculaires qui ne sont pas corrigées par l'épuration extra-rénale.

#### Références

1. Germain DP. Fabry disease. Orphanet J Rare Dis 2009, sous presse.
2. Garman SC. Structure-fonction relationship in a-galactosidase A. Acta Paed. 2007 ; 96 : 6-16.

**Mots-clés :** maladie de Fabry, IRM cérébrale, alpha-galactosidase.

### ■P672. LE PSEUDOXANTHOME ÉLASTIQUE : UNE CAUSE GÉNÉTIQUE DE DÉFICIT VISUEL SÉVÈRE CHEZ L'ADULTE JEUNE

K. Bénistan (1, 2), S. Mokhtari (3), C. Orssaud (4), R. Carlier (3), C. Vallée (3), X. Jeunemaitre (5), A.L. Fauret (5), C. Perronne (6), D.P. Germain (1, 2, 7)

(1) Centre de référence de la maladie de Fabry et des maladies héréditaires du tissu conjonctif, Hôpital Raymond-Poincaré, Garches, France ; (2) Service de Génétique médicale, Hôpital Raymond-Poincaré, Garches, France ; (3) Service de Radiologie, Hôpital Raymond-Poincaré, Garches, France ; (4) Service d'Ophtalmologie, Hôpital Européen Georges-Pompidou, Paris, France ; (5) Service de Génétique, Hôpital Européen Georges-Pompidou, Paris, France ; (6) Département de Médecine Aiguë, Hôpital Raymond-Poincaré, Garches, France ; (7) Université de Versailles – St Quentin en Yvelines (UVSQ), France

Contact : karelle.benistan@rpc.aphp.fr

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. Les manifestations cliniques sont dermatologiques, ophtalmologiques et cardio-vasculaires, dues à des lésions calcifiantes des fibres élastiques. Les lésions vasculaires touchent les artères des membres, les coronaires, les axes carotidiens et vertébraux [1, 2]. Nous rapportons l'observation d'une femme de 53 ans, née de parents non consanguins, chez laquelle un diagnostic de pseudoxanthome élastique fut posé en 2006 devant des lésions dermatologiques. Elle a présenté une atteinte ophtalmologique s'étant manifestée par une vision floue à 49 ans, en rapport avec des néovaisseaux maculaires. Son acuité visuelle était de 1/10, Parinaud 20 à droite avec 2 lésions néovasculaires fibrosées au fond d'œil et de 6/10 Parinaud 2 faible à gauche avec des stries angioïdes et une lésion néovasculaire choroïdienne en position rétro-fovale. Elle a bénéficié d'un traitement par photothérapie dynamique puis injections intra-vitréennes bilatérales de ranibizumab, ayant permis d'apparemment stabiliser les lésions. Sur le plan vasculaire, elle présentait des lésions d'artériosclérose précoce diffuses avec une artériopathie oblitérante des membres inférieurs (nécessité d'un pontage fémoro-poplitée à 49 ans). Elle a par ailleurs présenté un déficit neurologique avec des troubles sensitifs de l'hémicorps gauche durant quelques semaines à l'âge de 51 ans, ayant révélé à l'IRM cérébrale de multiples hypersignaux punctiformes de

la substance blanche bilatérale, une lacune cérébelleuse droite et un aspect grêle de l'artère carotide interne. La patiente est hétérozygote composite pour 2 mutations (c.4209 A(-2)>C) sur le site accepteur d'épissage de l'intron 29 et p.Trp1447Stop dans l'exon 30 du gène ABCC6. Cette observation illustre l'atteinte poly-viscérale communément retrouvée chez les patients atteints de PXE et la particulière gravité de l'atteinte ophtalmologique. Nous recommandons la réalisation systématique d'un fond d'œil tous les 6 à 12 mois et d'une angiographie rétinienne en cas de signe d'appel, afin de dépister précocement d'éventuelles complications. L'intérêt des nouvelles possibilités thérapeutiques ophtalmologiques (3), actuellement non enregistrées pour le PXE, devraient faire l'objet d'études contrôlées.

#### Références

1. Vanakker OM *et al.* Novel clinico-molecular insights in pseudoxanthoma elasticum provide an efficient molecular screening method and a comprehensive diagnostic flowchart. *Hum Mutat* 2008 ; 29 : 205.
2. Germain DP *et al.* Homozygosity for the R1268Q mutation in MRP6, the pseudoxanthoma elasticum gene, is not disease-causing. *Biochem Biophys Res Commun* 2000 Aug 2 ; 274 (2) : 297-301.
3. Teixeira A *et al.* Choroidal neovascularization treated with intravitreal injection of bevacizumab (Avastin) in angioid streaks. *Acta Ophthalmol Scand* 2006 ; 84(6) : 835-6.

**Mots-clés** : pseudoxanthome élastique, ABCC6.

#### ■P673. LA DOULEUR DANS LE SYNDROME D'EHLERS-DANLOS HYPERMOBILE

V. Martinez (1, 2), K. Benistan (3, 4), M.N. Gaveau-Glantin (5), D. Bouhassira (2), F. Roffi (6), C. Perronne (7, 8), D. Fletcher (1, 2, 8), D.P. Germain (3, 4, 8)

(1) *Service d'Anesthésie Réanimation Chirurgicale, CHU Raymond-Poincaré, Garches, France* ; (2) *INSERM, U-792, Centre d'Évaluation et de Traitement de la Douleur, CHU Ambroise Paré, Boulogne-Billancourt, France* ; (3) *Centre de référence de la maladie de Fabry et des maladies héréditaires du tissu conjonctif (Mucopolysaccharidoses, pseudoxanthome élastique et syndromes d'Ehlers-Danlos), CHU Raymond-Poincaré, Garches, France* ; (4) *Service de Génétique Médicale, CHU Raymond-Poincaré, Garches, France* ; (5) *Association Française des Syndromes d'Ehlers-Danlos (AFSED), Tours, France* ; (6) *Service de radiologie, CHU Raymond-Poincaré, Garches, France* ; (7) *Département de Médecine Aigue Spécialisée, CHU Raymond-Poincaré, Garches, France* ; (8) *Université de Versailles – St Quentin en Yvelines, Versailles, France*  
*Contact* : dominique.germain@rpc.aphp.fr

**Introduction** : Les syndromes d'Ehlers-Danlos (SED) sont un groupe de maladies héréditaires du tissu conjonctif. Le type hypermobile (OMIM #130020) est le plus fréquent rendant compte d'environ 60 % des observations dans notre expérience. Il associe hyperlaxité articulaire, hyperélasticité cutanée, douleurs diffuses et asthénie. Alors que la douleur est un signe cardinal du SED hypermobile, son étiologie est mal connue et la littérature quasi-inexistante sur le sujet. **Méthodologie** : Étude prospective descriptive de la douleur chez des patients atteints du SED hypermobile adressés par le centre de référence des maladies héréditaires du tissu conjonctif. Recueil systématisé des caractéristiques de la population, du nombre et du type d'événements douloureux, de la topographie, de la durée et de l'évolution de la douleur. Évaluation des caractéristiques de la douleur par des questionnaires validés. Exploration des fibres de la nociception par test sensitif quantifié en regard de l'articulation la plus douloureuse et l'exploration de la proprioception. **Résultats** : 30 patients atteints du SED ont été examinés. Le sex ratio F/H était de 25/5 et l'âge moyen de 24 ans. Les événements douloureux ont débuté en moyenne à 11 ans, l'évolution vers la douleur chronique à 19 ans et le diagnostic de SED fut porté à 23 ans en moyenne, soulignant le retard diagnostique. L'évolution vers la douleur chronique fut progressive dans 3/4 des cas. Des douleurs aiguës, brèves et imprévisibles se sont ajoutées à un fond douloureux. La fréquence moyenne des sub-luxations était de 7 par jour, celle des luxations de 15 par an, conduisant aux urgences 9 fois par an. Petites et grosses articulations étaient douloureuses (7 articulations en moyenne). La douleur était d'intensité élevée (min 4,4- max 8,2/10 sur l'EVA). Une hypersensibilité cutanée fut rapportée par 50 % des patients. Une allodynie au frottement fut retrouvée chez 30 % des patients. En regard de l'articulation la plus douloureuse, une hypoesthésie au chaud fut constatée chez 50 % des patients et le DN4 fut positif dans 3/4 des cas. On retrouvait une asymétrie de la détection de la vibration sur au moins une articulation du membre inférieur chez 80 % des patients. Le retentissement fonctionnel était majeur et objectif par des scores totaux élevés au BPI (moyenne = 61/110). La fatigue fut retrouvée chez 29/30 des patients et évaluée à 7,2/10. L'absentéisme scolaire fut évalué à 4 jours/mois et 3/4 des adultes étaient sans emploi. Les scores d'anxiété-dépression

étaient bas malgré un taux de tentatives de suicide élevé (23 %). **Conclusion** : Ce travail apporte des données nouvelles sur la douleur et son retentissement dans le SED hypermobile. Il oriente sur certains mécanismes en cause tels que les douleurs neuropathiques localisées et des phénomènes de sensibilisation centrale. Il va permettre d'ouvrir un champ de recherche pour une meilleure connaissance et reconnaissance du SED hypermobile.

**Mots-clés** : syndrome d'Ehlers-Danlos.

#### ■P674. THE BURDEN OF CARDIOVASCULAR MANIFESTATIONS IN MEN AND WOMEN PRESENTING WITH FBN1 MUTATIONS

D. Detaint (1), L. Olivier-Faivre (2), A. Child (3), B.L. Loeys (4), L.C. Aedes (5), E. Arbustini (6), P.N. Robinson (7), A. De Paepe (4), C. Boileau (1, 8), G. Jondeau (1)

(1) *Centre de référence pour le syndrome de Marfan et apparentés, Hôpital Bichat, Paris, France* ; (2) *Hôpital du Bocage, Dijon, France* ; (3) *Department of Cardiac and Vascular Sciences, St George's, University of London, Cranmer Terrace, London, United Kingdom* ; (4) *Center for Medical Genetics, Ghent University Hospital, Ghent, Belgium* ; (5) *Department of Clinical Genetics Marfan Research Group, The Children's Hospital at Westmead Discipline of Paediatrics and Child Health, University of Sydney, Sydney, Australia* ; (6) *Department of Cardiology, Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo, Pavia, Italy* ; (7) *Institute for Medical Genetics, Charité-Universitätsmedizin Berlin, Berlin, Germany* ; (8) *Hôpital Ambroise Paré, Boulogne-Billancourt, France*

*Contact* : guillaume.jondeau@bch.aphp.fr

**Background** : In patients with Marfan syndrome (MFS) or other type 1 fibrillinopathy, cardiovascular (CV) involvement is the most troublesome feature. Nevertheless few data exist on its natural history and in gender-related differences of presentation and management. **Objectives** : 1) To analyze CV risks and surgical management of patients with FBN1 mutation; 2) To describe temporal trends over time. **Methods** : From a series of 1013 probands with pathogenic FBN1 mutations, data for 965 patients (median of age 22 years, male gender 53 %) without neonatal MFS were analyzed. **Results** : Overall the probability of ascending aortic (AA) dilatation increased throughout life, becoming almost inevitable in adulthood (Figure). Regarding gender-related differences, women compared to men ( $\leq 40$  y : 69[99%CI:62-75] vs 79[99%CI:73-84],  $p = 0.0076$ ) were at lower risk of developing AA dilatation. Risks of AA dissection and prophylactic surgery were exceptional before 20 years and then increased progressively (Figure). Despite comparable risks of AA dissection ( $p = NS$ ), probability of AA prophylactic surgery was significantly lower in women than in men ( $\leq 40$  y : 13[99%CI:18-20] vs 23[99%CI:17-31],  $p = 0.0023$ ). For mitral valve (MV) involvement probability of MV prolapse and MV regurgitation increased with age whereas MV surgery remained low over time (figure). No differences were observed between gender (for all  $p = NS$ ). Despite similar rate of AA dilatation over time ( $p$  for trend = 0.88), rate of dissection significantly decrease from 1985 to 2000 ( $p$  for trend = 0.01) **Conclusion** : Occurrence CV events in patients with FBN1 mutation increases throughout life. For men and women aortic monitoring is mandatory during all life. The absence of aortic dilatation should not lead to stop regular echocardiographic aortic follow-up.

**Mots-clés** : FBN1, marfan.

#### ■P675. ÉVALUATION MULTIDISCIPLINAIRE LONGITUDINALE DE 69 ENFANTS PORTEURS D'UNE ACHONDROPLASIE, ÉTUDE DE COHORTE

G. Baujat (1\*), V. Cormier-Daire (1\*), V. Topouchian (2\*), V. Couloigner (3), J. de Blic (4), G. Finidori (2\*), C. Ricour (5), T. Roujeau (6), M. Zerah (6), A. Munnich (1), M. Le Merrer (1\*)

(1) *Département de Génétique Médicale (AP-HP), Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France* ; (2) *Département d'Orthopédie Pédiatrique (AP-HP), Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France* ; (3) *Département d'ORL Pédiatrique (AP-HP), Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France* ; (4) *Département de Pneumologie Pédiatrique (AP-HP), Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France* ; (5) *Nutrition Infantile (AP-HP), Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France* ; (6) *Département de Neurochirurgie Pédiatrique (AP-HP), Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France* ; \* *Centre de Référence – Maladies Osseuses Constitutionnelles*  
*Contact* : genevieve.baujat@nck.aphp.fr

L'achondroplasie est une des plus fréquentes chondrodysplasies, avec une incidence estimée à 1/20 000 naissances. Elle est caractérisée par un déficit statural disproportionné rhizomélisque, une hypoplasie de l'étage moyen de la face avec macrocrairie, des mains courtes avec doigts en trident et une hyperlordose. Cette affection est associée à des mutations du Fibroblast

Growth Receptor 3 (FGFR3), dans 98 % des cas une mutation récurrente, G1138A. Les complications sont âge-dépendantes et déterminent des schémas de prise en charge évolutifs précis. Chez l'enfant achondroplase, compression cervicomédullaire, troubles de la statique du rachis et des membres, troubles respiratoires et surcharge pondérale sont les principales préoccupations qui s'intriquent pendant les premières années de vie. Le développement cognitif est en règle normal mais certains enfants peuvent présenter un retard de langage et des difficultés d'apprentissage, récemment montrés comme secondaires aux difficultés respiratoires. Il a été également récemment publié un taux important de complications cardio-vasculaires à l'âge adulte. Nous rapportons ici l'étude rétrospective d'une cohorte de 69 sujets achondroplases, suivis depuis 15 ans de façon consécutive aux Enfants Malades, et pour lesquels ont été étudiés spécifiquement entre 0 et 15 ans : 1/ la charnière occipitale par une IRM entre 6 et 48 mois (anormale avec intervention de libération médullaire chez 30 %) ; 2/ la statique dorsolombaire (cyphose dorsolombaire nécessitant un corset chez 38 %) ; 3/ les voies aériennes supérieures (syndrome obstructif objectivé à la polysomnographie entre 1 et 6 ans chez 38 % des moins de 8 ans) ; 4/ l'évolution des paramètres anthropométriques avec étude de l'indice de corpulence (IC) ; 5/ la qualité du langage et la réussite scolaire (difficultés modérées chez 16 sur 57 soit 28 %). Nous comparons l'évolution de l'IC avec des courbes publiées spécifiques de l'achondroplase, et montrons des corrélations entre l'incidence des complications neurochirurgicales et respiratoires, la survenue d'une obésité et les difficultés d'apprentissage. Ce travail confirme l'importance d'un suivi médicochirurgical précoce, de la détection de la sténose de la charnière cervicale et des troubles respiratoires dont la prise en charge adaptée est garant d'une évolution cognitive normale.

**Mots-clés :** achondroplase, prise en charge, cohorte.

#### ■P676. IMPACT DE LA MALADIE DE HUNTINGTON SUR L'ENTOURAGE DU PATIENT

C. Minet, D. Van Paemel, C. Verellen-Dumoulin, P.E. Ribai  
Centre de Génétique Humaine, Institut de Pathologie et de Génétique, Gosselies, Belgique  
Contact : [pascale.ribai@ipg.be](mailto:pascale.ribai@ipg.be)

La maladie de Huntington est une maladie neurodégénérative qui se manifeste par des signes moteurs, cognitifs et psychiatriques. Le mode de transmission autosomique dominant, l'atteinte multisystémique et le caractère évolutif de cette maladie la rendent invalidante non seulement pour le patient lui-même, mais aussi pour son entourage. Des traitements symptomatiques dans le cadre d'une prise en charge multidisciplinaire permettent d'améliorer la qualité de vie du malade et de son entourage. Cependant, peu d'études ont permis d'évaluer de manière objective l'impact de la maladie sur l'entourage du patient. Nous avons analysé les réponses de 13 accompagnants (10 conjoints, 2 filles et 1 sœur) de patients au questionnaire de qualité de vie de l'aidant développé en 1999 par le consortium sur l'étude de la neuroprotection et l'histoire naturelle des syndromes parkinsoniens plus (NNIPPS) et utilisé actuellement dans le réseau européen sur la maladie de Huntington. Les 13 patients étaient âgés en moyenne de 56,6 ans (45-73 ans). L'âge de début moyen de la maladie estimé par le patient était de 49,9 ans (34-63 ans), 3 patients n'ayant pas pu déterminer l'âge auquel les premiers symptômes étaient apparus. Nous avons constaté que l'accompagnant estimait l'âge de début de la maladie plus tôt que celui estimé par le patient, avec une différence moyenne de 3,5 ans (0-14 ans). Parmi les 13 patients, 5 avaient eu ou ont une addiction à l'alcool. Le score total moyen de l'échelle était de 27/96 (7-73/96), montrant de manière surprenante une qualité de vie globale de l'aidant légèrement altérée par la maladie du patient. Cependant, certaines questions de l'échelle n'étaient pas applicables pour les aidants autres que les conjoints. Nous n'avons pas trouvé de corrélation entre la dégradation de la qualité de vie de l'aidant et la sévérité de la maladie déterminée par le médecin. Nous n'avons pas non plus trouvé de corrélation entre la dégradation de la qualité de vie de l'aidant et son degré de proximité avec le patient. Nous avons analysé en détail 3 items de l'échelle et avons constaté que 10 aidants/13 avaient un sommeil perturbé avec une fatigue diurne secondaire, 6 aidants/11 rencontraient des difficultés dans leur couple et 6 aidants/12 rencontraient des difficultés professionnelles du fait de la maladie de leur parent. Des études avec un plus grand nombre de patients et un outil adapté à la maladie de Huntington sont nécessaires pour évaluer l'impact de la maladie sur la qualité de vie de l'entourage, en prenant en compte le degré de parenté mais aussi la proximité au quotidien entre l'aidant et le patient.

**Mots-clés :** Maladie de Huntington, entourage, aidant.

#### ■P677. PROBLÈMES DE SANTÉ DANS UN GROUPE DE 143 ADULTES PORTEURS DE TRISOMIE 21 EN FRANCE

B. de Fremerville, K. Parisi, R. Dupre Latour, F. Prieur, R. Touraine

M/S hors série n° 1, vol. 26, janvier 2010

Service de Génétique Clinique Chromosomique et Moléculaire, Centre Hospitalier et Universitaire, Saint Étienne, France  
Contact : [benedicte.de.fremerville@chu-st-etienne.fr](mailto:benedicte.de.fremerville@chu-st-etienne.fr)

L'espérance de vie des personnes porteuses de trisomie 21 a considérablement augmenté ces dernières années. Cependant ces personnes présentent un risque augmenté de développer certaines pathologies qui restent souvent non diagnostiquées. Nous avons souhaité, sur un grand groupe de personnes porteuses de trisomie 21, 1) évaluer leur état de santé et l'accès aux soins, 2) mesurer leurs habiletés sociales et cognitives et 3) retracer leur histoire médicale, éducative et rééducative. Pour cela les participants à l'étude ont été vus en consultation en présence d'un parent ou d'un éducateur. Le recueil des données s'est fait au moyen d'un questionnaire interrogeant la personne trisomique et l'accompagnant sur l'histoire médicale, les traitements, le sommeil, les problèmes de comportement (Échelle de Reiss), les capacités adaptatives (Échelle de Vineland), la présence de signes évoquant une démence (Échelle de Geydie), l'accès au système de soins, les accompagnements et prises en charge tout au long de la vie, le travail, les lieux de vie et les loisirs. Les personnes incluses dans l'étude ont eu un examen médical, des examens biologiques et ont été évaluées au moyen des Matrices progressives, colorées de Raven. Entre 2005 et 2008 nous avons inclus 143 adultes porteurs de trisomie 21, 72 femmes et 71 hommes. La moyenne d'âge est de 38,5 ans (20 à 72 ans). Plusieurs problèmes médicaux et dentaires non connus ont été détectés (hypothyroïdisme, maladie coeliaque, cataracte, surdité, apnée du sommeil, maladie d'Alzheimer...). Nous avons aussi trouvé des difficultés d'accès aux soins pour cette population. Cette étude confirme la nécessité d'un suivi et de bilans réguliers des personnes porteuses de trisomie 21, orientés sur la prévention des problèmes médicaux spécifiques liés à la trisomie 21. Un dossier médical informatisé, contenant les données importantes concernant la personne et partagé entre les médecins pourrait être intéressant dans le but d'améliorer la prise en charge et l'accès aux soins de cette population.

**Mots-clés :** Trisomie 21, suivi médical, adulte.

#### ■P678. DEVENIR PSYCHO-SOCIAL DE 13 ADULTES PORTEURS D'UN SYNDROME DE NOONAN

J. Piard (1), M. Marvier (1), C. Beneteau (1, 2), J. Vigneron (2), H. Cavé (3), B. Leheup (1)  
(1) Centre de Référence Est Syndromes Malformatifs et Anomalies du Développement, Service de Génétique Clinique CHU de Nancy et EA 4368, Faculté de Médecine Nancy-Université Henri Poincaré, Nancy, France ; (2) Unité de Génétique, Maternité Régionale de Nancy, Nancy, France ; (3) Laboratoire de Biochimie et Génétique, Hôpital Robert Debré, Paris, France  
Contact : [bruno.leheup@wanadoo.fr](mailto:bruno.leheup@wanadoo.fr)

Le syndrome de Noonan est bien décrit dans ses aspects cliniques pédiatriques et génétiques moléculaires. Les études concernant les adultes sont plus rares. 13 adultes, porteurs d'un syndrome de Noonan avec confirmation moléculaire âgés de plus de 18 ans, 7 femmes et 6 hommes ont accepté une évaluation psychologique et ont rempli un questionnaire analysant leur parcours scolaire. Les performances cognitives ont été évaluées par la WAIS III. Le test de personnalité du Rorschach a été utilisé. L'évaluation de la qualité de vie a été réalisée par l'échelle WHOQOL-BREF, questionnaire d'auto-évaluation relatif à la santé physique, la santé psychologique, les relations sociales et l'environnement. Le questionnaire d'adaptation sociale SAS-SR (Social Adjustment Scale - Self Report) a également été administré qui évalue l'interaction entre l'individu et l'environnement social. Pour 8 des patients, le diagnostic a été porté dans l'enfance et 5 sont des parents dont l'anomalie génétique a été confirmée après diagnostic chez leur enfant. La moyenne d'âge est de 31,5 ans. La scolarité a été adaptée pour un tiers des sujets. Le dernier diplôme est un BEPC (1), un CAP ou BEP (3), un Brevet professionnel (1), un Bac pro (1), un Bac général (1) et un diplôme universitaire (3), 3 n'ont aucun diplôme. Le profil est proche de celui de la population générale de 25 à 49 ans. Le QI moyen est de 84,5 avec deux sujets présentant un retard mental (53 et 61). Le QI de Performance est de 88,4 et le QI Verbal est de 82,9 en moyenne. Le QI moyen des cas index (77,5) est inférieur à celui des parents porteurs (95,8). Si 70 % des sujets bénéficient d'un suivi médical spécifique, aucun ne se considère comme malade. L'étude de personnalité permet de retrouver une moindre référence formelle, une relative immaturité affective et une difficulté d'imagination créatrice. Le score total au WHOQOL-BREF est de 96,5 sur 120. Les patients estiment avoir une meilleure santé physique (81,8) comparativement à leurs relations sociales (78,2), leur santé psychologique (76,3) et surtout à la qualité de leur environnement (71,8). Pour le SAS-SR la note moyenne est de 1,65 (1,35 à 2,15) témoignant d'une bonne adaptation sociale globale ; le score moyen du critère d'adaptation au Travail est de 1,36 et celui de l'adaptation à la situation





matérielle est de 1,15. Concernant les critères vie sociale et loisirs, vie de famille et foyer familial, les scores moyens obtenus sont nettement inférieurs, respectivement de 1,78, 1,82 et 1,77 témoignant d'une meilleure adaptation dans des domaines concrets que dans les domaines plus relationnels. La petite taille de la série ne permet pas de faire de liens avec les données moléculaires. En conclusion les données concernant cette série de patients adultes ne permettent pas de retrouver de différence significative en ce qui concerne le profil de personnalité et les résultats sont globalement bons en terme de qualité de vie et d'adaptation sociale.

**Mots-clés :** Noonan, adulte, devenir psycho-social.

#### ■P680. LE RESENTI DES DEMANDEURS D'UN DIAGNOSTIC PRÉSYMPTOMATIQUE DE LA MALADIE DE HUNTINGTON : AVANT ET APRÈS LE RÉSULTAT

M. Gargiulo (1, 2), S. Tezenas Du Montcel (3), C. Zarus (1), J. Feingold (1) A. Durr (1, 2)

(1) AP-HP, Département de Génétique et Cytogénétique, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France ; (2) Inserm U975, Université Pierre-et-Marie-Curie-Paris6, Centre de Recherche de l'Institut du Cerveau et de la Moelle Épinière, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France ; (3) AP-HP, Département de Biostatistique and Information médicale, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France

Contact : alexandra.durr@upmc.fr

Le diagnostic présymptomatique (DPS) de la Maladie de Huntington (MH) est réalisé depuis 1992 dans notre centre et inclut plusieurs entretiens avec l'équipe pluridisciplinaire. Ceux-ci comportent une première phase d'information avec le généticien, suivie d'une phase de préparation avec la psychologue, et enfin de l'analyse génétique et du résultat. Notre but est de connaître le ressenti des personnes demandeuses d'un DPS avant et après le résultat. Nous avons distribué entre 1996 et 2001 un questionnaire Q1 aux consultants à l'issue de la première consultation d'information et un autre questionnaire Q2 après le résultat du DPS. 271 questionnaires Q1 ont été analysés et 152 questionnaires Q2. Ceci signifie que 60 % ont abandonné leur démarche suite au premier entretien. Parmi ceux qui ont continué et obtenu un résultat, 90 étaient porteurs de l'anomalie génétique et 117 non porteurs. 37 % des demandeurs déclarent que l'information génétique donnée par le généticien était différente de celle dont ils disposaient. La durée de la préparation ne leur semblait pas assez longue dans seulement 1/271 avant le résultat. Par contre après le résultat, 35 % estimaient que la préparation n'a pas été assez longue. Les motivations les plus citées ont été « lever le doute et savoir » (28 %), « anticiper » (18 %), « pour la descendance » (18 %) et « désir d'enfant » (18 %). 11 % n'ont indiqué aucune motivation pour faire un DPS. La décision a été prise majoritairement (63 %) par la personne elle-même et seule. 30 % seulement doutaient de leur choix. Ils pensaient que le fait d'avoir demandé un DPS ne changerait pas leur vie (59 %), et seulement 32 % pensaient que leur vie changerait énormément après le résultat. Après l'annonce du résultat du test, 73 % indiquaient que le résultat changeait leur vie. D'une façon intéressante, 60 % indiquaient avant de poursuivre la démarche qu'ils demanderont un diagnostic prénatal en cas de résultat défavorable, sachant que seulement 16 % ont réalisé ce choix. Après le résultat, les porteurs se sentent « mal » (52 %) mais 35 % ont un vécu positif (*versus* 92 % des non porteurs,  $p < 0,001$ ). 88 % des demandeurs étaient satisfaits d'avoir fait le test malgré leur résultat défavorable. 43 % s'auto-observaient et guettaient les premiers symptômes de la maladie, *versus* 13 % parmi les non-porteurs, qui continuaient à être dans le doute malgré leur résultat favorable ( $p < 0,05$ ). Conclusion : Les consultations d'information et de préparation s'avèrent utiles car elles permettent aux demandeurs de DPS d'être mieux informés et moins banaliser l'impact que le résultat du test aura sur leur vie future. La satisfaction par rapport à leur participation, quelque soit le résultat, souligne que de vivre dans le doute sur son statut représente en soi un véritable fardeau. Il est important pour les professionnels, qui prennent en charge des demandeurs de DPS, de prendre en compte et discuter ces changements de ressenti après le résultat.

**Mots-clés :** diagnostic présymptomatique, maladie de Huntington, diagnostic prénatal.

#### ■P681. EFFICACY AND SAFETY OF BEVACIZUMAB FOR THE TREATMENT OF HEMORRHAGIC HEREDITARY TELANGIECTASIA (HHT) ASSOCIATED WITH SEVERE HEPATIC VASCULAR MALFORMATIONS. PRELIMINARY RESULTS OF A PHASE II STUDY

S. Dupuis-Girod (1), I. Ginon (2), E. Guillot (3), F. Faure (4), D. Marion (5), E. Decullier (6), P.-J. Valette (3), D. Revel (7), S. Giraud (8), F. Chaupuis (6), J.-C. Saurin (9), H. Plauchu (1)

(1) Hospices Civils de Lyon, Hôpital de l'Hôtel Dieu, Service de Génétique et centre de référence sur la maladie de Rendu-Osler, Lyon ; (2) Hospices Civils de Lyon, CH Lyon Sud, Service de Cardiologie, Pierre-Bénite, France ; (3) Hospices Civils de Lyon, CH Lyon Sud, Service de Radiologie, Pierre-Bénite, France ; (4) Hospices Civils de Lyon, Hôpital E. Herriot, Service d'ORL, Lyon, France ; (5) Hospices Civils de Lyon, Hôpital de l'Hôtel Dieu, Service de Radiologie, Lyon, France ; (6) Hospices Civils de Lyon, pôle IMER, Unité de Recherche Clinique, Lyon, France ; (7) Hospices Civils de Lyon, Hôpital Louis Pradel, Service de Radiologie, Bron, France ; (8) Hospices Civils de Lyon, Hôpital Édouard Herriot, Service de génétique moléculaire, Lyon, France ; (9) Hospices Civils de Lyon, CH Lyon Sud, Service d'Hépatogastroentérologie, Pierre-Bénite, France

Contact : sophie.dupuis-girod@chu-lyon.fr

Introduction : La maladie de Rendu-Osler (MRO) est une maladie vasculaire rare, de transmission autosomique dominante dont le diagnostic clinique repose sur l'association d'au moins 3 critères parmi les suivants : épistaxis, télangiectasies, caractère héréditaire, présence de malformations artério-veineuses viscérales (hépatiques, pulmonaires, cérébrales ou médullaires). Deux gènes dont les allèles mutés sont responsables de la MRO ont été identifiés et sont responsables de 90 % des cas de MRO : ENG qui code pour une protéine transmembranaire appelée endogline, et ALK-1, gène de l'activine receptor like kinase de type I. La MRO serait liée à un déséquilibre de la balance « angiogénique » entre des facteurs pro-angiogénique (VEGF) et anti-angiogéniques (ALK1, BMP9). L'efficacité de traitements anti-VEGF comme le Bevacizumab a donc été envisagée dans les formes hépatiques sévères de MRO du fait des mécanismes moléculaires impliqués dans l'angiogenèse et confortée par l'amélioration de deux patients atteints de MRO avec formes hépatiques sévères responsables d'une élévation du débit cardiaque. En outre, le seul traitement curatif actuellement recommandé dans les formes hépatiques sévères de MRO est la transplantation hépatique.

Méthodologie : Il s'agit d'une étude de phase II, monocentrique. Un plan expérimental selon la méthode Gehan a été utilisé avec une première phase conçue pour éliminer rapidement un traitement inefficace et une deuxième phase permettant d'évaluer l'efficacité. Sept patients devaient être inclus dans la première étape et, selon les premiers résultats, 18 patients supplémentaires seront inclus dans la deuxième phase. Les patients inclus devaient être âgés de 18 et 70 ans, avoir un diagnostic confirmé de MRO avec une atteinte hépatique sévère responsable d'un hyperdébit cardiaque. Modalités de traitement : Le Bevacizumab est administré par voie intraveineuse à la dose de 5 mg/kg tous les 14 jours avec un total de 6 injections. Objectif principal : tester l'efficacité du Bevacizumab dans les formes hépatiques sévères de MRO. L'efficacité était définie comme une diminution de l'index cardiaque (IC), 3 mois après la première injection, par rapport à la valeur initiale au début de l'essai.

Résultats : 7 patients ont été inclus pour la première phase, parmi lesquels 2 patients n'ont pas reçu le traitement. La diminution moyenne de l'IC observée chez les 5 patients était de 9 % à 3 mois avec une réponse partielle chez 3 patients (diminution moyenne de 15 %) et une non réponse chez 2 patients. Parmi les critères secondaires enregistrés, une nette amélioration des épistaxis a été observée. La tolérance du traitement a été bonne. Une seule toxicité imputable au traitement, de grade 3 a été notée (hypertension artérielle facilement équilibrée avec un traitement médicamenteux). Conclusion : Le Bevacizumab a permis une diminution de l'hyperdébit cardiaque lié aux shunts hépatiques dans la MRO à 3 mois chez 3/5 des patients traités. Ceci autorise la poursuite de l'étude.

(Étude faite avec l'aide des laboratoires Roche).

**Mots-clés :** maladie de Rendu-Osler, Bevacizumab, shunt hépatique.

#### ■P682. UNE INTERVENTION THÉRAPEUTIQUE ANAPLÉROTIQUE DE COURTE DURÉE AMÉLIORÉ LE MÉTABOLISME ÉNERGÉTIQUE PÉRIPHÉRIQUE DANS LA MALADIE DE HUNTINGTON

F. Mochel (1), C. Jauffret (2), S. Duteil (3), C. Marelli (1), N. Baclet (4), L. Sweetman (5), D. Rabier (6), A. Brice (1, 2), P. Carlier (3), A. Dürr (1, 2) (1) INSERM UMR S975, Hôpital de La Salpêtrière, Paris, France ; (2) Département de Génétique et Cytogénétique, Hôpital de La Salpêtrière, Paris, France ; (3) Laboratoire de RMN, Institut de Myologie, Hôpital de La Salpêtrière, Paris, France ; (4) Service de diététique, Hôpital de La Salpêtrière, Paris, France ; (5) Institute of Metabolic Disease, Baylor Research Institute, Dallas, TX, USA ; (6) Laboratoire de Biochimie Métabolique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France

Contact : fanny.mochel@upmc.fr

A short-term anaplerotic therapeutic intervention improves peripheral energy metabolism in patients with Huntington disease. Introduction : Lors

de l'exploration de la perte de poids aux stades précoces de la maladie de Huntington, nous avons mis en évidence une anomalie métabolique systémique suggérant un besoin de substrats énergétiques au niveau du cycle de Krebs (Mochel *et al.*, PLoS ONE 2007). Les thérapies anaplérotiques utilisant la triheptanoïne sont développées en clinique afin de stimuler la production énergétique chez des patients présentant des déficits du cycle de Krebs à la fois au niveau central et périphérique. Par ailleurs, les métabolites de la triheptanoïne – les corps cétoniques en C5 – franchissent la barrière hémato-encéphalique. Méthodes : Nous avons mené un essai thérapeutique de courte durée – 4 jours – utilisant la triheptanoïne – 40 % de l'apport calorique total – chez 6 patients atteints de maladie de Huntington (UHDRS = 33 ± 13, 15-49). Nous avons mesuré le profil des acylcarnitines et des corps cétoniques en C5 plasmatiques, ainsi que le profil urinaire des acides organiques, de façon à s'assurer de la tolérance métabolique de la triheptanoïne. Nous avons aussi analysé des marqueurs du métabolisme énergétique périphérique impliqués dans les stades précoces de la maladie de Huntington, en particulier les taux sériques bas d'IGF1 et la spectroscopie RMN du phosphore<sup>31</sup> au niveau musculaire. Les données RMN ont été acquises au niveau de la jambe droite des patients toutes les 15 secondes pendant 15 minutes lors de la phase de récupération post exercice aérobie. Résultats : À l'état de base, la spectroscopie RMN-<sup>31</sup>P a mis en évidence une acidose musculaire post-exercice chez deux patients, responsable d'une augmentation du temps de rephosphorylation de la créatine (TCr). À J2, le repas test utilisant la triheptanoïne a été bien toléré chez tous les patients, et en particulier, il n'y a eu aucun signe de surcharge mitochondriale par les métabolites dérivés de la triheptanoïne. Après 4 jours d'utilisation de la triheptanoïne, nous avons observé une augmentation significative des taux d'IGF1 sériques chez tous les patients (205 ng/ml ± 59 *versus* 240 ng/ml ± 83, *p*<0,002). Par ailleurs, nous avons mis en évidence une correction complète de l'acidose musculaire et du TCr post-exercice chez les 2 patients présentant les anomalies métaboliques avant traitement. Conclusions : Cette étude apporte une preuve de concept en faveur de l'extension de l'approche anaplérotique avec la triheptanoïne dans le traitement du déficit énergétique de la maladie de Huntington. Ce travail souligne également l'intérêt d'utiliser la spectroscopie RMN-<sup>31</sup>P pour l'étude de marqueurs du métabolisme énergétique périphérique dans la maladie de Huntington.

**Mots-clés :** maladie de Huntington, déficit énergétique, traitement anaplérotique.

### ■P683. GÉNÉTIQUE ET CANCER MÉDULLAIRE DE LA THYROÏDE. DE LA CHIRURGIE CURATRICE À LA CHIRURGIE PROPHYLACTIQUE

M. Boudissa (1), A. Chikouche (2), M. Ait Abdallah (2), L. Griene (2), Y. Oukaci (2), M. Semrouni (1)  
(1) Service d'endocrinologie, EHS Centre Pierre-et-Marie-Curie(CPMC), Alger, Algérie ; (2) Laboratoire d'hormonologie, Unité de biologie Moléculaire CPMC, Alger, Algérie

Contact : mebarek.boudissa@yahoo.fr

Introduction. Le CMT est une tumeur neuroendocrine des cellules parafolliculaires de la thyroïde. Il représente 3,95 à 6,35 % des cancers thyroïdiens en Algérie. Il est soit sporadique dans 75 %, ou familial dans 25 % des cas, transmis sur le mode autosomique dominant. Le gène responsable du CMT est le proto-oncogène RET, marqueur génétique spécifique. But du travail. L'analyse systématique du gène RET devant tout nouveau cas de CMT au CPMC, à la recherche de formes familiales, afin de permettre une prise en charge précoce (voir dans certains cas prophylactique) des cas apparentés génétiquement à risque. Matériel et méthode. 38 CMT ont bénéficié d'une étude génétique, qui a permis de retrouver 7 formes familiales (18,42 %). L'enquête génétique chez 4 des 7 familles a retrouvé : – 2 cas dans une famille (A) mutation 768, – 3 cas dans la 2<sup>e</sup> famille (B) mutation 634. Une patiente apparentée de la famille B a refusé toute exploration. – Aucun dans les familles C et D. – Pour trois familles l'enquête est en cours. 2 de la famille A et 2 de la famille B, ont bénéficié d'une thyroïdectomie totale (TT1) et l'étude histologique a conclu : – chez la famille A : – Une thyroïde saine des deux cas, – Chez la famille B : – Un micro cancer de 2 mm avec hyperplasie des cellules C (HCC) multifocale et bilatérale dans un cas – Une hyperplasie multifocale et bilatérale chez l'autre. La guérison a été chez les 4 cas, confirmée par un test à la pentagastrine postopératoire normal. Conclusion. À travers ce modeste travail qui montre que grâce aux données du dépistage génétique nouvellement introduit en Algérie nous sommes passés de la chirurgie curatrice à la chirurgie prophylactique.

M/S hors série n° 1, vol. 26, janvier 2010

### ■P684. LES DÉFICITS EN BIOTINIDASES : INTÉRÊT DU DIAGNOSTIC PRÉCOCE

A. Mekki, K. Haddad, A. Lebled  
Service de Pédiatrie, CHU Parnet, H. Dey Alger, Algérie  
Contact : dr.lebled@yahoo.fr

Introduction Le déficit en biotinidase est une maladie génétique liée à une mutation du gène BTD situé sur le chromosome 3 en P25, transmise sur le mode autosomal récessif et responsable d'une perturbation des carboxylases. Les principaux symptômes apparaissent au cours des premiers jours de vie comprennent des signes cutanés, des manifestations neurologiques associées à une acidose lactique. Non traitée la maladie aboutit à la mort ou à des séquelles neurologiques. Objectif L'objectif de l'étude est de dégager les principaux signes cliniques et biochimiques de la maladie pour un diagnostic précoce aisé. Patients et méthodes À partir d'une série rétrospective de 08 cas hospitalisés, entre Janvier 2002 et Décembre 2007. Les nourrissons atteints 05 garçons et 03 filles étaient âgés de 01 à 08 mois au moment de leur hospitalisation. 06 cas présentaient des signes cutanés et neurologiques, des lésions cutanées pour 02 cas. Tous les malades ont bénéficié d'un bilan métabolique (gazométrie, lactates, pyruvates, et ammoniémie) avec EEG, FO et imagerie cérébrale. 07 malades d'une étude enzymatique (la Biotinidase sérique), 07 PEA ont été réalisés. 01 malade est décédé d'une infection intercurrente. Le recul moyen est de 3 ans. Discussion et résultats Notre étude comportait 08 cas dont 03 observés au sein d'une même fratrie. L'âge moyen au diagnostic était de 3,6 mois avec une légère prédominance masculine. Les signes cutanés étaient inauguraux dans les 08 cas (100 %) : conjonctivite bilatérale dans 08 cas (100 %) associée à une dermatose chez 06 malades (75 % des cas) et une alopecie avec perte des sourcils dans 04 cas (50 %). Les manifestations neurologiques apparaissent après un intervalle libre dans 100 % des cas avec hypotonie, épilepsie myoclonique dans les 06 cas et coma dans 04 cas. L'activité biotinidase était effondrée voire nulle chez 07 malades. 07 malades ont bénéficié d'un traitement par la biotine à raison de 10 mg/j 04 enfants présentent un retard mental dont 02 sévères. 04 PEA étaient pathologiques avec surdité bilatérale grave dans 02 cas. Conclusion Il ressort de notre étude que devant l'association de signes cutanés et d'une encéphalopathie progressive, le diagnostic de déficit en biotinidase est évoqué, il doit être confirmé par l'étude de l'activité de la biotinidase effondrée. C'est une encéphalopathie métabolique « traitable ». Le traitement remarquablement efficace repose sur l'administration à vie de biotine. Le pronostic est donc étroitement lié à la précocité du diagnostic pour prévenir les séquelles. Le dépistage systématique de cette affection est désormais possible.

**Mots-clés :** déficit en caboxylase, acidose métabolique, signes cutanés, alopecie.

### ■P685. PRISE EN CHARGE DE L'HYPODONTIE D'ENFANTS ATTEINTS DE DYSPLASIE ECTODERMIQUE

D. Favoli, C. Georges, C. Phillip, C. Tardieu  
Centre de compétence pour le traitement des manifestations odontologiques des maladies rares, Service d'odontologie, Hôpital Timone, Marseille, France  
Contact : corinne.tardieu@ap-hm.fr

Les dysplasies ectodermiques sont des maladies rares affectant sévèrement les organes issus de l'ectoderme fœtal, comme les dents. Elles entraînent donc des anomalies de l'émail dentaire (dérivé ectodermique), de la dentine et d'une partie du squelette maxillo-facial (dérivés mésodermiques). La fréquence des dysplasies ectodermiques est estimée à 1 à 7 pour 100 000 naissances toutes formes confondues. Des anomalies dentaires telles que les agénésies sont fréquemment notées puisqu'elles sont recensées dans 111 formes sur environ 160 décrites. L'hypodontie dentaire génère notamment des troubles du développement oro facial, un retard d'acquisition des praxies oro faciales et une perturbation de l'esthétique du visage. Dans le cadre de la consultation d'odontologie pédiatrique à l'hôpital de la Timone, les enfants sont pris en charge dès l'âge de 2 ans. Afin d'améliorer la prise en charge, un protocole de prise en charge est proposé selon les âges (denture temporaire, mixte ou permanente), la sévérité de l'hypodontie (oligontie, anodontie, d'une ou deux arcades) et selon les pathologies ou anomalies dentaires associées à l'hypodontie (anomalie d'éruption, anomalie de forme, dysharmonie dento-dentaire, carie, sécheresse buccale, dyspraxie linguale). Les propositions thérapeutiques techniquement possibles sont décrites telles que la réhabilitation prothétique, l'orthodontie, la restauration esthétique, l'orthophonie. Elles n'ont pas été toujours acceptées par l'enfant. Une discussion est ouverte sur les limites liées à la bonne compréhension du plan de traitement par l'enfant dont les attentes ne sont pas en adéquation parfaite avec celles de ses parents.

**Mots-clés :** dysplasies ectodermiques, agénésie, dentition.



#### ■P686. COMPLICATION ET TRAITEMENT DES PATIENTS BÊTA-THALASSÉMIQUES EN FRANCE : RÉSULTATS DU REGISTRE NATIONAL

I. Thuret (1, 2), C. Pondarré (2, 3), M.C. Siméoni (4), C. Badens (2, 5) et les cliniciens de la fédération des centres de référence et de compétence « Pathologie de l'érythrocyte »

(1) Service d'hématologie pédiatrique, Hôpital d'enfants de la Timone, Marseille, France ; (2) Centre de référence Thalassémie, Hôpital d'enfants de la Timone, Marseille, France ; (3) Institut d'Hématologie et d'Onco-logie Pédiatrique, Lyon, France ; (4) Unité d'aide méthodologique à la Recherche Clinique et Epidémiologique, Faculté de Médecine, Marseille, France ; (5) Laboratoire de Génétique Moléculaire, Département de gé-nétique, Hôpital d'enfants de la Timone, Marseille, France  
Contact : catherine.badens@ap-hm.fr

Dans le cadre du plan Maladies Rares, un registre national de patients thalassémiques a été développé par le centre de référence des Thalassémies. Des données épidémiologiques et cliniques ont été collectées pour les patients atteints de forme majeure ou intermédiaire de bêta-thalassémies résidents en France. Le recueil a été effectué par l'envoi d'une fiche d'inclusion à tous les cliniciens en charge de patients thalassémiques et participant aux différents réseaux nationaux. D'autres sources ont été sollicitées : Société Française de Greffe de Moëlle, réseau des laboratoires de diagnostic moléculaire des hémoglobinopathies, laboratoires de dépistage néonatal. Une mise à jour était demandée tous les 18 mois. Une étude transversale réalisée en Février 2009 retrouve 378 patients inclus dont 267 avec une forme majeure. Leur médiane d'âge est de 20 ans. Les patients sont répartis dans 57 centres dont 31 pédiatriques. 70 % des patients sont nés en France. L'incidence de la forme majeure de la maladie est estimée à 1 pour 100 000. Après ajustement sur l'âge, la croissance staturale, la proportion de patients adultes ayant eu au moins un enfant, le taux de splénectomie et de cholécystectomie ne sont pas significativement différents chez les patients thalassémiques majeurs non greffés et ceux atteints de thalassémie intermédiaire. Ces résultats reflètent les progrès du traitement conventionnel de la thalassémie majeure mais aussi un recrutement préférentiel dans le registre, des patients thalassémiques intermédiaires les plus sévères. L'évaluation de la surcharge en fer par IRM cardiaque n'a été pratiquée que pour 40 % des patients de plus de 10 ans. De 2005 à 2008, un changement radical dans la répartition des traitements chélateurs du fer a été observé : la Déferoxamine, administrée en perfusion lente sous-cutanée, était administrée à 75 % des patients chélatés en 2005 alors que le Déférasirox, actif par voie orale, devenait à partir de 2007 le traitement le plus fréquemment prescrit. La fréquence des complications et les valeurs de la ferritinémie observées dans le registre national sont très proches de celles rapportées dans les autres pays d'Europe ou en Amérique du Nord. L'estimation de la surcharge tissulaire cardiaque par IRM est, en revanche, moins répandue en France qu'en Italie ou au Royaume-Uni. La mise en place de ce registre a, d'ores et déjà, permis de stimuler la pratique des examens complémentaires, de diffuser les recommandations les plus récentes, de resserrer les liens entre les cliniciens et le centre de référence. Le suivi longitudinal des patients permettra, dans le futur, de disposer de données sur la mortalité au sein de la cohorte française et d'évaluer l'effet direct du registre sur la prise en charge clinique des patients thalassémiques en France.

**Mots-clés :** thalassémies, registre.

#### ■P687. MALADIE DE WOLMAN, OU LA NÉCESSITÉ VITALE DU DIAGNOSTIC PRÉCOCE D'UNE MALADIE LYSOSOMIALE

E. Hullo (1), K. Mention (2), V. Valayannopoulos (2), A. Pagnier (1), C. Bost-Bru (1), F. Dufernez (3), M.T. Vanier (4), T. Levade (5), D. Plantaz (1), P. de Lonlay (2), P. Benlian (3)

(1) Clinique Universitaire de Pédiatrie, CHU Grenoble, France ; (2) Centre de Référence sur les Maladies Rares du Métabolisme, hôpital Necker, APHP-Paris, France ; (3) Laboratoire de Référence pour le Diagnostic des Maladies Rares, hôpital Saint Antoine, APHP-Paris, France ; (4) Laboratoire Gillet Merieux, Centre Hospitalier Lyon Sud, France ; (5) Laboratoire de Biochimie Métabolique, CHU Rangueil, Toulouse, France  
Contact : pascal.benlian@sat.aphp.fr

Contexte. La maladie de Wolman est une maladie autosomique récessive exceptionnelle (< 50 cas décrits) qui résulte du déficit complet en lipase acide lysosomiale (LIPA). Le défaut de dégradation lysosomiale des lipides neutres, engendre l'accumulation massive et généralisée de stérols et de triglycérides, à l'origine d'un décès < 6-12 mois de vie, par dénutrition, inflammation et défaillance hépatique (IHC) majeures, alors même que les fonctions cardiaques et neurosensorielles sont normales. La caractérisation du gène et de la structure cristallographique de l'enzyme, ont offert depuis 1991 des possibilités nouvelles de diagnostic précoce en prénatal. Il

n'existe pas d'autre traitement à l'heure actuelle, que de restaurer au moins partiellement l'activité enzymatique de la LIPA, compatible avec une survie normale. Seule la greffe de moelle osseuse (GMO) s'est avérée efficace dans 3 cas publiés sur 5. Objectifs. Si la nécessité du diagnostic semble établie, l'âge critique auquel un traitement salvateur est encore possible, reste mal connu. Nous rapportons notre expérience sur 4 cas de maladie de Wolman diagnostiqués depuis 2004 par une double approche biochimique et moléculaire. Résultats. Dans tous les cas, les signes d'appels sont des vomissements sans diarrhée, survenant entre 1 et 3 semaines de vie, associés à une hépatosplénomégalie pas ou peu fébrile et une cassure de la courbe pondérale. La calcification bilatérale des sur-rénales plus souvent visible à l'échographie, ou par TDM du fait d'un météorisme important dès l'âge de 1 mois, est quasi pathognomonique ; une adénomégalie abdominale est notable. La biologie est marquée par une cholestase non ictérique, une cytololyse, une hypertriglycéridémie modérée (<3,00g/l) avec cholestérol total normal, un syndrome inflammatoire, et la présence de leucocytes vacuolés spumeux. Une consanguinité parentale était connue dans 3 cas. Les éléments du diagnostic et l'évolution clinique sont présentés ci-après. Age / État au Diagnostic : Activité/Géno-type LIPA : Évolution/ Suivi. Cas 1 : 3 mois/ IHC, Dénutrition : 0,01 xN /G321W (HMZ) : Décès : 4,5 mois. Cas 2 : 3 mois/IHC, Dénutrition : Ind./R44X (HTZ)+D331VfsX47 (HTZ) : Décès : 3,5 mois, DPN ensuite à 12 SA (Enfant sain, HTZ). Cas 3 : 2 mois/Cytolyse, Malabsorption : Ind./Épissage (c.429-1 G>C, HMZ) : GMO : 3 mois Ambulatoire : 6 mois, Chimérisme : 3 % receveur, LIPA = N, Fonctions Hépatiques = N. Cas 4 : 2 mois/Cytolyse : 0,06 xN/ W119S (HMZ) : GMO : 2,5 mois/En cours. Conclusion. Diagnostiqué avant 2 mois de vie, le déficit complet en LIPA, même partiellement corrigé par une GMO avant l'âge de 3 mois, permet de voir se restaurer rapidement les fonctions digestives et hépatiques, et d'envisager une survie sans séquelles neuromusculaires, bien au-delà de l'espérance de vie « naturelle » de la Maladie de Wolman.

**Mots-clés :** lipase acide lysosomiale, maladie de wolman, maladie lysosomiale.

#### ■P688. INTÉRÊT DU TRAITEMENT PAR ARGININE DANS LES SYNDROMES LEIGH/MELAS ASSOCIÉS À DES MUTATIONS DANS LES GÈNES ND3 ET ND5

A. Chaussonot (1), S. Bannwarth (1, 2), K. Fragaki (1, 2), C. Rouzier (1, 2), B. Funalot (3), G. Auge (1), B. Chabrol (4), V. Paquis-Flucklinger (1, 2)

(1) Service de génétique médicale, Hôpital Archet 2, CHU de Nice, France ; (2) IGMRC, FRE CNRS / UNSA 3086, Université de Nice Sophia-Antipolis, France ; (3) Service de Neurologie, Hôpital Dupuytren, CHU de Limoges, France ; (4) Service de Neurologie pédiatrique, Hôpital Timone, CHU de Marseille, France  
Contact : chaussonot.a@chu-nice.fr

Des études récentes ont suggéré l'efficacité du traitement par Arginine sur les épisodes de « pseudo-stroke » dans les MELAS (Mitochondrial Encephalomyopathy Lactic, Acidosis and Stroke-like episodes) liés à la mutation 3243 tRNA<sup>Leu</sup>, en perfusion à forte dose lors de la phase aiguë, mais également par voie orale au long cours, en diminuant de manière significative la fréquence et la sévérité de ces épisodes. Nous rapportons 2 observations d'évolution favorable sous Arginine de patients avec un tableau clinique de chevauchement de type Leigh/MELAS avec des mutations m.10191T>C et m.13513G>A, identifiées par la technique Surveyor. Il s'agit de 2 garçons âgés de 7 et 15 ans ayant présenté plusieurs épisodes déficitaires avec une récupération partielle parfois complète évoquant des « pseudo-strokes », avant de développer une régression prolongée sévère avec atteinte des noyaux gris centraux, évoquant un syndrome de Leigh. L'hypothèse de la présence de ces 2 mécanismes physiopathologiques était confirmée par les données des IRM et du PET-scan. Le traitement par Arginine a été introduit lors de la régression alors que le pronostic était très péjoratif. Après avoir observé une période de stabilisation, ces 2 enfants ont présenté une amélioration. L'absence de nouvelles lésions sur l'IRM de suivi a permis de conforter cette observation. Les 2 mutations identifiées, m.10191T>C et m.13513G>A, ont été fréquemment associées à des syndromes de Leigh et parfois des MELAS dans la littérature. L'Arginine, précurseur de l'acide nitrique, agirait principalement en favorisant la microvascularisation cérébrale (en préservant les cellules endothéliales et en augmentant le débit sanguin) et en diminuant les lésions médées par les radicaux libres. Dans les « pseudo-strokes » du MELAS, il existe une altération segmentaire de la vasodilatation des artères intracérébrales et une production d'espèces réactives oxygénées (ROS), ce qui permet de comprendre en partie l'efficacité de l'Arginine. Ces deux observations montrent que l'Arginine pourrait également être efficace dans les tableaux de type Leigh/Melas. Nous suggérons d'élargir les indications

thérapeutiques de l'Arginine aux tableaux cliniques de type Leigh/MELAS et nous soulignons l'importance d'identifier des épisodes déficitaires lors de syndromes de Leigh à début tardif pouvant relever d'un mécanisme de type « pseudo-stroke ». De même, il pourrait être intéressant d'étudier son action sur les syndromes de Leigh en se basant sur la diminution des lésions liées aux radicaux libres observée avec l'Arginine.

**Mots-clés :** arginine, syndrome de Leigh, MELAS.

#### ■P689. SURCHARGES EN FER : PART RELATIVE DES FACTEURS GÉNÉTIQUES ET DES FACTEURS ENVIRONNEMENTAUX

V. Scotet (1, 2), C. Berquier (2), M.M. Mérou (2), A.Y. Mercier (2), B. Chanu (2), I. Gourlaouen (2), G. Le Gac (1, 2), C. Férec (1, 2)  
(1) *Inserm, U613, Brest, France ; (2) Établissement Français du Sang-Bretagne, site de Brest, France*  
Contact : virginie.scotet@univ-brest.fr

Objectif : L'hémochromatose héréditaire de type I (liée au gène HFE) est une maladie génétique complexe particulièrement fréquente dans les populations d'Europe du Nord. C'est l'une des causes de surcharge en fer dans l'organisme. L'objectif de cette étude était donc de mieux connaître la population des patients adressés pour soustractions sanguines dans le cadre d'une surcharge en fer dans un centre de santé de l'Établissement Français du Sang, et de déterminer la part des patients présentant une hémochromatose génétique. Méthode : L'étude incluait tous les patients présentant une hyperferritinémie pris en charge par saignées entre le 01/01/2004 et le 31/12/2007 dans le centre de santé brestois de l'EFS-Bretagne, où la prévalence de l'hémochromatose héréditaire de type I est particulièrement élevée. Un questionnaire clinique, complété par les médecins référents, renseignait sur le sexe, l'âge au diagnostic, les habitudes de vie, les signes biologiques et cliniques. Nous avons pu déterminer les fréquences génotypiques, puis mesurer le poids des facteurs environnementaux chez les patients ne présentant pas le génotype majoritaire C282Y/C282Y. Résultats : Sur la période 2004-2007, 326 patients ont été inclus dans un protocole de saignées, 68,1 % étant des hommes. Sur le plan génotypique, seuls 56,0 % des patients portaient le génotype C282Y/C282Y. Près de 20 % des patients étaient C282Y/H63D (19,2 % - génotype 5 fois plus fréquent que dans la population générale,  $p < 0,0001$ ) tandis que 7,2 % des patients ne portaient ni la mutation C282Y, ni le facteur de susceptibilité H63D. Le poids des facteurs environnementaux était significativement plus important chez les patients non C282Y/C282Y et était inversement corrélé au nombre de mutations dans le génotype. Ainsi, une consommation excessive d'alcool était observée chez 10,3 % des patients C282Y/C282Y, 21,6 % des patients C282Y/H63D et 31,6 % des patients -/- ( $p = 0,0017$ ). Des résultats similaires étaient observés pour le surpoids (39,4 %, 67,3 % et 72,7 % respectivement), qui apparaissait ainsi quatre fois plus fréquent chez les patients -/- (OR = 4,1 [1,4-12,5],  $p = 0,0031$ ) et trois fois plus fréquent chez les patients C282Y/H63D (OR = 3,2 [1,6-6,4],  $p = 0,0003$ ) que chez les C282Y/C282Y. Ces résultats demeuraient inchangés après ajustement sur le sexe et l'âge. Discussion : Cette étude révèle que seule un peu plus de la moitié des patients pris en charge par saignées présente une hémochromatose génétique définie par l'homozygotie C282Y. Cette étude rappelle qu'il est indispensable de réaliser un diagnostic d'exclusion des formes principales de surcharges en fer secondaires (syndrome dysmétabolique, syndrome inflammatoire, consommation excessive d'alcool, cytolysse) avant d'engager une étude génétique.

**Mots-clés :** hémochromatose héréditaire, surcharge en fer, gène HFE.

#### ■P690. APPLICATION ET EFFICACITÉ DU SAUT D'EXON INDUIT PAR OLIGONUCLEOTIDES ANTISENS DANS LES DYSFERLINOPATHIES

N. Wein (1), A. Avril (2), M. Bartoli (1), S. Chaouch (2), P. Laforet (3), A. Behin (3), G. Butler-Browne (2), V. Mouly (2), M. Krahn (1, 4), L. Garcia (2), N. Lévy (1, 4)  
(1) *Université de la Méditerranée, Inserm UMR\_S 910 « Génétique Médicale et Génomique Fonctionnelle », Faculté de Médecine de Marseille, France ; (2) Université Pierre-et-Marie-Curie, Paris VI, Inserm UMR\_S 974, CNRS UMR 7215, Institut de Myologie, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France ; (3) Centre de référence de pathologie neuromusculaire Paris Est, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, AP-HP, Paris, France ; (4) Département de Génétique Médicale, Hôpital d'enfants de la Timone, AP-HM, Marseille, France*  
Contact : nicolas.levy@univmed.fr

Les mutations dans le gène codant la dysferline (DYSF, Chr. 2p13 ; 55 exons, mRNA 6,2kb) 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. Ces deux myopathies ont en commun un début chez l'adulte jeune, une évolution lente de la maladie, mais pouvant évoluer vers une perte de la marche, et une élévation importante du taux de CPK. Des phénotypes intermédiaires ont été décrits sous le terme de distal limb girdle dystrophy, avec un déficit à la fois proximal et distal. La dysferline (2080 acides aminés, 237 kDa) comporte 7 domaines C2, impliqués dans la liaison  $Ca^{2+}$  et un domaine transmembranaire C-terminal. À ce jour, la prise en charge des patients est uniquement symptomatique puisqu'il n'existe aucune approche thérapeutique spécifique. En raison de la similarité des domaines C2 qui composent la dysferline, une stratégie par saut d'exon pourrait être envisagée. Cependant contrairement à la dystrophie musculaire de Duchenne, très peu de délétions associées à un phénotype atténué ont été répertoriées. Seul deux cas cliniques ont pu mettre en évidence une délétion d'une partie de la protéine associée à un phénotype atténué. En particulier, l'identification d'une délétion en phase de l'exon 32 du gène *DYSF* chez une patiente présentant une forme clinique très modérée de dysferlinopathie nous a conduit à considérer cet exon comme cible potentielle pour une approche thérapeutique par saut d'exon. Nous avons identifié par analyse informatique trois sites essentiels au maintien de l'exon 32. Ces sites ont été ciblés par transfection d'oligonucléotides antisens ou par incorporation dans des lentivirus codant ces antisens. Les expériences ont été réalisées sur des myoblastes dérivés de fibroblastes, issus de témoins et de deux patients porteurs de mutations dans l'exon 32. Parmi les trois cibles testées, deux ont permis de mettre en évidence un saut d'exon efficace de l'exon 32 à la fois sur les cellules de patients et de témoins. Étant donné le rôle démontré de la dysferline dans la réparation de la membrane du sarcolemme, des tests fonctionnels visant à évaluer le gain de fonction après traitement ont été réalisés. Ces résultats ont montré que cette delta32-dysferline est capable de réparer les membranes des myotubes déficitaires après lésion. Il semble donc que l'absence de l'exon 32 ne soit pas néfaste à la fonction de la dysferline. Ceci constitue un argument important pour le caractère non essentiel de cet exon, et la propriété en partie modulaire de la dysferline. Cette preuve de principe naturelle démontre qu'une stratégie par saut d'exon est envisageable pour des patients comportant des mutations dans l'exon 32 du gène de la dysferline dont 13 à ce jour sont répertoriés dans la base UMD-Dysf).

**Mots-clés :** dysferline, saut d'exon, thérapie.

#### ■P691. ÉTABLISSEMENT D'UNE BASE DE DONNÉES FRANÇAISE UMD-SMA

P. Saugier-veber (1, 2), B. Gerard (3), V. Humbertclaude (4), J.M. Cuisset (5), C. Andre (6), D. Hamroun (4), T. Frebourg (1, 2), C. Beroud (4)  
(1) *Inserm U614, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Institut Hospitalo-Universitaire, Université de Rouen, France ; (2) Service de Génétique, CHU de Rouen, France ; (3) Laboratoire de Biochimie Génétique, Hôpital Robert-Debré, Paris, France ; (4) Laboratoire de Génétique Moléculaire, Institut Universitaire de Recherche Clinique, Montpellier, France ; (5) Service de neuropédiatrie, CHRU de Lille, France ; (6) AFM-direction scientifique, Évry, France*  
Contact : Pascale.Saugier-veber@chu-rouen.fr

L'amyotrophie spinale infantile (SMA) est caractérisée par une dégénérescence progressive des motoneurons de la corne antérieure de la moelle épinière, responsable de paralysies avec amyotrophie et dénévation. Avec une incidence de 1/6 000, la SMA représente la deuxième maladie autosomique récessive létale après la mucoviscidose. Les patients sont classés en trois groupes, type I, II ou III, en fonction de l'âge de début de l'affection et de son évolution. La SMA résulte de l'inactivation à l'état homozygote du gène *SMN1* en 5q11-q13. À ce jour, tous les essais thérapeutiques se sont soldés par des échecs. À l'heure actuelle, il n'existe pas de base de données à l'échelle nationale intégrant des données cliniques et moléculaires sur la SMA. Les trois objectifs principaux pour la base de données SMA sont : 1 - collecter des données épidémiologiques sur la SMA en France, 2 - promouvoir les projets de recherche clinique (corrélations génotype/phénotype pour l'identification de gènes modificateurs, histoire naturelle de la SMA), 3 - faciliter les essais thérapeutiques. La base de données SMA contiendra des données cliniques et moléculaires. Les items cliniques ont été sélectionnés pour obtenir une synthèse du statut clinique du patient à un instant T. Chaque item est défini à 3 niveaux : symptôme, sévérité et âge. Les items moléculaires comprennent le type de mutation du gène *SMN1* (délétions, mutations ponctuelles) et le nombre de copies des gènes *SMN1* et *SMN2*. Les données cliniques seront implémentées et réactualisées chaque année par les curateurs cliniques à partir des Centres de Référence Neuromusculaires. Les items moléculaires seront validés (et complétés si nécessaire) par les curateurs moléculaires. Les données, pseudo-anonymisées, seront saisies dans l'outil UMD hébergé



dans l'unité INSERM U827 à Montpellier, avec le consentement du patient. L'outil UMD-SMA sera également utilisé dans d'autres pays, permettant le transfert d'une partie des données vers le registre global de TREAT-NMD, regroupant les données des registres SMA de plusieurs pays. L'équipe INSERM U827 de Montpellier est responsable du développement de ce registre global et du transfert des données. L'objectif de ce registre global de TREAT-NMD est de faciliter l'inclusion des patients dans les futurs essais thérapeutiques internationaux. Une collaboration étroite avec les généticiens moléculaires et les neurologues/neuropédiatres est nécessaire pour la réalisation de cette base de données française UMD-SMA. Cette base de données sera particulièrement utile pour la réalisation des essais thérapeutiques, tant en amont de l'essai pour évaluer sa faisabilité en comptant le nombre de patients qui pourraient potentiellement être inclus, que pour l'essai lui-même en facilitant le transfert d'informations vers le neurologue/neuropédiatre pour la proposition d'inclusion de leur patient.

**Mots-clés :** amyotrophie spinale infantile, base de données, essais thérapeutiques.

**■P692. CILIARY BEATING RECOVERY IN DEFICIENT HUMAN AIRWAY EPITHELIAL CELLS AFTER LENTIVIRUS EX VIVO GENE THERAPY**

B. Chhin (1), D. Negre (2), O. Merrot (3), J. Pham (1), Y. Tourneur (4, 5), D. Ressenkoff (5), M. Jaspers (6), M. Jorissen (6), F.L. Cosset (2), P. Bouvagnet (1, 7)

(1) EA 4171, Université de Lyon, France ; (2) Université de Lyon, (UCB-Lyon1), IFR128 ; INSERM, U758 ; Ecole Normale Supérieure de Lyon, Lyon, France ; (3) Service ORL, Hospices Civils de Lyon, Hôpital de la Croix-Rousse, Lyon, France ; (4) INSERM, UMR886, Cardioprotection ; (5) Centre Commun de Quantimétrie (CCQ), Université de Lyon, Lyon, France ; (6) ENT department, Head and Neck Surgery, UZ GHB, Leuven, Belgium ; (7) Laboratoire Cardiogénétique, Hospices Civils de Lyon, Groupe Hospitalier Est, Bron, France

Contact : Patrice.Bouvagnet@recherche.univ-lyon1.fr

Primary Ciliary Dyskinesia is a heterogeneous genetic disease which is characterized by cilia dysfunction of the epithelial cells lining the respiratory tracts resulting in recurrent respiratory tract infections. Despite life-long physiological therapy and antibiotics, the lungs of affected patients are progressively destroyed leading to respiratory insufficiency. Recessive mutations in Dynein Axonemal Intermediate chain type 1 (DNAI1) gene have been described in 10% of cases of Primary Ciliary Dyskinesia. Our goal was to restore normal ciliary beating in DNAI1 deficient human airway epithelial cells. A lentiviral vector based on Simian Immunodeficiency Virus pseudotyped with Vesicular Stomatitis Virus Glycoprotein was used to transduce cultured human airway epithelial cells with a cDNA of DNAI1 driven by the Elongation Factor 1 promoter. Transcription and translation of the transduced gene were tested by RT-PCR and western blot, respectively. Human airway epithelial cells which were DNAI1 deficient due to compound heterozygous mutations and consequently had immotile cilia and no outer dynein arm, were transduced by the lentivirus. Cilia beating was recorded and electron microscopy of the cilia was performed. Transcription and translation of the transduced DNAI1 gene were detected in human cells treated with the lentivirus. In addition, immotile cilia recovered a normal beat and outer dynein arms reappeared. We demonstrated that it is possible to obtain a normalization of ciliary beat frequency of deficient human airway epithelial cells by using a lentivirus to transduce cells with the therapeutic gene. This preliminary step

constitutes a conceptual proof which is indispensable in the perspective of Primary Ciliary Dyskinesia's *in vivo* gene therapy. This is the first time that recovery of cilia beating is demonstrated in this disease.

**Mots-clés :** gene therapy, lentivirus, Cilia.

**■P693. DIRECTED INTEGRATION OF NEW INSULATED LENTIVIRAL VECTORS TO THE HETEROCHROMATIN TOWARDS SAFER GENE TRANSFER TO STEM CELLS**

A. Artus (1), C. Duros (1), Y. Botbol (2), S. Schultz (3), M. Schmidt (3), C. von Kalle (3), M. Lavigne (2), O. Cohen-Hagueneau (1, 4)

(1) LBPA/ CLINIGENE, Ecole Normale Supérieure (ENSC), Cachan, France ; (2) Laboratory of Structural Virology, Pasteur Institute, Paris, France ; (3) Laboratory of Translational Oncology, Deutsches Krebsforschungszentrum (DKFZ), Heidelberg, Germany ; (4) Hôpital Saint-Louis, Paris, France

Contact : odile.cohen@ens-cachan.fr

The need for better gene transfer systems towards improved risk/benefit balance for patients remains a major challenge in the clinical translation of gene therapy (GT). We have investigated the improvement of integrating vectors safety in combining (i) new short synthetic genetic insulator elements (GIE) and (ii) directing genetic integration to heterochromatin. In otherwise successful GT-trials in SCID patients and others, insertional mutagenesis has resulted in leukemia from transduced cells. The identification of new GIEs which would prevent such activation effects is a main challenge since attempts e.g. with the chicken beta-globin HS4, have met with poor efficacy and genetic instability. We have constructed SIN-insulated retrovectors with two candidate GIEs and compared them to native and SIN-LTRs. With each constructs two internal promoters have been tested : either the strong Fr-MuLV-U3 or the housekeeping hPGK. We could identify a specific combination of insulator 2 repeats which translates into best functional activity, high titers and boundary effect in both gammaretro (p20) and lentivectors (DCar04). In target cells a dramatic shift of expression is observed with an homogenous profile the level of which is strictly conditioned by the promoter strength. These data remain stable in both HeLa cells over three months and cord blood HSCs for two months, irrespective of the multiplicity of infection (MOI). In comparison, control vectors show heterogeneous expression profiles with levels which depend on the MOI and prove unstable. We have undertaken genotoxicity assessment in comparing integration patterns ingenuity in human target cells sampled over three months using high-throughput pyro-sequencing. Preliminary data indicate a flat pattern without CIS. Since GIEs are believed to shield the transgenic cassette from inhibitory effects and silencing, DCar04 has been further tested with chimeric HIV-1 derived integrases which comprise C-ter chromodomains targeting heterochromatin through either histone H3 (ML6 chimera) or methylated CpG islands (ML10). With DCar04 only and both chimeras, a homogeneous expression is evidenced in over 20 % of the cells which is sustained over time. With control lentivectors, less than 2 % of cells express GFP as compared to background using a control double-mutant in both catalytic and ledgf binding-sites ; in addition, a two-times increase of expression can be induced with histone deacetylase inhibitors. Our approach could significantly reduce integration into open chromatin sensitive sites in stem cells at the time of transduction, a feature which might significantly decrease subsequent genotoxicity, according to X-SCIDs patients data. This work has been performed with the support of the EC-DG research within the FP6-Network of Excellence, CLINIGENE: LSHB-CT-2006-018933.

**Mots-clés :** thérapie génique, mutagenèse insertionnelle, intégration ciblée.



- 10p : P101  
 15q24 : P109  
 15q26 microdeletion : P613  
 16p11.2 : CS16  
 3' UTR : P264, P494  
 3q24-q25 : P024  
 46,XX,SRY positif : P168  
 5p14.3p15.2 : P140  
 6q23 gene region : P317  
 8p23.1 deletion : P147  
 9q3.4 : P052  
 A.F.C.G : P187, P190  
 ABCA4 : P478  
 ABCC6 : P672  
 ABCC8 : P353  
 ABCD : P341  
 aCGH, FISH : CS25  
 achondroplasie : P631, P675  
 Achromatopsie complète : P487  
 acidémie propionique : P398  
 acidose métabolique : P684  
 acidurie méthylmalonique : P394, P401  
 acrocéphalosyndactylie : P081  
 acute myocardial infarction : P550  
 ACVR1 : P072  
 ACVRL1 : P538  
 ADAMTS : P604  
 ADAMTS10 : P479  
 ADAMTSL4 : P480  
 adenine  
 phosphoribosyltransferase : P512  
 ADN ancien : P288  
 ADN circulant : P547  
 ADN foetal circulant : P631  
 ADN fragmenté : P178  
 ADN mitochondrial : CO07, P288, P403, P442  
 adrenoleucodystrophie : P308  
 Adulte : P677, P678  
 AF6 : P235  
 Afrique du Nord : P288, P322  
 Age de début précoce : P453  
 agénésie : P685  
 agénésie des canaux déférents : P342  
 agrégation : P582  
 aidant : P676  
 Aide médicale à la procréation : P094  
 Akinésie foetale : CS37  
 ALAS2 : P361, P364  
 albinisme oculocutané : P483  
 ALG1 : P332  
 ALK1 : CS55  
 Allergie CS46  
 ALLOGREFFE : CS52  
 Allogreffe de moelle osseuse : P151  
 alpha-dystroglycanopathies : P413  
 alpha-galactosidase : P671  
 Alport : P506  
 Alternating hemiplegia of childhood : P152  
 Amaurose congénitale de Leber : P343, P481, P488  
 ambiguïté sexuelle : P133  
 amélogénèse imparfaite : P006  
 aminoacidopathie : P390  
 amplification : CS26, P414  
 Amyoplasie : P051  
 AMYOTROPHIC LATERAL SCLEROSIS : P310  
 amyotrophie spinale : CS05, P418, P420, P691  
 analyse de ségrégation-liaison : P411  
 analyse génétique : P331  
 Analyses des gènes BRCA1 et BRCA2 : CS32  
 Anasarque : P646  
 Anato-mo-pathologie : P207  
 anémie : P366  
 Anémie de Fanconi : P143  
 Anémie sidéroblastique : P364  
 Aneuploïdies spermatiques : P178  
 Angelman : P525  
 Angiomes : P065  
 animal model : P558  
 aniridie atypique : P062  
 ANKRD1 : CS06  
 anneau : P127, P143  
 Anomalie de développement : P079  
 anomalie de rieger : P005  
 anomalie du développement : P164  
 Anomalie échographique : P612  
 anomalies chromosomiques : P066, P157, P172, P616  
 ANOMALIES CONGÉNITALES : P073  
 ANOMALIES DE RÉDUCTION DES MEMBRES : P073  
 anomalies osseuses : P012  
 Anophtalmie bilatérale : P106  
 APC : P212  
 Apert : P071  
 aplasie congénitale du scalp : P064  
 Apocrine : P270  
 APOE : P310  
 Approche gène candidat : P330  
 Arbre décisionnel : P438, P454  
 Arginine : P688  
 ARN : CS45, P335  
 arrays : P300  
 Arthrogrypose : CS37  
 Arthrogrypose multiple congénitale : P051  
 ARVC : P329  
 ARX : P579  
 Arylsulfatase A : P283  
 association : CS22  
 Association de malades : P188, P653  
 association familiale : P297  
 ataxie : P429, P432, P434  
 Ataxie de Friedreich : CS48, P587  
 Ataxie dominante : P436, P438  
 ataxie récessive : CS56, P430  
 ataxie télangiectasie : P200  
 ataxies cérébelleuses : P431, P433  
 ATP1A2 : P428  
 ATP2A2 : P499  
 ATP7A : P427  
 ATP7B : P426  
 ATPase 8 gene : P400  
 atrésie des choanes : P011  
 atrésie intestinale : P011  
 atrophie optique : P399, P476  
 ATXN10 : P433  
 Autism :  
 autisme : CO04, CS24, P298, P299, P301, P519, P573, P583, P598  
 auto-inflammatoire : P358, P562  
 autosomal dominant : P074  
 autosomique dominant : P075  
 Autosomique récessive : P487  
 Autosomiques récessives hétérogènes : P535  
 axe mésenchymateux : P615  
 B3GALTL : P086, P090  
 BAC-array : P124  
 Bardet biedl : P347  
 Base de données : P664, P668, P691  
 Base UMD : P416  
 BEEC : P023  
 benign prostatic hyperplasia : P253  
 beta-CGH : P616  
 beta-glucocérébrosidase : P384  
 bêta-Thalassémie et hémoglobine A2 : P368  
 Bevacizumab : P681  
 bilan : P622  
 bioéthique : P196, P197, P199  
 bioinformatique : CO16  
 biological resources : P556  
 biopsie musculaire : P307  
 biotine sensible : P456  
 BLK : P316  
 BMP2 : P125  
 Bone morphogenetic protein receptor type 2, BMPR2 : P669  
 BRAF : P280  
 BRCA : CS21, P271, P276  
 BRCA1 : P219, P261, P263, P264, P265, P272  
 BRCA1 et BRCA2 : P245, P249, P257, P258, P259, P260, P262, P266, P278  
 BRCA2 : P267, P268, P277  
 BRCA3 : P273  
 CACH/VWM : P580  
 CACNA1A : P428  
 calcifications : CS01  
 calcium : P499  
 Calcul de risque : CO18  
 calnexin cycle : CS44  
 Canaux Katp : P330  
 cancer : CO17, P186, P203, P250, P282, P547  
 Cancer colorectal : P206  
 cancer du côlon métastatique : P546  
 cancer du pancréas : P244  
 cancer du poumon : P303  
 Cancer du sein : CO18, CS21, CS32, P185, P215, P249, P259, P260, P261, P267, P269, P302  
 cancer estomac : P215  
 Cancer familial : P266  
 cancer gastrique : P214, P216  
 cancers du rein : CS27  
 carcinome à cellules rénales : P202  
 carcinome à translocation  
 MITF/TFE : P202  
 carcinome rénal : P205  
 Carcinomes du nasopharynx : P201  
 cardiomyopathie : CS06, P323, P324, P329  
 cardiopathie : P003, P082  
 carrier frequency : P295  
 cartographie : P465  
 cartographie par homozygotie : P397, P430  
 caryotype : P171, P184  
 Cas sporadiques : P535  
 CASK : P474  
 Catécholamines : P589  
 cavernomatose cérébrale : P357  
 CCND1 : P237  
 CCR : P620  
 CDG Ia : P646  
 CDG Ik : P332  
 CDH1 : P214, P215, P217, P663  
 CDK4 : CS26  
 CDKL5 : P527  
 CDKN1C : P223  
 CDKN2A : P205, P244  
 CE-IVD : P277  
 CEBPA : P231  
 Cellules non tumorales de l'épithélium de surface : P258  
 cellules souches induites (iPS) : CS48  
 cellules souches pluripotentes : P555  
 cellules trinuclees et poliploïdes : P160  
 centronuclear myopathies (CNM) : P296  
 CEP290 : P488  
 cerebellum : P434  
 Céroïde-lipofuscinoses : P461  
 CFTR : CS50, CS61, P295, P339, P340  
 CGH : P099, P130, P150  
 CGH array : CO05, CS12, CS15, CS54, P017, P018, P019, P023, P024, P025, P026, P027, P028, P029, P044, P054, P055, P080, P102, P106, P109, P113, P114, P115, P116, P120, P121, P125, P128, P132, P136, P140, P142, P146, P147, P149, P153, P154, P155, P156, P159, P168, P179, P204, P210, P217, P236, P254, P262, P279, P339, P413, P605, P609, P610, P612, P613, P614, P617,  
 CGH microarray : P129, P135, P162, P183  
 CGH sur micropuce : P166  
 Chaîne de Markov Cachée : P291  
 Charcot-Marie-Tooth : P469, P468, P471  
 cherd : P101  
 CHD7 : P082  
 CHEK2 c.1100DelC : P269  
 chemical mutagenesis : P603  
 chien : CO06, P251, P556, P588  
 Chimérisme : P151  
 chimérisme : P647  
 Chirurgie prophylactique : P246  
 Chlamydomonas reinhardtii : CS59  
 cholestase : CS19  
 chondrodysplasie : CS03, CS36, CS43, P602, P604  
 Choriocarcinome post-molaire : P204  
 Choroïdérémie : P486

chromatine : P585  
 chromosome : CO17, CS25, P203  
 chromosome 1 : P100  
 chromosome 16 : P110  
 chromosome 17 : P112  
 chromosome 18q : P118  
 Chromosome 22 : P131  
 chromosome 4 : P138  
 chromosome 5p : P445  
 Chromosome 7 : P143, P146  
 chromosome 9 : P243  
 Chromosome X : P159, P161, P177, P519, P559  
 chromosome Y : P169  
 cil primaire : CS35  
 Cilia : P692  
 Ciliopathie : CS34, P001, P002, P343, CO08, CS23  
 CINCA : P360  
 Circadian : CS24  
 ckit : P252  
 Clarté nuchale : P615  
 classification des maladies génétiques : P667  
 clinique : P060  
 CMT : P281, P472, P578  
 CMT4H : P574  
 CNV : CO05, P055, P152, P179, P210, P279, P301, CO04  
 Cockayne : P517  
 codage des maladies génétiques : P667  
 cœur : P601  
 cognition : P594, P596  
 cohorte : P675  
 COL4A1 : P670  
 COL4A5 : P506  
 Collagène VI : P421  
 collagène VII : CS63  
 colobome : P020  
 complexe I : P405  
 Complexe mediator : P543  
 compliance : CS31  
 Comportement : P595  
 Conductrices symptomatiques : P417  
 congenital heart disease : P158  
 Congenital miosis : P533  
 Consanguinité : P015, P191, P238, P291, P292, P293, P347, P544  
 conseil génétique : CS51, P034, P077, P184, P187, P190, P191, P422, P610, P625, P628, P652, P653, P654, P657  
 Consentement des mineurs : P198  
 conséquences psychologiques : P186  
 consultation : P245  
 consultation multidisciplinaire : P193  
 consultation préparatoire pour les parents : P193  
 Contactine 6 : P583  
 contrôle de qualité externe : CS10  
 conversion génique : P418  
 copy number variant : P298  
 corps calleux : P010, P026, P467  
 corrélation génotype phénotype : CS07, P045, P420, P421, P481, P498, P542  
 côtes courtes-polydactylie : P078  
 Cowden : P270  
 CPVT : P655  
 craniofacial development : P603  
 craniosténose : P071  
 CREBBP : P095  
 Creutzfeldt Jakob : P444  
 Critère d'analyse : P249  
 Critères cliniques : P454, P455  
 CUGBP2 : P102  
 cystic fibrosis : CS44, P554  
 cytogénétique : CS10, P098, P145, P158, P181  
 cytotostatiques : P218  
 D4Z4 : CS41  
 de Vivo : P458  
 Deafness : P493  
 décès néonatal : P649  
 déficience intellectuelle : P385  
 déficience mentale : P039, P519, P573  
 Déficience mentale liée à l'X : P523  
 déficit d'attention/hyperactivité : P551  
 déficit en alpha-1 antitrypsine : P410  
 déficit en APRT : P111  
 déficit en carboxylase : P684  
 déficit en coenzyme Q10 : P398  
 Déficit en PDH : P395  
 Déficit énergétique : P682  
 Deficit immunitaire : P322  
 del 1q44 : P026  
 del LMP1 : P201  
 Del Xp11.4 : P028  
 délétion : P070, P117, P163, P348, P381, P500, P515, P520  
 délétion 10q : P103  
 délétion 12q : P608  
 Délétion 14q : P106  
 Deletion 15q13.3 : P023, P107, P108  
 délétion 15qter : P161  
 délétion 16q : P609  
 délétion 16q21 : P617  
 délétion 17p13.3 : P115, P116  
 délétion 18q : P119  
 délétion 19p13 : P121  
 Délétion 1p21.2-21.3 : P019  
 délétion 1q21.1 : P108, P123  
 délétion 2q : P029  
 délétion 3q25.1-q25.32 : P136  
 délétion 6q : P046  
 délétion 6q16 : P141  
 délétion 7q : P144  
 délétion 7q36.1 interstitielle : P017  
 délétion 8q24.3 : P020  
 Délétion partielle 12p : P068  
 Délétion/Duplication : P483  
 délétion/duplication 2q31.1q32.1 : P134  
 Démence tardive : P442  
 Démences fronto-temporales : P440, P443  
 démographie : P195  
 dentition : P036, P685  
 Denysh-Drash : P592  
 dépistage : CS31, P334  
 dépistage néonatal : P337, P654  
 déplétion de l'ADN mitochondrial : P401  
 dermoïde épibulbaire : P064  
 DES génétique : P195  
 Déséquilibres chromosomiques : CS54  
 desmosome : P325  
 détection de mutations : P271  
 développement : P049  
 développement de l'œil : P156  
 Développement fœtal : P616  
 développement rénal : P067  
 devenir psycho-social : P678  
 DFNA6 : P492  
 DFT-SLA : P440  
 DHOS : P155  
 DHPLC : P239, P266  
 di/oligogénisme : P047  
 Diabète de type 2 : CS17, P311  
 diabète mitochondrial : P404  
 Diabète néonatal transitoire : P021  
 Diagnostic : P255, P307, P346, P450  
 diagnostic anténatal de la drépanocytose : P171  
 diagnostic anténatal sur les cellules fœtales : P199  
 diagnostic de la tuberculose paucibacillaire : P171  
 Diagnostic moléculaire : CO15, CS53, P096, P344, P354, P359, P418, P455, P470, P496, P497  
 Diagnostic phénotypique : P390  
 diagnostic prédictif : P657  
 diagnostic préimplantatoire : CS52, P620, P621, P622, P623, P624, P625, P627, P628, P629  
 diagnostic prénatal : CS51, CS53, CS64, P070, P137, P606, P608, P611, P612, P614, P625, P626, P632, P634, P635, P636, P637, P639, P640, P641, P643, P644, P680  
 diagnostic présymptomatique : CS49, CS64, P214, P216, P463, P680  
 diagnostics génétiques anténataux : P196  
 différenciation : P039  
 digénisme : P312, P469  
 discoidin domain receptor 2 : CS01  
 discordance sexe fœtaux : P647  
 Disomie fonctionnelle Xp : P164  
 disomie uniparentale : P157, P348, P619  
 disorder : P300  
 DLFT : P441  
 DM1 : CS45  
 DMD : P417, P623  
 DMT1 : P366  
 DNAI2, USH1G : P345  
 dolichol cycle : P333  
 Dominant inheritance : P468  
 Down syndrome : P596  
 drépanocytose : P408  
 Drosophile : CO03, P570, P571  
 Drug therapy : P552  
 dup(18)(p11.22p11.31) : P022  
 duplication : P138, P159, P424  
 duplication 10q24 : P030  
 duplication 1q21.1 : P123  
 Duplication 22q11 : P130  
 duplication 6q23-q25 : P021  
 duplication Xq25 : P166, P167  
 duplication-insertion : CS13  
 dynamique moléculaire : P372  
 DYNC2H1 : P078  
 dysferline : P690  
 dysgénésie : P063, P446, P507  
 dysgonosomies : P634  
 dyskinésie ciliaire primitive : P345  
 Dysmorphie : P015, P021  
 dysmorphie faciale : P012, P167  
 dysmorphies : P095, P333  
 dysplasie craniofrontonasale : P084  
 dysplasie ectodermique : P011, P034, P035, P037, P494, P502, P591, P685  
 dysplasie frontonasale : P084  
 dysplasie osseuse : P079  
 Dysplasie ventriculaire droite arythmogène : P325  
 dystonie : P089, P423  
 dystrophie facio-scapulo-humérale : CS09  
 dystrophie musculaire : CS57, P411, P413  
 dystrophie thoracique asphyxiante de Jeune : P078  
 dystrophies cornéennes héréditaires : P477  
 dystrophine : P422  
 DYT6 : P423  
 EBV : P201  
 échographie : CS50, P638, P642  
 Ectopie Cristallinienne : P480  
 ectrodactylie : P030  
 EDA-EDAR : P035  
 effet de position : P521  
 Effet fondateur : P260, P419  
 effet interchromosomique : P180  
 Effets fondateurs : P536  
 EFN1 : P165  
 Ehlers-Danlos : P530  
 élément régulateur de l'épissage : CS05  
 Elephant Man : P197  
 émotions : CS66  
 empreinte parentale : CS62, P529  
 Encéphalite aiguë nécrosante : P463  
 encéphalopathie : P460  
 encéphalopathie convulsivante : CS11  
 Endogline : P538  
 ENG : CS55  
 engrailed : P565  
 enseignement numérique : P192  
 entourage : P676  
 enzymes de conjugaison de l'ubiquitine : P573  
 enzymothérapie : P379  
 EP300 : P096  
 épidémiologie : P048, P061, P285, P449, P634  
 épidermolyse bulleuse dystrophique : CS63, P501  
 Epidermolyse Bulleuse Simple : P495, P498  
 épidermolyse bulleuses héréditaires : P644  
 épigénétique : P048, P586  
 Epilepsie : CO01, P006, P107, P150, P445, P458, P460, P569, P588  
 épilepsie myoclonique progressive : P447  
 épissage : P263, P294  
 épissage de l'ARNm : P356  
 EPM2 : P447  
 ESEfinder : P356  
 espaces de virchow Robin : P052  
 essai : CO11  
 Essais thérapeutiques : P691  
 estimation : P321  
 estimations des risques de cancer : CS30  
 éthique : CS49, P194  
 Éthique de la recherche : P198



- Etiologie : P299  
 étude bioinformatique : P561  
 étude d'association : P315, P319  
 évaluation des pratiques professionnelles : P666  
 Evolution : P290,  
 exclusion : P479, P627  
 expansion : P568  
 expansions trinuécléotidiques : P429  
 expérimentation : P188  
 expression diminuée : P200  
 expressivité variable : P123  
 Facteur de susceptibilité : CO14  
 Facteur de transcription : P579  
 Facteurs épigénétiques : P065  
 FAM20C : P087  
 Familial : P224  
 FANCA : CS29  
 faux-sens : P200  
 FBAT : P314  
 FBN1 : P540, P674  
 Febrile Seizures : P448  
 FENTE LABIALE : P009  
 fer : P366, P567, P587  
 Ferguson-Smith : P243  
 Ferritine mitochondriale : P587  
 ferritine sécrétée : P370  
 FGFR1 : CO10  
 FGFR2 : P071, P081  
 FGFR3 : CS43, P602  
 FHL1 : CS57  
 Fibrillation atriale : P328  
 FIBROCHONDROMES : P009  
 Fièvre méditerranéenne familiale : P359  
 Filemaker Pro : P664  
 FISH : CS13, P098, P117, P151, P170, P173, P237, P615  
 FISH MLL : P228  
 FISH subtlomérique : P113  
 fission chromosomique : P618  
 FIV-ICSI : P648  
 FLNA : P056, P092  
 FMF : P562  
 FMR1 : P183  
 Foetopathie phénylcétonurique : P042  
 foetus : P018, P033  
 Folliculine : P500  
 FOP : P072  
 formations : P188  
 Formes monogéniques dominantes : P320  
 Fostes : P122  
 Fowler : P053  
 FOXG1 : P105, P526  
 foxi1 : P489  
 FOXP3 : P630  
 Fragilité de l'X : P177  
 FRAS1 : P091  
 Frataxine : P567, P584  
 FRAXE : P177  
 FSHD : CS09, CS53  
 FTLD-U : CO03  
 FUS : P443  
 FXTAS : P572  
 gastrointestinal system : P558  
 GATA1 : P226  
 GBA : CO14  
 GDAP1 : P468, P472  
 GEFS+ : P448  
 gène AMT : P391  
 gène candidat : P044, P303, P304, P306, P319  
 gène CASK : P462  
 gène CFTR : P336, P342  
 Gène CHM : P486  
 Gène de fusion : P234, P368  
 gène DMD : P355  
 gène dosage effect : P597  
 Gène ENaC : CS04  
 gène FBN1 : P541  
 gène FOXL2 : P485  
 gène GBA : P384  
 gène GLDC : P391  
 gène GNAS : P529  
 Gène GPC3 : P534  
 Gène HFE : P689  
 gène HGNSAT : P380  
 gène HYDIN : P124  
 gène JAK2 : P363  
 gène MMR : CS31  
 gène MT-ND5 : P406  
 gène MYH : P285  
 gène PDHX : P395  
 gène PEX : P475  
 Gène PQBP1 : P522  
 gène RANBP2 : P463  
 gène ROBO3 : P093  
 Gène SHANK3 : P131  
 gène SMN : P420  
 Gène SPATA7 : P481  
 Gène SRY : P637  
 Gène SUCLG1 : P401  
 gène TAZ : P324  
 gene therapy : P692  
 Gène WRN : P518  
 gène ZFP64 : P227  
 gènes contigus : P393  
 gènes de prédisposition : P302  
 gènes du développement des membres : CS58  
 gènes GJB2 et GJB6 : P635  
 gènes MMR : CS30, P208, P209  
 Gènes modificateurs : CS05, CS18, P309, P408, P410, P411, P469  
 gènes PARK : P453  
 gènes RP2-ZNF674 : P484  
 Gènes TREX1 et complexe RNASEH2 : P451  
 genetic diseases : P556  
 genetic interaction : CS23  
 génodermatose : P085, P498  
 Genome scan : P448  
 Genome wide association : CS17  
 génomique : CS27  
 génotoxicité : P218  
 Génotypage de SNP : P482  
 génotype-phénotype : P109, P596  
 gliome : P219, P220  
 globule polaire : P624  
 glomérule rénal : P592  
 GLUT1 : P458  
 Glutathione S-transferase : P253  
 glycogénose : P387, P389  
 glycosylation : P333  
 GnRH : P349  
 Goldenhar : P027  
 grande deletion : P393  
 grands réarrangements : P336, P338  
 granulomatose : P163  
 GRIA3 : P167, P521  
 Grossesse : P629, P660  
 grossesse monochoriale biamniotique : P647  
 Gynécologie : P246  
 Hamartome hypothalamique : P639  
 Haplotype : P284, P408, P551  
 haplotype fondateur : P430  
 Hardy-Weinberg : CS18  
 haut-débit : P271  
 HDAC6 : CS03  
 heart : P563  
 hémangioblastomes : P660  
 Hémochromatose : P309, P374, P689  
 hémochromatose HFE : P373  
 Hémochromatose juvénile : P371  
 Hémoglobine Anti-Lepore : P368  
 Hémojuvéline : P371  
 hémopathies malignes familiales : P231, P232  
 Hémophilie féminine : P524  
 hémorragie cérébrale : P670  
 Hémorragie Télangiectasique Héreditaire : P536  
 héparane sulfate : P385  
 hépatoblastome : P238  
 hépatopathie : CO13  
 hepcidine : P362  
 Hérédité autosomique dominante : P013  
 Hernie diaphragmatique : P007, P047, P161, P165  
 hétérogénéité génétique : CO09, P077, P465, P541  
 hétérogénéité génotypique : P546  
 hétérogénéité phénotypique : P012, P501  
 hétéroplasie osseuse progressive : P529  
 hétéroplasmie : P404  
 hétérotopie nodulaire péri-ventriculaire : P056, P114  
 Hétérozygote composite : P435, P371, P542  
 HFE : CS20, P369, P372  
 High resolution melting : P272, P274  
 High throughput sequencing : P296  
 Hirschsprung : P560  
 Histocytose : P251  
 histoire familiale : P656  
 HLA : CS52  
 hMSH5 : P564  
 Holoprosencéphalie : CS51, P044, P045, P046  
 homozygotie : P298  
 homozygotie par descendance : P479  
 HRM : P280, P538  
 HSCR : P289  
 HTT : P449  
 human diseases : P290  
 Huntington : P449, P554, P568  
 Hutchinson-Gilford : P378  
 Hydranencéphalie : P053  
 hydrocéphalie : P054  
 Hydrolethalus : P002  
 Hygroma colli : P642  
 hyperbilirubinémie : P388  
 Hypercholestérolémie familiale : P376  
 Hyperéchogénicité intestinale : P651  
 hyperplexia : P459  
 hyperferritinémie : P370  
 hyperglycinémie sans cétose : P391  
 Hyperinsulinisme : P353  
 hyperlaxité : P139  
 hyperodontie : P038  
 hyperprolinémie : CO04  
 Hypertension : CS42, P515  
 hypertension artérielle pulmonaire : P294, P669  
 hypertension intracrânienne : P076  
 Hypertyrosinémie : P390  
 hyperuricémie : P514  
 hypodactylie : P003  
 Hypoglossie : P003  
 Hypogonadisme  
 hypogonadotrope : P349  
 hypominéralisation : P038  
 hypophosphatase : P392  
 Hypoplasie dermique en aires : P088  
 hypoplasie pontocérébelleuse : P462  
 hypoxanthine phosphoribosyltransferase : P565  
 IBD : P291  
 Ichtyoses : P497, P644  
 ICSI : P066  
 idic (Y), subtlomères : P170  
 IGF1R : P613  
 IL 10 : P410, P305  
 impact psychologique : P661  
 Inactivation de gènes : P599  
 Inactivation de l'X : P417, P523  
 incidence : P259  
 Incontinentia Pigmenti : P590  
 induced pluripotent stem cells (iPS) : P553  
 infertilité masculine : P342  
 infiltrat lymphocytaire : P206  
 Inflammation : P597  
 Information : CS32, P652, P668  
 information familiale : P659  
 Information génétique : P248  
 information médicale : P666  
 Inhibiteur de tyrosine kinase : CS43  
 inhibiteur : P582  
 insertion intrachromosomique : P134  
 Instabilité ADNmt : P564  
 instabilité chromosomique : P618  
 instabilité des répétitions CAG : P566  
 instabilité microsatellitaire : P206  
 insuffisance ovarienne prématurée : P173  
 Intégration ciblée : P693  
 interaction gène-environnement : CS22, P302, P303  
 Internet : P668  
 interstitielle : P122  
 intestin hyperéchogène : P633  
 intolérance aux protéines dibasiques : P365  
 Inv Dup Del : P100, P122  
 inversion : P149  
 inversion paracentrique : P146  
 inversion péricentrique : P110, P607  
 inversion-duplication 11p13 : P062  
 IPEX : P630  
 IRF5 : P318  
 IRIDA : P362  
 IRM : P402, P671  
 isochromosome 9p : P148  
 isodisomie partielle : P524  
 isodisomie uniparentale de chromosome 14 : P648  
 isolat : P238  
 ITPR1 : P436  
 Jonction neuromusculaire : CS37  
 Joubert : CS34  
 JUN : P578  
 KARAK Syndrome : P439  
 Karyotype : P066



KCNH2 : P326  
KCNJ11 : P353  
KCNQ1 : P328  
Kératine : P494  
Kératines 5 et 14 : P495  
kératoacanthome : P243  
KINASE : P515  
KRAS : P280, P546, P549  
KRAS-BRAF : P548  
L-ferritine : P370  
lafora : P447  
LAL-préB : P233  
LAL-T : P235  
LAM : P226, P229  
LAM secondaire : P228  
lamin B1 : P424  
laminopathie : P313, P377  
LAMP2 : P412  
langage : P300  
Larges délétions : P374  
LBR : P313  
lentivirus : P692  
Leucémie aiguë : P234  
leucémie aiguë lymphoblastique de type T : P223  
Leucémie Lymphoïde Chronique : P230  
leucodystrophie : P424, P451, P450, P452, P580  
leucoencephalopathie : P670  
LGI1 : P569  
Li-Fraumeni : P279  
liaison génétique : P588  
lié à l'X : CO01, P361  
LIGNE MÉDIANE : P009  
LINE-1 : P427  
Linkage : P317, P318  
Lipase Acide Lysosomiale : P687  
lipine 1 : P419  
lipodystrophie : P005  
LIPOSARCOME : CS26, P254  
LIQUIDE AMNIOTIQUE : CS54  
lissencephalie : CS39, P579  
lithase : CS19, P111, P512  
LMNA : P378, P578  
Loeys-Dietz : P542  
logiciels prédictifs : P357  
loi : P194  
LRR : P358  
Luminex : P334  
Luxation congénitale de hanche : P319  
lymphome : P237  
Lymphomes de Burkitt : CS25  
Lysosome : P379  
Macrocéphales poly flagellés : P178  
macrocéphalie : P124  
macula : P010  
Maladie auto-immune : P630  
Maladie de Danon : P412  
Maladie de Darier : P499  
Maladie de Fabry : P671  
Maladie de Fanconi : CS29  
maladie de Gaucher : P384  
maladie de Huntington : P566, P676, P680, P682  
maladie de Lesch-Nyhan : P565  
Maladie de Menkes : P427  
Maladie de Parkinson : P284  
Maladie de Rendu-Osler : P669, P681  
maladie de surcharge : P382  
maladie de von Hippel-Lindau : CS27, P660  
maladie de waldenstrom : P221  
maladie de Willebrand de type 3 : P348  
Maladie de Wolman : P687  
maladie génétique : CO16  
Maladie lysosomiale : P687  
maladie métabolique : P456  
maladie mitochondriale : P402  
Maladie multifactorielle : P320  
maladie neurologique : CS38  
maladie thromboembolique : P367  
Maladies autosomiques récessives : P292  
maladies génétiques : P379, P544  
maladies mitochondriales : P398, P405, P406  
maladies multifactorielles : P306  
maladies neurodégénératives : P585, P627  
maladies neurologiques à révélation tardive : CS64  
Maladies neuromusculaires : P621  
Malformation congénitale : P068, P073  
malformation congénitale des membres : CS58, P080  
malformation du tronc cérébrale : P093  
malformation oculaire : P061, P089, P156  
Malformations : P091, P282, P594, P611  
Malformations dentaires : P031  
Malformations urogénitales : P065  
mannosyltransferase : P332  
mar(8) : P614  
Marfan : P047, P540, P626, P629, P674  
Maroc : P293  
marqueurs : P220  
Marqueurs chromosomiques surnuméraires : P610  
mastocytose : P222  
mat UPD16 : P111  
matrice extracellulaire : P421  
maturation post-natale : P601  
Mbn11 : P572  
MCA/MR : P130  
MCS : P098  
MCT8 : CS38  
MDR3 : CS19  
MECP2 : CS13, P589, P593  
médulloblastome : CS08  
MEF2C : CS02  
MEFV : P359  
méiose : P170  
mélanome : P205, P251, P252  
mélanome familial : P244  
MELAS : CO07, P688  
Melnick-Needles : P092  
métabolisme : P250, P601  
métabolisme du fer : P584  
Méthode de Screening : P274  
méthylation : P208  
MFN2 : P476  
MFOLD : P356  
MGUS : P224  
MICI : P305  
micro-ARN : CS03, CO16, CS42, P261, P264, P563  
microdélétion : P169, P504  
microdélétion 14q12 : P105  
microdélétion 21q22.12 : P129  
microdélétion 22q11.2 : P641  
microdélétion 2q32 : P135  
microdélétion 5q14.3 : CS02  
microdeletion homozygote 15q13.3 : CS11  
Microduplication : CS15, P112, P131  
micronoyau : P218  
migraine hémiplégique sporadique : P428  
migration neuronale : P446  
Miller-Dieker région : P112  
mineurs : CS49, P658  
minigène : P561  
mitochondrial disorder : P400  
mitochondrie : CO09, CO13, P041, P307, P399, P403, P407, P567, P584, P624  
mitochondriopathie : P394  
mitofusine : P471  
MLL : P229, P234, P235  
MLL-CBL : P228  
MLPA : P230, P239, P505, P611  
modèle : CO06  
Modèle animal : P557, P595  
Modèle prédictif : CO18, P392  
modèles cellulaires : CS48  
modèles souris : CS47, P599, P600  
modélisation : P477  
modificateur : CS28  
Môle hydatiforme : P049, P050  
môles hydatiformes : P048  
monodactylie : P030  
monogenic : P352  
monogenic diseases : P553  
monogénisme : P086  
monosomie 11qter : P182  
monosomie 2pter : P175  
monosomie 7 : P142  
monosomie X : P173  
monozygotie : CS12  
MOPDI/III : P016  
morpholino oligonucléotide : P577  
Morquio : P382  
Mort foetale in utero : P094  
mosaïcisme : P163, P655  
mosaïcisme gonadique : P057  
mosaïque : P025, P127, P148, P275  
mosaïque APC : P211  
mosaïque germinale : P029, P636  
mosaïque ovarienne : P138  
mosaïque somatique : P462  
mosaïques cryptiques : P153  
mosomie 2q : P133  
motility disorders : P558  
mouse model : P603  
mtDNA : P400  
MTM1 : P183, P557  
mucopolysaccharidose : P381, P385  
Mucoviscidose : CS04, CS50, CS61, P334, P335, P337, P338, P341, P633, P649, P651, P654  
multi-marqueurs : P297  
multigénique : P306  
multilinguisme : P192  
mutagenèse ciblée : P600  
Mutagenèse insertionnelle : P693  
mutation 744delA : P432  
mutation BRCA1 BRCA2 : P248  
mutation C1355Y : P649  
Mutation C282Y : P369  
mutation de novo : P466  
mutation fréquente : P396  
mutation G1691A : P367  
mutation G2019S du gène LRRK2 : P284  
mutation G20210A : P367  
mutation germinale : P231, P232  
mutation I148T : P337  
Mutation ponctuelle : P534  
mutation récurrente : P380  
Mutation thermosensible : P491  
mutation V617F : P363  
mutations : CO02, CS04, CS06, CS29, P268, P273, P275, P323, P340, P341, P346, P349, P372, P376, P378, P392, P426, P441, P478, P488, P500, P501, P503, P506, P507, P522, P547, P549, P583  
Mutations CEP290 : P343  
mutations d'épissage : P561  
mutations du gène CDH1 : P216  
myélodysplasie : P365  
myélodysplasie de l'enfant : P222  
Myélome multiple : P224  
MYH : P207  
Myopathie centronucléaire : P416, P557  
myopie : P531  
Myotonic Dystrophy : P563  
naïl patella : P150  
NAIP : P415  
NARP : CO07  
NBR2 : P265  
NEM2 : P281  
NEMO : P590  
néomutation : P267  
neonate : P459  
néphrine : P510  
néphromégalie extrême : P643  
néphronoptise : CS35  
néphropathie progressive : P008  
néphropathie tubulo-interstielle chronique : P514  
Neuro-dégénérescence : P457  
neuro-ophtalmologie : P010  
Neuroblastome : CO02  
Neurodégénérescence : P576  
Neurofibromatose : P198, P197, P239, P241, P504  
neurones : P039  
neuropathie auditive : P491  
Neuropathie optique isolée : CO09  
neuropathies : P470, P574  
Neuropathologie : P586  
neurotransmission : P460  
Névralgie amyotrophante héréditaire : P464  
newsletter : P652  
NF- : CS60  
NF1 : CS07, P504  
NIPBL : P139  
NLRP3 : P358, P360  
NLRP7 : P050  
NMD : P562  
NOD2/CARD15 : P305  
Noonan : P058, P059, P678  
Nouveau syndrome : P015  
nouvelle mutation : P269, P380, P395, P485, P518  
Nucléotidase : CS36  
OAVS : P027  
obésité : CO08, P175, P352, P528  
OCA2 : P483  
OCRL1 : P505  
Oculo-Facio-Cardio-Dentaire syndrome : P028  
ODA7, LRRC50 : CS59  
œil : P022, P063  
œil de tigre : P457  
OFD : CS34  
oligodendrocytes : P581  
oligodontie : P034, P035  
oligogénisme : CO10



- oligomérisation : P590  
 Oligophrénie : P525  
 Omphalocèle : P531  
 Oncogénétique : CS66, P661, P662  
 OPA1 : P399, P476  
 Oral : P036  
 organes génitaux : P022  
 organisation : P661  
 organisation des soins : P665  
 ossification : P602  
 Ossification hétérotopique : P072  
 ostéochondrodysplasie : P074  
 oto-palato-digital : P092  
 Otoferline : P491  
 p.F508del : P295  
 p16, E-Cadhérine : P049  
 Pallister-Hall : P639  
 Palmitoyl protéine thioestérase : P461  
 PANK2 : P439, P457  
 Paragangliomes : CO15, P659  
 parapariéses spastiques : P431  
 Paraplégie spastique : P403, P465, P466, P467, P577  
 parent-of-origin effect : P289  
 Parkinson : CO14, P453, P454, P455  
 partenaire de RUNX1 : P227  
 Pathologies mitochondriales : P564  
 Patrimoine génétique : P293  
 PAX6 : P089  
 PCDH19 : CO01  
 PCR en temps réel : P336  
 PCR multiplexe : P233  
 PCSK9 : P376  
 PDE6C : P487  
 PDH : P393  
 PDHB : P396  
 pédiatrie : P282  
 peignage moléculaire : CS09  
 pendred : P489, P490  
 Pénétrance : P309, P369, P407  
 peptidylarginine diméinase 4 : P315  
 perforine : P232  
 Périphérie nucléaire : CS41  
 Peroxysome : P475  
 Personalized medicine : P552  
 perte de fonction : P474  
 pertes foetales à répétition : P184  
 Peters plus : P086, P090  
 PGRN : P441  
 pharmacogenetics : P550, P552  
 phénotypage : CS47, P600  
 phénotype : P119  
 phénotype anormal : CS65  
 Phénotype clinique : P016, P435  
 phénotype Prader-Willi : P175  
 Phénylcétonurie maternelle : P042  
 phéochromocytome : P659  
 PHKA2 : P386  
 PHKG2 : P386  
 phosphoglucomutase : P387  
 pièges diagnostiques : P422  
 Pigmentation characteristics : P242  
 pituitary deficiency : P351  
 PKD : P508  
 PKHD1 : P513  
 PKS : P132  
 PLA2G6 : P439  
 Plakophilin2, Desmocollin2, Desmogleine2, Plako : P325  
 pli palmaire transverse unique : P160  
 pluripotence : P097, P553  
 pluripotent stem cells : P554  
 PMM2 : P646  
 PMP22 : P470  
 podocine : P510  
 poisson zèbre : CS35, P577  
 Poitou-Charentes : P536  
 polyarthrite rhumatoïde : P315  
 polyglutamine : P429, P568, P582, P585  
 polykystose rénale : P508  
 polymicrogyrie : CS39  
 polymorphismes : CO05  
 polyneuropathie amyloïde : P407  
 Polypose : P207, P658  
 polypose adénomateuse familiale : P211  
 polypose colique familiale : P212  
 Population : P283  
 Population Tunisienne : P544  
 PORCN : P088  
 portail européen : P192  
 positive selection : CO12, P290  
 prédictions informatiques : P278  
 prédisposition : CO02, CS28, P321  
 Prédisposition au cancer : P273  
 prédisposition génétique : P213, P252, P663  
 Premature ovarian failure : P172  
 première consultation d'oncogénétique : P656  
 présymptomatique : P245  
 prévalence : P285  
 primary ciliary dyskinesia : CS59  
 primates : CO12  
 Prion : P444  
 prise en charge : CS66, P675  
 prise en charge psychologique : P248  
 PRKAG2 : P331  
 PRKD1 : P105  
 Profession de santé : P187  
 PROFIL GENETIQUE : P254  
 progeria : CO11, P036  
 prohormone convertase 1 : P352  
 PROKR2 : CO10  
 prolapsus valvulaire mitral : P304  
 Pronostic : P087, P450  
 Pronostic et conseil génétique antenatal : P619  
 Prophylaxie : P185  
 prophylaxie chirurgicale : P663  
 prostate cancer : P253  
 protéase : CS46  
 Protéine REP-1 : P486  
 protoporphyrie érythroïdétique : P361  
 pseudo Klinefelter : P168  
 pseudo-exon : P335, P355  
 pseudo-obstruction intestinale chronique : P041  
 pseudodéficiência : P283  
 pseudoxanthome élastique : P672  
 Psoriasis : P314  
 psychologie : P628  
 PTEN : P270  
 PTPN11 : P057, P059  
 puces à ADN : CS65, P020, P118  
 puces à SNP : P103, P157, P397, P108, P221, P347, P433, P535  
 pycnodysostose : P076  
 PYGL : P386  
 Pyroséquençage : P548  
 pyruvate deshydrogénase : P396  
 QMPSF : P179, P277, P389, P490  
 qPCR-HRM : P217, P548  
 qualité de vie : P626  
 quantification génique : P230  
 questionnaire : P656  
 questionnaire patients : P666  
 R117H : CS61  
 RANBP2 : P402  
 Réarrangement génomique de grande Taille (RGT) : P265  
 réarrangement Kde : P233  
 réarrangement subtélomérique cryptique : P182  
 recombinaison : P110, P149, P606, P607  
 recurrent pregnancy loss : P169  
 registre : P061, P632, P686  
 régulation d'expression : CS33  
 rein : P203  
 reins hyperéchogènes : P513  
 REL : P316  
 Relais : P653  
 Relation génotype-phénotype : P209  
 remaniement chromosomique : CS65, P120, P162, P606  
 remaniement complexe 17 p : P114  
 Rendu-Osler : CS55  
 rénine : P514  
 Réparation de l'ADN : P031, P517, P566  
 répétitions GAA : P432  
 réseau : P155, P431  
 restrictive dermatopathy : P377  
 RET : P281  
 RET/GDNF : P067  
 retard de croissance : P038  
 retard de croissance symétrique : P032  
 retard de développement : P134, P136, P139  
 retard mental : CS02, CS12, CS14, CS16, CS60, P006, P007, P008, P017, P019, P042, P068, P100, P116, P121, P126, P140, P141, P144, P181, P360, P446, P474, P521, P522, P523, P524, P525, P543, P575  
 retard psychomoteur : P024  
 Rétine : P576  
 Rétinite pigmentaire : P482  
 rétinoblastome : CS28, P275  
 rétinopathie : CS11  
 Rétinopathie pigmentaire liée à l'X : P484  
 retrospectif : CS10  
 RETT : P526  
 réversion de mutation : P211  
 réversion sexuelle : P070, P164  
 RFXANK : P322  
 rhabdomyolyse : P419  
 rhumatoid arthritis : P316, P317, P318  
 RhoGEF : P574  
 rhombencéphalosynapsis : P054  
 RIN2 : P530  
 risque : P321  
 RSK2 : P575  
 Rubinstein-Taybi : P095, P096  
 rudataxine : CS56  
 RUNX1 : P128, P129  
 RyR2 : P655  
 SAA1 : CS18  
 SACS : P437  
 Sam68 : P572  
 Sarcome Ewing : P255  
 Saut d'exon : CS63, P690  
 SCA15 : P436  
 SCA3 : P435  
 SCA31 : P434  
 SCL25A38 : P364  
 sclérodermie systémique : P313  
 Sclérose latérale amyotrophique : P443  
 Sclérose Tubéreuse : P503  
 Scoliose idiopathique : P320  
 score diagnostique : CS62  
 screening : P475  
 SDHB, SDHC, SDHD : CO15  
 seckel : P077  
 ségrégation : P180  
 selection bias : P289  
 sélection clinique : CS58  
 SEPT9 : P464  
 séquençage : P304  
 séquençage haut débit : P276  
 séquence Alu : P268, P381  
 Séquence de Pierre Robin : CS33  
 séquences conservées : P067  
 Sévérité phénotypique : P495  
 SHH : P045  
 SHORT : P005  
 short humerus : P074  
 shunt hépatique : P681  
 Signe de la molaire : P638  
 signes neurologiques : P473  
 Silver-Russell : P142  
 SIM1 : P141, P528  
 Simpson-Golabi-Behmel : P605  
 sines cutanés, alopecie : P684  
 siRNA : CS44  
 Skin cancer risk : P242  
 SLC19A3 : P456  
 SLC29A3 : P085  
 SLC40A1 : P373  
 Sleep : CS24  
 SMA : P415  
 SMED : CS01  
 SMN : P415  
 SNP : P301  
 SNP array : P152, P202  
 SNP-Haplotypes : P311  
 sonde froide : P272  
 SOS1 : P058  
 Souris KO : CS47, P599  
 SOX10 : P493, P560  
 SOX2, NANOG et OCT4 : P097  
 SOX3 mutations : P351  
 SOX9 : CS33  
 spasmes infantiles : P527  
 Spastic ataxia : P437  
 spasticité : P008, P452  
 spectre de mutations : P496  
 spermatogenèse : P559  
 SPG11 : P452, P466, P467  
 Spina Bifida : P043, P046  
 sPLA2 activity : P550  
 SPRED1 : CS07, P241  
 SQF-PCR : P338  
 STARGARDT : P478  
 Steinert : P414  
 sténose aortique supra-avalvulaire : P145  
 sténose conduits auditifs externes : P119  
 sténose pulmonaire : P059  
 Stormorken syndrome : P533  
 Stratégie diagnostique : P416  
 stratégies d'investigation : P497  
 SUCLG1 : P394  
 SUFU : CS08  
 Suivi médical : P677  
 Surcharge en fer : P689  
 Surdité : P425, P492, P635  
 Synapse : P598

Synaptic plasticity : P575  
 syndactylie des mains et des pieds : P081  
 syndrome : P528  
 Syndrome CHARGE : P082  
 syndrome CODAS : P004  
 syndrome d'Aicardi : P055, P451  
 Syndrome d'Ehlers-Danlos : P673  
 syndrome de Bardet-Biedl : CO08, P344, P346  
 Syndrome de Barth : P324  
 syndrome de Beckwith-Wiedemann : P223  
 Syndrome de blépharophimosis : P485  
 Syndrome de Cockayne : P031  
 Syndrome de Cornelia de Lange : P640  
 syndrome de Desbuquois : CS36  
 syndrome de Donnai-Barrow : P531  
 Syndrome de Down : P126  
 Syndrome de Floating Harbor : P013  
 Syndrome de Fraser : P091  
 Syndrome de Fryns : P007  
 Syndrome de Gertsman  
 Straussler Scheinker : P444  
 Syndrome de GOLTZ : P088  
 syndrome de Gorlin : CS08  
 Syndrome de Jarcho-Levin : P645  
 syndrome de Joubert : P001, P638  
 Syndrome de Legius : P241  
 syndrome de Leigh : P405, P688  
 syndrome de Lynch : CS30, P208, P209, P210, P213, P246  
 Syndrome de marfan : P541  
 Syndrome de McKusick-Kaufman : P344  
 syndrome de Meckel : P001  
 Syndrome de Netherton : CS46, P496  
 syndrome de Noonan : P057, P060  
 Syndrome de Parsonnage et Turner héréditaire : P464  
 Syndrome de Potocki-Lupski : CS15  
 syndrome de Potocki-Shaffer : P084  
 syndrome de Prader-Willi : P174  
 Syndrome de QT long : P326  
 syndrome de Raine : P087  
 Syndrome de repolarisation précoce : P330  
 Syndrome de Rett : P586, P589, P593  
 Syndrome de Rubinstein Taybi : P094  
 Syndrome de Silver Russell : CS62  
 Syndrome de Simpson-Golabi-Behmel : P534  
 Syndrome de Turner : P160, P637  
 syndrome de Usher : P345  
 Syndrome de Werner : P518  
 syndrome de Williams et Beuren : P145  
 syndrome de wolfram : P473  
 Syndrome de Zellweger : P643  
 Syndrome délétionnel Xp11.3 : P484  
 Syndrome du QT long : P328  
 Syndrome facioaudiosymphalangisme : P075  
 Syndrome H : P085  
 Syndrome HGPPS : P093  
 Syndrome HNCC : P657  
 syndrome néphrotique congénital : P510  
 Syndrome oculo-cérébro-rénal de Lowe : P505  
 syndrome oculo-ectodermal : P064  
 syndrome polymalformatif : P018, P032, P608  
 Syndrome tricho-hépatenterique : P532  
 syndromes géniques : P642  
 Syndromes malformatifs : P651  
 syndromes microdélétionnels : P154  
 syndromes myéloprolifératifs : P363  
 synostoses multiples : P075  
 système nerveux entérique : CS23, P560  
 système rénine-angiotensine : P507  
 systèmes d'information : P667  
 t(1;17)(p36;q21) : P222  
 t(20;21)(q13.2;q22.12) : P227  
 T14709C : P404  
 T3 : CS38  
 TACSTD1 : P213  
 TARDBP : P440  
 Tau : P570, P571  
 Tauopathies : P570, P571  
 Taurodontisme : P037  
 taux d'attrition : P662  
 Taybi-Linder : P016  
 TCF2 : P117  
 TCF2/HNF1b : P513  
 TCF4 : P025  
 TCOF1 : P083  
 TDP-43 : CO03  
 TDT : P314  
 TECTA : CS14  
 télangiectasie hémorragique héréditaire : P294  
 Télomère : CS41  
 témoins de référence : CS22  
 temporal : P569  
 tératome sacro-coccygien : P097  
 test fonctionnel d'épissage : P354  
 test génétique : P662  
 test minigène d'épissage : P278  
 test prédictif : P186  
 Test présymptomatique : P658  
 test présymptomatique chez le mineur : P193  
 Tests génétiques : P665  
 tétrasomie 12p : P132  
 TfR2 : P373  
 TGFbeta : P604  
 TGFBI : P477  
 TGFBR2 : P540  
 Thalassémies : P686  
 THAP1 : P423  
 Thérapie : CS45, P690  
 thérapie ciblée : P549  
 Thérapie génique : P693  
 Thrombocytopathia : P533  
 thrombopénie : P128  
 TIMM8A : P425  
 TMPRSS6 : P362  
 TOP3A : P229  
 Tour du génome : CS57  
 tourisme reproductif : P196  
 TP-PCR : P414  
 traduction : CO13  
 trafic vésiculaire : CS56  
 traitement : CO11, P593  
 Traitement anaplastique : P682  
 Transcription : P543  
 Transcriptome : CS60, P250, P258  
 transcriptomique : CS20, P220, P580  
 transcrits alternatifs : P559  
 transdisciplinarité : P199  
 translocation : P102, P181, P255, P620  
 Translocation chromosomique : P174  
 translocation équilibrée : P144  
 translocation robertsonienne : P618, P180  
 translocation t(X;13) : P166  
 Translocations variables en mosaïque : P032  
 transmission père-fille : P056  
 transport hormones thyroïdiennes : P581  
 transport mitochondrial du pyruvate : P397  
 transporteur noradrénaline : P551  
 Treacher Collins-Franceschetti : P083  
 Treacle : P083  
 tremblements corticaux : P445  
 Tripeptidyl peptidase I : P461  
 Triplication 11q2 : CS14  
 triplication 19p : P120  
 trisomie 14 : P648  
 trisomie 15q : P033  
 trisomie 16qter : P182  
 trisomie 17p13.3 : P113  
 trisomie 19q : P133  
 trisomie 21 : P126, P127, P226, P555, P594, P595, P632, P677  
 Trisomie 22 en mosaïque : P619  
 trisomie 22q : P099  
 trisomie 5p : P609  
 trisomie 9p : P033, P099  
 Troubles du langage : P118  
 troubles neurologiques : P517  
 TSC1 et TSC2 : P503  
 tubulines : CS39  
 Tumeur corticosurrénalienne : P212  
 tumeur de la plaque tectale : P406  
 Tumeurs Rhabdoïdes : P636  
 Twinkle : P442  
 Tyrosinase variants : P242  
 UGT1A1 : P388  
 unbalanced rearrangements : P147  
 Usher : P312  
 Valproate : P043  
 variabilité phénotypique : P148, P154, P412, P641  
 variant : P257  
 variant faux-sens : P263  
 variants chromosomiques : P137  
 variants de signification inconnue : P354  
 Variants génétiques fréquents : CS17  
 variants non classés : P357  
 variation de risque : CS21  
 Vasculopathie proliférative : P053  
 VEMS : P297  
 VHL, MEN1, NF1 : P274  
 Vocalization : P598  
 voie ectodysplasine/NF-kappaB : P591  
 voie RAS-MAP Kinase : P058  
 voie Wnt/beta-caténine : P591  
 Waardenburg syndrome : P493  
 Waldenström : P236  
 WFS1 : P311, P473, P492  
 Wilson : P426  
 WNK : CS42  
 WNT10A : P502  
 Wolf Hirschhorn : P137  
 Wolff Parkinson White : P125, P331  
 WT1 : P592  
 X fragile : P520  
 YWHAE : P115  
 ZMPSTE24 : P377



- A**
- Aabizanda P594  
 Aadda P367  
 Abadi P415  
 Abadie CS33, P082, P092, P223, P251, P542, P660  
 Abaied P522  
 Abaji P258  
 Abbassi P564  
 Abd-Rabbo P258  
 Abdelhak P283, P331, P384, P479, P485, P501, P544  
 Abdelhedi P081, P104, P145  
 Abdelkefi P151  
 Abdelmoula P058, P158, P169, P181  
 Abecassis P259, P273  
 Abeguilé P529  
 Abel P644  
 Abid P331, P404  
 Abidli P151, P184  
 Abifadel P375, P376  
 Abizanda P595  
 Aboura P021, P052, P116, P156, P614  
 Aboussair P488  
 Abramowicz P139  
 Abroug P426  
 Acquaviva P391, P642  
 Adala P486, P518  
 Adamsbaum P636  
 Adela P426, P517  
 Adenis P186  
 Ades P674  
 Adjagba P171  
 Aerts CS28, P238  
 Afenjar CO01, CS38, P013, P093, P114, P131, P157, P298, P332, P462  
 Afoutou P048, P060, P204  
 Aghakhani P660  
 Agouti P313, P377  
 Aguilár-Martínez P362  
 Aguilélla-Devaud P610  
 Ahmad CO17  
 Ahmed CS56, P472  
 Ahouansou P308  
 Aigrain P353  
 Airaud P267, P268, P546  
 Aissaoui P143, P652  
 Aissat P335  
 Ait Abdallah P266, Abdallah P281  
 Ait Abdelkader P098  
 Ait Abdellah P683  
 Ait el mkadem P311  
 Akhavi P100  
 Al Ageeli P112, P131, P163, P177  
 Al-Gazali CS36  
 Aladjidi CS08  
 Alanay CS36  
 Alanio P033  
 Alao P126  
 Albert P180  
 Alberti-Boulmé CS61  
 Aldaz-Carroll P049  
 Aldriss CS56, P439
- Alembik P035, P061, P073, P632, P634  
 Alessandri P092  
 Ali-Pacha P430  
 Aliferis P090  
 Allaire P006  
 Allamand P421  
 Allanore P318  
 Allart P170  
 Allen P551  
 Allorge P478, P482  
 Allou P526  
 AlQusairi C14  
 Althuser P647  
 Altschuh P568  
 Altuzarra P332, P393  
 Alvers P316  
 Alvesi P317  
 Amar CO15, P212  
 Amara P379, P486  
 Amati-Bonneau CS02, P399, P403  
 Ambert P162  
 Amblard P299  
 Amblard P647  
 Amiel CO02, CS23, CS33, CS34, P067, P282, P289, P347, P493, P535, P644  
 Ammar P314, P356  
 Amoasii C14  
 Amouri P066, P143, P151, P169, P172, P184, P485  
 Amram P639  
 Amri P545  
 Amsalem P475  
 Amsallem P526  
 Amselem CS18, CS59, P345, P351, P358  
 Anahory P621  
 Andireux P165  
 Andre CO11, P691  
 André CO06, P191, P251, P290, P532, P588, P556  
 Andres CO04, P039, P573, P578, P310  
 Andrieu CO18, CS21, P262, P302  
 Andrieux CS02, CS11, CS15, CS16, CS58, P028, P029, P030, P109, P110, P113, P115, P121, P123, P125, P129, P137, P148, P154, P155, P159, P236, P528, P605, P607, P610, P080  
 Andrini P647  
 Andrzejewski-Vermelle P123  
 Angelis P313  
 Angin P668  
 Angioi P360  
 Anglard P586  
 Anheim CO14, P437  
 Ansqer P246  
 Antar P519  
 Antignac CS35, P067, P111, P347, P506, P507, P510, P514, P535, P592  
 Antin P347  
 Antonarakis P594, P595  
 Antoni P499  
 Apartis P445  
 Aral CS34, CS54, P610  
 Arbez-Gindre P613
- Arbues P174  
 Arbustini P674  
 Arciszewski CS66  
 Aregui P226  
 Arfa P331  
 Arimura P601  
 Arnaud P097, P213, P268  
 Arne-Bes P471  
 Arnould P124, P213, P254  
 Arnoult CS41  
 Arnoux P353, P395, P401  
 Arous P258  
 Arpin P013  
 Arrondel P592  
 Arrufat P203  
 Arsaban CO17  
 Artus P693  
 Arveiler CS03, CS08, P008, P026, P027, P056, P074, P092, P094, P095, P096, P155, P337, P437, P452, P464, P483, P635, P649  
 Arzimanoglou P152  
 Aschard P297  
 Asheuer P308  
 Ashtiani P253  
 Assami P457  
 Asselain CO18  
 Assouline P071, P299, P405  
 Assoum CS56, P430  
 Astruc P061, P087, P632, P634  
 Attaoua P311  
 Attarian CS09  
 Attia-Sobol CS51  
 Attias P540  
 Attie-Bitach CS23, CS34, P001, P002, P053, P082, P095, P109, P493, P639, P646  
 Aubourg P308  
 Aubry P220  
 Audebert-Bellanger P182  
 Audrezet CS61, P339, P508, P633  
 Auge P688  
 Augé P599  
 Aulagne P238  
 Ausems CS36  
 Autret P319  
 Auvrignon P163  
 Avet-Loiseau P224  
 Avila-Smirnow CS37  
 Avril P205, P244, P690  
 Ayadi CS47, P315, P545, P600  
 Ayari P201  
 Ayed P066, P143, P151, P172, P184  
 Ayivi P126  
 Ayme P587  
 Aymé P665, P667, P668  
 Ayuso P399  
 Aziza P071  
 Azzedine P439, P457, P472  
 Azzi CS62  
 Azzouz P384
- B**
- Babarit CS23, P097, P591  
 Babron CS22, P302, P303
- Bach Segura P018, P645  
 Baclet P682  
 Bacq CS19  
 Badano CS23  
 Badens P525, P532, P686  
 Badila-Timbolschi P061, P632, P634  
 Baert-Desurmont P210, P211, P213, P354  
 Bahi-Buisson CS39, CS40, P446, P458  
 Bahloul P315  
 Bailleul P373  
 Bailleul-Forestier P034  
 Bailly CS55, P180, P622, P627  
 Bajolle P032, P082  
 Bal P537, P590, P591  
 Balduyck P410  
 Balkau P352, P528  
 Balland P228  
 Ballet P255  
 Balsa P316, P317  
 Balu P463  
 Bammens P333  
 Bandiera CO16  
 Banihosseini P295  
 Banneau P270  
 Bannwarth P311, P398, P473, P564, P688, P394  
 Bar-Shira P284  
 Barbance P428  
 Barbarot P498  
 Barbier P308  
 Barbu CS19  
 Bardien P284  
 Bardin P316, P317  
 Bardou-Jacquet P366, P370  
 Bargal CS01  
 Aubry P220  
 Barilout CS03  
 Barjoux P261, P302  
 Barnérias P332  
 Baretche CS03  
 Barone P333  
 Barre P648  
 Barre-Dezellus P459  
 Barreiro P286, P287  
 Barrera P317  
 Barth P101, P365, P401  
 Barthelemy CO04  
 Bartoli P690  
 Bartos P328  
 Bas P138, P555  
 Basak P284  
 Basehore P381  
 Basinko P182, P227, P234, P235  
 Basset-Seguín P242, P252  
 Bassinet P335  
 Bastard P142  
 Bastin CS59  
 Bataille P425  
 Baty P495  
 Baudoin P047, P542, P629  
 Baudot P574, P578  
 Baudry P654  
 Baujat P078, P675  
 Baulac P569, P569  
 Baumann CS23, P009, P021, P052, P092, P156, P265, P382, P640



Baumert P205  
 Baussan CS19, P386  
 Baverel P122  
 Bay P230  
 Beales CS23  
 Beaudou P063  
 Beaufiles P246  
 Beaufrère P091  
 Beaujard P112, P114, P131, P177  
 Beaumont P362, P364, P370  
 Beaurain CS42, P515  
 Beauvallet P302  
 Beche CS15  
 Becker P622, P627  
 Beckers P352  
 Beckmann P011, P020, P084, P118  
 Becq CS44  
 Bednarek P100  
 Bedu CS47  
 Beggs P557  
 Behar P255  
 Behin P690  
 Beinat CO13  
 Bejaoui P322  
 Bekri P383, P458  
 Belabbas CS19  
 Belajouza P518  
 Bélanger P418  
 Belarbi P284  
 Belardi P457  
 Belaud-Rotureau P148, P161, P168, P237  
 Belazreg P426, P486, P517, P518  
 Beldjord CS40, P177, P446  
 Belet CS63  
 Beley CS45  
 Belguith P081, P145, P356, P420  
 Belhadj P338, P341  
 Bellanne-Chantelot CS07, P117, P353  
 Bellayou P432  
 Bellazreg P671  
 Belleguic CS51, P045, P190, P191  
 Bellet P667  
 Bellis CS61  
 Bellon CS61, P340  
 Belmahi P292  
 Belmahi P359  
 Belostotsky CS01  
 Belotti P664  
 Ben Abdallah P099  
 Ben Abdallal P144  
 Ben Abid P545  
 Ben Ammar- El Gaied P314  
 Ben Charfeddine P426, P486, P517, P518  
 Ben Dridi P384, P545  
 Ben Elkadhi P517  
 Ben Hadj Hamida P486  
 Ben Hamad P315  
 Ben Jemaa P012, P014, P077, P079, P522  
 Ben Jilani P201  
 Ben Osman P314  
 Ben Osman-Dhahri P501  
 Ben Othman P151  
 Ben Rayana P486  
 Ben Rhouma P384, P420  
 Ben Soussan P248  
 Ben Turkia P383, P384  
 Ben Yahia P479  
 Ben Yaou CS57, P411, P417  
 Ben Youssef P231, P232, P233  
 Ben-Ali P286  
 Ben-Fadhel P283  
 Ben-Halim P283  
 Ben-Neriah CS01  
 Benachi CO07, P631  
 Benaich P429  
 Benajiba P440  
 Benali P293  
 Benammar Elgaaeid P305  
 Benazzouz P285  
 Benboudjema P257  
 Bendavid CO04, P044, P045, P054  
 Benech P339, P579  
 Benedetti P039  
 Beneteau CS14, P146, P360, P474, P645, P678,  
 Benghezal P390  
 Bengoa P484  
 Benhamou P303  
 Benhassine P284  
 Benistan P671, P672, P673  
 Benjalloun P385  
 Benko CS33  
 Benlatreche P415  
 Benlian P687  
 Benmansour P530  
 Benmoussa P363  
 Bennaceur-Griscelli P555  
 Bennett P377  
 Bennouna Greene P346, P480  
 Benoist P607  
 Benoist-Lasselín CS43, P602  
 Benoit CS27, P506, P510  
 Bensimon CS09  
 Bensman P512  
 Benyahia P062, P103, P108, P433  
 Benzacken P010, P021, P052, P116, P154, P155, P156, P531, P614  
 Béra P265  
 Beraud-Colomb P288  
 Bergaoui P014  
 Bergemer-Fouquet P412  
 Berger P670  
 Berguiga P173  
 Berhoune P098, P379, P390  
 Beri P054, P102, P153, P228, P474, P521, P613  
 Beri-Dexheimer P128, P134, P146  
 Berlengi P645  
 Bernard CS09, CS53, P162, P183, P223, P320, P386, P468, P469  
 Bernard Grisart P105  
 Bernheim CO17, CS25, P204  
 Beroud P257, P416, P540, P691  
 Berquier P689  
 Berquin CO01  
 Berquist P566  
 Berri P154  
 Bertagna P212  
 Bertaux P329  
 Bertherat CO15, P212  
 Berthet P186, P264, P278, P302, P326, P328  
 Berthier P256  
 Bertier P194  
 Bertini P580  
 Bertoli CS36  
 Bertrand CS57, P350, P351, P525, P601  
 Bessières P092, P646  
 Bessières-Grattagliano P053  
 Bessirard P325  
 Bessling CS23  
 Besson P413  
 Betancur P299  
 Beuchée P007  
 Beugnet P417  
 Beuvin CS57  
 Bezicau P267, P268, P348, P546  
 Bhouri P151, P426, P517  
 Biancalana C14, P296, P416  
 Bianchini CS26  
 Bibi P338, P341  
 Bidet P276  
 Bidot P128  
 Biebuyck P592  
 Bièche P217, P262, P548  
 Bienayme P593  
 Bienvenu CS61  
 Bieth CS13, CS61, P107, P475, P489, P490  
 Bigi P606, P608, P643  
 Bignon P215, P276, P518  
 Bigorre P064  
 Billard P300  
 Billette de Villemeur P042, P131  
 Binet P209, P260  
 Binquet CS61, P666  
 Biot P320  
 Biraben P056  
 Birling CS47, P599, P600  
 Bismuth P021  
 Bitoun CS36, P005, P010, P156, P346, P416, P531, P344  
 Bizot P595, P594  
 Blanc P450, P451  
 Blancbonnet P499  
 Blanchard P025, P437, P509, P515  
 Blanchet P092, P542, P643  
 Blasco P310, P412  
 Blayau P006, P168, P214, P215, P216, P633  
 Blesson CS51, P043, P095, P120, P519, P523  
 Bloch-Zupan P031, P516  
 Blombed P244  
 Blondeel P109, P113, P137  
 Bocciardi P072  
 Bocquet P482  
 Boddaert CS34, CS60, P032, P167, P401, P402, P405, P406  
 Bodemer P035, P496, P498, P502, P644  
 Bodiguel P640  
 Boehm P296  
 Boespflug-Tanguy P283, P424, P450, P452, P580, P581  
 Boggio P340  
 Bogliotti P300  
 Bohan P044  
 Böhm C14, P557  
 Boidin P208  
 Boileau P375, P376, P480, P540, P541, P626, P674  
 Boimard P477  
 Boisseau CS61, P348, P524, P633  
 Boissel P543  
 Boissier CS50  
 Boitier P244  
 Bole P002  
 Bole-Feysot CS60  
 Bollée P512, P514  
 Bologna P228  
 Bombardieri P316  
 Bombardueri P317  
 Bonadona CS30, CS32, P231, P232, P270, P302  
 Bonafe P645  
 Bonaiti CS30, P302, P321, P407  
 Bonaiti-Pellie CS30, P321, P407  
 Bondurand P493, P560  
 Bonello P468, P469  
 Boni P551  
 Bonithon-Kopp CS61  
 Bonnac Theron P042  
 Bonnart CS46  
 Bonne CS57, P411, P601  
 Bonneau CS02, P006, P043, P101, P312, P344, P346, P365, P399, P403  
 Bonnefont CO07, P032, P167, P324, P401, P405, P484, P590, P624  
 Bonnet P054, P082, P102, P134, P146, P153, P154, P270, P312, P474, P492, P521, P561, P585, P613, P657  
 Bonnet-Brilhault CO04  
 Bonnière P053  
 Borel P594, P595  
 Borges P589  
 Borghese P484  
 Borochowitz CS01  
 Borroni P434  
 Bory P033  
 Bosq CS25  
 Bossard P546  
 Bost P426  
 Bost-Bru P687  
 Botbol P693  
 Bou P179, P211  
 Bouali P173  
 Bouamama P425  
 Bouayed Abdelmoula P059, P066, P143, P172, P184  
 Boubaker P545  
 Bouche P471  
 Boucher P142, P179, P413  
 Bouchlaka-Souissi P314  
 Boucly P088  
 Boudaouara P081  
 Boudaya P341  
 Boudeya P338  
 Boudissa P281, P683  
 Boufettal P048  
 Bouffard P196, P197, P198, P199, P649  
 Bougeard P179  
 Bougeard P279  
 Boughalem P379  
 Bouhassira P673  
 Boukobza P174  
 Boulanger P176  
 Boulet P630  
 Bouligand P349  
 Boulliat P436  
 Boulot P643  
 Boumaza P266, P281  
 Bounasse P003  
 Bouquillon CS16, P113, P115, P123, P125, P137, P154, P165, P195, P528, P605, P610  
 Bouraoui P218  
 Bourdeaut P282  
 Bourdon CS31, P231, P232, P277  
 Bourdon-Lanoy P496, P498  
 Bourezgui P432  
 Bourgain C5, CS20  
 Bourgaux P213  
 Bourgeois CO11, P036, P598  
 Bourgeot P030



- Bourgeron CS24, P300, P301, P583, P598  
 Bourges P477  
 Bourges-Petit P533  
 Bourillon P242, P252, P500  
 Bouron P027  
 Bourrat P500  
 Bourrouillou CS13, P150  
 Bours CS04  
 Bourthoumieu P117  
 Bouslam P465  
 Boutaud P512  
 Boute CS55, P056, P159, P413  
 Boute-Benejean CS15, CS16, CS58, P080, P123  
 Bouteiller CO01, P157, P445  
 Boutia-Naji CS17  
 Bouton P567  
 Boutron P393, P395, P396, P397  
 Boutry-Kryza P447, P520, P527  
 Bouvagnet P327, P692  
 Bouvet CS20  
 Bouvier P513  
 Bouvier P646, P297  
 Bouzouffara P518  
 Bovo P182  
 Bowcock P314  
 Boyadjiev P023  
 Boyer P280, P391, P549  
 Bozon P561  
 Braham P173, P218  
 Braham P178  
 Brahimi P324, P402  
 Brailly-Tabard P349  
 Branco P552  
 Brandel P444  
 Brault P594, P595, P597, P603  
 Bravo P124, P213, P254, P549  
 Breguet P209, P260  
 Brennan P303  
 Bressac-de Paillerets P205, P244, P249  
 Bresson P613  
 Bretagne P216  
 Bretelle P641  
 Breton P532  
 Briand P017, P019  
 Briault CO04, P163, P519  
 Briaux P217, P262  
 Brice CO01, CO14, P103, P108, P157, P284, P298, P423, P429, P431, P433, P434, P436, P437, P440, P441, P443, P453, P455, P456, P457, P465, P467, P470, P577, P682  
 Bricou P062  
 Bridoux CS59  
 Brière P250  
 Brillhante P552  
 Briñas P421  
 Bringuier-Branchereau P660  
 Briot CS46  
 Brique P436  
 Brisselet P388  
 Brisset P017, P019, P106, P138, P170  
 Brissot P366, P366, P370  
 Brivet P393, P395, P396, P397, P419  
 Brockmann P466  
 Bronner P257  
 Bronsard P637  
 Brosset P117  
 Brouillet P549  
 Brousse P041  
 Broustal P443  
 Brueton P516  
 Brugieres CO02  
 Brun-Heath P392  
 Bruneau P007  
 Brunelle P406  
 Brunetti-Pierri P016  
 Brusco P429, P434  
 Buchonnet P142  
 Buecher CO18, CS30, P656  
 Buee P571  
 Buffet P107, P489, P490  
 Bui P649  
 Buisine CS58, P208, P210  
 Buisson P261  
 Bulhoes P552  
 Burada P160  
 Burbaud P423  
 Burcklé CS35  
 Burel-Vandenbos P202, P564  
 Burgelin CS03, P096  
 Burglen CS34, CS38, P093, P103, P157, P332, P397, P462, P463, P638  
 Burlet CO07, CS52, P624  
 Burnichon CO15, P250  
 Bursztejn P055, P496  
 Busa P085  
 Busca CS43  
 Busnel P109  
 Butler-Browne P690  
 Buzas P002  
 Byrde P249, P661, P662
- C**
- Cabaret P043  
 Cabet P340  
 Cabet-Bey CS61  
 Cabral P552  
 Cabrol CS62, P013, P351  
 Cabry CS52  
 Cacciagli P460  
 Cadet P369, P371, P373  
 Cadieu P251  
 Cadranel P369  
 Cagnoli P429  
 Cailho P174  
 Caillaud P461  
 Cailleret P554  
 Cailley P026, P027  
 Caillot CS54  
 Calais P312  
 Calender CS55, P239, P274, P306, P447, P520, P527  
 Callat P142  
 Callier CS11, CS54, P046, P128, P153, P154, P393, P521, P610  
 Calmels CS16, P157, P528, P567, P587  
 Calvas CS13, P035, P063, P089, P107, P150, P475, P489, P490, P502, P644  
 Calvo P471  
 Cambon-Thomsen CO05, P194  
 Campion CO03, CO04, P440, P441, P443, P570, P571  
 Camu P310  
 Camuzat P429, P440, P441, P443  
 Canals P380  
 Cancès CS13  
 Candelier P048, P049, P204  
 Cann P291  
 Cano P398  
 Canva P373  
 Capel P387, P388, P389  
 Capiod P533  
 Capri P581  
 Capron P369, P371  
 Caputo P257  
 Carat P579  
 Cardin P258  
 Cardoso P450  
 Cardot-Leccia P202  
 Carel P351  
 Carette P294  
 Carion CS40  
 Carioux CS60  
 Carlier P671, P672, P682  
 Carlotti P205, P256  
 Caron CS30, P215, P249, P302, P661, P662, P665  
 Carouge P586  
 Carpentier P103, P108, P152, P157, P298, P433, P434  
 Carr P284  
 Carre-Pigeon P033  
 Carrié P375  
 Carrière P471  
 Cartault P238  
 Cartier CS10, P240  
 Carton P022  
 Caruba P394, P398  
 Casalanguida P245  
 Cassini P046, P666  
 Castaldi P306  
 Castera CS28, P069, P271, P275  
 Castiglia P501  
 Castro CS53  
 Cau CO11, P313  
 Cautlet-Maugendre P237  
 Caux P056, P270  
 Caux-Moncoutier P271  
 Cavaciuti P302  
 Cavalcanti CS36  
 Cave P021,  
 Cavé P057, P226, P678  
 Cayol P053  
 Cazeneuve P284, P429, P435, P438, P449, P453, P454, P455, P467, P470  
 Cazin P236  
 Ceballos-Picot P111, P512, P565  
 Ceccaldi P555  
 Cecillon P357  
 Celier P256  
 Cévallos P533  
 Cézard P372  
 Chaabouni P012, P012, P014, P077, P077, P079, P079, P104, P104, P145, P145, P322, P322, P485, P494, P522  
 Chabaud P262  
 Chabchoub P315, P420, P448  
 Chabli P324  
 Chabolle CO15  
 Chabot P294  
 Chabrier CO15  
 Chabrol P085, P394, P398, P460, P461, P469, P473, P475, P569, P688  
 Chadefaux-Vekemans P594  
 Chafai Elalaoui P003, P015, P057, P075, P378, P380, P395, P488, P534, P292  
 Chafino P311, P473  
 Chaieb P173  
 Chaigne P421, P458  
 Chaix CS09, P089, P300  
 Chaker P066  
 Chakroun P283, P479  
 Chambe P239  
 Chambon P024, P179, P210, P648  
 Chami CS36  
 Chamkha P400  
 Chamouine P475  
 Champion P381  
 Champy CS47  
 Chanavat P327  
 Chanson P349, P442  
 Chantepie P412  
 Chantot P004  
 Chantot-Bastarud P103, P112, P114, P131, P157, P177, P462  
 Chantret P332  
 Chanu P689  
 Chaouch P690  
 Chapuis P681  
 Charavel CS32  
 Charbonnier P210  
 Charfeddine P331  
 Charfi P095, P404  
 Charles P174, P177, P435, P535  
 Charlesworth P495  
 Charlet P563, P572  
 Charlin P399  
 Charluteau P413  
 Charollais P140  
 Charpentier P265  
 Charpentier-Côté P197  
 Charra P046  
 Charron CS06, P323, P325, P326, P329  
 Chartoire P599  
 Chassagne P442  
 Chassaing CS03, P035, P063, P092, P156, P502, P644  
 Chasseigneaux P444  
 Chastang P016, P320  
 Chaste CS24  
 Chateil P074  
 Chatel P330  
 Chaudieu P556  
 Chaudru P205, P244  
 Chaussenot P394, P398, P473, P688  
 Chaze P175, P608  
 Chebaro P444  
 Cheillan CS61, P475  
 Chelbi P413  
 Chelloug P610  
 Chelly CS40, P012, P077, P322, P417, P446, P494, P519, P522, CS39  
 Chen P339, P374  
 Cheok P221  
 Cherif P181, P384, P485, P501  
 Cherkaoui P359  
 Cherkaoui Jaouad P285, P292, P380, P488  
 Cheuret CO01  
 Chevalier P177, P325  
 Chevallier CS37  
 Chevallier-Helas P024  
 Chevrant-Breton P499  
 Chevrier P186, P278  
 Chevrollier P399, P403  
 Chhin P692  
 Chiaverini P085

Chibon P255  
Chiesa P124, P213, P254  
Chikouche P098, P266, P281, P683  
Child P674  
Childers P557  
Chinnery P419  
Chipoulet P652, P657  
Choiset P612, P617, P618  
Choquet P352  
Chouchene P485  
Chretien CS55, P041  
Christmann P087  
Christophe P186  
Chuzhanova P339  
Ciccolella P466  
Clanet P424  
Claus P035, P037  
Claustres CS61, P047, P338, P355, P422, P540, P542, P621, P623, P626, P629  
Clavel CS61  
Clement CS24, CS59, CS61, P180  
Clements P088  
Clerc-Renaud P391  
Clerget-Darpoux P016, P192, P320, P289  
Cloëz-Tayarani P583  
Clomes P100, P102  
Close P551  
Clot P423, P441  
Cloutier P258  
Cluzeau P502, P590, P591  
Coateven P615, P616  
Cochat P513  
Cochaud P398  
Cochet CS18, P358  
Cohen P298, P540, P569, CS07  
Cohen-Haguenauer P693  
Coindre CS26, P256  
Coirault P325, P329  
Colas P207, P215, P246, P658, P671  
Colin P101  
Colleaux CS12, CS60, P167, P543  
Collet P071, P083, P495  
Collod-Bérout P540  
Collonge-Rame P153, P613  
Collot P351  
Combalat CO11  
Combarete CO02  
Combe CS47  
Combemale P239, P240, P241  
Combes P147, P213, P230, P503, P636  
Combrisson CS10  
Côme P554  
Commare P051  
Condroyer CO14, P284, P453  
Confavreux P424  
Consoli P193  
Consolino P249, P652, P661, P662  
Contrain CS31, P247  
Cooper P339  
Copigny P548  
Copin P109, P113, P121, P137, P159  
Coppin CS20  
Corbeil P186  
Corcia P310  
Corda P244  
Cordier P056, P061, P159, P187, P190, P191, P513, P520, P609,

P610, P619, P632, P634, P644, P652  
Cordon CO17  
Corgibet P243  
Cormier-Daire CS01, CS36, P030, P032, P078, P167, P401, P516, P604, P675  
Cornec-Le Gall P508  
Cornélis P217, P317, P316, P318  
Coron P046, P666  
Corvol CS61  
Cosnay P325  
Cosnes P409  
Cossée P346, P535  
Cosset P692  
Cossette P434  
Costa CS50, CS61, P335, P524, P631  
Costalat P064  
Coste CS59, P343  
Cote P260  
Côté P209  
Cottin P127  
Cottinet P412  
Cotting P011  
Coubes P054, P606, P621, P654  
Couderc P312, P475, P492  
Coudray P529  
Coulet P207, P215, P246, P257, P272, P280, P294, P669  
Coulli P049  
Coullin P048, P204  
Couloigner P675  
Counil P654  
Countouris P392  
Coupier CO15, P223, P636, P660  
Couprie CS03, P056, P092, P096, P437, P452, P464  
Couratier P440  
Cournelle P458  
Courtois P591  
Cousido-Siah P582  
Coussement P122, P612, P617  
Coustes-Chazalotte P482  
Coutinho P465  
Coutton P505  
Couture P196, P643  
Couturier CS28, CS29, P203, P255, P528  
Couvreur CS54  
Cowling C14  
Cox P261  
Creemers P352  
Creff P508  
Crehalet P327, P561  
Crème P410  
Crépin P208, P410  
Crestani P500  
Cretolle P097, P282  
Crevaux P630  
Creveaux P091, P451  
Crickx P205  
Crow P604  
Cuillère-Dartigues P207  
Cuisset CS11, CS16, P123, P125, P159, P358, P691  
Cuppens CS04  
Cusin P541, P626  
Czernichow P351

## D

D'Acromont CS61  
D'alessandro C14, P243  
D'amico P176  
D'hermies P477  
Dabin CO17  
Dacquin P602  
Dagoneau P078, P604  
Dahlgaard-Hove P047  
Dahoun CS10  
Dalac-Rat P495  
Dalle P205, P244  
Dalloneau P594, P595, P597  
Daloz P031, P516  
Dalmon P527  
Damance P134, P146  
Damier P423  
Danckaert P583  
Danglot CS25  
Danos CS63  
Danse CO08, P344, P346  
Dantal P580  
Danton CS62  
Darboux P171  
Darrouzet CO15  
Dastot-Le Moal P358, P493  
Dastugue CS10  
Daubos P464  
Dauchy P661  
Daudignon P221, P229  
Daudon P512  
Dauphinot P565  
Dauvier CS66  
David CO04, CS02, CS51, P044, P045, P054, P056, P092, P141, P153, P155, P161, P216, P270, P312, P498, P644, P660, CS23, P346  
Davranche P568  
Dawidowicz-Pachy P318  
De Barace P417  
de Becdelièvre CS50, P335  
De Blic CS59, P675  
De Blois CS12, P163  
De Braekeleer P182, P227, P227, P234, P234, P235, P235  
de Brito CO06, P251  
de Die-Smulders P421, P496  
De Freminville CS15, P677  
De Keyzer P419  
De Korvin P480  
De La Faille P511  
De La Rochebrochard P006, P054, P446  
De Leener P139  
De Lonlay P324, P332, P353, P395, P397, P401, P402, P405, P406, P419, P458, P687  
De Mas P471  
De Mascarel P270  
de Mazancourt P022, P392  
De Meirleir P419  
De Paep P530, P674  
De Pauw CO18, P190  
de Pontual CO02, CS23, P282  
De Prost P499  
De putte P317, P316  
de Ravel P034, P483  
De Reynies P270  
De Sandre-Giovannoli CO11, P005, P036, P313, P377  
de Santa Barbara P558  
De Simone P444

De Tayrac P220  
De Toffol P447  
De Verneuil P408  
De Viragh P011  
Dealbert P337, P649  
Debaecker-Peulmeule P651  
Debeaufort P133  
Debré P200  
Debry P087  
Debs P456  
Decarpentrie P559  
Décha CS63  
Dechelotte P091  
Decostre P601  
Decullier P681  
Defoort P399, P478  
Defoort-Dhellemmes P093, P481, P483  
Deforges CS08, P056, P092, P096  
Degermann P245, P259, P273, P663  
Dehainault CS28, P275  
Deharo P325  
Dehbi P363, P367, P385, P432  
Dehouck CS16  
Del Rio P547  
Delaby P109  
Delacretaz P325  
Delague P574, P578  
Delahaye P010, P116, P154, P156, P531, P614  
Delahaye-Duriez P032  
Delalande P076  
Delalogue P249  
Delattre CO02, P017, P019, P203, P255, P282, P345, P636  
Délépine P312  
Delezoide CS37, P078, P640  
Delfosse P038  
Delfour P254  
Delisle P328, P571  
Delmont P444  
Delnatte P257, P267, P268  
Delobel CS15, CS16, P029, P109, P123, P159, P164, P312, P528  
Delorme CS24, P301, P647  
Delous CS35  
Delpech P477  
Delphin P481, P484  
Delrue P026, P074, P096, P337, P540, P635  
Deluche P222  
Delvaux P536, P538  
Delvincourt P257  
Demange P185, P217, P231, P232, P262, P277  
Demeer P005, P008, P033, P095, P113, P121, P137, P533  
Demenais C2, P205, P244, P297  
Demonet P300  
Demurger P148, P168  
Denguezli P518  
Denis P465, P467  
Denjoy P326, P328, P655  
Denora P466  
Denoyelle P004, P083, P119, P264, P312, P491, P492  
Depaulis CO12  
Depienne CO01, P103, P108, P157, P298, P428, P433, P445, P456, P467  
Depla P465  
Dequeker P316, P317  
Deraison CS46, P496, P497, P499, P644



- Deramecourt P441, P571  
 Dereeper P424  
 Derouiche P485  
 Derreumaux P444  
 Derrier P127  
 Deruelle P029, P605  
 Des Georges CS61  
 Des Portes C8, P025, P458  
 Desale P597  
 Desandes P645  
 Descamps P242, P252, P500  
 Deschamps P643  
 Deschildre CS59, P345  
 Descotes P051  
 Desforgues P031  
 Desgeorges P338  
 Desguerre P405, P406, P417, P421, P462  
 Desguerres P128  
 Desnuelle P468  
 Desportes P527  
 Desprez P087  
 Desquirit P403  
 Dessay P427, P523  
 Dessen CO17, CS25, CS27  
 Destrée P105, P136, P166, P381, P130  
 Detaint P540, P541, P674  
 Deteix P512  
 Detivaud P366  
 Deugnier CS20, P370  
 Deutsch P594  
 Devauchelle P005, P251  
 Devaux P653  
 Deveaux P660  
 Devès P056, P092  
 Devillard P299, P647  
 Deville P503  
 Devillers P375, P376  
 Devisme P029, P053, P413, P605, P651  
 Devos P478  
 Devouassoux P306  
 Devys P585  
 Deybach P361  
 Dhaenens P336, P478, P482  
 Dhaoui P314  
 Dhenin CS04  
 Dhote P358  
 Di Fiore P140  
 Di Gregorio P434  
 Di Maria P191  
 Di Rocco P071  
 Di Rosa CO04  
 Diata P204  
 Diatta P048, P049  
 Dideberg CS04  
 Diebold-Pressac P604  
 Diene P107  
 Dierssen P594, P595  
 Dieterich CS37, P051  
 Dieu P208  
 Dieudé P242, P317, P318  
 Dieux-Coëslier CS58, P028, P080, P123, P029  
 Dieye P060  
 Dijkstra P308  
 Dijoud P016  
 Dilanian P323  
 Dion P451  
 Diop P060  
 Dizier P297  
 Dobbelaere P386  
 Doboscq-Bidot CS06  
 Dobrescu P160  
 Doco-Fenzy CS10, CS14, P033, P100, P102, P109, P155  
 Dode CO10  
 Dollfus CO08, CS23, P031, P061, P068, P086, P087, P090, P312, P346, P347, P399, P436, P480, P481, P483, P487, P492, P516, P535, P632, P634, P344  
 Dollinger P512  
 Dommergues P094  
 Donadieu P362  
 Donal P323, P325  
 Dondaine P347, P535  
 Dondon P302  
 Doray P061, P086, P087, P090, P095, P344, P475, P632, P634, P642  
 Dorboz P283  
 Doré P205  
 Doss P314  
 Dott P061, P073, P632, P634  
 Doubaj P075, P378  
 Douet P564  
 Douet-Guilbert P182, P227, P234, P235  
 Doummar CS38, P458  
 Downing P551  
 Dranguet P383  
 Dreumont P563  
 Dreyfus CS32, P231, P232, P277  
 Driben P484, P625, P628  
 Driscoll P528  
 Drouin P080, P197, P198, P199, P637  
 Drouin-Garraud CO04, P140, P312, P346, P411, P458, P492, P516, P604  
 Drouot CS56, P179, P430  
 Drunat P116, P155, P156, P226, P614  
 Du Manoir P155  
 du Vignaux Planchon P042  
 Duban-Bedu CS16, P123, P164, P483  
 Dubas P403  
 Dubern CS62, P013  
 Dubin P312  
 Dubois P441, P443, P605  
 Dubois D'Enghien CS29, P200  
 Dubois-Teklali P458  
 Dubosq P477  
 Dubourg CO04, CS02, CS51, P006, P007, P044, P045, P054, P109, P141, P148, P153, P161, P168, P325, P446  
 Dubrana P319  
 Ducamp P361, P364  
 Duchatelet P328  
 Duchon P594, P595, P596  
 Ducos P199  
 Ducou Le Pointe P004  
 Ducournau P194  
 Ducroix P369  
 Ducros P428  
 Dufernez P687  
 Duffour P186, P216  
 Dufier CO09, P406, P480  
 Dufour P663  
 Dufrane CS09  
 Dufresne P583  
 Dugast P210, P215, P216, P231, P232  
 Duguépéroux P633  
 Duittoz P039  
 Dulac P393  
 Dulucq P408  
 Dumant-Forest P142  
 Dumas P209, P260  
 Dumaz P252  
 Dumontet P224  
 Dumur P478  
 Dunand P421  
 Dupé P044, P045  
 Dupin P205  
 Dupin-Deguine P489, P490  
 Dupont CS10, P052, P122, P155, P156, P612, P617  
 Dupré P332, P458, P646  
 Dupre Latour P677  
 Dupuis-Girod CS55, P681  
 Dupuits CO14, P453  
 Duquesnoy CS18, CS59, P345, P358  
 Dura P589  
 Durand P344, P516  
 Dureau P062  
 Duriez P312  
 Duros P693  
 Dürr CO14, CS64, P284, P423, P429, P431, P433, P434, P435, P436, P437, P438, P449, P453, P454, P455, P457, P465, P467, P680, P682  
 Dussau P461  
 Duteil P682  
 Duthilleul P221, P229  
 Duthoit P325  
 Duval P255  
 Duvillard P312  
 Duyckaerts P441, P571
- E**
- Ebran P256  
 Echaniz-Laguna P442  
 Echenne P093, P124, P421, P670  
 Eckenfelder CS63  
 Edery CO05, CS15, CS58, P016, P023, P025, P051, P115, P127, P159, P320, P498, P516, P520, P526, P609  
 Egea P127, P609  
 Egreteau P164  
 Eicher P323  
 Eisinger CS31, P231, P232, P247, P277  
 El Abed P232, Abed P231  
 El Aribi P012, Aribi P077  
 El Baba P152  
 El Euch P012, Euch P077  
 El Kamel-Lebbi P143, P151, P172, P184  
 El Matri P485  
 El-Waly P460  
 Elahi P295  
 Elandais CS14  
 Elaribi P494  
 Elchardus P102  
 Elcioglu P377  
 Eleuch P494  
 Elghazal P178, P099, P144, P173, P218, P517  
 Elhaffaf P418  
 Elion P116, P156  
 Eliot P312
- F**
- Elkerch P292  
 Elkhartoufi P001  
 Elliot P352  
 Elliott P572  
 Elloumi P066  
 Elmaleh P076, P116  
 Elmalik CS56, P439, P472  
 Elmatri P545  
 Elpeleg CO13, P419  
 Elvira-Matelot CS42, P515  
 Emmerich P537  
 Enard CO12  
 Encha-Razavi P001, P053, P639  
 Ente P493  
 Eon-Marchais P302  
 Erlich P375  
 Ervais-Wakosa P243, P495  
 Escalier CS59, P345  
 Escande P208  
 Escande-Narducci CS58, P080  
 Esclaire P117  
 Escriou P588  
 Escudie P269  
 Escudier CS34, CS59, P205, P343, P345  
 Espil P394  
 Espil-Taris P008  
 Essafi CS33  
 Esteve P256  
 Esteves-Vieira P313, P377  
 Estournet P421  
 Etcheverry P220  
 Etchevers CS23, CS33, CS34, P053, P097, P591  
 Euch P014, P079, P104, P322  
 Eude-Claye P413  
 Eugène P664  
 Evain P054  
 Evrand P549  
 Extramania P655  
 Ey P598  
 Eyl P083  
 Eymard CS57, P421  
 Eymard-Pierre P147, P230, P283, P424, P611  
 Eyries P272, P294
- F**
- Fabas P202  
 Fabre P238, P532  
 Faivre CO04, CS11, CS34, CS54, CS61, P046, P128, P153, P154, P156, P215, P216, P231, P232, P243, P277, P329, P344, P521, P540, P610, P666  
 Faivre-Olivier P495  
 Faiz P367  
 Fajardy P371, P373  
 Fakhfakh P315, P356, P400, P404, P420, P448  
 Falcon-Eicher P128  
 Fallet-Bianco P053, P054, P095, P446  
 Fanchin P624  
 Fantes CS33  
 Fantini-Hauwel CS66, P186  
 Farah P201  
 Farlie CS33  
 Farman CS42  
 Farnoux P021  
 Fassy-Colcombet CO18



Fatih P366  
 Fattoum P338  
 Fauchard P435  
 Fauchereau CS24, P300  
 Faucheux P468  
 Fauchier CS06  
 Fauquembergue P206  
 Faure P681  
 Fauret P409, P537, P539, P672  
 Fauvert P392  
 Favier P250  
 Favoli P036, P685  
 Favre P061, P095, P269, P610,  
 P631, P632, P634, P642  
 Faye P049, P060  
 Fayon P649  
 Fedirko P467  
 Fehrenbach CS05, P179  
 Fehri P363  
 Feige CS55  
 Feillel P269, P657  
 Feillet P332  
 Feingold CS18, CS64, P048, P680  
 Feldmann CS61, P312, P491,  
 P492  
 Fellman P465  
 Fellmann P011, P492  
 Fendri- Kriaa P448  
 Fenneteau P382  
 Fenoll P319  
 Feraud P555  
 Ferec CS61, P216, P234, P235,  
 P309, P319, P339, P371, P372,  
 P374, P508, P579, P633, P689  
 Ferfourri P180  
 Fergelot CS08, P056, P092, P094,  
 P095, P096, P649  
 Ferkal CS07  
 Ferlicot CS27  
 Fernandes P221, P229, P317  
 Fernandez P621, P623  
 Ferrari P009  
 Ferrarini P011, P020, P084, P118  
 Ferre P033, P399  
 Ferreiro P421  
 Ferrer P464  
 Ferri P038  
 Fert Ferrer P270, P610  
 Feuillet P570  
 Feuillet P571  
 Fieggen P516  
 Field P303  
 Fiessinger P537  
 Figueroa P429, P564  
 Filali-Mouhim P258  
 Filaut P307  
 Filla P434  
 Finck P344  
 Finidori P675  
 Fisher P563, P596  
 FitzPatrick CS33  
 Flaman P179, P279  
 Fléjou P207  
 Fletcher P673  
 Flori CO08, CS61, P061, P078,  
 P087, P458, P610, P632, P634,  
 P642  
 Floriddia P501  
 Fogli P580, P450  
 Foletti P447  
 Foliquet P018, P053  
 Folliot P170  
 Fontaine P152, P325, P329  
 Fonteneau P108, P157  
 Forget CS25  
 Forlani P429, P431, P434, P437,  
 P467  
 Fornarino P287  
 Fosse CS49, P658  
 Fouassier P348  
 Foucaud P174  
 Foulquier P333  
 Fomou P038  
 Foyart CO06  
 Fradin CS36, P061, P087, P620,  
 P632, P634  
 Fragaki P394, P398, P564, P688  
 Fragner P554  
 Fraitag P256, P498, P591  
 Francannet P080, P091, P092,  
 P156, P312, P346, P492, P526,  
 P540, P630  
 Francois CS45  
 Frank P325, P329, P537  
 Frappart P049  
 Frébourg C10, CO02, CO03,  
 CO04, CS02, CS05, CS30, P140,  
 P142, P179, P186, P206, P210,  
 P211, P213, P214, P215, P216,  
 P263, P278, P279, P354, P500,  
 P570, P571, P648, P691  
 Fredj P014  
 Frenay P219, P231, P232, P277  
 Freshour CS59  
 Fressart P325, P326, P328, P329  
 Freyermuth P563  
 Fricker P215, P245, P259, P273,  
 P663  
 Friedel P243  
 Friesma P581  
 Friocourt P579  
 Froguel CS17, P352, P528  
 Fruit P410  
 Frydman CO07, CO07, CS52,  
 CS52, P624, P624  
 Frys P034, P519  
 Fuchs P565  
 Fugier P563  
 Fujimura P563  
 Funalot CO07, P471, P516, P688  
 Funtowicz P541, P626  
 Furling CS45, P563  
  
**G**  
 Gaborieau P303  
 Gaboury P209, P260  
 Gad CS27  
 Gagné P418  
 Gaildrat P263, P278, P354  
 Gaillard CO15, P033, P069, P084,  
 P100, P102, P124, P213, P215,  
 P254  
 Galacteros P409  
 Galia P224  
 Galibert CO06, P220, P251, P290,  
 P556  
 Galiegue-Zouitina P221  
 Galimard P174  
 Galland P622, P627  
 Galmiche P041, P097  
 Gameiro CS50, P335  
 Gandjbakhch P329  
 Gangbo P171  
 Garabedian P004, P491, P119  
 Garbay P592  
 Garcia C15, CS45, CS63, P261,  
 P690  
 Garçon P364  
 Gardes P622, P627  
 Gardie CS27  
 Garel P093, P462  
 Gargiulo CS49, CS64, P680  
 Garidi P371  
 Garrigue P310  
 Gartioux P421  
 Gasc CS63  
 Gascue CS23  
 Gasnier P535  
 Gasser P061, P632, P634, P642  
 Gaston P107, P489, P490  
 Gattoni P572  
 Gaucher P319  
 Gaucherand P609  
 Gaudé CS35, P001  
 Gaudebout CS64  
 Gaudy-Marqueste P313  
 Gaujoux P212  
 Gauthier-Villars CO18, CS28,  
 P275, P282  
 Gautier CO01, CS61  
 Gavazzi CS14  
 Gaveau-Glantin P673  
 Gavilan-Cellie P635  
 Gez P519  
 Ged P408  
 Gefroy P221  
 Gelisse P056  
 Gelot P007, P461  
 Gendrot CS19  
 Gener P516  
 Genevieve  
 Geneviève P064, P078, P175,  
 P606, P608, P643  
 Génin CS22, CS61, P291, P303  
 Gennery P516  
 Gentet CO11  
 Genton P447  
 Geoffroy P602  
 Georges P685  
 Georget P667  
 Gérard CS61, P080, P300, P382,  
 P481, P691  
 Gérard-Blanluet P021, P030,  
 P052, P156, P640  
 Gerber CO09, P481, P484  
 Germain P088, P537, P671, P672,  
 P673  
 Germano CO04  
 Géromel P374  
 Geslain P110  
 Gesta P231, P232, P267, P268,  
 P277  
 Ghata P589, P593  
 Ghervan P349  
 Ghorab P471  
 Ghoumid CS16, P164  
 Ghoussaini P528  
 Ghriss P379, P390  
 Giacchero P256  
 Gicquel CS62, P044, P054  
 Gigante P202  
 Gigarel CO07, CS52, P624  
 Giladi P284  
 Gilbert CS55, P270  
 Gilbert-Dussardier P413, P471,  
 P536, P538  
 Gilbon P664  
 Gilet P503  
 Gillard CO06, P251  
 Gillberg CS24, P301  
 Gilson CS41  
 Gimenez-Roqueplo CO15, P193,  
 P212, P250, P659  
 Ginglinger P068, P464, P619  
 Ginon P681  
 Giollant P147  
 Giovannini CS31  
 Girard CO16, P064, P155, P238,  
 P606, P608, P642  
 Girard-Lemaire P061, P610, P632,  
 P634  
 Girardet P621, P623, P626, P629  
 Giraud CS27, CS32, CS55, P239,  
 P274, P348, P681  
 Girerd P294, P669  
 Girodon CS50, CS61, P336  
 Girodon-Boulant P335  
 Giroux-Lathuille P647  
 Giteau P339  
 Giulano P347, CS37, P085  
 Giurgea CS50, P351, P524  
 Gladieff P269, P657  
 Gluckman CS29  
 Gobin CO07, CS12, P032, P484  
 Gobrecht P353  
 Godart P368  
 Godbert P008  
 Godlewski P254  
 Goffinet P612  
 Goïna CS05  
 Goizet CS55, P008, P056, P092,  
 P437, P452, P462, P464, P465,  
 P468, P635  
 Goldenberg CO04, CS02, P080,  
 P140, P142, P344, P346, P413,  
 P458, P590  
 Goldstone P528  
 Golfier P440  
 Golmard P335, P524  
 Gombé P204  
 Gomes CS34  
 Gondry P005, P137  
 Gongora P547  
 Gonnaud P468  
 Gonthier P450  
 Gonthier-Gueret P581  
 Gonzales CS37, P002, P007,  
 P043, P067, P094, P095, P413  
 Gonzalez P578  
 Goossens CS50, CS61, P017,  
 P019, P106, P138, P155, P335,  
 P368, P493, P524, P560  
 Gordon P310  
 Gorry CS08  
 Gorska P209  
 Gorwood P551  
 Gosselin P360  
 Gosset P033, P620, P622  
 Gouas P147, P230, P611  
 Goubran Botros CS24  
 Goudefroye P082  
 Goudie P243  
 Gougerot-Pocidallo P163  
 Goula P566  
 Goulet P041, P078, P532  
 Goumy P147, P230, P611  
 Gourfinkel-An P569  
 Gourin P306  
 Gourlaouen P309, P374, P689  
 Gouron P121  
 Gouya P361, P541, P626  
 Grabli P423  
 Grall CO06, P588  
 Grandchamp P163, P242, P252,  
 P350, P361, P362, P364, P370,  
 P500, P541, P626  
 Grandemange P562  
 Grandjouan CS30



- Grange P205, P500  
 Grangé P612  
 Granger P411  
 Grateau CS18, P358  
 Grati P312  
 Grau P487  
 Green P346  
 Grégoire P134, P228  
 Gressens P116, P156  
 Gressier CS55  
 Gribaa P050, P426, P486, P517, P518  
 Gribouval P507, P514  
 Griene P098, P266, P281, P683  
 Grigorescu P311  
 Grinberg P380  
 Grisart P130, P136, P166  
 Gribouval P510  
 Grob P313  
 Gros P037  
 Grosset CS03  
 Gruchy P110, P607  
 Grue-Fortin P102  
 Gruson P100, P102  
 Guapay P053  
 Gubler P001, P507, P514, P592  
 Gubser-Mercati P516  
 Guedj P242, P270  
 Guegan P237  
 Guegen P403  
 Gueneau CS57, P411, P601  
 Guenot P020  
 Guerin P106, P360  
 Guermani P151, P184  
 Guerry P084  
 Guest P111  
 Guffon P475  
 Guibaud P016, P025  
 Guibert P267, P268  
 Guicheney P326, P328, P421, P655  
 Guichet P101, P153, P644  
 Guichoux P649  
 Guidal-Giroux P226  
 Guignonis P117  
 Guigue CS60, P502  
 Guilbert P023  
 Guillem P362  
 Guillemain P559  
 Guillemot P512  
 Guillette P637  
 Guillot P256, P681  
 Guillot-Noël P440, P443  
 Guillou P471  
 Guilmatre CO04  
 Guimbaud CS30, P211, P657, P269  
 Guinchat P299  
 Guinebretiere P548  
 Guiochon-Mantel P004, P349  
 Guo P557  
 Guy P443, P548  
 Guyant-Marechal P056, P140
- H**
- H' mida-Benbrahim CS56, P426, P430, P517  
 Haag P617  
 Habes P386  
 Habib P323  
 Hachicha P420
- Hadchouel CS42, P515  
 Haddad P639, P684  
 Hadj Fredj P338, P341  
 Hadj-Rabia P035, P498, P502, P590, P644  
 Hadj-Salem P356  
 Hafsi P233  
 Hafsia P066, P143  
 Hagège P304  
 Hagerman P572  
 Haïk P444  
 Hainque CS37, P307, P325, P326, P329  
 Haïssaguerre P330  
 Hajri P048  
 Halbert P469  
 Haliloglu P421  
 Haloun CS61  
 Hamadou P233  
 Hamadouche P284  
 Hamamah P621  
 Hamard P592  
 Hamdani P346  
 Hamel P344, P399, P477, P478, P482, P504, P519  
 Hamet P209, P260  
 Hami P293  
 Hamlat P237  
 Hammond P188  
 Hamon P551  
 Hamri P415, P430  
 Hamroun P257, P416, P691  
 Hanauer P575, P665, P668  
 Hanein CO09, P481  
 Hanna P626  
 Hannachi P099, P144  
 Hannequin P441, P443  
 Hantai CS37  
 Haoud P611  
 Haquet P654  
 Harambat P512  
 Harbuz P630  
 Hardelin CO10  
 Hardouin P257, P263, P264, P265, P278, P354  
 Hardy P436  
 Harvey P592  
 Harzallah P172  
 Hascoet CS14, P645  
 Hasheminasab P253  
 Hassen P379  
 Hastie P592  
 Hattori P284  
 Haudebourg CS26, P202  
 Haudry P401, P405, P406  
 Haumesser C14, P296  
 Hauw P444  
 Haye P536, P538  
 Hayrapetyan CS18  
 Hazard P113  
 Headon P591  
 Heard C13  
 Hebepin-Granados P503  
 Hébert P325, P388  
 Hébrard P482  
 Hecham P284  
 Hédan P251  
 Hédouin P186  
 Heidet P111, P506, P592  
 Hellé P344, P346  
 Hellin P133, P149  
 Hellman CS35, P407  
 Helms P314  
 Hénaut P580
- Hennecker P136  
 Hennekam P604  
 Henrion-Caude CO16, CS42, P238  
 Henry CO04, P006, P141, P148, P153, P163, P168, P237, P364, P370  
 Hentati P184  
 Hentgen P358  
 Hérault CS47, P594, P595, P596, P600, P603, P309, P597  
 Herbaux P080, P229  
 Herbin CO06, P556  
 Herlicoviez P607  
 Herman CO15, P666  
 Héron CO05, CS37, CS49, P013, P042, P062, P092, P094, P103, P108, P119, P157, P298, P427, P433, P458, P516  
 Herry P227  
 Herson CS49, CS64  
 Hertzog P160  
 Hervé P638, P670  
 Hesters CO07, CS52, P624  
 Hetet P364, P370  
 Heymann P371  
 Hick P587  
 Hickel P572  
 Hidden-Lucet P325  
 Hila P201  
 Hilbert P176, P476  
 Hillaire CS19  
 Hirsch P447  
 Hitte CO06, P251, P290, P588  
 Hivert CS17  
 Hjiej P385  
 Hnia C14  
 Hobson P377  
 Hoch P202  
 Holder P159, P344, P347, P402, P498  
 Holder-Espinasse CS02, CS33, CS58, P030, P080, P109, P123, P154, P605, P651  
 Honoré P453  
 Horber P352, P528  
 Horlitz P330  
 Horn P427  
 Horovitz P615, P616  
 Horvath P419  
 Horzinski P450, P580  
 Host P586  
 Houang P351  
 Houas P077  
 Houdayer P257, P271, CS28, P275  
 Houfflin-Debarge P029  
 Houillier P509, P511, P515  
 Houlgatte P579  
 Houpiez P619  
 Houssin CS61  
 Houtteman P103  
 Houtteville P660  
 Hovnanian CS46, CS63, P496, P497, P498, P499, P644  
 Hsairi P400  
 Hu P242  
 Huber CS36, P078  
 Hubert CS61, P056, P092, P419  
 Hubert-Buron P389  
 Huel P614  
 Huet CS61, P128, P495  
 Hugot C3  
 Huguet CS24, P300
- Huiari CS31, P215, P231, P232, P247, P277  
 Hullo P687  
 Humbert P294, P669  
 Humbertclaude P416, P691  
 Hung P303  
 Huret CO17  
 Hurst P604  
 Husson P076  
 Huttin P436  
 Huyghe P450, P580  
 Huylebroeck P560  
 Hyon P112, P114, P131, P177
- I**
- Ianuzzi P300  
 Ibos P063  
 Iggo P270  
 Imessaoudene P098, P379  
 Impallomeni CO04  
 Ingster P101, P268, P270  
 Iron CS61, P337, P649  
 Iserin P540  
 Isidor P362  
 Island P366  
 Isnard CS06, P087, P323  
 Isodor P347  
 Italiano CS26  
 Ittel P222  
 Itzhar CS25  
 Iwaszkiewicz P477  
 Iizard P170
- J**
- Jabbour P671  
 Jacob P200  
 Jacquard P576  
 Jacquemin CS19, P386  
 Jacquemont P020, P084, P118, P167  
 Jacquemot CO17, P174  
 Jacquerye P476  
 Jacqueline P108, P157, P177, P298, P433  
 Jaeger P347  
 Jaglin CS39  
 Jagut P120  
 Jaillard CS02, P045, P054, P109, P141, P148, P153, P161, P168, P237, P446  
 Jais CS57, P669  
 Jamar P133, P149  
 Jambou P324, P405  
 Jamet P546  
 Jamshidi CS33  
 Jannot P289  
 Janoueix P282  
 Janoueix-Lerosey CO02  
 Jardel P307, P435, P441, P456  
 Jarvelin P352  
 Jaspers P692  
 Jaubert P041, P353  
 Jaudi P094  
 Jauffret P682  
 Jeandidier P068, P619  
 Jeanne P462  
 Jeanne-Pasquier P607  
 Jannet P421

Jeanny P576  
 Jeanpierre CS18, P067, P419  
 Jelliti P479  
 Jéru CS18, P358  
 Jesson P217, P262  
 Jeunemaître CO15, CS42, P193,  
 P250, P304, P409, P509, P511,  
 P515, P537, P539, P672  
 Jilani P012, P014, P077, P322,  
 P494  
 Jinnah P565  
 Job CS27  
 Jockers CS24  
 Johnson P429, P436  
 Jollet CS45  
 Joly-Helas CO04, P142, P610,  
 P648  
 Jonard P312, P491, P492  
 Jondeau C9, P540, P541, P626,  
 P674  
 Jonet P576  
 Jonhson P001  
 Jonkman P499  
 Jonquoy CS43  
 Jonveaux CS14, P055, P102,  
 P128, P134, P146, P153, P154,  
 P155, P228, P414, P474, P521,  
 P526, P018  
 Joriot CS16, P093, P164  
 Jorissen P692  
 Jouannic P007  
 Jouanolle CS20, P366, P370  
 Joubert P043  
 Jouk CS37, P016, P051, P299,  
 P377, P630, P647  
 Journeau P645  
 Journal CS02, CS51, P043, P092,  
 P109, P141, P148, P471, P516  
 Jouve CO11  
 Jovanovic P665  
 Joye P002, P007, P094, P095  
 Julia CO05, CS13, P071, P080,  
 P089, P092, P150, P194, P458,  
 P327  
 Junien P375

## K

Ka P309  
 Kääb P330  
 Kaabachi P545  
 Kaabi P169  
 Kabiraj CS56, P439, P472  
 Kachboura P545  
 Kahila P509  
 Kalhor P295  
 Kaminsky P414  
 Kammoun P158, P400, P400,  
 P448  
 Kamoun P081, P145, P420, P420  
 Kanafani P032, P113, P121, P137  
 Kannengiesser P163, P361, P364,  
 P370, P500, P362  
 Kantelip P477  
 Kaphan P452  
 Kaplan CO09, P343, P346, P399,  
 P406, P481, P484, P488  
 Karam P576  
 Kasper P179  
 Kassai P320  
 Katsanis CS23, P346  
 Kauffmann P297

Kautz CS20  
 Kayserili P502  
 Kazes CO05  
 Kazma CS22, P303  
 Kefi P283  
 Kefi-Ben Atig P288, P545  
 Keintz P503  
 Keldermans P333  
 Keller P325  
 Kemlin P114  
 Kemp P308  
 Kerbrat CS52, P624  
 Kerckaert CS02  
 Keren CO01, CO05, P103, P108,  
 P114, P157, P298, P433, P456,  
 P062  
 Kerkaert P210  
 Keskes P420  
 Keslair CS26  
 Kesler P071  
 Khairallah P479  
 Khan P055, P439  
 Kharrat P494  
 Khau Van Kien P047, P355, P422,  
 P540, P542, P623, P626, P629  
 Khelif P233  
 Khodadad P295  
 Khung-Savatovsky P640  
 Kibaek P020  
 Kichine P559  
 Kilani P066  
 Killian P263, P278, P354  
 Kirchoff P020  
 Kitzis P536, P538, P633  
 Kizilyaprak P585  
 Kjaergaard P020  
 Kleefstra P519  
 Klein CS45, P274, P408, P568,  
 P582  
 Kleinjan CS33  
 Klockgether P430  
 Klug P325, P328  
 Knebelman P512  
 Knueppel P020  
 Koch C14, P599  
 Koehler P087  
 Koenig CS56, P430, P431, P535  
 Kogut-Kubiak P659  
 Kohl P487  
 Kohler P631, P642  
 Koht P434  
 Komajda CS06, P323  
 Konyukh P301, P583  
 Koob P031, P087  
 Korbmacher CS04  
 Koster P330  
 Kostyuchenko P496  
 Kotti P550  
 Kottler P529  
 Koubi P324  
 Koutsopoulos C14  
 Koval P312, P492  
 Kozlowski P557  
 Krabchi P637  
 Krachi P199  
 Krahn P690  
 Krakow P604  
 Kraoua P522, P614  
 Kremer P610, P642, P347  
 Kretz C14  
 Krieger P263, P264, P265, P278,  
 P354  
 Krokan P303  
 Krystkowiak P423

Ksantini P079, P014  
 Ksentini P104  
 Ksontini P145  
 Kuntzer P421  
 Kurtz P351  
 Küry P546  
 Kuster P402  
 Kyndt P330

## L

Laäbi P554  
 Laarabi P285, P359, P378  
 Labadie P054, P648  
 Labalme CO05, CS15, P016,  
 P023, P025, P069, P099, P115,  
 P127, P144, P159, P320, P520,  
 P609  
 Labarthe P412  
 Labarussias CO17  
 Labatut P337, P649  
 Labauge P424, P445  
 Labis P236  
 Labrune P106, P138, P386, P388,  
 P389, P499  
 Lacaille P238  
 Lacapere P252  
 Lacaze-Buzy P496, P497, P498,  
 P499, P644  
 Lacène CS57, P601  
 Lackmy Port-Lis P425  
 Lacombe CS03, CS08, CS58,  
 P008, P026, P027, P056, P074,  
 P092, P094, P095, P096, P312,  
 P337, P462, P464, P483, P492,  
 P500, P540, P635, P649  
 Lacomblez P440, P443  
 Lacoste P440, P525, P532  
 Lacour P085, P256, P468, P495  
 Lacroix CS46  
 Ladab P151  
 Lafage P222  
 Lafarge P276  
 Laffont-Proust P444  
 Lafitte P342  
 Lafon P033  
 Lafont CO06  
 Laforêt P307, P387, P690  
 Lagier-Tourenne CS56, P430,  
 P535  
 Lagoutte CO06, P556  
 Laguette P666  
 Lahely P294  
 Lahlou-Laforêt P193, P656, P659  
 Lai P221, P236  
 Laibe P162  
 Lakhal P151, P173  
 Lalau CS61, P336, P342, P410  
 Lalèyè P126, P171  
 Laloo CS03  
 Lamar CS28  
 Lamarche P208  
 Lamari P441  
 Lamazou P624  
 Lambert P264, P526  
 Lamine P181  
 Lamy P306  
 Lamy de la Chapelle P237  
 Lamzouri P015, P378  
 Lancelot P095, P635  
 Landais P033, P100, P102, P109,  
 P282

Landolsi P050  
 Landrieu P413  
 Lang P585  
 Langenberg CS17  
 Langlois P637  
 Lannoy P476  
 Lanta P137  
 Lanta-Delmas P005  
 Laplanche P071  
 Laplanche P083, P444  
 Laporte C14, P296, P416, P557  
 Laquerrière CS37, P053, P054,  
 P441, P571  
 Larcher P470  
 Largueche P485  
 Laroche P117  
 Laroche-Raynaud P056  
 Laplanche P260  
 Laroudie P138  
 Lartigau CS08  
 Lascols CS19  
 Lasseaux P483  
 Lasset CS30, CS32  
 Lathrop C1, P297, P303  
 Latouche P206  
 Latour P260, P468, P607  
 Laugé CS29, P200, P664  
 Laugel P031, P516, P517  
 Laumonier CO04, P028, P039,  
 P519, P573  
 Launay CS24, P083, P212  
 Laurent P046, P298, P610  
 Laurent-Puig P656  
 Laurier P346  
 Lavabre-Bertrand P213  
 Laval P287  
 Lavigne P693  
 Lavocat P513  
 Lawani P171  
 Layet CO04, CS51, P024  
 Lazar CS27  
 Lazaro P471  
 Le Bail CS37  
 Le Bec P186  
 Le Ber P440, P441, P443  
 Le Bihannic P458  
 Le Bizec P332, P458  
 Le Boette P061, P632, P634  
 Le Borgne P358  
 Le Bouar P161  
 Le Bouc CS62, P223  
 Le Bouedec P365  
 Le Bris P182, P227, P234, P235  
 Le Caignec P069, P120, P132,  
 P155  
 Le Calvé P237  
 Le Corre CS43  
 Le Dù P614  
 Le Fiblec P631  
 Le Floch CS50  
 Le Gac P309, P371, P374, P689  
 Le Gallo CO06, P251  
 Le Gars P660  
 Le Goff CS36, P604  
 Le Guen P558  
 Le Jule CS62  
 Le Marec P330  
 Le Merrer CO16, CS01, CS36,  
 CS43, P004, P078, P092, P502,  
 P540, P604, P675  
 Le Meur CS02, P140, P142, P179,  
 P508  
 Le Moing P533  
 Le Pessot P142, P206, P213



- Le Pottier P509  
 Le Tessier CS07, P122  
 Le Vacon CO04  
 Leal P334  
 Lebas P396  
 Lebbar P612  
 Lebbe P252  
 Lebdejiriil P379  
 Lebecque P306  
 Lebled P684  
 Lebizec P413  
 Leblan CS29  
 Leblond P301, P583, P598  
 Lebon P089  
 Leboucq P093  
 Leboulanger P119  
 Leboulleux CO15  
 Leboyer CS24, P301  
 Lebre CO07, P324, P401, P402, P405, P406  
 Lebrun P219, P529  
 Lecarpentier CS21, P325  
 Lecerf P017, P019, P106, P138  
 Leclerc CS61, P336, P342, P410, P478  
 Lecointre P142  
 Lecomte CO15  
 Lecourtois CO03  
 Lecourtois P570, P571  
 Ledeuil P421  
 Leenhardt P655  
 Lefebvre P274  
 Lefevre P239  
 Lefol P217, P548  
 Lefort P155, P175, P606, P608, P643  
 Lefranc P182, P233  
 Legac P372  
 Legall P462  
 Legallic CO04, P440  
 Legeai-Mallet CS43, P602  
 Legendre CS59, P197, P198, P345, P351  
 Leger P351, P661  
 Legros P264  
 Leguedard P394  
 Leguern CO01, P048, P204, P429, P438, P445, P449, P454, P455, P467, P470, P472, P569  
 Leheup CS14, P054, P080, P134, P146, P153, P347, P360, P474, P678  
 Lehy P536  
 Leila Lazaro P417  
 Leite P108, P157, P433  
 Lejeune P186, P208, P214, P215  
 Lejeune-Dumoulin CS30, CS66  
 Lelarge P208  
 Leleu P221, P224, P236  
 Lelong CS31  
 Lemaitre CS16  
 Lemelle P360  
 Lemercier CS45  
 Lemesle-Martin P447  
 Lemeur P024  
 Lemiere P300, P307  
 Lenne P071, P083  
 Lenoir P249  
 Leonardis P468  
 Léopoldie CS25  
 Léotard P134, P146, P228, P474  
 Leporrier P607, P644  
 Lequin CO02  
 Leroux CS32, P267, P268  
 Leroy CS07, CS61, P033, P102  
 Lesage CO14, P284, P453  
 Lesca CS55, P159, P447, P520, P527  
 Lesesve P228  
 Lesimple P205  
 Lesnik Oberstein P086, P090  
 Lesourd P598  
 Lespinasse P564, P630  
 Léticée P053, P646  
 Letocart P371  
 Letourneau P524  
 Leturcq P417  
 Leutenegger P016, P284, P291, P465  
 Levade P412, P475, P687  
 Levavasseur P444  
 Levy CO11, CS09, CS48, CS53, P036, P525, P532, P313, P377, P468, P469, P574, P578, P690  
 Levy-Marchal CS17  
 Lewin P612  
 Lhermey P228  
 Lheureux P264  
 Li Fa P418  
 Liard-Zmuda P142  
 Libé P212  
 Libersa P038  
 Lichiardopol P160  
 Lidereau CS21, P217, P262, P548, P257  
 Liebermann P480  
 Liénard P476  
 Lienhardt P350  
 Liersch P330  
 Liger P057  
 Limacher P215  
 Lina-Granade P492  
 Lindner P061, P632, P634, P642  
 Linglart P350  
 Liutkus P513  
 Llanas P008  
 Lochu P617, P618  
 Lœuillet P053  
 Loeyes P674  
 Loget CS51, P043, P045, P054, P161, P413, P446  
 Lohi P588  
 Lohmann P284, P453  
 Loirat P514  
 Lombès P307, P349  
 Londono-Vallejo CS41  
 Longpieds P559  
 Longy CS08, CS30, P270  
 Loosveld P222  
 Lopes Pereira P594, P595  
 Lopes-Vaz P317  
 Lopez P051  
 Loréal P366  
 Lorenzo P429  
 Loriaux P647  
 Lortholary P268  
 Louati P058, P059, P158, P169, P181  
 Louha P307, P492  
 Louhichi P448  
 Louis P343, P414, P458  
 Loundon P491  
 Loussert CS59  
 Loussouarn P330  
 Lovecchio P208  
 Luangkhot P475  
 Lubieniecki P421  
 Lucas CS51, P141, P148, P161, P168, P237  
 Ludwig P023  
 Lumbroso P549  
 Lumbroso-le Rouic CS28  
 Lunardi P051, P505, P630, P655  
 Lupoglazoff P326, P328  
 Luquet CS10  
 Luton P555  
 Lynch P377  
 Lyonnet CO02, CO16, CS23, CS33, CS34, P080, P082, P097, P174, P238, P282, P289, P324, P475, P516, P540  
 Lyoumi P361  
 Lyssenko CS17
- M**
- M'Bou P351  
 M'rad P012, P077, P079, P322, P494  
 M'zahem P430  
 Maakaroun-Vermesse P412  
 Maalej P315  
 Maazoul P012, P014, P077, P079, P104, P322, P494, P522  
 Mabboux P103, P112, P114, P131, P177  
 Maby P206  
 Mac Grogan P270  
 Macé P067, P648  
 Mach P108  
 Machinis P351  
 Machuca P506, P510  
 Maddonni P658  
 Magdelaine P471  
 Magdinier CS41  
 Mager-Heckel CO13  
 Magnier P021  
 Magniez P555  
 Magnin P118, P445  
 Magnin Poull P326  
 Magontier P069  
 Magy P471  
 Mahlaoui P163  
 Mahoiu P457  
 Mahot P051  
 Maillard P447  
 Maincent P413, P421, P458, P670  
 Mainguéné CS26  
 Maire P256  
 Maisonneuve P366  
 Makri P421  
 Malan CS12, P080, P167  
 Malenfant P637  
 Malfait P530  
 Malih P003  
 Malka P009, P215, P216, P662  
 Mallet P069, P427  
 Mallouli P151  
 Malo CO17  
 Maltret P032  
 Malzac CS53, P525  
 Mamai P426, P486, P517, P518  
 Manai P544  
 Manca-Pellissier P070  
 Mancini P447, P458  
 Mandel C14, CO08, CS16, CS47, P296, P344, P346, P347, P397, P416, P528, P535, P599, P600  
 Manel CS05  
 Manès P482  
 Manière P035, P037  
 Manouvrier-Hanu CS02, CS15, CS58, CS66, P028, P029, P030, P080, P109, P115, P150, P154, P165, P186, P208, P214, P215, P216, P605, P610, P651  
 Manry P287  
 Mansour P494, P502, P604  
 Mansour-Hendili P213, P254  
 Mansuy P215  
 Maouedj P577  
 Maranda P209, P418  
 Maraone P548  
 Marcelli P342  
 Marcellin P610, P642  
 Marchand P528  
 Marche CS03, P096  
 Marcourelles P043, P053, P054, P148, P417  
 Marcou P302  
 Marden P396  
 Marduel P375  
 Marduèle P376  
 Maréchal P594  
 Marelli P436, P682  
 Marescaux P436  
 Marey P076, P195  
 Margaritte-Jeannin P320, P588  
 Margueritte P223  
 Mari P129  
 Marie-Cardine P142  
 Mariette P214  
 Marinho P205  
 Marion CO08, P344, P346, P480, P681  
 Marle CS54, P153, P154, P610  
 Marlin P004, P007, P027, P083, P112, P119, P157, P312, P358, P491, P492, P493  
 Marmin P427, P523  
 Marquès P375, P376  
 Marrakchi P104, P305, P494  
 Marret P459  
 Marrocco P274  
 Marsal P086, P090  
 Marschalek P234, P235  
 Martelli P567, P584, P587  
 Martin CS50, P309, P577, P613  
 Martin-Coignard P132, P516  
 Martin-Schmitt P361  
 Martinet P011, P020, P084, P118  
 Martinez CS65, P135, P162, P183, P532, P673  
 Martinez-Vinçon P532  
 Martini P468  
 Martinovic CO07, P053, P067, P069, P078, P080, P095  
 Martins CS05, P263, P278, P354  
 Marty CS26, P602  
 Marvier P678  
 Marzouk P315  
 Masurel P153  
 Masurel-Paulet CS11, CS54, P128, P154, P610  
 Matak P362  
 Matard P500  
 Mathieu CS16, P080, P109, P113, P121, P123, P137, P159, P186, P188, P208, P533  
 Mathieu-Dramard P005, P030, P129  
 Mathis P031, P368  
 Mathoret-Philibert P626



- Mathurin P373  
Matignon P514  
Matran P297  
Matthijs P332, P333  
Matthys P548  
Matysiak-Budnik P546  
Maubec P205, P244  
Maugard P209, P258, P260  
Maugenre P421  
Mauillon P186, P215, P216  
Maurage P571  
Maurat P437  
Maurin P138, P156, P614  
Maury P546  
Mayençon P442  
Mayer P421, P458  
Maynard P514  
Maystadt P130, P176, P381  
Mazarguil P496  
Mazda P382  
Mazoyer P261  
Mazzuca P402  
Mbarek P316, P317  
McCallion CS23  
McGaughey CS23  
McGrath P088  
Meatchi P212  
Méchin P355, P422, P623  
Meddeb P012, P014, P077, P104, P143, P143  
Medina CS50, CS61  
Megarbane P092, P346, P516, P574  
Mehdi P178  
Mehri P099, P144  
Meininger P440, P443  
Mejean CS27, P128  
Mekki P684  
Melki CS01  
Mellouli P322  
Ménard P122  
Mendes P423  
Menei P220  
Mention P687  
Mercati P583  
Mercier CS51, P006, P044, P045, P054, P417, P446, P508, P660, P660, P666, P689  
Merienne P566  
Merlini P421  
Mérour P689  
Merrot P692  
Mes-Masson P258  
Meseure P217  
Messaddeq P567, P576, P584  
Messaooud P338, P341  
Messaooud Khelifi P355  
Messas P537  
Met-Domestici P219  
Metay P007, P017, P019, P106  
Metspalu P303  
Meulemans P352  
Meunier P482  
Meyer CO01, P229, P234, P235  
Meyre P352, P528  
Mezel CS58, P030, P080  
Mezghani P404  
Meziane CS47  
Micallef CO11  
Michaux CS28, P271, P275  
Micheau P408  
Michel P100, P102, P206, P222  
Michel-Calemard P069, P513  
Michelle P039, P573
- Michiels P202  
Michon CO02  
Michot P419  
Mickelson P557  
Miesch P134, P146  
Migliarina P664  
Migliorini P317, P316  
Mignon-Ravix P460  
Mignot P007, P351  
Miguel CO03, P570  
Miguil P367  
Mikesova P472  
Miladi P283, P383, P545  
Milcent P106  
Milea P399  
Miled P383  
Milh P447, P460, P462  
Mili P426, P486, P517, P518  
Millar P349, P327  
Millat P561  
Millecamps P440, P443  
Millet CS20  
Milosevic P122  
Mine P670  
Minet P676  
Miniere P272  
Minor P557  
Minot-Myhie P471  
Minz P620  
Miri P088  
Miro P394  
Missirian CS65, P070, P129, P135, P162, P183, P641  
Mitchell CS59, P342, P418, P559  
Miton P018  
Mitschler P582  
Mizisin P557  
Mkaouar-Rebai P400, P404  
Mnif P404  
Mochel P682  
Mockel P565  
Moddarresi P253  
Moerman P342  
Moesen P051  
Mohamdi P205, P244  
Mohr P442  
Moirot P648  
Moizard P427, P523, P534  
Mokhtari P293, P672  
Mokni P314, P545  
Molho-Pessach P085  
Molière P304, P656  
Molina P547  
Molina Gomes P022, P180  
Molinari CS60  
Molinié CS27, P203  
Mom P312  
Monassier CS47  
Monastiri P545  
Monceaux P163  
Moncla CS10, CS51, CS65, P070, P129, P135, P155, P162, P183, P525, P641  
Monga P023  
Monges CS31, P421  
Mongrain P637  
Monier P042  
Monnerat P215  
Monnier CS20, CS37, P051, P505  
Monnot CO07, P624  
Monot Vavasseur P609  
Montani P294, P669  
Montantin CS59  
Montard P477
- Montaroux P638  
Montaut P312  
Monteil CS13, P190, P191, P653  
Monteil-Onteniente P269  
Montoya P619  
Moore P332  
Moortgat P136  
Moradkhani P368  
Morain P444  
Moraine P519  
Moreau-Gaudry P408  
Morel P069, P182, P221, P227, P234, P235, P340, P513, P642  
Moretta-Serra CS31  
Morice-Picard P337  
Morichon P111  
Morin P005, P113, P121, P127, P129, P137, P186, P533  
Morin-Meschin P268  
Morinière P067, P111, P506, P507, P514  
Morisot P028  
Mornet P174, P370, P392  
Morris CS61  
Mortemousque P120, P268, P523  
Mortier CS36, P530, P604  
Mosca CO04, CS54, P153, P154, P610  
Moshous P163  
Mosnier P546  
Moss P496  
Mosser CS20, P044, P054, P141, P220, P366, P370  
Mota-Vieira P552  
Mou P591  
Mougou-Zrelli P001  
Mouliere P547  
Mouly P690  
Mouret-Fourme CS21  
Mouriquand P023  
Mourot P414  
Mousson de Camaret P442  
Moutard P670  
Moutou P554, P622, P626, P627  
Moutton P056, P092  
Mowat P377  
Mozelle-Nivoix P033  
Mrabet P014  
Mrizek P218  
Mseddi P384  
Mugneret CS10, CS54, P046, P128, P153, P154, P393, P521, P610  
Mugnier CO16  
Mugniery CS43, P602  
Mukhtar P472  
Muller CS47, P087, P245, P257, P259, P273, P346  
Munck CS61  
Mundlos P074  
Mundwiller P434, P439, P457, P467  
Munnich CO07, CO09, CO13, CO16, CS12, CS23, CS33, CS36, CS43, CS52, CS60, P001, P032, P041, P078, P097, P167, P238, P324, P375, P376, P401, P402, P405, P406, P419, P481, P502, P543, P590, P591, P602, P604, P624, P625, P628, P675  
Muñoz P516  
Munzer P255  
Murat CO15  
Mutesa CS04
- Muti P174  
Mutz P311, P473  
Muzeau P370
- N**
- Nabbout CO01  
Nabel P597  
Nachury P091, P451  
Nadifi P363, P367, P385, P432  
Naepels P005  
Nagel P365  
Nalesso P594, P595, P603  
Nampootheri P016  
Napuri P007, P332  
Nasca P219  
Nassereddine P385  
Nau P409, P511  
Naud-Saureau P351  
Nava CS49, P157, P195, P298  
Navarro P421, P569  
Ndiaye P060  
Negre P692  
Nehdi P201  
Nehme-Schuster P663  
Nemos P055, P526  
Netchine CS62, P142, P157, P223  
Netter P459  
Neut P123  
Nevo P510  
Nezari P295  
Ngom P060  
Nguyen CS09, CS53, P491, P519  
Nguyen-Morel P299  
Niasme P492  
Niasme-Grare P312  
Niaudet P514  
Nibourel P221  
Niccoli CO15  
Nicod P622, P627  
Nicolas P186, P191, P214, P362  
Nicole P152  
Niel Butschi P020, P118, P477  
Nisand P061, P344, P632, P634  
Nitschke CS60  
Nobili P513  
Noël P449  
Noguchi P231, P232, P257, P277  
Nogues CS21, CS30, P217, P262, P302  
Noizet P100  
Nolet P209, P260  
Norez CS44  
Noruzinia P040  
Notarnicola P558  
Nouira P331, P479  
Nové-Josserand CS61  
Nuin P256
- O**
- Odent CO04, CS51, CS55, CS58, P006, P007, P043, P044, P045, P080, P092, P109, P141, P148, P161, P167, P168, P346, P351, P399, P446, P458, P516, P540, P054  
Odou P410  
Ofman P308  
Ogier P475



- Ogier de Baulny P396  
Oheix P659  
Olivier-Faivre CS55, P674  
Ollagnon P436  
Ollier P547  
Ollivier-Faivre CS58, P080  
Olschwang CS30, CS31, P215, P247, P277  
Olsson P407  
Omnes P614  
Omri P232  
Onetti Muda CS36  
Ormand P326  
Orr-Urtreger P284  
Orssaud P672  
Ortonne P017, P019  
Osimani P021, P076  
Ostergaard P394  
Osterheld P011  
Ottaviani CS41  
Ouali P164  
Ouarda P331  
Oudin P362, P364  
Oudrirhi P555  
Ouechtati P479  
Ouertani P012, P077, P322, P494  
Oueslati P341, P383  
Oukaci P098, P266, P281, P683  
Oules CS36  
Ounaies P066  
Ouragini P331, P501  
Oury P614  
Ouvrard-Hernandez P284  
Ouvrier P471  
Overbeek P591  
Ozilou CS12
- P**
- Pacheco P306, P552  
Pagan CS24  
Pagani CS05  
Pagnier P687  
Palenzuela P636  
Pallares-Ruiz P047, P629  
Pan Petesh P056  
Panagiotakaki P152  
Panayotis P589, P593  
Pankow CS17  
Pannetier P575  
Panzini P209  
Papon P343  
Paquis-Flucklinger P311, P394, P398, P473, P564, P688  
Parc P207  
Parent P043, P182, P268  
Parfait CS07, CS19, P504  
Parisi P677  
Parisot P067, P082, P387, P388, P389  
Parker P660  
Parma P139  
Parmentier P136  
Parodi P312  
Pascal P323  
Pascuale-Salcedo P316, P317  
Pascucci P501  
Pasmant P504  
Pasquier CS51, P006, P007, P045, P054, P109, P148, P417, P441, P446, P516, P523  
Passemand P076, P116
- Pasz P028, P190, P214, P652, P653  
Patarad P205  
Paterlini-Brechot CS36  
Patillon CS28  
Patin P284, P287  
Patri P536, P538  
Patrier P002  
Pattou CS17, P352, P528  
Paubel P573  
Pavlovic CS47, P599, P600  
Pawtowski P067, P506, P507, P510, P514  
Payet CS54, P154, P610  
Pebrel-Richard P147, P230, P606  
Pedergrana P411  
Pedespan P458  
Pedeutour CS26, P202, P256  
Pedronno P631  
Peko P204  
Pelet CS23, CS33, P289  
Pellegrini P286  
Pelletier P061, P086, P090, P480, P481, P487  
Pellissier P394, P641  
Pencalet P660  
Pendaries CS63, P498  
Penisson-Besnier P421  
Pennaforte P165  
Pennerath P475  
Penther P142  
Peoc'h P444  
Pepermans P334  
Pérard P228  
Perdereaux P163  
Perdomo Trujillo P061, P480, P487  
Perdu P537  
Pere P414  
Pereirinha P552  
Perel CO02, P226, P408  
Peretti P532  
Perez P606, P608  
Perez-Martin CS61  
Périsse P298  
Perrault P343, P481  
Perret P591  
Perrin P052, P076, P085, P116, P474, P521, P640, P382  
Perrin-Sabourin P021  
Perrocheau-Garaud P304  
Perronne P671, P672, P673  
Perrotin P638  
Peschanski P554  
Petel P270  
Peters P551  
Petit C6, CS15, P138, P165, P312, P387, P388, P389, P605, P605, P651, P651  
Petit-Teixeira P317, P318, P316  
Peyrat P257  
Pham P692  
Philip CS58, CS65, P056, P085, P092, P200, P462, P498, P525, P641  
Philippe CS14, CS60, P018, P054, P055, P095, P167, P334, P414, P526  
Philips P637  
Phillip P346, P685  
Piard P678  
Picard P009, P048, P049, P204, P436, P476  
Picard C7
- Pichon P120, P132, P139, P348  
Picone P138  
Pierlot P316, P317, P318  
Pierquin P133, P149  
Pierre P452  
Pierron CO02, P203, P255, P636  
Pigeyre P352  
Pilar P316  
Pilip P129  
Pilorge P556  
Pingault P493  
Pinoit CO04  
Pinson CS07, P212, P239, P240, P241, P274, P643  
Pinto P351  
Pipiras P010, P052, P116, P154, P156, P531  
Piraud P387  
Pirello P622, P627  
Piriou P478  
Pirkevi P284  
Pironon CS63  
Pisella P477  
Piton P211  
Plaisant P483  
Planchais CO06  
Plancke P047, P542  
Plantaz P687  
Planté-Bordeneuve P407  
Plauchu CS55, P537, P540, P681  
Plaza CS60  
Pleniak P347  
Plessis CS16, CS55, P110, P123, P125, P154, P159, P186, P421  
Plewniak P296  
Ploton P428  
Plouin CO15, P250  
Pluqualec P148  
Poaty P204  
Podjarny P582  
Poirier CO01, CS39, CS40  
Poitelon P574, P578  
Polge P549  
Poli-Merol P100  
Pollak P284, P423  
Pondarré P686  
Ponsot CS38, P433  
Pontoglio P592  
Popovici CS65, P070, P129, P135, P162, P183  
Porchet P208, P410  
Portelance P258  
Portnoi P004, P007, P088, P094, P095, P103, P112, P114, P119, P131, P177  
Pothion P595, P596  
Potier P515, P565  
Potoczna P352  
Pouget CS09  
Poulain P221, P229, P264  
Poupon CS19  
Poüs P388  
Praline P310  
Prandini P594  
Préhu P368  
Prescott P516  
Preudhomme P221, P222  
Prevot P049, P138, P204  
Prieur CS32, P299, P677  
Privat P444  
Probst P325, P330  
Procaccio P399, P403  
Prodromou P248  
Prokop P551
- Proulx P209, P260  
Provencher P258, P260  
Provenzanno P569  
Prulière Escabasse P335  
Prum P316, P317  
Prudean P403  
Puccio CS48, P567, P584, P587  
Puech P461, P478, P481  
Puechberty CS15, P064, P175, P606, P608, P654  
Puisieux CO02  
Pulst P429  
Purenne P463  
Purper-ouakil P551  
Putin CS15, P025  
Putoux P241  
Puy P361, P364, P584
- Q**
- Quach P286  
Quandalle P186  
Quélin P007, P076, P446  
Quémener P339, P374, P579  
Quentin P163, P413  
Quenum P122, P150  
Quere P508  
Quessar P363  
Questiaux P154  
Quibel P113, P137  
Quijano-Roy CS37, P421  
Quilichini P610  
Quillé P579  
Quillien P220  
Quintana-Murci C4, P286, P287, P284
- R**
- Raas-Rothschild. CS01  
Rabarimeriarijaonas P578  
Rabayrol CS31  
Rabès P375, P376  
Rabier P401, P682  
Race P333  
Raddaoui P367  
Radi P142  
Radouï P340  
Radstake P316, P317  
Rafai P432  
Rafat P025, P127, P609  
Raffo P458  
Ragazzon P212  
Ragimbeau P286  
Rajguru P614  
Rambaud CS39, CS40  
Ramelli P084  
Ramos P516  
Ramos P551  
Ramsay CS33  
Ramus P300  
Ranchere-Vince CS26, P256  
Ranchin P513  
Rangon CS54, P154, P610  
Ranque P537  
Ranum P429  
Raoul P032, P141  
Rapin P020  
Raqbi P113  
Rastetter P456

Ratbi P003, P057, P072, P075,  
P378, P534  
Ratelade P592  
Rath P665, P667  
Rau P563, P572  
Rault CS61  
Ravazzolo P072  
Raveau CS44, P594, P595  
Ray P630  
Raynal CO02  
Raynaud P120, P417, P427, P519,  
P523, P534, P573  
Razavi P002, P095, P413  
Rebai P058, P059, P169, P181,  
P448, P158  
Reboul P124, P213, P254, P337,  
P635, P649  
Rebregat P071  
Receveur P113, P121  
Receveur-Ossard P137  
Regragui P072  
Reich P186  
Rejeb P522  
Rejou P468  
Remenieras P249, P257  
Remon P271  
Renaldo CS38, P131, P114  
Renard P477  
Rendu P505  
Renier P071  
Renneville P229  
Renou P056, P601  
Ressnikoff P692  
Retter P620, P622  
Reutenauer CS48, P567, P584,  
P587  
Reutter P023  
Revel P681  
Revillon P278  
Rey P213, P257  
Reyftman P621  
Reynaud P203, P636  
Reynier P399, P403  
Rial-Sebbag P194  
Rialland P365  
Riant P357, P428  
Ribai P476, P676  
Ribeiro CO02  
Ricard CS55, P121  
Richard CS08, CS37, P209, P260,  
P421, P529, CS27, P660  
Richard-Pebrel P611  
Richelme P394  
Richon CS25  
Ricour P675  
Riel P316, P317  
Rifai P015, P488  
Rigal P042  
Rigaudiere P010  
Rignonnot P002  
Rigot P342  
Rio CO07, CS12, CS60, P109,  
P401, P402, P405, P406, P540,  
P543  
Riot P100, P102  
Riou P368  
Rittore P050  
Rivard P032  
Rivera CO01  
Rivier CO01, P093, P124, P200,  
P396, P421  
Riviere CS55  
Robert P547, P660  
Robertson CS36

Robin CS46  
Robinson P674  
Rochard P044, P045, P054  
Roche CO09, P468, P481  
Roche-Lestienne P236  
Rochette P369, P371, P372, P373  
Rodier P259  
Rodriguez CS38, P462, P463,  
P580, P670  
Rodwell P668  
Roelens P421  
Roest Crollius CO12, CS33  
Roffi P673  
Roger P373  
Rognon P618  
Rohmer CO15  
Roll CO11, P313  
Romana P098, P155  
Rombout P166  
Romdhane P396, P544, P544  
Roméo P533  
Romero CS57, P307, P421  
Ronce P427, P519, P523  
Roncelin P509  
Rongières P622, P627  
Ronsin P374  
Rooryck CS03  
Rooryck-Thambo P008, P026,  
P027, P096, P483  
Ropers P519  
Ropert P366  
Roque P223, P636  
Roquelaure P532  
Rose P351  
Rosenblum CS49  
Rosier CO04  
Rosmorduc CS19  
Rossi P023, P025, P142, P159,  
P186, P540, P648  
Rossignol CS62, P157, P223  
Roth CS20, P073, P414  
Rothschild P524  
Rötig CO07, CO13, P041, P324,  
P401, P402, P405, P406  
Rouannet P670  
Rouault P319  
Roubergue P458  
Roubertie P458, P670  
Rougeron P664  
Rouillon P491  
Roujeau P675  
Rouleau P022, P217, P257, P262,  
P265, P548, P558, P643  
Roume CS51, P022, P346, P347  
Roumier P221  
Rousseau CS54, P016, P046,  
P138, P548, P610  
Rousseaux P031  
Rousselet P326  
Rousselin P265, P278  
Rousset P038  
Roussey CS61  
Rousson P327, P561  
Roux CS27, P589, P593  
Roux-Buisson P655  
Rouzier P394, P398, P688  
Roy P159, P306, P540, P153  
Roze P423  
Roze P613  
Royer-Zemmour C14  
Rozet CO09, P343, P481, P484,  
P488  
Rudolf P447  
Rudy P330

Ruet P373  
Rumbach P445  
Runel P408  
Ruppert CS06  
Russaouen P449  
Rustin P250  
Rybojad P500

**S**

Saad P001, P099, P144, P173,  
P218, P426, P486, P517, P518,  
P178  
Saada CO13  
Saadi P098  
Sabbagh CS07, CS28, P504  
Sabourdy P412  
Sabourin P206  
Sacher P330  
Sadou Yayé P332  
Sagbo P126  
Sagot CS54, P046, P610  
Sahbatou P291  
Sahel C7  
Saiag P256  
Saikali P220, P237  
Saillour CS39, CS40  
Sain-Oulhen P119  
Saint Frison P002  
Saint-Martin P353, P445  
Sainte-Rose P406  
Saitoh CS57  
Sakka P014  
Salachas P435, P440, P443  
Saleh P603  
Salenave P349  
Saleyron P246  
Salih CS56, CS57, P439, P465,  
P472  
Sallour P522  
Salomon CS35, P001, P067  
Samimi P347  
Sammoud P012  
Samouh P048  
Samson Bouma P376  
São P423, P454, P455  
Sanchez P047, P629  
Sanchez Del Pozo P516  
Sanlaville CO05, CS10, CS11,  
CS15, P016, P023, P025,  
P069, P099, P115, P127, P144,  
P155, P159, P223, P520, P609,  
P610  
Sann CO05  
Santiago-Ribeiro P353  
Santorelli P466  
Saquet P355  
Sarasin P303, P516, P517  
Sarda CS15, CS58, P064, P092,  
P175, P516, P542, P606, P608,  
P643, P654  
Sarkisian CS18  
Sarnacki P041, P097, P282  
Sarrauste de Menthère CS10  
Sassolas P375  
Satre P299, P647  
Saugier-Veber CO04, CS02,  
CS05, CS58, P024, P080, P140,  
P142, P179, P383, P389, P648,  
P691  
Saunier CS35, P001, P526  
Saura P026, P615, P616, P635

Saurin P215, P681  
Sauvan P231, P232, P277  
Sauvat P041, P238  
Savary P610  
Savignac P499  
Saxena CS17  
Sbahi P266, P281  
Sbidian P409  
Sbii P293  
Sbiti P292  
Scanu P325  
Schaefer P344, P416, P535  
Schaeffer P360  
Scherrer P347  
Schiappa P270  
Schiff P116  
Schiffmann P450, P580  
Schilling P620, P622  
Schleiermacher CO02, P282  
Schlicht CO08  
Schluth-Bolard CO05, CS41, P127  
Schmidt P693  
Schmitt P633  
Schmittbuhl P031, P035, P037  
Schmucker P567, P584, P587  
Schneider CS15, P575, P606,  
P608, P643  
Schneider-Maunoury CS35  
Schott P330  
Schultz P273, P585, P693, P245,  
P592  
Schulze-Bahr P330  
Scotet P309, P319, P633, P689  
Sedel P396, P456  
Sefiani P003, P015, P057, P072,  
P075, P285, P292, P359, P378,  
P380, P395, P488, P534  
Segers CS04  
Séguret P660  
Seidahmed CS56  
Sellal P442  
Sellier P572  
Selloum CS47  
Selva P022, P180  
Selves P211, P657  
Semrouni P683  
Senellart P546  
Serazin P022  
Serero P614  
Sermet-Gaudelus CS61  
Serre CS18, P078, P394, P401  
Sesboüe P206  
Seta P332, P413, P458, P646  
Sévenet CS08, P257, P270,  
Sevestre P533  
Sevin P670  
Sézeur P215  
Shafeghati CS36  
Shalev P377  
Shelton P557  
Shirley P565  
Shoubridge P519  
Siala P356  
Sidi P540  
Siffroi P002, P004, P094, P103,  
P112, P131, P155, P157, P177,  
P114  
Sifi P415, P415  
Sigaudy CO11, CS53, CS65,  
P036, P344, P346, P525  
Silbermann CS35  
Silve P350  
Simard P365, P418  
Siméoni P686



- Simon CS03, P325, P329, P550, P229  
 Simon-Bouy CS61, P174  
 Simonneau P669  
 Singleton P429, P436  
 Sinico P639  
 Sinilnikova P257, P261, P302  
 Sinteff P045  
 Siproudhis P043  
 Sirbu P160  
 Sitbon P669  
 Siterre P503  
 Sixou P006  
 Sladek CS17  
 Slassi P432, P367  
 Smahi CS60, P035, P502, P590, P591  
 Smithsonian CS01, P078  
 Snead P557  
 Soares-Boucaud P300  
 Sobol CS31, P219, P224, P231, P232, P247, P248, P277, P302  
 Sobrier P351  
 Soenen P221  
 Solé P056, P092, P464  
 Soler P562  
 Soleyman P114  
 Sorg CS47, P600  
 Sosna CS01  
 Soua P231, P232, P233  
 Souakri P027  
 Soubrier CS30, P103, P108, P157, P215, P246, P272, P280, P294, P433, P669  
 Soufir P215, P242, P252, P500  
 Soulaymani P293  
 Soulier CS29  
 Soussi-Yanicostas P577  
 Spatz P205  
 Speeg-Schatz P061, P086, P090  
 Splitt P604  
 Spraul CS19, P386  
 Spyratos P548  
 Squalli P285  
 Stanchina P560  
 Stark P516  
 Stattin P092  
 Steel CO04  
 Steffann CO07, CS52, P324, P405, P624, P625, P628  
 Steichen P016  
 Stenson P339  
 Stephan P324, P604  
 Stern P200  
 Sternberg CS37  
 Steschenko P447  
 Steunou CS62  
 Stevanin P429, P431, P434, P436, P437, P439, P445, P452, P457, P465, P466, P577, P467  
 Stheneur P540, P541  
 Stoetzel CO08, P087, P344, P346, P347, P480  
 Stojkovic CS57, P387, P421  
 Stoll P073  
 Stoppa-Lyonnet CO18, CS28, CS29, P200, P217, P244, P261, P271, P275, P282, P664, P302  
 Stora P610  
 Stora de Novion P631  
 Storme P165  
 Sturtz P471  
 Stutzmann CS16, P528  
 Suhr P407
- Sukno P123  
 Superti-Furga CS36, P604  
 Sweetman P682  
 Sylvain-Vidal P262  
 Sznajder P078, P498, P669
- T**
- Ta Phi Thanh P033  
 Tabet P052, P156, P614  
 Tabka P218  
 Tachdjian CS52, P017, P019, P106, P138, P170, P555, P624  
 Tadjeddine P316, P317  
 Tahar Sfar P545  
 Tahar Yacoubi P050  
 Taieb P500  
 Taillandier P174, P392  
 Taine CS10, P026, P094, P095, P096, P155  
 Tajir P015, P395  
 Takahashi P563  
 Talarmain P348  
 Tallaksen P434  
 Talmoudi P143, P151  
 Tanaka CS17  
 Tang P137  
 Tanguy P319  
 Tapia CS10, P138  
 Tarassov CO13  
 Taratuto P421  
 Tardieu P006, P036, P052, P470, P685  
 Tarfiei P040  
 Tassone P572  
 Tastet P039  
 Tauber P107, P352  
 Tauzin P459  
 Taylor P557  
 Tazi P500  
 Tazir P284, P430, P457  
 Tchiknavorian P277  
 Tchirkov P147, P230, P611  
 Tebib P384  
 Tecco P078  
 Teh CS27  
 Teixeira P317, P318  
 Tellini P274  
 Tello P349  
 Tenreiro CS59, P345  
 Ternisien P348  
 Terre CS10  
 Terrier P256  
 Terrier-Lacombe P205  
 Terro P117  
 Terron-Kwiatkowski P495  
 Tesson P434, P465  
 Tétaud CS25  
 Tezenas du Montcel P411, P680  
 Tharrault P297  
 Thauvin P009, P153, P312, P447, P495  
 Thauvin-Robinet CS11, CS34, CS54, CS61, P046, P128, P154, P243, P393, P436, P610, P666  
 Theisen P236, P336, P342  
 Théodore P205  
 Thepault P573  
 Thepot CS10  
 Thery P263, P278, P354  
 Thibaud CS62  
 Thibault P535
- Thibeault P347  
 Thiebaugeorges P018  
 Thieblot CO15  
 Thierry P547  
 Thimonier P188  
 Thomas CS23, CS34, P001, P053, P082, P244, P348, P556  
 Thomas-Anterion P440  
 Thorel P355, P422, P623  
 Thuillier P373  
 Thuillier-Obstoy P312  
 Thuret P686  
 Tichit P223  
 Till CO05, CS15, P025, P127, P159, P520, P609  
 Tinat P210, P211  
 Tirapo P271  
 Tiret P557  
 Tison P008, P436  
 Tissier P212  
 Titah P482  
 Titeux CS63, P498, P644  
 Tlili P356  
 Tobias P516  
 Toga P641  
 Tomb P496, P499  
 Tomiyama P284  
 Tonasso CS63  
 Tonin P258  
 Topaloglu P421  
 Topouchian P675  
 Tops P086, P090  
 Tora P585  
 Torero-Ibad P565  
 Toribio P302  
 Torjmane P151  
 Toro P300, P301, P598  
 Torquet P598  
 Tortorella CO04  
 Tosca P017, P019, P106, P138, P170  
 Tosch C14  
 Tosi CS05, P206, P210, P263, P278, P354  
 Tosolini P376  
 Touati P397, P364  
 Touboul P639  
 Tougeron P206  
 Toutou P050, P360, P562  
 Toujani CS25, P170  
 Toulas P257, P269, P657  
 Toulemonde P302  
 Touni P201  
 Touraine CS05, CS38, P016, P051, P159, P299, P493, P503, P677  
 Touret P274  
 Tourlet P573  
 Tournaire P064, P606, P608  
 Tourneur P692  
 Tournier P354  
 Tournier-Lasserre P357, P428, P670  
 Tournilhac P230  
 Tournois P554  
 Tournaine P324  
 Toussaint C14, P239, P417, P635  
 Toutain CS05, P043, P056, P074, P080, P156, P412, P417, P421, P471, P498, P523, P615, P616, P638  
 Tozlu-Kara P262  
 Trabelsi P012, P058, P059, P077, P079, P158, P181, P322, P494
- Trabelsi-Ouelha P494  
 Trainor P308  
 Tran P671  
 Tranchant CS57, P421, P436, P442, P475, P535  
 Travers P409, P537  
 Tregouet P669  
 Tréguier P406, P446  
 Triboulet P214  
 Triki P400, P420, P448  
 Troiano CO14, P453  
 Trombini P414  
 Tronc P373  
 Tropel CS48, P553  
 Tropell P554  
 Trossaert P348  
 Trottier P566, P568, P576, P582  
 Troude P091, P191, P653  
 Trouillard CO01  
 Trovero P594, P595  
 Truchetto P466  
 Tsatsaris P612  
 Tubiana P021  
 Tudorache P160  
 Tuffery-Giraud P355, P394, P422, P623  
 Tuleja P539  
 Turcotte Gauthier P434  
 Turczynski CS63  
 Turleau CS12  
 Tybulewicz P596
- U**
- Uhrhammer P257, P276, P518  
 Unger P604  
 Upadhyaya P504  
 Uwineza CS04
- V**
- Vabres P009, P243, P244, P495  
 Vago P147, P230, P424, P606, P611  
 Vahedi P670  
 Vaksman P605  
 Valari P496  
 Valat P030  
 Valayannopoulos P386, P401, P405, P406, P687  
 Valdes P645  
 Valdois P300  
 Valduga P018  
 Valette P681  
 Valeyre P306  
 Vallat P471  
 Valle CO04  
 Vallée CS11, P123, P125, P672  
 Vallex P477  
 Vallet P515  
 Valteau-Couanet CO02  
 Van Bogaert P139  
 Van de Leemput P429, P436  
 Van De Putte P560  
 Van De Warrenburg P434  
 Van den Akker P377  
 Van Den Bos P219  
 Van Esch P519  
 Van Gaal P352  
 Van Gall P528



Van Hul P352, P528  
Van Maldergem P017, P019,  
P156, P639  
Van Paelmel P676  
Van Regemorter P476  
Van Vaeck P659  
Vanbellinghen CS04, P459  
Vandenberghe P436  
Vandenbossche P615, P616  
Vanier P687  
Vannier CS09, P142  
Vannuffel P381  
Varela P554  
Vargas-Poussou P509, P511  
Varnoux P639  
Varret P375, P376  
Vasiliu CS27  
Vasli C14, P296  
Vasquez CS29  
Vassault P401  
Vasseur CS47  
Vatin P352, P528  
Vaucamps CS48, P567, P587  
Vaulont P362  
Vaur P264, P265  
Vaurs-Barriere P452, P581  
Vaury P353  
Vaysse CO06, P290, P556, P588  
Vaz P317  
Vekemans CS12, CS34, P001,  
P002, P053, P097, P098, P155,  
P591  
Velasco P270  
Venaise P424  
Vénisse CO15, P509, P511  
Vennin P186, P219  
Venteo P599  
Vercherat P527  
Verellen-Dumoulin P105, P130,  
P136, P166, P176, P381, P476,  
P676  
Vergne P137  
Verhaeghe CS04  
Verkarre CS27, P238, P353  
Verlet P371, P373  
Verley Keddachem P084  
Verloes CS58, P021, P030, P034,  
P052, P076, P080, P083, P092,  
P116, P156, P344, P346, P382,  
P425, P530, P640  
Verneau P134, P146, P526  
Verny P302, P399, P403, P464,  
P470  
Verny-pierre P261  
Véronèse P147, P230, P611  
Verschueren CS57  
Vescovo P250  
Vezain CS05, P354  
Vial P011

Vialard CS10, P022, P174, P180,  
P217, P620  
Violettes P311, P473  
Vianey-Saban P391, P475, P643  
Vicaire P346  
Vidailhet P423, P445  
Vidal P217, P262  
Vidaud CS07, CS07, CS19, P504,  
P504  
Vidrequin P105  
Vie-Luton P351  
Vieillefond P202, P203  
Viémont P429, P438, P449  
Vignal P399  
Vigneron CS14, P092, P312,  
P516, P645, P678  
Vignes P539  
Vigouroux P063  
Vigouroux-Castéra CS13, P150  
Viguié CO17  
Vilageliu P380  
Vilain P139, P347  
Villard CS06, CS40, P056, P323,  
P329, P460, P525, P589, P593  
Ville P527, P646  
Vinault P666  
Vincensini CS59, P345  
Vincent P035, P064, P175, P307,  
P312, P344, P346, P347, P516,  
P535, P636  
Vincent Fetita P244  
Vincent-Delorme CS16, CS58,  
P080, P115, P148, P154, P159  
Violle P100  
Viollet P421, P469  
Viot CS51, P005, P065, P092,  
P324  
Viovy P271  
Visser P581  
Viville CS48, P344, P553, P554,  
P620, P622, P626, P627, P632,  
P634  
Vleugels P333  
Vo Van CS09, CS53  
Voelckel P187, P190, P191, P652,  
P653  
Voicu P371, P373  
Voinnet C12  
Voit CS57  
Vojtek CS59  
Vollenweider CS17  
von Kalle P693  
Vonwill P120  
Voskoboinik P232  
Voulgaropoulos P631  
Vourc'h P039, P310, P573  
Vu-Hong CS62  
Vuillard P640  
Vuillaume P535

Vuillaumier-Barrot P332, P413,  
P458, P646  
Vukusic P424  
Vulin CS63

## W

Wacrenier P208, P214  
Wagner P068  
Wainer P180  
Wajcman P368  
Walrafen CS09, CS14  
Wang P210  
Warda P545  
Watanabe CS17, P583  
Wattenhofer-Donzé CS48, P567,  
P584, P587  
Weber P576  
Weerasooriya P330  
Wehnert CS57  
Weil P312  
Weiller P313  
Wein P690  
Weiss P086, P090  
Weissenbach C11, P312  
Weitbruch P259  
Wendling P599  
Westhovens P316, P317  
Whalen CS37, P094, P095, P157,  
P195, P298, P062  
Wheeler P566  
Whitelaw P528  
Wieland P084  
Wiels CS25  
Wilde P330  
Wilhelm P442  
Willems P032, P324, P402  
Williams P604  
Willmensen P572  
Wilmart P209, P260  
Wilson P566  
Wion-Barbot CO15  
Wissinger P487  
Wittemer P622, P627  
Wizla CS61  
Woerlé Boissy CS32  
Wolftrum P576  
Wolkenstein CS07, P504  
Wood P381  
Wright P468

## X

Xavier P298

## Y

Yaacoub El Rassi P319  
Yacoub Jemni P232  
Yadaden P049  
Yaici P669  
Yanicostas P577  
Yardin P117  
Yargui P390  
Yates P555  
Yau Chun Wan CO17  
Yefimova P576  
Yhuel CS30  
Ylei P572  
Young P349  
Youssef P404

## Z

Zabot P643  
Zachar P255  
Zaghloul CS23  
Zaier P232  
Zalozyc P516  
Zanasaotra P068  
Zanlonghi P399  
Zaraa P314  
Zarhrate P543  
Zaros P429, P431, P437, P467,  
P680  
Zasadzinski CO17  
Zater P396  
Zattara P231, P232, P277  
Zattara-Cannoni P222  
Zeder-Lutz P568  
Zelenika P312, P434  
Zellaguil P379  
Zenker P058, P059  
Zerah P675  
Zerimech P410  
Zetoune P609  
Zhioua P066, P066, P184  
Zhou CS42  
Ziegler P300  
Zimmerman P430  
Zirah P639  
Zivkovic C14  
Zlotogorski P085  
Zoete P477  
Zordan P337, P635, P649  
Zorres P087  
Zrelli P053  
Zucman-Rossi P212  
Zwiller P586