
2^{èmes} Assises de Génétique Humaine et Médicale

Centre des Congrès d'Angers

30 janvier au 1er février 2004

**PROGRAMME
SCIENTIFIQUE**

**RESUMES DES
COMMUNICATIONS**

IMPRESSION, EDITION

MCO Congrès
27, rue du Four à Chaux
13007 Marseille
T. : 04 95 09 38 00 - F. : 04 95 09 38 01
email : infos@mcocongres.com
URL : www.mcocongres.com

©2004 - MCO Congrès

COMITE SCIENTIFIQUE

Président :
Thierry FREBOURG (Rouen)

Serge AMSELEM (Paris)
Alain BERNHEIM (Paris)
Catherine BONAITI (Paris)
Dominique BONNEAU (Angers)
Jérôme COUTURIER (Paris)
Véronique DAVID (Rennes)
Dominique GAILLARD (Reims)
Marion GERARD (Paris)
Philippe JONVEAUX (Nancy)
Michel KOENIG (Strasbourg)
Martine LE MERRER (Paris)
Dominique STOPPA-LYONNET (Paris)
Yves MALTHIERY (Angers)
Anne MONCLA (Marseille)
Sylvie ODENT (Rennes)
Nicole PHILIP (Marseille)
Henri PLAUCHU (Lyon)
Férechté RAZAVI (Paris)
Catherine TURLEAU (Paris)
Christine VERELLEN- DUMOULIN (Bruxelles)
Michel VIDAUD (Paris)

COMITE LOCAL D'ORGANISATION

Présidents :
Dominique BONNEAU et Yves MALTHIERY

Patrizia BONNEAU
Agnès GUICHET
Annick LARGET-PIET
Marie-Claire MALINGE
Hugues PUISSANT
Pascal REYNIER
Frédérique SAVAGNER
Gilles SIMARD

LA FÉDÉRATION DES ASSOCIATIONS DE GÉNÉTIQUE HUMAINE ET MÉDICALE REGROUPE LES 9 ASSOCIATIONS FONDATRICES :

Président : Arnold MUNNICH (Paris)

Société Française de Génétique Humaine.

>> Président : Marc FELLOUS

Collège National des Enseignants et Praticiens de Génétique Médicale

>> Président : Didier LACOMBE

Association des Cytogénéticiens de Langue Française.

>> Président : Philippe JONVEAUX

Association Nationale des Praticiens en Génétique Moléculaire.

>> Président : Michel GOOSSENS

Groupe de Génétique Médicale des 3èmes Jeudi.

>> Président : Henri PLAUCHU

Club de Conseil Génétique de Langue Française.

>> Présidente : Christine VERELLEN-DUMOULIN

Société Française de Fœto-pathologie.

>> Président : Pierre DECHELOTTE

Groupe Français de Cytogénétique Oncologique.

>> Président : Alain BERNHEIM

Groupe Génétique et Cancer.

>> Présidente : Catherine NOGUES

ORGANISATION

Les Associations présentes lors de ces 2èmes Assises...

Association France Lafora

16, rue du Dr Jules Amaudrut - 53000 LAVAL
Président : Etienne HAMEAU
Tél. : 02 43 56 42 99
Email : lafora@fr.st
URL : www.multimania.com/lafora

Association Smith-Magenis 17 France

La Bonnauderie - 49300 CHOLET
Présidente : Marie-Christine BOMME- DEHORTER
Tél. : 02 41 70 29 15 - Fax : 02 41 71 14 56
Email : famille-bonne@wanadoo.fr
URL : www.smithmagenis.com

PXE France

4, Impasse des Closeries - 35170 BRUZ
Présidente : Karine UNGER
Tél. : 02 99 57 16 75
Email : kunger@club-internet.fr
URL : www.pxe-france.org

La Chaînette

9, rue des Ecreneaux - 44980 SAINTE-LUCE-SUR-LOIRE
Président : Yves MARTIN
Tél. : 02 40 25 88 63
Email : lachainette@aol.com
URL : www.lachainette.com

Association Genespoir

3, rue de la Paix - 35000 RENNES
Présidente : Béatrice JOUANNE
Tél./Fax : 02 99 30 96 79
Email : genespoir@wanadoo.fr
URL : www.genespoir.org

Association des Malades Atteints de Dystonie

Le Gorvello - 56250 SULNIAC
Président : Claude MICHON
Tél. : 02 97 43 65 35
Email : claude.michon.amadys@wanadoo.fr
URL : perso.wanadoo.fr/amadys/

Alliance Maladies Rares

Plateforme Maladies Rares
102, rue Didot - 75014 PARIS
Déléguée générale : Françoise ANTONINI
Tél. : 01 56 53 53 40 - Fax : 01 56 53 53 44
Email : alliance@maladiesrares.org
URL : www.alliance-maladies-rares.org

Association Huntington France

44, rue du Château des Rentiers - 75013 PARIS
Présidente : Marie-Odile PERROUSSEAU
Tél. : 01 53 60 08 79 - Fax : 01 53 60 08 99
Email : huntingtonfrance@wanadoo.fr
URL : www.orpha.net/nestasso/HUNTING/

Association pour l'Information et la Recherche sur les maladies Rénales Génétiques

Boîte Postale 78 - 75261 PARIS Cedex 06
Présidente : Isabelle MANCIET
Tél. : 01 53 10 89 98
Email : manciet.isabelle@wanadoo.fr
URL : www.airg.free.fr

Association Neurofibromatoses & Recklinghausen

34, vieux chemin de Grenade - 31700 BLAGNAC
Présidente : Anne HENRION
Tél./Fax : 05 61 30 03 37
Email : ass.neurofibromatoses@wanadoo.fr
URL : www.anrfrance.org

Association Prader-Willi France

5, chemin du Costil Morin - 50740 CAROLLES
Président : Jean-Yves BELLARD
Tél. : 02 33 51 38 21 - Fax : 03 23 98 79 04
Email : jean-yves.belliard@wanadoo.fr
URL : perso.wanadoo.fr/pwillifr

Association Sclérose Tubéreuse de Bourneville

13, route de Villemétrie - 60300 SENLIS
Présidente : Marie-Christine de LA MORLAIS
Tél. : 03 44 53 04 61 - Fax : 03 44 60 97 66
Email : mc_delamorlais@hotmail.com
URL : www.astb.asso.fr

Association Nationale du Syndrome X Fragile "Le Goëland"

Capucines N° 2 - 61100 FLERS
Présidente : Viviane VIOLLET
Tél. : 02 33 64 95 17 - Fax : 02 33 65 12 43
Email : xfragoel@aol.com
URL : www.xfra.org

Vaincre la Mucoviscidose

181, rue de Tolbiac - 75013 PARIS
Président : Jean LAFOND
Tél. : 01 40 78 91 91 - Fax : 01 45 80 86 44
Email : info@vaincrelamuco.org
URL : www.vaincrelamuco.org

Association Française du Syndrome de Marfan

13, allée des Terrasses - 77200 TORCY
Présidente : Paulette MORIN
Tél. : 01 64 62 03 75 - Fax : 01 60 05 79 10
Email : pmorin@cq77.fr
URL : www.geocities.com/vivre-marfan

Ligue Française Contre La Dystonie

Lotissement La Tour - 38190 LE CHAMP-PRES-FROGES
Président : Francis GEHIN
Tél./Fax : 04 76 71 31 83
Email : lfcd@wanadoo.fr
URL : www.lfcdystonie.org

Association Tremplin

42bis, rue Gaston Brogniart - 62219 LONGUENESSE
Présidente : Nathalie VANDAELE
Tél. : 03 21 38 10 96 - Fax : 03 21 38 19 45
Email : tremplin@nordnet.fr
URL : asso.nordnet.fr/tremplin

Association François Aupetit

Hôpital Saint-Antoine - Bât. Caroli - 9ème étage
184, rue du Faubourg Saint-Antoine - 75571 PARIS Cdx 12
Président : Patrick RIAUDET
Tél. : 01 43 07 00 49 - Fax : 01 49 28 31 89
Email : info-accueil@afa.asso.fr
URL : www.afa.asso.fr

◦ PROGRAMME ◦

Vendredi 30 janvier 2004 • MATINEE

07h30-08h30 Accueil et inscription sur place

08h30-09h30 Ouverture des Assises

09h30-11h30 **SEANCE PLENIERE - Génétique et cerveau** **AUDITORIUM** Modérateurs : Michel Koenig (Strasbourg) • Claude Moraine (Tours)

- 09h30 Génétique et physiopathologie des retards mentaux liés à l'X.
>> Jamel Chelly (Paris)
- 10h00 Construire le cerveau.
>> Férechté Razavi (Paris)
- 10h30 La maladie de Parkinson : des gènes à la physiopathologie.
>> Alexis Brice (Paris)
- 11h00 Dissection génétique de la schizophrénie.
>> Dominique Campion (Rouen)

11h30-12h00 Pause, visite des stands et des posters

12h00-13h00 **SEANCE PLENIERE - Communications orales sur sélection des abstracts** Modérateurs : Nicole Philip (Marseille) • Thierry Frebourg (Rouen)

- [12h00] La senataxine, l'orthologue d'une hélicase à ARN de levure, est mutée dans l'ataxie - apraxie oculaire forme 2 (AOA2).
>> MC. Moreira, S. Klur, M. Koenig (Illkirch)
- [12h15] L'ataxie avec apraxie oculomotrice type 2 : Fréquence, spectre clinique et étude génétique.
>> I. Le Ber, N. Bouslam, S. Rivaud-Péchoux, J. Guimarães, A. Benomar, C. Goizet, MC. Moreira, M. Koenig, G. Stévanin, A. Brice, A. Dürr (Paris)
- [12h30] Microchimérisme d'origine gémellaire dans un cas de lichen plan érosif de l'enfant.
>> P. Vabres, MC. Malinge, D. Bonneau, M. Larrègue (Poitiers)
- [12h45] Détection de remaniements cryptiques subtélomériques chez des patients atteints de retard mental inexplicé par QMPSF.
>> P. Saugier-veber, C. de La Rochebrochard, N. Le Meur, G. Joly-Hélas, V. Drouin-Garraud, A. Goldenberg, A. Rossi, V. Layet, H. Moïrot, M. Tosi, T. Frébourg (Rouen)

13h00-14h30 Déjeuner

13h00-14h30 **ATELIER-DÉJEUNER APPLIED BIOSYSTEMS** **Salle OSNABRÜCK** Nouvelles stratégies SNP : l'information génomique mise en pratique

- Evolution des techniques de criblage de mutations.
>> C. Depienne Inserm U289 Neurogénétique Pitié Salpêtrière -Paris
- Approche des gènes candidats dans la néphropathie diabétique.
>> N. Vionnet (Evry)
- Génotypage Haut Débit : Quel outil pour quels besoins ?
>> E. Martin (Applied Biosystems)

Vendredi 30 janvier 2004 · APRES-MIDI

14h30-16h30 **SESSION SIMULTANÉE** **AUDITORIUM** **GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE** Modérateurs : Serge Amselem (Créteil) · Mireille Claustres (Montpellier)

- [14h30] Maladie mitochondriale par déficit de synthèse du Coenzyme Q10 associée à une mutation de la transprényltransférase.
>> I. Giurgea, P. de Lonlay, D. Chretien, P. Rustin, A. Munnich, A. Rötig (Paris)
- [14h45] Un gène en Xp11.22 est impliqué dans les déficiences mentales (XLMR) avec fente labio/palatine.
>> F. Laumonnier, N. Ronce, H. Yntema, MP. Moizard, M. Raynaud, S. Holbert, H. Van Esch, V. Kalscheuer, J. Chelly, BCJ. Hamel, C. Moraine, S. Briault (Tours)
- [15h00] Mutation du gène Paired-like Homeobox 2B (PHOX2B) dans l'hypoventilation alvéolaire centrale congénitale (syndrome d'Ondine).
>> D. Trochet, B. Laudier, C. Gaultier, A. Munnich, S. Lyonnet, J. Amiel (Paris)
- [15h15] L'inactivation de protéines impliquées dans la biogenèse des ribosomes induit une instabilité chromosomique.
>> A. Killian, N. Le Meur, R. Sesboüé, J. Bourguignon, G. Bougeard, J. Gautherot, C. Bastard, T. Frébourg, JM. Flaman (Rouen)
- [15h30] Altération de l'épissage de la Lamine A et conséquences sur la structure nucléaire chez des patients atteints de Progeria et de syndromes "Progeria-like".
>> A. De Sandre-Giovannoli, C. Navarro, R. Bernard, I. Boccaccio, A. Boyer, P. Negre, J. Amiel, N. Philip, M. Le Merrer, P. Cau, N. Levy (Marseille)
- [15H45] Un syndrome d'hyperstimulation ovarienne (OHSS) spontané familial causé par un récepteur muté de la FSH hypersensible à l'hCG.
>> C. Vasseur, I. Beau, A. Desroches, C. Gérard, L. de Poncheville, S. Chaplot, F. Savagner, A. Croué, N. Lahlou, E. Mathieu, M. Misrahi, Y. Malthiery, P. Descamps, P. Rodien (Angers)
- [16h00] Les expansions polyglutamine entraînent des altérations transcriptionnelles et un remodelage de la chromatine.
>> D. Helmlinger, G. Abou-Sleymane, G. Yvert, Y. Trottier, S. Picard, JL. Mandel, D. Devys (Illkirch)
- [16h15] Mutations des neurologines et association d'un récepteur au glutamate GRIK2 dans la prédisposition génétique à l'autisme.
>> S. Jamain, H. Quach, C. Betancur, M. Råstam, C. Colineaux, IC. Gillberg, H. Soderstrom, B. Giros, M. Leboyer, C. Gillberg, T. Bourgeron (Paris)

14h30-16h30 **SESSION SIMULTANÉE** **Salle OSNABRÜCK** **GÉNÉTIQUE CLINIQUE** Modérateurs : Sylvie Odent (Rennes) · Martine Le Merrer (Paris)

- [14h30] Mutations du gène NSD1 chez des patients Beckwith-Wiedemann et anomalies de la région 11P15 chez des patients Sotos.
>> G. Baujat, M. Rio, D. Sanlaville, S. Lyonnet, M. Le Merrer, A. Munnich, C. Gicquel, V. Cormier-Daire, L. Colleaux (Paris)
- [14h45] Etude multicentrique du syndrome de Baraitser-Winter.
>> A. Verloes, P. Blanchet, A. David, J. Roume, C. Rusu, P. Sarda, M. Till (Paris)
- [15h00] Maladie de Fabry : nouvelles données diagnostiques et phénotypiques. Premiers bénéfices cliniques de l'enzymothérapie recombinante substitutive.
>> DP. Germain, M. Banikazemi, N. Guffon, P. Lee, GE. Linthorst, S. Waldek, WR. Wilcox, RJ. Desnick, International Collaborative Group on Fabry Disease (Paris)
- [15h15] Le syndrome de Holt-Oram, premiers résultats de l'étude collaborative Française.
>> S. Manouvrier-Hanu, M. Holder-Espinasse, GM. Brévière, G. Vaksman, S. Blesson, O. Boute-Bénéjean, M. Vibert, C. Testolin, N. Porchet, F. Escande et le groupe de génétique des "troisièmes jeudis" (Lille)
- [15h30] L'Otoferline : le piège du dépistage de la surdité par les oto-émissions acoustiques.
>> S. Marlin, A. Marcolla, F. Denoyelle, R. Couderc, EN. Garabedian, C. Petit, D. Feldmann (Paris)

- [15h45] Définition du phénotype clinique lié aux mutations du gène OPHN-1 : un syndrome cliniquement reconnaissable.
>> N. Philip, B. Chabrol, C. Raybaud, C. Moraine, A. Moncla, MF. Croquette, L. Villard (Marseille)
- [16h00] Etude clinique, moléculaire et de corrélation génotype-phénotype à partir de 25 observations de syndrome oro-facio-digital de type 1 : étude collaborative franco-belge.
>> C. Thauvin-Robinet, V. Cormier-Daire, L. Van Maldergem, A. Toutain, Y. Alembik, E. Bieth, V. Layet, P. Parent, A. David, A. Goldenberg, G. Mortier, D. Héron, A. Nivelon-Chevallier, V. Cusin, D. Devys, N. Laurent, T. Rousseau, P. Sagot, A. Donzel, JR. Teyssier, L. Faivre (Dijon)
- [16h15] Nouvelle chondrodysplasie létale de transmission dominante liée à l'X.
>> N. Chassaing, D. Carles, AL. Delezoide, B. Gilbert, R. Saura, D. Lacombe (Bordeaux)

14h30-16h45 **SESSION SIMULTANÉE** **Salle HAARLEM**
FOETOPATHOLOGIE ET DIAGNOSTIC PRÉNATAL
Modérateurs : Alain Verloes (Paris) · Marie Gonzales (Paris)

- [14h30] Diagnostic rapide des aneuploïdies par PCR quantitative fluorescente.
>> S. El Mouatassim, M. Becker, M. Nouchy, F. Forestier (Lyon)
- [14h45] Anophtalmie Primaire Foetale associée à une Délétion intercalaire 3q26-3q28 incluant le gène SOX2.
>> A. Guichet, S. Triau, C. Lépinard, D. Bonneau (Angers)
- [15h00] Le Protocole Echo-PAPP-A 78 : Résultats Cytogénétiques préliminaires.
>> F. Vialard, D. Molina Gomes, J. Roume, A. Escalona, P. Rosenberg, Y. Ville, M. Albert, J. Selva (Poissy-Saint Germain)
- [15h15] Apports de l'IRM dans le diagnostic anténatal du syndrome de Zellweger.
>> F. Mochel, P. Sonigo, F. Brunelle (Paris)
- [15h30] Lisséncéphalie de type III : Spectre de Dysplasie Neuro-Ectodermique ? A propos d'une famille multiplex.
>> J. Martinovic, F. Francis, A. Benachi, J. Roume, M. Gonzales, C. Fallet, M. Vekemans, J. Chelly, F. Encha-Razavi (Paris)
- [15h45] Phénotype fœtal du MODY 5.
>> G. Bonyhay, S. Cereghini, F. Ménez, S. Cormier, F. Daïkha Dahmane, C. Baumann, MC. Gubler, AL. Delezoide (Paris)
- [16h00] Syndrome de Fowler: Vasculopathie héréditaire du système nerveux central. Hypothèses pathogéniques à propos de 3 observations anatomo cliniques.
>> C. Fallet-Bianco, A. Bazin, AM. Beaufrere, T. Yacoubi, P. Dechelotte (Paris)
- [16h15] Grossesses aneuploïdes: quantification des cellules fœtales circulant dans le sang maternel par techniques FISH et PRINS.
>> K. Krabchi, R. Drouin (Sherbrooke, Québec - Canada)
- [16h30] Le diagnostic prénatal à l'épreuve du droit ?
>> S. Delahaye, Y. Ville, Y. Dumez, M. Gonzales (Poissy-St Germain)

16h45-17h00 Pause, visite des stands et des posters

17h00-18h00 **SESSION POSTERS 1 - NUMEROS PAIRS**
En présence des auteurs des posters pairs devant leurs posters

- [18h00] Identification d'un gène de prédisposition à la lèpre par clonage positionnel.
>> A. Alcais, M. Mira, N. Thuc, M. Moraes, C. Di Flumeri, V. Thai, A. Verner, A. Montpetit, T. Hudson, E. Schurr, L. Abel (Paris)

18h15-19h00 **CONFÉRENCE D'ACTUALITÉ** **AUDITORIUM**
Approches thérapeutiques des maladies génétiques.
>> Arnold Munnich (Paris)

19h00 Fin des sessions scientifiques

20h30 Cocktail d'accueil par la Municipalité d'Angers au Musée Jean Lurçat
puis Soirée de gala aux Greniers Saint-Jean (sur inscription)

Samedi 31 janvier 2004 • MATINEE

07h30-08h00 Accueil et inscription sur place

08h00-10h00 **SEANCE PLENIERE - Développement et oncogénèse** **AUDITORIUM** Modérateurs : Stanislas Lyonnet (Paris) • Michel Vidaud (Paris)

- 08h00 Voie de signalisation Hedgehog : de l'ontogénèse à l'oncogénèse.
>> Philippe Gorry (Bordeaux)
- 08h30 Mutations du récepteur de facteurs de croissance FGFR3 : anomalies du développement et tumorigénèse.
>> François Radvanyi (Paris)
- 09h00 Malformations congénitales et cancers: la leçon des protéines kinases.
>> Marc Billaud (Lyon)
- 09h30 La neurofibromatose de type 2 : de la génétique aux modèles animaux.
>> Marco Giovannini (Paris)

10h00-10h30 Pause, visite des stands et des posters

10h30-11h30 **SEANCE PLENIERE - Communications orales sur sélection des abstracts** Modérateurs : Didier Lacombe (Bordeaux) • Philippe Jonveaux (Nancy)

- [10h30] Des mutations dans le gène LIFR (Leukemia Inhibitory Factor Receptor) sont responsables du syndrome de Stüve-Wiedemann (SWS).
>> N. Dagoneau, D. Scheffer, C. Huber, L. I Al-Gazali, M. Di Rocco, A. Godard, J. Martinovic, A. Raas-Rothschild, S. Sigaudy, S. Unger, A. Superti-Furga, M. Le Merrer, J. Bonaventure, A. Munnich, L. Legeai-Mallet, V. Cormier-Daire (Paris)
- [10h45] Gradient de sévérité clinique et biologique entre quatre différentes formes moléculaires d'hypercholestérolémie familiale.
>> M. Varret, M. Devillers, M. Abi-Fadel, D. Allard, D. Erlich, C. Junien, C. Boileau, JP. Rabès et le Réseau National de Recherche sur les Hypercholestérolémies (Paris)
- [11h00] Etude quantitative du statut génomique tumoral par CGH-Array : neuroblastomes et région 17q.
>> M. Guillaud-Bataille, A. Valent, C. Perot, P. Soularue, A. Pittaval, H. Roest Crollius, H. Ripoché, J. Bénard, V. Lazar, M.J. Terrier-Lacombe, G. Lenoir, P. Dessen, X. Gidrol, A. Bernheim, G. Danglot (Villejuif)
- [11h15] Suivi prospectif de patientes BRCA+/- non malades : Impact psychologique des résultats des tests de prédisposition génétique au cancer du sein et/ou de l'ovaire.
>> C. Julian-Reynier, G. Santin, D. Stoppa-Lyonnet, C. Lasset, JP. Fricker, E. Luporsi, A. Chompret, R. Guimbaud, the French Cancer Genetic Group, C. Noguès (Marseille)

11h30-12h30 **SESSION POSTERS 2 - NUMEROS IMPAIRS** En présence des auteurs des posters impairs devant leurs posters

12h30-14h00 Déjeuner

Samedi 31 janvier 2004 · APRES-MIDI

14h00-16h00 **SESSION SIMULTANÉE** **AUDITORIUM** **GÉNÉTIQUE ÉPIDÉMIOLOGIQUE ET ONCOGÉNÉTIQUE** Modérateurs : Catherine Bonaïti (Villejuif) · Dominique Stoppa-Lyonnet (Paris)

- [14h00] Méthodes d'estimation de la pénétrance d'une mutation à partir de données familiales.
>> J. Carayol, C. Bonaïti-Pellié (Villejuif)
- [14h15] Estimation du coefficient de consanguinité d'un individu à partir de sa seule information génomique.
>> AL. Leutenegger, B. Prum, E. Genin, EA. Thompson, F. Clerget-Darpoux (Villejuif)
- [14h30] Comment utiliser au mieux plusieurs SNPs dans un gène lorsqu'on teste son association avec une maladie? Application à l'étude de l'association entre le mélanome et OCA2.
>> AS. Jannot, N. Soufir, R. Meziani, P. Verpillat, B. Gérard, V. Descamps, A. Archimbaud, C. Picard, L. Ollivaud, N. Basset-Sequin, D. Kerob, G. Lanternier, C. Lebbe, P. Saiag, B. Crickx, B. Grandchamp, F. Clerget-Darpoux (Villejuif)
- [14h45] Dérégulation et hyperexpression de HMGA2 dans la Splénomégalie Myéloïde.
>> J. Andrieux, JL. Demory, B. Dupriez, S. Quief, C. Roumier, N. Gardel, JL. Lai, JP. Kerckaert (Lille)
- [15h00] Le polymorphisme SDF1 (-801 GA) : un nouveau facteur pronostique dans la leucémie lymphoïde chronique (LLC) ?
>> S. Poulain, AC. Chevert, L. Stalnikiewicz, C. Wierre, JP. Pollet, M. Simon, P. Duthilleul, P. Morel (Valenciennes)
- [15h15] Les déséquilibres chromosomiques détectés par Hybridation Génomique Comparative (CGH) sont des marqueurs de malignité précoces dans les tumeurs phyllodes du sein.
>> M. Laé, I. Huon, C. Dubois d'Enghien, P. Fréneaux, A. Vincent-Salomon, X. Sastre-Garau, J. Couturier (Paris)
- [15h30] Neurofibromatose de type 1 : identification de gènes impliqués dans la physiopathologie des neurofibromes par analyse du transcriptome.
>> P. Lévy, I. Bièche, K. Leroy, B. Parfait, J. Wechsler, I. Laurendeau, P. Wolkenstein, M. Vidaud, D. Vidaud (Paris)
- [15h45] La recherche de réarrangements génomiques des gènes de réparation de l'ADN doit être systématiquement intégrée au diagnostic moléculaire du syndrome HNPCC.
>> F. Di Fiore, F. Charbonnier, C. Martin, S. Frerot, S. Olschwang, Q. Wang, C. Boisson, MP. Buisine, M. Nilbert, A. Lindblom, T. Frebourg (Rouen)

14h00-16h00 **SESSION SIMULTANÉE** **Salle OSNABRÜCK** **CONSEIL GÉNÉTIQUE ET ÉTHIQUE** Modérateurs : Annie Nivelon (Dijon) · Delphine Héron (Paris)

- [14h00] Impact de l'information sur les comportements des utilisateurs dans le domaine des services spécialisés dans les maladies rares.
>> H. Nabarette, D. Oziel, B. Urbero, S. Ayme (Paris)
- [14h20] Etat des lieux du diagnostic moléculaire de la Dystrophie Facio-Scapulo-Humérale. A propos de l'expérience du laboratoire du Département de Génétique Médicale de Marseille.
>> P. Malzac, C. Paquentin, J. Pouget, S. Attarian, MA. Voelckel (Marseille)
- [14h40] Le généticien face au diagnostic moléculaire de routine dans les maladies osseuses constitutionnelles.
>> M. Le Merrer (Paris)
- [15h00] Intérêt de l'accompagnement psychologique dans le syndrome HNPCC et la polypose adénomateuse familiale : l'expérience du service de génétique du CHU de Rouen.
>> A. Hédouin, M. Frey, J. Mauillon, T. Frebourg (Rouen)

- [15h20] Impact psychologique du dépistage néonatal de la mucoviscidose sur les parents d'enfants indemnes de la maladie.
>> S. de Rothschild, A. Munnich, MN. Feuillet- Fieux, T. Nguyen-Khoa, JL. Pérignon, P. Canoui, G. Lenoir, P. Scheinmann, I. Sermet, M. Le Bourgeois, V. Marchac, P. Sinet (Paris)
- [15h40] Les problèmes éthiques provoqués par les conditions de prestation des services de génétique médicale au Québec : une perspective anthropologique.
>> C. Bouffard (Montréal)

14h00-16h00 **SESSION SIMULTANÉE** **Salle HAARLEM**
GÉNÉTIQUE CHROMOSOMIQUE
Modérateurs : Michel Vekemans (Paris) · Franck Pellestor (Montpellier)

- [14h00] Caractérisation moléculaire et corrélation génotype-phénotype de la délétion subtélomérique 22q13.3 chez onze patients.
>> C. Dupont, E. Pipiras, P. Bitoun, D. Heron, C. Baumann, H. Moiro, JM. Pinard, JP. Siffroi, JP. Wolf, B. Benzacken (Bondy)
- [14h15] Microdélétion 20q13.3 : un nouveau syndrome identifiable ?
>> D. Geneviève, D. Sanlaville, P. Gosset, L. Faivre, M. Prieur, C. Estrade, M. Picq, C. Ozilou, V. Cormier-Daire, A. Munnich, M. Vekemans, O. Raoul (Paris)
- [14h30] Hétérogénéité du syndrome d'Hermansky-Pudlak (HPS) : identification d'un nouveau gène candidat.
>> S. Geffroy, S. Defoort-Dhellemmes, O. Boute, B. de Martinville (Lille)
- [14h45] Application de la CGH sur puces à ADN pour l'identification de déséquilibres chromosomiques subtils chez les patients atteints de retards mentaux syndromiques.
>> R. Redon, H. Fiegler, L. Colleaux, N. Carter (Cambridge, UK)
- [15h00] Délétion 3p25.3 : Analyse clinique, cytogénétique et moléculaire de trois cas.
>> B. Laudier, A. Moncla, G. Viot, S. Girard, S. Briault, C. Moraine (Tours)
- [15h15] Mise au point et évaluation de la technique d'Hybridation Génomique Comparative sur puces à ADN pour la recherche de remaniements chromosomiques.
>> A. Moncla, C. Missirian, M. Till, N. Philip (Marseille)
- [15h30] Transmission déséquilibrée d'une inversion péricentrique du chromosome 9 par crossing-over en U chez un enfant autiste.
>> M. Doco-Fenzy, M. Mozelle-Nivoix, J. Albuissou, N. Collot, F. Dastot-le Moal, J. Martin, N. Gruson, N. Michel, D. Gaillard, M. Goossens (Reims)
- [15h45] Tétrasomie 15q25-qter instable et phénotype anormal.
>> C. Schluth, MG. Mattei, C. Mignon-Ravix, Y. Alembik, S. Salman, E. Ginglinger, J. Willig, E. Jeandidier (Mulhouse)

16h00-16h30 Pause, visite des stands et des posters

16h30-18h00 **SEANCE PLENIERE - Innovations méthodologiques et technologiques**
Modérateurs : Claude Férec (Brest) · Marc Delpech (Paris)

- 16h30 Comprendre la génétique des maladies multifactorielles : rêve ou réalité.
>> Françoise Clerget-Darpoux (Villejuif)
- 17h00 La génomique comparative.
>> Stylianos Antonarakis (Genève)
- 17h30 Interférence à l'ARN et manipulation de l'expression génique.
>> François Dautry (Villejuif)

18h00 Fin des sessions scientifiques

20h30 Concert de Jazz au profit de l'AMMI **AUDITORIUM (sur inscription)**

Dimanche 1^{er} février 2004 • AUDITORIUM

08h00-08h30 Accueil et inscription sur place

08h30-09h30 **SEANCE PLENIERE - Communications orales sur sélection des abstracts** Modérateurs : Sylvie Manouvrier (Lille) • Michel Goossens (Créteil)

- [08h30] Maladie de surcharge en acide sialique libre à présentation anténatale. Etude de 11 cas.
>> R. Froissart, S. Tourret, V. Bonnet, M. Fouillet, I. Maire (Lyon)
- [08h45] Expression embryonnaire du gène MID1 et spectre des mutations dans le syndrome d'Opitz.
>> L. Pinson, J. Augé, S. Audollent, G. Mattéi, H. Etchevers, N. Gigarel, F. Razavi, D. Lacombe, S. Odent, M. Le Merrer, J. Amiel, A. Munnich, G. Meroni, S. Lyonnet, M. Vekemans, T. Attié-Bitach (Paris)
- [09h00] Analyse des haplotypes et âge des mutations: exemple du syndrome triple-A.
>> E. Génin, A. Tullio-Pelet, F. Begeot, S. Lyonnet, L. Abel (Villejuif)
- [09h15] Le transcriptome de l'oncocytome thyroïdien révèle une augmentation coordonnée de l'expression des gènes du métabolisme oxydatif.
>> O. Baris, F. Savagner, V. Nasser, B. Loriod, S. Granjeaud, S. Guyetant, B. Franc, P. Rodien, V. Rohmer, F. Bertucci, D. Birnbaum, Y. Malthiery, R. Houlgatte, P. Reynier (Angers)

09h30-10h00 **REMISE DES PRIX POSTERS**

10h00-10h30 Pause, visite des stands et des posters

10h30-12h30 **SEANCE PLENIERE - Nouveaux mécanismes des maladies génétiques** Modérateurs : Nicolas Levy (Marseille) • Yves Malthiery (Angers)

- 10h30 Importance de l'épigénétique dans l'expression du phénotype et la transmission.
>> Claudine Junien (Paris)
- 11h00 Les réarrangements génomiques dans les maladies mendéliennes.
>> Eric Le Guern (Paris)
- 11h30 L'épissage alternatif, cible des maladies génétiques.
>> Jamal Tazi (Montpellier)
- 12h00 Données récentes sur le syndrome X fragile : nouveaux phénotypes liés à la prémutation, fonctions de la protéine FMRP.
>> Jean-Louis Mandel (Illkirch)

12h30 **Clôture du Congrès**

COMMUNICATIONS ORALES p.13

AUTRES COMMUNICATIONS p.34

LISTE DES POSTERS p.172

COMMUNICATIONS ORALES

Textes des communications orales, classées par ordre de passage dans le programme.
Vous trouverez également la date et l'horaire de passage.

484

GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE (SESSION PLENIERE)

Passage : Vendredi 30 janvier - Auditorium - 12h00

**LA SENATAXINE, L'ORTHOLOGUE D'UNE HÉLICASE À
ARN DE LEVURE, EST MUTÉE DANS L'ATAXIE - APRAXIE
OCULAIRE FORME 2 (AOA2)**

MC. Moreira, S. Klur, M. Koenig
IGBMC, CNRS/INSERM/ULP, Illkirch

L'ataxie-apraxie oculaire forme 2 (AOA2; MIM 606002) est une nouvelle forme d'ataxie autosomique récessive identifiée en 2001 sur la base de la localisation génétique en 9q34 de deux grandes familles consanguines. Nous avons caractérisé 17 familles supplémentaires, ce qui nous a permis d'identifier le gène défectueux et de définir cliniquement cette nouvelle entité par un âge de début compris entre 10 et 22 ans, une atrophie cérébelleuse, une neuropathie axonale sensitivo-motrice, une apraxie oculomotrice (optionnelle) et une élévation de l'alpha-fœtoprotéine sérique. Neuf des dix mutations identifiées causent une terminaison prématurée de la protéine qui est l'orthologue humain de la Sen1p de levure, protéine impliquée dans la maturation et la terminaison des ARNt, ARNsn et ARNsno. La protéine humaine, que nous avons appelée senataxine, est une protéine de 2677 acides aminés, définie par un long domaine N-terminal spécifique des protéines Sen1 et par un domaine hélicase avec boîte DEAxQ C-terminal. Les deux membres les plus proches de cette sous famille d'hélicase sont RENT1, impliqué dans la dégradation des ARNm médié par les codons non-sens, et IGHMBP2, déficiente dans l'amyotrophie spinale avec détresse respiratoire (SMARD1, MIM 604320). Nos résultats suggèrent que la pathologie moléculaire de AOA2 implique un déficit de l'épissage des ARN et pourrait partager des points commun avec les amyotrophies spinales.

320

GÉNÉTIQUE CLINIQUE (SESSION PLENIERE)

Passage : Vendredi 30 janvier - Auditorium - 12h15

**L'ATAXIE AVEC APRAXIE OCULOMOTRICE TYPE 2 :
FRÉQUENCE, SPECTRE CLINIQUE ET ÉTUDE
GÉNÉTIQUE.**

I. Le Ber (1,2), N. Bouslam (1,3), S. Rivaud-Péchoux (1), J. Guimarães (4), A. Benomar (3), C. Goizet (5), MC. Moreira (6), M. Koenig (6), G. Stévanin (1), A. Brice (1,2,7), A. Dürr (1,7)
(1) INSERM U289, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris
(2) Fédération de Neurologie, Hôpital Pitié-Salpêtrière AP-HP, Paris
(3) Laboratoire de Neurogénétique, service de Neurologie, Hôpital des Spécialités, Rabat, Maroc
(4) Département de Neurologie, Hôpital Egas Moniz, Lisbonne, Portugal
(5) Service de Génétique, CHU, Bordeaux
(6) Institut de Génétique et de Biologie Moléculaire et Cellulaire, CNRS/INSERM/Université Louis-Pasteur CU de Strasbourg, Illkirch
(7) Département de Génétique, Cytogénétique et Embryologie, Hôpital Pitié-Salpêtrière AP-HP, Paris

L'ataxie avec apraxie oculomotrice type 2 (AOA2) est une affection autosomique récessive, décrite récemment dans trois familles Japonaise et pakistanaise. Le phénotype associe une ataxie cérébelleuse, une apraxie oculomotrice et une élévation de l'alpha-fœtoprotéine. Un locus a été identifié sur le chromosome 9 en 9q34.

Nous avons identifié six nouvelles familles correspondant aux critères cliniques (apraxie oculomotrice) et/ou biologique (élévation de l'alpha-fœtoprotéine) d'AOA2, parmi 77 familles avec ataxie progressive sans mutation du gène FRDA. L'étude génétique dans ces familles, a permis d'exclure les autres causes d'ataxies récessives avec apraxie oculomotrice (Ataxie-Télangiectasie, AOA1, AT-like) et de confirmer une liaison génétique possible au locus AOA2. Nous rapportons l'étude phénotypique, neuropsychologique, oculographique et l'imagerie cérébrale. L'âge moyen de début est de 15.1±3.8 ans et les patients utilisent un fauteuil en moyenne après 16,3±3,8 ans d'évolution. L'ataxie, associée à une atrophie cérébelleuse à l'IRM, est constante. Une neuropathie sensitivomotrice (92%) et des mouvements choréiques ou dystoniques (44%) sont fréquents. Une apraxie oculaire est observée chez 56% des patients, caractérisée au plan oculographique par une hypométrie et une augmentation de latence des saccades horizontales. L'élévation de l'alpha-fœtoprotéine est notée chez 80% des patients, constituant un marqueur biologique utile pour le diagnostic de cette affection. Cette étude montre que l'AOA2 existe aussi en Europe et en Afrique du Nord. Sa fréquence relative est environ 8 % dans notre série, où elle représente la seconde cause d'ataxie cérébelleuse autosomique récessive après l'ataxie de Friedreich.

278

GÉNÉTIQUE CLINIQUE (SESSION PLENIERE)

Passage : Vendredi 30 janvier - Auditorium - 12h30

**MICROCHIMÉRISME D'ORIGINE GÉMELLAIRE DANS UN
CAS DE LICHEN PLAN ÉROSIF DE L'ENFANT.**

P. Vabres (1), MC. Malinge (2), D. Bonneau (2), M. Larrègue (1)
(1) Dermatologie, CHU, Poitiers
(2) Génétique, CHU, Angers

La persistance de cellules sanguines chimériques d'origine fœtale ou maternelle a probablement un rôle pathogène dans la sclérodémie systémique et la dermatomyosite juvénile. La réaction chronique du greffon contre l'hôte (GVH), consécutive à une greffe de moelle osseuse est également due à un chimérisme lymphocytaire. Ses manifestations cutané-muqueuses sont voisines du lichen plan, dermatose inflammatoire d'origine inconnue. Du fait de ces similitudes, nous avons recherché un microchimérisme chez une enfant de 9 ans atteinte d'une forme érosive exceptionnellement grave de lichen plan et qui avait un frère jumeau indemne. Elle souffrait d'un érythème et d'ulcérations douloureuses palmo-plantaires, d'évolution rétractile et poikilodermique, sans atteinte muqueuse. La biopsie cutanée montrait un infiltrat lichénôïde typique. La recherche d'ADN masculin par amplification de séquences spécifiques du chromosome Y

(gènes SRY, PABY, RBMY, et DAZ) s'est avérée positive sur deux prélèvements sanguins différents et sur une biopsie de peau atteinte. Le caryotype sanguin de l'enfant (46,XX) et de son frère (46,XY) étaient normaux. En l'absence d'autre cause (transfusion), les cellules masculines provenaient probablement du frère jumeau, par transfusion transplacentaire in utero. Un microchimérisme n'avait jamais été précédemment rapporté dans le lichen plan. L'hypothèse de son rôle pathogène est renforcée par le fait que les deux jumeaux étaient HLA identiques et porteurs de l'allèle de classe II DQA1*0505, voisin de DQA1*0505, qui est associé à la persistance du microchimérisme dans la sclérodémie et la lésion dermatomyosite. Le passage transplacentaire de cellules entre jumeaux dizygotes représente ainsi une nouvelle source de microchimérisme potentiellement pathogène.

443

GÉNÉTIQUE CHROMOSOMIQUE (SESSION PLENIÈRE)

Passage : Vendredi 30 janvier - Auditorium - 12h45

DÉTECTION DE REMANIEMENTS CRYPTIQUES SUBTÉLOMÉRIQUES CHEZ DES PATIENTS ATTEINTS DE RETARD MENTAL INEXPLIQUÉ PAR QMPSF

P. Sauquier-Veber (1,2), C. de La Rochebrochard (1,2), N. Le Meur (1,3), G. Joly-Hélas (2,3), V. Drouin-Garraud (2), A. Goldenberg (2), A. Rossi (4), V. Layet (5), H. Moïrot (2,3), M. Tosi (1), T. Frébourg (1,2)

(1) Inserm EMI-U9906-IFRMP, Rouen

(2) Service de Génétique, CHU, Rouen

(3) Laboratoire d'Histologie, Cytogénétique et Biologie de la Reproduction, CHU, Rouen

(4) Service de Génétique, Etablissement Français du Sang de Haute-Normandie, Bois-Guillaume

(5) Service de Cytogénétique, CH, Le Havre

Les remaniements cryptiques subtélomériques sont identifiés chez 6 % des patients atteints de retard mental (RM) inexpliqué. La plupart des laboratoires utilisent la FISH qui est une méthode longue, délicate et coûteuse et qui exige des préparations cytogénétiques de haute qualité et les méthodes alternatives (microsatellites, MAPH ou CGH sur microarrays), sont incompatibles avec un diagnostic de routine à haut débit. Nous avons donc développé une nouvelle méthode de diagnostic reposant sur la QMPSF (Quantitative Multiplex PCR of Short Fluorescent Fragments). Nous avons choisi, pour chaque extrémité télomérique, un amplicon exonique situé dans la sonde BAC ou PAC utilisée pour la FISH et un deuxième amplicon plus télomérique si le premier amplicon était trop éloigné du télomère. L'exploration des 41 extrémités subtélomériques est réalisée grâce à 46 amplicons répartis en 9 QMPSF. Cette méthode a été validée sur 25 ADN présentant un remaniement subtélomérique. Nous procédons à l'étude de deux cohortes. La première est constituée de 500 patients atteints de RM et permettra de déterminer la sensibilité de cette méthode. La seconde cohorte comporte 150 sujets sains et conduira à la description de remaniements polymorphiques non délétères. En raison de son faible coût et de sa simplicité, la QMPSF des télomères pourrait faciliter la détection des remaniements cryptiques subtélomériques chez les patients atteints de RM inexpliqué. La FISH reste nécessaire à la détection des remaniements équilibrés pour le conseil génétique. Compte-tenu de sa flexibilité, la QMPSF des télomères facilitera la cartographie des remaniements indispensables à l'étude des corrélations génotype-phénotype.

51

GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE

Passage : Vendredi 30 janvier - Auditorium - 14h30

MALADIE MITOCHONDRIALE PAR DÉFICIT DE SYNTHÈSE DU COENZYME Q10 ASSOCIÉE À UNE MUTATION DE LA TRANSPRÉNYLTRANSFÉRISE.

I. Giurgea, P. de Lonlay, D. Chretien, P. Rustin, A. Munnich, A. Rötig
INSERM U393, Hôpital Necker, Paris

Le Coenzyme Q10 (CoQ10, ubiquinone) assure le transport des électrons entre les différentes déshydrogénases de la chaîne respiratoire mitochondriale et le complexe III. Nous avons identifié un déficit de synthèse du CoQ10 chez deux patients nés de parents cousins germains. Ces enfants présentent un retard intellectuel modéré, une surdité profonde, une atrophie optique, une valvulopathie et une obésité. L'étude enzymologique de la chaîne respiratoire a révélé que les activités dépendantes du CoQ10 (complexes I+III, complexes II+III, glycérol-3-P cytochrome c réductase) se situaient dans la limite inférieure des valeurs normales alors que chaque complexe mesuré isolément était normal. La restauration d'activités normales par addition de quinone au cours de la mesure enzymatique a permis de confirmer un déficit en CoQ10. Ce déficit s'exprime dans les fibroblastes en culture des patients mais pas dans le muscle. Une étude de cartographie par homozygotie a permis d'identifier plusieurs régions d'homozygotie (chromosomes 1, 2, 10, 12 et 13). Une de ces régions (10p12.1) contient le gène de la transprényltransférase (TPT), une des enzymes de la voie de synthèse du CoQ10. Le séquençage de ce gène a permis d'identifier chez les deux patients une mutation homozygote modifiant un acide aminé conservé de la protéine. Cette mutation est absente d'une série de 100 individus contrôles de la même origine ethnique. La validation fonctionnelle de cette mutation dans une lignée de *Saccharomyces cerevisiae* délétée du gène COQ1, homologue de TPT, est actuellement en cours.

174

GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE

Passage : Vendredi 30 janvier - Auditorium - 14h45

UN GÈNE EN XP11.22 EST IMPLIQUÉ DANS LES DÉFICIENCES MENTALES (XLMR) AVEC FENTE LABIO/PALATINE

F. Laumonnier (1), N. Ronce (1), H. Yntema (2), M.P. Moizard (1), M. Raynaud (1), S. Holbert (1), H. Van Esch (3), V. Kalscheuer (4), J. Chelly (5), B.C. Hamel (2), C. Moraine (1), S. Briault (1)

(1) INSERM U316, Service de Génétique, CHU Bretonneau, Tours

(2) Department of Human Genetics, Nijmegen, Pays Bas

(3) Centre for Human Genetics, University Hospital, Leuven, Belgique

(4) Max-Planck-Institute for Molecular Genetics, Berlin, Allemagne

(5) Institut Cochin, Faculté de Médecine, Paris

Une translocation réciproque équilibrée t(X;14)(p11.2;p10) a été mise en évidence chez deux demi-sœurs et leur mère. Elles présentent une déficience mentale non spécifique et une épilepsie. Le point de cassure se situe en Xp11.22, dans la région reconnue par le BAC RP11-444K19 qui contient un nouveau gène. Ce gène code pour une protéine avec un domaine "Zn-finger-like PHD" et un domaine homologue au facteur de transcription jumonji.

Une mutation a été observée dans une des 23 familles collectées par le consortium européen XLMR et dont le gène morbide est localisé en Xp11.22 (famille N42). Il s'agit d'une délétion de 12 nucléotides au niveau du site donneur d'épissage de l'intron 8. Cette délétion co-ségrège avec la déficience mentale de cette famille. Une analyse par RT-PCR a permis de mettre en évidence 2 transcrits de tailles anormales. Le premier résulte de la délétion de 24 nucléotides de l'extrémité 3' de l'exon 8. Ceci aboutit à une protéine délétée de 8 acides aminés localisés dans un domaine fonctionnel fortement conservé. Dans le deuxième transcrit, l'intron 8 n'est pas épissé et un codon stop apparaît 72 bases en aval du début de l'intron. Le phénotype observé chez les patients mutés associe une déficience mentale légère à modérée, des anomalies faciales mineures et une fente labio/palatine.

182

GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE

Passage : Vendredi 30 janvier - Auditorium - 15h00

MUTATION DU GÈNE PAIRED-LIKE HOMEBOX 2B (PHOX2B) DANS L'HYPOVENTILATION ALVÉOLAIRE CENTRALE CONGÉNITALE (SYNDROME D'ONDINE).

D. Trochet (1), B. Laudier (1), C. Gaultier (2), A. Munnich (1), S. Lyonnet (1), J. Amiel (2)

(1) Service de Génétique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris
(2) Service de physiologie respiratoire, Hôpital Robert Debré, Paris

L'hypoventilation alvéolaire centrale congénitale (HVACC), ou syndrome d' Ondine, est une anomalie sporadique de la ventilation autonome qui menace le pronostic vital. Cette pathologie est associée à une maladie de Hirschsprung (MH) et à des tumeurs dérivées des crêtes neurales dans 30% et 5-10% des cas respectivement. Par une stratégie de gènes candidats impliqués dans la cascade de développement du proto-oncogène RET (gène majeur dans la MH), nous avons identifié le gène majeur de l'HVACC : le gène PHOX2B. L'étude de 43 patients a montré que les mutations hétérozygotes de novo sont principalement des expansions d'alanines (+4 à +9 alanines) respectant le cadre de lecture au sein d'une répétition stable de 20 alanines en C-terminal de l'homéodomaine (27/43 patients). L'étude d'une forme familiale verticale (transmission père-fille) nous a permis de démontrer que l'expansion d'alanines est transmise de façon stable confirmant l'hypothèse d'un mécanisme mutationnel par recombinaison allélique homologue inégale. Des mutations hétérozygotes décalant le cadre de lecture ont été identifiées chez 4 patients. Dans 3 de ces cas, le patient a développé un neuroblastome ou un ganglioneurome. Ces résultats posent donc la question d'une prédisposition tumorale chez les patients présentant ce type de mutation en opposition aux mutations par expansion d'alanines. L'étude dans un modèle in vitro des mutations de PHOX2B identifiées est en cours. Enfin, l'analyse rétrospective des souris *Phox2b +/-* par pléthysmographie corps entier montre qu'elles présentent des anomalies de la ventilation proches de celles observées dans l'HVACC et nous offre ainsi un premier modèle expérimental dans cette pathologie.

188

GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE

Passage : Vendredi 30 janvier - Auditorium - 15h15

L'INACTIVATION DE PROTÉINES IMPLIQUÉES DANS LA BIOGÈNESE DES RIBOSOMES INDUIT UNE INSTABILITÉ CHROMOSOMIQUE

*A. Killian, N. Le Meur, R. Sesboüé, J. Bourguignon, G. Bougeard, J. Gautherot, C. Bastard, T. Frébourg, JM. Flaman
Inserm EMI 9906 - IFRMP, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Rouen*

Alors que l'instabilité chromosomique est une des principales caractéristiques des cellules cancéreuses, ses bases moléculaires restent à déterminer. Cette instabilité chromosomique est fréquemment associée à un défaut du point de contrôle du fuseau mitotique qui assure la correcte ségrégation des chromosomes lors de la transition métaphase / anaphase. Ainsi les gènes, dont l'expression est induite en réponse à ce point de contrôle, sont potentiellement impliqués dans le maintien de la stabilité chromosomique. Nous avons montré que l'inactivation de l'un de ces gènes, YMR131c/RRB1, impliqué dans la biogenèse des ribosomes, altère dans la levure (i) le point de contrôle du fuseau mitotique, (ii) la ségrégation chromosomique et (iii) bloque la mitose au niveau de la transition métaphase/anaphase. Nous avons mis en évidence une interaction physique entre RRB1 et YPH1 (Yeast Pescadillo Homolog 1) et une interaction génétique entre RRB1 et d'autres membres du complexe YPH1 : RPL3, ERB1, et ORC6, impliqués dans la biogenèse des ribosomes ou la réplication de l'ADN. Nous avons constaté que l'inactivation transitoire des homologues humains de ces gènes (GRWD, Pescadillo, Rpl3, Bop1, et Orc6) augmente le nombre de mitoses anormales : cellules binucléées ou hyperploïdes, cellules avec fuseau mitotique multipolaire et plaques métaphasiques aberrantes. En conclusion, nos résultats suggèrent très fortement que la voie biologique RRB1/YPH1 pourrait constituer un des liens moléculaires entre biogenèse des ribosomes et ségrégation chromosomique, et que l'altération de protéines impliquées dans la biogenèse des ribosomes devrait être considérée comme un nouveau mécanisme potentiel de l'instabilité chromosomique observée dans les tumeurs malignes.

204

GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE

Passage : Vendredi 30 janvier - Auditorium - 15h30

ALTÉRATION DE L'ÉPISSAGE DE LA LAMINE A ET CONSÉQUENCES SUR LA STRUCTURE NUCLÉAIRE CHEZ DES PATIENTS ATTEINTS DE PROGERIA ET DE SYNDROMES "PROGERIA-LIKE"

A. De Sandre-Giovannoli (1), C. Navarro (1), R. Bernard (1,2), I. Boccaccio (1), A. Boyer (2), P. Negre (2), J. Amiel (4), N. Philip (2), M. Le Merrer (4), P. Cau (3), N. Levy (1,2)

(1) INSERM U491, Faculté de Médecine, Marseille

(2) Département de Génétique Médicale, Hôpital la Timone, Marseille

(3) Laboratoire de Biologie Cellulaire, Hôpital Conception, Marseille

(4) Inserm U393 et Département de Génétique Médicale, Hôpital Necker, Paris

La progeria ou syndrome de Hutchinson-Gilford (HGPS) est

une affection sévère et rare, associant un vieillissement prématuré à un retard de croissance. Le phénotype caractéristique des enfants atteints comprend : dysplasies squelettiques, lipodystrophie généralisée, sclérose cutanée, athérosclérose diffuse et conservation des fonctions psychiques. Nous et d'autres avons récemment identifié des mutations du gène LMNA, codant les Lames A/C, chez des patients atteints d'HGPS. La mutation c.1824C>T active un site cryptique d'épissage entraînant la délétion de 150 pb dans environ la moitié des ARNm codant la lamine A et son effet est dominant négatif. Sur dix patients de différentes origines ethniques atteints de HGPS testés, six portaient la mutation c.1824C>T et quatre ne présentaient pas d'altérations dans la séquence codante de LMNA. Des analyses immunocytochimiques utilisant des anticorps anti Lames A/C, A, B1, Emerine, ont été effectuées sur des lignées lymphoblastoïdes ou des fibroblastes issus des patients. La morphologie, la taille et la composition de la majorité des noyaux étaient altérées chez tous les patients. Le nombre de cellules marquées était d'environ 25%. Les enveloppes étaient déformées et repliées sur elles-mêmes d'autant plus que les Lames A/C, A, B1 et l'Emerine étaient quantitativement réduites au niveau des enveloppes nucléaires et/ou délocalisées au niveau d'agrégats nucléoplasmiques. Des discontinuités des enveloppes permettaient l'extrusion de chromatine dans le cytoplasme. En conclusion, des altérations nucléaires de structure et fonction sont impliquées dans la pathogenèse du HGPS et d'autres syndromes "progeria-like", possiblement impliquant la mutation de partenaires moléculaires de la Lamine A.

323

GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE

Passage : Vendredi 30 janvier - Auditorium - 15h45

UN SYNDROME D'HYPERSTIMULATION OVAIRIENNE (OHSS) SPONTANÉ FAMILIAL CAUSÉ PAR UN RÉCEPTEUR MUTÉ DE LA FSH HYPERSENSIBLE À L'HCG

C. Vasseur (1), I. Beau (2), A. Desroches (2), C. Gérard (1), L. de Poncheville (1), S. Chaplot (1), F. Savaqner (7), A. Croué (4), N. Lahlou (5), E. Mathieu (3), M. Misrahi (2), Y. Malthiery (3,7), P. Descamps (1), P. Rodien (6,7).

(1) Service de Gynécologie Obstétrique, CHU Angers

(2) INSERM EMI 120, Hôpital Bicêtre, Le Kremlin Bicêtre

(3) Laboratoire d'Endocrinologie, CHU Angers

(4) Laboratoire d'Anatomopathologie, CHU Angers

(5) Laboratoire d'Endocrinologie, Hôpital St. Vincent de Paul, Paris

(6) Service d'Endocrinologie CHU Angers

(7) INSERM EMI Unité 0018, Angers

Le syndrome d'hyperstimulation ovarienne, ou OHSS, est généralement une complication des traitements inducteurs d'ovulation; une hypersensibilité ovarienne aux gonadotrophines est suspectée. Plus rarement, il survient spontanément, parfois associé à une hypersécrétion d'hCG. L'anatomopathologie révèle de nombreux follicules kystiques, lutéinisés et hémorragiques ou hyperreactio luteinalis. Nous avons pu étudier une famille d'origine marocaine, non consanguine, dans laquelle trois soeurs avait présenté un OHSS spontané, au cours de plusieurs grossesses. L'hyperstimulation se caractérisait par l'apparition de douleurs abdominales vers 8-10 semaines d'aménorrhée, avec constitution d'une ascite, et en échographie et coelioscopie une augmentation massive de la taille des ovaires déformés par de nombreux kystes hémorragiques. Une hyperestrogénie était notée, ainsi

qu'une élévation de l'inhibine B. Le taux d'hCG normal tout au long de la gestation, l'absence de stimulation préalable par la FSH (contrairement aux formes iatrogènes), et le parallélisme entre la concentration d'inhibine B et celle d'hCG, ont fait suspecter une hypersensibilité à l'hCG du récepteur de la FSH. Une mutation hétérozygote de ce récepteur, T349I, a été retrouvée chez les trois sœurs atteintes, mais pas chez une sœur indemne, ni dans une population normale. L'étude in vitro du récepteur mutant a mis en évidence une hypersensibilité à l'hCG. La mutation est curieusement située dans le troisième domaine transmembranaire, à distance du site de liaison de l'hormone sur le domaine extracellulaire. Il s'agit de la première cause moléculaire d'OHSS identifiée, et le deuxième exemple d'élargissement de spécificité d'un récepteur membranaire couplé aux protéines G.

398

GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE

Passage : Vendredi 30 janvier - Auditorium - 16h00

LES EXPANSIONS POLYGLUTAMINE ENTRAINENT DES ALTERATIONS TRANSCRIPTIONNELLES ET UN REMODELAGE DE LA CHROMATINE

D. Helmlinger (1), G. Abou-Sleymane (1), G. Yvert (1), Y. Trottier (1), S. Picaud (2), J.L. Mandel (1), D. Devys (1)

(1) Département de pathologie moléculaire, IGBMC, Illkirch

(2) Laboratoire de physiopathologie de la rétine, INSERM EMI-99-18, Hôpital Saint-Antoine, Paris

Neuf maladies héréditaires neurodégénératives, dues à des expansions de répétitions CAG/polyglutamine sont caractérisées par la formation d'agrégats nucléaires. Nous avons généré différents modèles murins de l'ataxie spinocérébelleuse de type 7 qui est la seule de ces maladies touchant la rétine. Nous avons caractérisé une lignée de souris transgéniques (R7E) exprimant l'ataxine-7 mutée dans les photorécepteurs. L'expansion polyglutamine entraîne une longue période de dysfonction des photorécepteurs, quantifiable par électrorétinogramme sur l'animal vivant, et une mort cellulaire tardive et limitée.

Nous avons également observé une modification importante de l'architecture nucléaire des photorécepteurs. Dans les souris R7E, on observe un accroissement de la taille des noyaux et une réorganisation complète des territoires chromatiniens. Ces modifications sont corrélées à des anomalies transcriptionnelles sévères, reliées à la dysfonction des bâtonnets, avec en particulier une baisse importante de l'expression de la rhodopsine et de plusieurs gènes codant pour des protéines de la phototransduction. Ces anomalies sont directement liées à l'expansion polyglutamine indépendamment de l'ataxine-7 puisque nous avons fait les mêmes observations dans des souris modèle de la maladie de Huntington.

Enfin, l'expression de l'ataxine-7 mutée, contrôlée par le promoteur rhodopsine, est elle-même abolie précocement. Pourtant la dysfonction rétinienne s'aggrave progressivement jusqu'à une perte complète de l'activité des photorécepteurs. L'absence d'amélioration malgré la perte d'expression de la protéine toxique peut s'expliquer par la persistance des inclusions nucléaires dans environ 50% des photorécepteurs. Ces résultats montrent que des thérapies visant à diminuer l'expression des protéines avec expansion polyglutamine devraient être instituées très précocement avant l'apparition d'événements irréversibles.

518**GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE****Passage** :Vendredi 30 janvier - Auditorium - 16h15**MUTATIONS DES NEUROLIGINES ET ASSOCIATION D'UN RÉCEPTEUR AU GLUTAMATE GRIK2 DANS LA PRÉDISPOSITION GÉNÉTIQUE À L'AUTISME**

S. Jamain (1), H. Quach (1), C. Betancur (2), M. Råstam (3), C. Colineaux (2,4), IC. Gillberg (3), H. Soderstrom (3), B. Girros (2), M. Leboyer (2,5), C. Gillberg (3,6), T. Bourgeron (1)

(1) Laboratoire d'Immunogénétique Humaine, Institut Pasteur, Paris

(2) INSERM U513, Créteil,

(3) Department of Child and Adolescent Psychiatry, Göteborg, Suède

(4) Hôpital Robert Debré, Paris

(5) Hôpital Albert Chenevier et Henri Mondor, Créteil,

(6) Saint George's Hospital Medical School, Londres, UK

L'autisme est caractérisé par un déficit des interactions sociales et de la communication, associé à des comportements restreints, répétitifs et stéréotypés. Le syndrome d'Asperger décrit des sujets sans retard de langage et avec des capacités cognitives plus élevées. Les études sur les couples de jumeaux ont permis de déceler une forte influence génétique dans l'apparition de ce syndrome. L'étude Paris Autism Research International Sib-pair (PARIS) coordonné par le Pr. Marion Leboyer en France et le Pr. Christopher Gillberg en Suède, regroupe de nombreux centres cliniques dans le but d'identifier les gènes de susceptibilité à l'autisme. Ici, nous présentons des données récentes qui suggèrent que les synapses glutamatergiques sont altérées dans certains cas d'autisme. Les premiers résultats concernent le récepteur Glutamate Récepteur Ionotrope Kainate (GRIK2 ou GluR6) qui est fortement partagé chez les enfants atteints et dont un haplotype est transmis plus fréquemment que ne le voudrait le hasard. Enfin, nos derniers résultats portent sur des mutations identifiées chez des enfants atteints d'autisme ou du syndrome d'Asperger. Les deux gènes mutés, NLGN3 et NLGN4 sont localisés sur le chromosome X et font partie de la famille des neuroligines. Ces molécules d'adhésion cellulaire situées au niveau de la membrane post-synaptique des synapses glutamatergiques sont des facteurs déterminants dans la formation des synapses fonctionnelles. Par conséquent, nous suggérons qu'un défaut dans ces gènes GRIK2, NLGN3 ou NLGN4 pourrait supprimer la formation et/ou la stabilisation de synapses glutamatergiques essentielles pour les processus d'apprentissage qui sont déficients chez les sujets atteints de troubles autistiques.

35**GÉNÉTIQUE CLINIQUE****Passage** :Vendredi 30 janvier - Salle Osnabrück - 14h30**MUTATIONS DU GÈNE NSD1 CHEZ DES PATIENTS BECKWITH-WIEDEMANN ET ANOMALIES DE LA RÉGION 11P15 CHEZ DES PATIENTS SOTOS**

G. Baujat (1), M. Rio (1), D. Sanlaville (1), S. Lyonnet (1), M. Le Merrer (1), A. Munnich (1), C. Gicquel (2), V. Cormier-Daire (1), L. Colleaux (1)

(1) INSERM U393 et Département de Génétique, Hôpital Necker-Enfants malades, Paris

(2) Laboratoire d'Explorations Fonctionnelles Endocriniennes et INSERM U515, Hôpital Armand Trousseau, Paris

Le syndrome de Sotos est un syndrome d'avance staturale dont les principaux traits sont une avance staturale, une macrocéphalie, une avance d'âge osseux, un retard mental d'importance variable et une dysmorphie caractéristique. Des anomalies du gène NSD1 sont responsables de 60 % des cas, 40 % des cas restant inexpliqués.

Le syndrome de Beckwith-Wiedemann est un autre syndrome d'avance staturale caractérisé par une macroglossie, un omphalocèle, une viscéromégalie, des hypoglycémies et un risque tumoral élevé. La génétique de ce syndrome est complexe et liée à des anomalies de la région 11p15 : mutation du gène CDKN1C ou disomie uniparentale, hyperméthylation de H19 ou déméthylation de KCNQ10T. 15 à 20 % des BWS restent cependant inexpliqués.

Bien qu'il s'agisse d'entités cliniques distinctes, ces 2 syndromes partagent néanmoins plusieurs caractéristiques : macrosomie, hypoglycémies néonatales ou malformations cardiaques. Nous avons donc entrepris de tester la région 11p15 chez des patients Sotos sans anomalie de NSD1 et le gène NSD1 chez les BWS dont la région 11p15 était normale.

Nous avons pu ainsi identifier une disomie uniparentale et une anomalie de méthylation de 11p15 dans une série de 20 Sotos sans anomalie de NSD1. Par ailleurs, parmi 52 patients ayant un BWS sans anomalie de 11p15, nous n'avons retrouvé aucune délétion de la région NSD1 mais 2 mutations ponctuelles sur 11 enfants séquencés. Ces résultats confirment la communauté clinique et moléculaire de ses deux syndromes. Nous proposons que la protéine NSD1 puisse être impliquée dans la régulation de la méthylation de la région 11p15.

119**GÉNÉTIQUE CLINIQUE****Passage** :Vendredi 30 janvier - Salle Osnabrück - 14h45**ETUDE MULTICENTRIQUE DU SYNDROME DE BARAITSER-WINTER**

A. Verloes (1), P. Blanchet (2), A. David (3), J. Roume (4), C. Rusu (5), P. Sarda (2), M. Till (6)

(1) UF de Génétique Clinique, Hôpital R Debré, Paris & INSERM E9935

(2) Service de Génétique, Hôpital Arnaud de Villeneuve, CHU de Montpellier

(3) Service de Génétique, CHU de Nantes

(4) UF de Génétique, CHI de Poissy

(5) Service de Génétique, Université de Iassí, Roumanie

(6) Service de Génétique, Hôpital Debrousse, CHU de Lyon

Le syndrome de Baraitser-Winter (SBW)e, décrit chez 9 patients, est une affection se caractérisant par une dysmorphie faciale (saillie métopique, hypertélorisme, épicanthus, ptosis), un colobome oculaire, un retard mental et une pachygyrie. Le syndrome de Fryns-Aftimos (SFA), décrit dans 5 observations, associe une dysmorphie faciale (hypertélorisme, ptosis, nez court à pointe large et retroussée), ptérygium colli, thorax large, retard mental, pachygyrie et limitations articulaires.

Nous décrivons une série de 9 nouveaux patients dont le phénotype permet de considérer SBW et SFA comme la même entité, le SBW étant la présentation infantile/juvenile du SFA. Ce syndrome, dans sa nouvelle définition, se caractérise surtout par une dysmorphie. Colobome et pachygyrie sont fréquents mais inconstants. Le retard mental est léger à modéré lorsqu'il n'est pas

influencé par les anomalies de migration ou l'épilepsie. D'autres anomalies sont associées : duplication des gros orteils, malformations urinaires, surdité... L'étiologie du syndrome est inconnue. Toutes les observations, sauf une sont sporadiques. Nous discuterons le diagnostic différentiel du SBW, en particulier le syndrome C, le syndrome CHARGE, le syndrome de Teebi, les syndromes hypeertélorisme-retard mental et les syndromes frontofacionaux récemment proposés par R Winter.

139

GÉNÉTIQUE CLINIQUE

Passage : Vendredi 30 janvier - Salle Osnabrück - 15h00

MALADIE DE FABRY : NOUVELLES DONNÉES DIAGNOSTIQUES ET PHÉNOTYPIQUES. PREMIERS BÉNÉFICES CLINIQUES DE L'ENZYMOTHÉRAPIE RECOMBINANTE SUBSTITUTIVE.

DP. Germain (1), M. Banikazemi (2), N. Guffon (3), P. Lee (4), GE. Linthorst (5), S. Waldek (6), WR. Wilcox (7), RJ. Desnick (2), International Collaborative Group on Fabry Disease

(1) Département de Génétique, Hôpital Européen Georges Pompidou, Paris

(2) Département de Génétique, Mount Sinai School of Medicine, New-York

(3) Hôpital Edouard Herriot, Lyon

(4) National Hospital for Neurology and Neurosurgery, Londres

(5) AMC, Amsterdam

(6) Hope Hospital, Manchester

(7) Département de Génétique, Cedars Sinai, Los Angeles

La maladie de Fabry est une maladie liée à l'X, due au déficit en alpha-galactosidase A, entraînant accumulation de glycosphingolipides (Gb3). Une recherche clinique active s'est récemment développée, soulignant le retard diagnostique et l'existence de variants phénotypiques chez les patients hémodialysés ou atteints de cardiomyopathie. Dans une étude rétrospective multicentrique portant sur 432 patients, nous avons pu documenter la rapidité de détérioration de la fonction rénale une fois atteint un « point de non-retour », soulignant la nécessité d'initier préventivement le traitement, préalablement à la constitution de lésions irréversibles. En étudiant une cohorte de 32 hémizygotés nous avons pu redéfinir le phénotype en rapportant la prévalence importante des atteintes cochléo-vestibulaire et vasculaire précédemment non rapportées. La constitution d'un registre international nous a permis de reconnaître la fréquence des conductrices symptomatiques et de proposer un essai clinique contrôlé pour les hétérozygotés. L'efficacité de l'alpha-galactosidase recombinante (agalsidase beta, Genzyme) a été évaluée dans un essai multicentrique, randomisé en double aveugle contre placebo. L'objectif primaire (la clairance complète du Gb3 de l'endothélium rénal) fut atteint, et validé en 2003 comme susceptible de prédire un bénéfice clinique par la FDA, conduisant à l'approbation de l'agalsidase beta aux Etats-Unis, assorti d'une obligation de suivi de son efficacité. L'expérience clinique unique acquise en Europe, où l'enzyme est disponible depuis 2 ans, est précieuse pour documenter les premiers bénéfices cliniques parmi lesquels une stabilisation de la fonction rénale, une diminution de l'hypertrophie ventriculaire gauche, et une réduction des événements morbides par rapport à l'histoire naturelle de la maladie.

298

GÉNÉTIQUE CLINIQUE

Passage : Vendredi 30 janvier - Salle Osnabrück - 15h15

LE SYNDROME DE HOLT-ORAM, PREMIERS RÉSULTATS DE L'ÉTUDE COLLABORATIVE FRANÇAISE

S. Manouvrier-Hanu (1), M. Holder-Espinasse (1), GM. Brévière (2), G. Vaksman (2), S. Blesson (3), O. Boute-Bénéjean (1), M. Vibert (4), C. Testolin (5), N. Porchet (6), F. Escande (6) et le groupe de génétique des "troisièmes juifs"

(1) Service de Génétique Clinique, CHRU, Lille

(2) Service de cardiologie Pédiatrique, CHRU, Lille

(3) Service de Génétique, CHU, Tours

(4) Consultation de Génétique, CH, Metz

(5) service de Médecine néonatale, CHU, Milan

(6) Laboratoire de Biochimie-Biologie Moléculaire, CHRU, Lille

Le syndrome de Holt-Oram (HOS) est le plus fréquent des syndromes cœur-main. De transmission autosomique dominante avec grande variabilité d'expression, il associe des malformations cardiaques et du rayon pré-axial des membres supérieurs.

Rattaché en 1997 à des mutations du gène TBX5 (codant pour un facteur de transcription de type « boîte T »), le HOS est probablement hétérogène, les études antérieures faisant état d'un taux de détection de mutation TBX5 de 30% chez les sujets atteints.

Dans le cadre d'une étude collaborative nationale, 26 «familles» nous ont été adressées depuis 2002 pour analyse de TBX5. Nous avons établi préalablement des critères diagnostiques permettant de classer les patients en trois catégories (HOS typique, atypique ou improbable). Parmi les cas atypiques (5), improbables (5 dont 3 étudiés) et pour un patient sans renseignement clinique, aucune mutation TBX5 n'a été observée. En revanche 8 mutations ont été identifiées dans 10 familles (12 sujets) considérées comme «typiques». 5 analyses sont en cours. Plusieurs mutations identifiées n'avaient pas été décrites antérieurement (deux mutations «stop», deux faux sens, une anomalie d'épissage). Leurs conséquences sur TBX5 seront discutées et comparées aux données de la littérature.

Nos résultats, trop préliminaires pour établir des corrélations «génotype-phénotype», confirment a priori l'hétérogénéité du HOS, mais montrent l'importance d'un diagnostic clinique rigoureux. Ils nous incitent à poursuivre nos investigations à la recherche de grandes délétions de TBX5 dans les cas typiques sans mutation identifiée, et par l'analyse d'autres gènes candidats dans les formes atypiques.

340

GÉNÉTIQUE CLINIQUE

Passage : Vendredi 30 janvier - Salle Osnabrück - 15h30

L'OTOFERLINE : LE PIÈGE DU DÉPISTAGE DE LA SURDITÉ PAR LES OTO-ÉMISSIONS ACOUSTIQUES

S. Marlin (1), A. Marcolla (2,3), F. Denoyelle (3), R. Couderc (2), EN. Garabedian (3), C. Petit (4), D. Feldmann (2)

(1) Unité de Génétique médicale et INSERM U587, Hôpital Trousseau, Paris

(2) Service de Biochimie et INSERM U587, Hôpital Trousseau, Paris

(3) Service d'ORL pédiatrique et INSERM U587, Hôpital Trousseau, Paris

(4) Unité de Génétique des Déficiences Sensoriels, INSERM U587, Institut

Pasteur, Paris

60% à 80% des surdités de l'enfant, sont d'origine génétique parmi lesquelles 70% sont isolées. Le mode de transmission est le plus souvent autosomique récessif

Le gène OTOF code pour une protéine localisée dans les cellules ciliées internes (CCI): l'otoferline. Cette molécule serait impliquée dans la fusion des vésicules synaptiques à la membrane des CCI et participerait à la transmission du message nerveux.

Les mutations du gène de l'otoferline sont responsables d'une surdité autosomique récessive (DFNB9), isolée, prélinguale, sévère à profonde, avec conservation des oto-émissions acoustiques (OEA).

Plusieurs mutations ont été identifiées dans le gène OTOF dans des familles consanguines. En Espagne, il existe une mutation prédominante qui représenterait la 3^{ème} cause de surdité récessive prélinguale dans ce pays.

Nous présenterons le cas d'un enfant pour lequel un diagnostic de « neuropathie auditive » avait été porté devant la présence d'OEA en l'absence de réponse aux PEA., et chez qui nous avons pu mettre en évidence une mutation double hétérozygote du gène OTOF (Q829X /IVS44+1G>A). Nous rapporterons également les résultats d'une étude de prévalence de l'atteinte du gène OTOF dans une cohorte française de patients atteints de surdité isolée.

La conservation des OEA devant une surdité isolée permettent une orientation vers le diagnostic de DFNB9. Par ailleurs, la présence de ces OEA lors du dépistage néonatal des surdités ne doit pas exclure le diagnostic de surdité. Les potentiels évoqués automatiques pourraient être une alternative aux OEA lors de ce dépistage.

341

GÉNÉTIQUE CLINIQUE

Passage : Vendredi 30 janvier - Salle Osnabrück - 15h45

DÉFINITION DU PHÉNOTYPE CLINIQUE LIÉ AUX MUTATIONS DU GÈNE OPHN-1 : UN SYNDROME CLINIQUEMENT RECONNAISSABLE

N. Phillip (1), B. Chabrol (2), C. Raybaud (3), C. Moraine (4), A. Moncla (1), MF. Croquette (5), L. Villard (6)

(1) Département de Génétique, La Timone, Marseille

(2) Service de Neuropédiatrie, La Timone, Marseille

(3) Service de Neuroradiologie, La Timone, Marseille

(4) Service de Génétique, Tours

(5) Cytogénétique, Lille

(6) INSERM U491, Faculté de Médecine de La Timone, Marseille

Une mutation du gène OPHN-1 (oligophrénine-1) a été rapportée en 1999 dans une famille de retard mental non spécifique. Une délétion au locus OPHN-1 a été décrite depuis chez deux patientes présentant une hypoplasie cérébelleuse, nous conduisant alors à identifier une nouvelle mutation dans une famille de XLMR avec hypoplasie cérébelleuse et un cas sporadique. Ces données ont été confirmées par deux observations récentes dont l'une reprend les données cliniques de la famille princeps.

Nous rapportons ici une cinquième famille mutée dans ce gène et analysons l'ensemble des cas connus.

Le tableau neuroradiologique est identique chez tous les patients : hypoplasie cérébelleuse à prédominance vermienne, atrophie corticale et dilatation ventriculaire de gravité variable ayant nécessité deux fois une dérivation. Le retard mental prédomine sur le langage. Il est le plus souvent modéré avec un QI aux alentours de 50. Le syndrome ataxique est absent ou discret, à l'exception d'un

cas. Un strabisme est présent dans 3 familles, une épilepsie dans 2. Nous montrons qu'il existe un syndrome dysmorphique discret mais typique, conférant à tous les patients un « air de ressemblance ». Les femmes hétérozygotes présentent un retard mental et un syndrome dysmorphique modéré.

Cette étude montre que l'exploration clinique et neuroradiologique soignée des patients présentant un retard mental permet d'identifier des formes syndromiques au sein des retards mentaux dits non-spécifiques. Compte-tenu de la fréquence des hypoplasies cérébelleuses, une meilleure connaissance du syndrome clinique permettra de mieux identifier les cas sporadiques.

449

GÉNÉTIQUE CLINIQUE

Passage : Vendredi 30 janvier - Salle Osnabrück - 16h00

ETUDE CLINIQUE, MOLÉCULAIRE ET DE CORRÉLATION GÉNOTYPE-PHÉNOTYPE À PARTIR DE 25 OBSERVATIONS DE SYNDROME ORO-FACIO-DIGITAL DE TYPE 1 : ÉTUDE COLLABORATIVE FRANCO-BELGE

C. Thauvin-Robinet (1), V. Cormier-Daire (2), L. Van Maldergem (3), A. Toutain (4), Y. Alembik (5), E. Bieth (6), V. Layet (7), P. Parent (8), A. David (9), A. Goldenberg (2), G. Mortier (10), D. Héron (11), A. Nivelon-Chevallier (1), V. Cusin (1), D. Devys (12), N. Laurent (13), T. Rousseau (14), P. Saqot (14), A. Donzel (15), J.R. Teyssier (15), L. Faivre (1)

(1) Centre de Génétique, Hôpital d'Enfants, CHU Dijon

(2) Département de Génétique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris

(3) Institut de Pathologie et de Génétique, Lovreval, Belgique

(4) Service de Génétique, CHU Tours

(5) Service de Génétique Médicale, Hôpital Hautepierre, Strasbourg

(6) Laboratoire de Génétique, CHU Purpan, Toulouse

(7) Unité de Cytogénétique et Génétique moléculaire, CH Le Havre

(8) Département de Pédiatrie et de Génétique Médicale, CHU Brest

(9) Service de Génétique Médicale, CHU Nantes

(10) Centre de Génétique Médicale, Ghent, Belgique

(11) Département de Génétique, Cytogénétique et Embryologie, Hôpital La Pitié-Salpêtrière, Paris

(12) Institut de Génétique et Biologie Moléculaire et Cellulaire, INSERM/CNRS/Université Louis Pasteur, Illkirch, CU de Strasbourg

(13) Laboratoire d'Anatomie Pathologique, Faculté de Médecine, Dijon

(14) Clinique Gynécologique et Obstétricale, CHU Dijon

(15) Laboratoire de Génétique Moléculaire, Faculté de Médecine, Dijon

Le syndrome oro-facio-digital de type I, de transmission dominante liée à l'X, est classiquement décrit chez des filles présentant des anomalies orales, faciales et digitales. Des malformations cérébrales ou rénales peuvent être associées. Une grande variabilité clinique est décrite et le gène OFD1 a récemment été identifié en Xp22.2-22.3. La littérature rapporte une grande hétérogénéité allélique. Une étude collaborative a rassemblé 25 observations (16 familles). 76% présentent des freins gingivolinguaux, 71% des fentes labio et/ou palatines, 48 % des hamartomes linguaux, 44% une langue multilobée, 47% une polykystose rénale, 67% une agénésie du corps calleux et 50% un retard mental. Le séquençage direct du gène OFD1 a identifié 11/16 mutations (69%): 9 délétions dont 8 à l'origine d'un décalage du cadre de lecture, une mutation stop et une mutation ponctuelle. Une étude de corrélation phénotype-génotype associant nos résultats et ceux de la littérature a révélé l'existence d'une polykystose rénale plus fréquente en association avec les mutations d'épissage. Les deux tiers

des mutations (65.5%) se répartissent dans les exons 3, 8, 9, 13 et 16, et l'étude de corrélation génotype-phénotype a montré une fréquence plus importante de fente labio-palatine et de retard mental pour les mutations siégeant dans l'un de ces cinq exons. L'étude de l'inactivation du chromosome X a montré un biais d'inactivation dans 3/20 cas et en particulier dans deux familles présentant une variabilité clinique importante. Ces résultats sont encore insuffisants pour permettre de relier la gravité du phénotype à un biais d'inactivation du chromosome X.

498

GÉNÉTIQUE CLINIQUE

Passage : Vendredi 30 janvier - Salle Osnabrück - 16h15

NOUVELLE CHONDRODYSPLASIE LÉTALE DE TRANSMISSION DOMINANTE LIÉE À L'X.

N. Chassaing (1,2), D. Carles (3), AL. Delezoide (4), B. Gilbert (5), R. Saura (1), D. Lacombe (1)

(1) Service de Génétique Médicale, CHU Pellegrin, Bordeaux

(2) Service de Génétique Médicale, CHU Purpan, Toulouse

(3) Laboratoire d'Anatomo-Pathologie, CHU Pellegrin, Bordeaux

(4) Service de Biologie du Développement, Hôpital Robert Debré, AP-HP, Paris

(5) Service de Génétique Médicale, CHU, Poitiers

Nous rapportons une nouvelle chondrodysplasie létale de transmission dominante liée à l'X affectant une famille. Quatre garçons et six femmes sont touchés à travers quatre générations. Trois fœtus masculin ont été interrompus devant la découverte échographique d'anomalies osseuses et d'hydrocéphalie. Un quatrième garçon présentant les mêmes anomalies est décédé à 6 jours de vie. Ce syndrome associe une chondrodysplasie, une hydrocéphalie, une dysmorphie avec microphthalmie. Les signes radiologiques comprennent une platyspondylie sévère, des côtes fines, des os longs modérément raccourcis, des ailes iliaques hypoplasiques, un calcaneum carré, et un aspect particulier cupuliforme des métacarpes, métatarses et des phalanges. Un des fœtus présentait en plus une hypoplasie cérébelleuse, et un autre, une hyperkératose. Les femmes transmettrices souffrent de retard de croissance (128 à 151 cm à l'âge adulte), parfois associé à une hémihypertrophie et à un retard mental modéré. La revue de la littérature n'a pas permis de retrouver de syndrome similaire. Une étude de liaison a permis d'exclure l'implication des gènes L1CAM et SHOX. Le prélèvement de l'ensemble de la famille, devrait permettre de préciser la région chromosomique impliquée.

33

FŒTOPATHOLOGIE ET DIAGNOSTIC PRÉNATAL

Passage : Vendredi 30 janvier - Salle Haarlem - 14h30

DIAGNOSTIC RAPIDE DES ANEUPLOÏDIES PAR PCR QUANTITATIVE FLUORESCENTE

S. El Mouatassim, M. Becker, M. Nouchy, F. Forestier

Laboratoire Marcel Mérieux, Service de Génétique Moléculaire, Lyon

Le diagnostic prénatal des aneuploïdies chromosomiques repose essentiellement sur la cytogénétique conventionnelle. Toutefois, celle-ci demeure longue et coûteuse car elle nécessite l'obtention de cellules en division.

Dans cette étude, nous avons évalué l'application de la PCR quantitative fluorescente (QF-PCR) au diagnostic prénatal

des aneuploïdies impliquant les chromosomes 13, 18, 21, X et Y.

La QF-PCR a été réalisée sur un total de 447 liquides amniotiques sans culture préalable et rétrospectivement sur 43 autres liquides après culture. Tous les échantillons ont été testés par QF-PCR en présence simultanée de 4 marqueurs STRs spécifiques pour chaque chromosome. Les résultats QF-PCR ont été toujours conformes à ceux obtenus par analyse cytogénétique classique. Parmi les 447 échantillons testés, la QF-PCR a détecté 5 cas trisomiques 21, 2 cas trisomiques 18, 1 cas trisomique 13 et 1 cas présentant un syndrome de Klinefelter.

Cette étude montre l'intérêt d'associer la QF-PCR au diagnostic prénatal. Cette technique permet la détection des aneuploïdies les plus communes sur une faible quantité de cellules en quelques heures après le prélèvement. Elle permet d'accélérer le diagnostic en situations d'urgence ou d'anomalies échographiques rendues tardivement. La détection rapide d'une anomalie chromosomique permet de mieux gérer le devenir de la grossesse. Cette technique rapide et peu coûteuse peut être réalisée de manière systématique sur tous les prélèvements.

41

FŒTOPATHOLOGIE ET DIAGNOSTIC PRÉNATAL

Passage : Vendredi 30 janvier - Salle Haarlem - 14h45

ANOPHTALMIE PRIMAIRE FOETALE ASSOCIÉE À UNE DÉLÉTION INTERCALAIRE 3Q26-3Q28 INCLUANT LE GÈNE SOX2

A. Guichet (1), S. Triau (2), C. Lépinard (3), D. Bonneau (1)

(1) Service de Génétique, CHU Angers

(2) Service d'Anatomo-pathologie CHU Angers

(3) Service de Gynéco-Obstétrique CHU Angers

L'anophtalmie vraie ou l'absence complète de tissu oculaire dans l'orbite est une malformation congénitale rare avec une prévalence de 4.18 pour 100 000 naissances. Elle est liée soit à une absence d'induction soit à une dégénérescence de la vésicule optique primitive. Dans le cas d'une anophtalmie primaire aucun dérivé épithélial rétinien n'est retrouvé au niveau de l'orbite. Dans les cas où du tissu rétinien est observé, on parle de microphthalmie sévère ou d'anophtalmie clinique.

Nous rapportons le cas d'une anophtalmie primaire découverte en prénatal et associée à une microdéletion intercalaire d'un bras long d'un chromosome 3. L'analyse par hybridation *in situ* de cette région confirme que le gène SOX2 est impliqué dans ce remaniement.

Six observations d'anophtalmie ou de microphthalmie associée à une anomalie chromosomique de la région 3qter ont été rapportées à ce jour (Alvarez Arratia et al. [1984]; Chitayat et al. [1996]; Driggers et al. [1999]; Kurbasic et al. [1999]; Male et al. [2002]). La région minimale critique impliquée dans l'anophtalmie a été circonscrite à une région de 6.7Mb et implique le gène SOX2. [Male et al., 2002]. Ultérieurement des mutations du gène SOX 2 ont été mises en évidence dans des observations d'anophtalmie primaire (Fantès J et al. Nat Genet 2003;33:461-463).

Notre observation confirme l'implication de la région 3qter et du gène SOX2 dans la pathogénie de l'anophtalmie primaire et implique l'étude cytogénétique moléculaire de cette région en cas de découverte prénatale de cette malformation.

279**FOETOPATHOLOGIE ET DIAGNOSTIC PRÉNATAL****Passage** :Vendredi 30 janvier - Salle Haarlem - 15h00**LE PROTOCOLE ECHO-PAPP-A 78 : RÉSULTATS CYTOGÉNÉTIQUES PRÉLIMINAIRES***F. Vialard (1), D. Molina Gomes (1), J. Roume (1), A. Escalona (1), P. Rosenberg (2), Y. Ville (2), M. Albert (1), J. Selva (1)**(1) Laboratoire de Cytogénétique et de Génétique Médicale, CHI Poissy-Saint Germain**(2) Service de Gynécologie et d'Obstétrique, CHI Poissy-Saint Germain*

Le protocole Echo-PAPP-A 78 (1er janvier 2001 - 31 décembre 2002) était prospectif et interventionnel. La combinaison de l'âge maternel, de la mesure de la clarté nucale de la PAPP-A et de la beta-hCG libre au premier trimestre a conduit si le risque calculé est supérieur ou égal au seuil de 1/250 à proposer un caryotype par biopsie de trophoblaste ou à défaut par une ponction de liquide amniotique après 15SA.

Résultats :

15713 patientes ont été incluses - moyenne d'âge : 30,7 ans. 405 caryotypes ont été effectués et ont diagnostiqué 34 trisomies 21. 7 n'ont pas été dépistées au premier trimestre, dont 4 retrouvées à l'échographie du second trimestre, 3 nées dont une mosaïque faible (4%). 20 autres caryotypes déséquilibrés ont été diagnostiqués 6 trisomies 18, 4 trisomies 13, 3 monosomies X, 3 triploïdies, un cas 48,XXYY, et 3 anomalies de structures déséquilibrées.

L'analyse par biopsie de trophoblaste a été faite sur examen direct et culture. 4 cas de mosaïques confinées au placenta ont été retrouvées.

Les marqueurs du premier trimestre ont donc engendré une fréquence de ponction égale à 2.6% et ont permis de dépister 83% des trisomies 21, 93%, si le protocole est associé à l'échographie du deuxième trimestre.

Il y a eu 4 fausses couches après prélèvement fœtal dont 3 après ponction de liquide amniotique, et 37 IMG pour des anomalies autres que cytogénétiques. Il est à noter que l'incidence de la trisomie 21 a été de 1/380 durant cette période dans la population étudiée.

374**FOETOPATHOLOGIE ET DIAGNOSTIC PRÉNATAL****Passage** :Vendredi 30 janvier - Salle Haarlem - 15h15**APPORTS DE L'IRM DANS LE DIAGNOSTIC ANTÉNATAL DU SYNDROME DE ZELLWEGER***F. Mochel, P. Sonigo, F. Brunelle**Service de Radiologie Pédiatrique, Hôpital Necker, Paris*

Le syndrome de Zellweger, ou syndrome cérébrohépatorenal, est une pathologie de la biogénèse péroxysomale de pronostic très sévère. Parmi les manifestations multisystémiques qui ont été rapportées, certaines peuvent être de révélation anténatale : hypotrophie, clarté nucale, dilatation ventriculaire, hyperéchogénicité rénale... Le caractère parfois isolé de ces manifestations et les limites propres à la technique d'échographie, rendent l'orientation diagnostique anténatale difficile. Le dosage des métabolites péroxysomaux (VLCFA, acide pipécholique, acide phytanique, acide pristanique), les dosages enzymatiques (dont DHAPATase) ou enfin l'analyse moléculaire

(recherche de mutations, groupes de complémentation) autorisent cependant un diagnostic prénatal fiable à partir de cellules du liquide amniotique ou de villosités choriales. Nous rapportons ici le cas de 2 fœtus atteints du syndrome de Zellweger. La mise en évidence par échographie anténatale d'une dilatation ventriculaire a conduit à la réalisation d'une IRM fœtale dans les 2 cas. On retrouve des anomalies de la substance blanche, des anomalies de la giration cérébrale, des kystes de germinolyse périventriculaires, et des microkystes rénaux pour l'un d'entre eux. La nature de ces signes, et surtout leur association (notamment atteintes cérébrale et rénale) ont largement contribué à l'orientation anténatale du diagnostic de maladie péroxysomale. En conclusion, l'imagerie par résonance magnétique apparaît prometteuse dans l'aide au diagnostic prénatal de pathologies multisystémiques complexes sévères, tels le syndrome de Zellweger, pour lesquelles les outils classiques de surveillance anténatale sont souvent pris à défaut.

421**FOETOPATHOLOGIE ET DIAGNOSTIC PRÉNATAL****Passage** :Vendredi 30 janvier - Salle Haarlem - 15h30**LISSENCEPHALIE DE TYPE III : SPECTRE DE DYSPLASIE NEURO-ECTODERMIQUE ?****A PROPOS D'UNE FAMILLE MULTIPLEX***J. Martinovic (1), F. Francis (2), A. Benachi (3), J. Roume (4), M. Gonzales (4), C. Fallet (5), M. Vekemans (1), J. Chelly (2), F. Encha-Razavi (1)**(1) Unité du Développement Embryo-Fœtal, Département de Génétique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris**(2) INSERM U129, Institut Cochin de Génétique Moléculaire, Paris**(3) Unité de Médecine Fœtal, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris**(4) Unité de Foetopathologie, Hôpital Saint-Antoine, Paris**(5) Département de Neuropathologie, Hôpital Saint-Anne, Paris*

La lissencephalie est un terme descriptif qui définit une absence/raréfaction de la giration cérébrale, rapportée dans des situations clinicopathologiques diverses. L'existence de deux grands groupes type I et type II, corrélés pour le type I avec une anomalie de la migration neuronale et pour le type II à une anomalie de la glie limitans («capsule » externe du cerveau) est bien admise. Nous avons défini le cadre clinicopathologique d'un type III (OMIM 601160), également décrit dans le syndrome de Neu-Laxova (SNL), une affection autosomique récessive létale, associant un retard de croissance intra utérin, une microcéphalie, une dysmorphie faciale, une arthrogrypose et des anomalies cutanées, ensemble évocateur d'une Séquence de Déformation d'Akinésie Fœtale (FADS) sévère.

Nous rapportons une nouvelle famille multiplex avec quatre fœtus atteints de SDAF et deux enfants sains, issus de parents consanguins d'origine turque. Les quatre fœtus interrompus respectivement à 24, 18, 26 et 24SA présentent un retard statural majeur avec microcéphalie, arthrogryposes, pterygia et syndactylie avec une peau épaisse et fragile. Dans tous les cas, le cerveau présente les caractéristiques d'une lissencephalie de type III marquée par un retard de la maturation neuronale du cortex cérébral, une raréfaction des fibres calleuses et cérébro-spinales, une déplétion neuronale des noyaux gris étendue aux noyaux du tronc cérébral et à la moelle épinière. A l'échelle cellulaire, la vacuolisation, la chromatolyse et la fragmentation de la chromatine suggèrent fortement un processus neurodégénératif, confirmé chez l'un des fœtus

par l'effet TUNEL. L'examen viscéral montre une agénésie surrénalienne bilatérale chez l'un des fœtus.

Nous formulons l'hypothèse que les syndromes de NL et OMIM N°601160 relèvent d'une dysplasie neuroectodermique de sévérité variable, mais de mécanisme étiopathogénique commun justifiant leur regroupement dans le cadre d'un troisième groupe de lissencéphalie, LIS III. Seule l'identification du gène en cause qui est en cours par analyse génétique permettra la délimitation des frontières entre ces deux entités et l'existence d'un possible continuum.

471

FŒTOPATHOLOGIE ET DIAGNOSTIC PRÉNATAL

Passage : Vendredi 30 janvier - Salle Haarlem - 15h45

PHÉNOTYPE FŒTAL DU MODY 5

G. Bonyhay (1), S. Cereghini (2), F. Ménez (1), S. Cormier (3), F. Daïkha Dahmane (1), C. Baumann (4), MC. Gubler (5), AL. Delezoide (1)

(1) Service de Biologie du Développement, Hôpital Robert Debré, Paris

(2) UMR CNRS 6622, Campus de Jussieu, Paris

(3) Unité de Génétique du Développement, Institut Pasteur, Paris

(4) Génétique Clinique, Hôpital Robert Debré, Paris

(5) INSERM U423, Hôpital des Enfants Malades, Paris

Parmi les MODY (maturity-onset diabetes of the young), de transmission autosomique dominante, qui représentent 2% des diabètes de type 2 en Europe, le MODY 5, lié à des mutations du gène HNF1beta, est une forme rare, associant fréquemment des perturbations de la fonction rénale, et, rarement, des anomalies génitales (hypospadias, malformations utérines). Des mutations d'HNF1beta ont été retrouvées dans des contextes de néphropathies diverses : oligoméganéphronie, maladie glomérulokystique AD, dysplasie... Les rares formes fœtales associent reins kystiques et anomalies utérines.

Nous décrivons deux fœtus (un garçon et une fille) dont la grossesse a été interrompue à 27 et 31 SA après découverte de gros reins hyperéchogènes avec altération sévère de la fonction rénale. L'examen fœtopathologique a retrouvé chez les 2 fœtus une néphropathie caractérisée par l'association de kystes glomérulaires corticaux, structures néphroniques mal différenciées et tubes médullaires dysplasiques. Les deux fœtus présentaient également des anomalies des voies génitales et une hypoplasie du pancréas.

L'analyse du gène HNF1beta sur l'ADN extrait des tissus fœtaux a mis en évidence 2 nouvelles mutations perte de fonction; en hybridation *in situ*, nous avons confirmé, chez le fœtus humain, l'expression entoblastique du gène (poumon, tube digestif, pancréas, voies biliaires), ainsi que dans le rein et les voies génitales.

Ces deux observations

1) précisent le phénotype caractéristique des mutations de HNF1beta à manifestation anténatale, permettant l'identification future voire rétrospective de nouvelles familles

2) confirment le retentissement, chez l'homme, des mutations hétérozygotes de HNF1beta sur la morphogénèse du rein, du pancréas, et des voies génitales.

483

FŒTOPATHOLOGIE ET DIAGNOSTIC PRÉNATAL

Passage : Vendredi 30 janvier - Salle Haarlem - 16h00

SYNDROME DE FOWLER: VASCULOPATHIE HÉRÉDITAIRE DU SYSTÈME NERVEUX CENTRAL. HYPOTHÈSES PATHOGÉNIQUES À PROPOS DE 3 OBSERVATIONS ANATOMO CLINIQUES.

C. Fallet-Bianco (1), A. Bazin (2), AM. Beaufrere (3), T. Yacoubi (4), P. Dechelotte (3)

(1) Neuropathologie-Sainte-Anne-Paris

(2) Pasteur-Cerba, Pontoise

(3) Anatomie Pathologique, Hôtel-Dieu, Clermont-Ferrand

(4) Anatomie Pathologique, CHU Faraht Hached, Sousse, Tunisie

En 1972, Fowler individualise chez 5 nouveaux nés d'une même fratrie, une nouvelle entité caractérisée par une vasculopathie exubérante du système nerveux central, responsable de lésions ischémiques diffuses du névraxe. Nous rapportons 3 observations anatomocliniques concernant des fœtus non apparentés, agés respectivement de 24, 16 et 21 semaines, l'un d'eux issu d'un couple consanguin, présentant une hydranencéphalie associée à une séquence d'akinésie fœtale sévère, précoce. L'examen neuropathologique a permis d'identifier, chez ces 3 sujets, la vasculopathie glomérulée proliférante très particulière qui caractérise cette affection autosomique récessive. La sévérité des lésions, très diffuses à l'ensemble du névraxe, dès le début du 2^{ème} trimestre, évoque un trouble primitif précoce du développement de la vascularisation cérébrale embryonnaire et fœtale. L'étude immunocytochimique met en évidence une expression exubérante de certains facteurs de croissance angiogéniques permettant de discuter des hypothèses pathogéniques et de suggérer un gène candidat.

528

FŒTOPATHOLOGIE ET DIAGNOSTIC PRÉNATAL

Passage : Vendredi 30 janvier - Salle Haarlem - 16h15

GROSSESSES ANEUPLOÏDES: QUANTIFICATION DES CELLULES FŒTALES CIRCULANT DANS LE SANG MATERNEL PAR TECHNIQUES FISH ET PRINS

K. Krabchi, R. Drouin

Département de génétique médicale, CHU de Sherbrooke, Sherbrooke, Québec, Canada

Introduction: Le nombre total de cellules fœtales présentes dans le sang maternel, prélevé entre la 18^e et la 22^e semaine de gestation, lors de grossesses normales a été récemment quantifié dans notre laboratoire (Krabchi et al. Clin Genet 60:145-50, 2001). Ce nombre varie de 2 à 6 cellules fœtales par ml de sang maternel. **Objectif:** Déterminer ce même nombre chez des femmes enceintes de fœtus atteints d'aneuploïdies. **Méthodologie:** Récupérer un maximum de cellules fœtales en utilisant une méthode de récolte directe sans recours aux techniques d'enrichissement. 45 échantillons de sang maternel ont été analysés soit par technique FISH, soit par technique PRINS. Les caryotypes sur amniocytes ont été: 47,XY,+21 (24 cas) et 47,XX,+21 (11); 47,XY,+18 (8) et 47,XX,+18 (2); 47,XY,+13(1); 47,XXX (3); 45,X (4); 47,XXY (1); 47,XYY (1); 69,XXX (3) et 69,XXY(1). La détection des cellules a été réalisée à l'aide de sondes d'ADN spécifiques des chromosomes X,Y et 21 par FISH ou par synthèse *in situ*

amorcée de séquences cibles spécifiques des chromosomes X, Y, 7, 8 et 18 (réaction PRINS). La quantification des cellules fœtales a été effectuée par dénombrement visuel à l'aide d'un microscope à fluorescence combiné à un système d'analyse d'images. **Résultats:** 8 à 32 cellules fœtales par ml de sang maternel ont été identifiées. Ce nombre est 5 fois plus élevé que celui observé dans les cas de grossesses normales. **Conclusions:** Par cette simple approche, nous montrons, qu'il y a un plus grand nombre de cellules fœtales aneuploïdes, favorisant l'accès au diagnostic prénatal non invasif.

395

FOETOPATHOLOGIE ET DIAGNOSTIC PRÉNATAL

Passage : Vendredi 30 janvier - Salle Haarlem - 16h30

LE DIAGNOSTIC PRÉNATAL À L'ÉPREUVE DU DROIT ?

S. Delahaye (1), Y. Ville (1), Y. Dumez (2), M. Gonzales (3)
 (1) Centre de diagnostic prénatal, CHI Poissy St Germain en Laye
 (2) Centre de diagnostic prénatal, CHU Necker-Enfants Malades, Paris
 (3) Service d'embryologie pathologique et de cytogénétique, CHU St Antoine, Paris

L'arrêt Perruche prononcé par la Cour de Cassation le 17 novembre 2001, au delà des répercussions médiatiques et politiques, a fait l'effet d'un détonateur pour les praticiens de l'échographie obstétricale. Cet arrêt qui a fait jurisprudence à 3 reprises a pointé sur cette spécialité un regard aiguisé venant de tous les horizons professionnels, politiques, médiatiques, publics et institutionnels. Il a également permis à une profession en évolution constante de prendre conscience de l'ampleur du travail de réflexion à entamer sur la pratique inhomogène de cette spécialité. L'échographie obstétricale rencontre de nombreuses difficultés mises en exergue par une logique du droit qui s'immisce dans la pratique médicale. Nous avons tenté d'évaluer par questionnaire ces difficultés et leur retentissement sur les pratiques actuelles et futures en interrogeant des échographistes et des internes de gynécologie-obstétrique. Un véritable élan de contestation émanant des milieux juridiques, philosophiques, institutionnels, médicaux et éthiques a conduit le gouvernement à légiférer « contre » la jurisprudence Perruche sous la forme de l'article 1er de la loi du 4 mars 2002 relative aux droits des malades et à la qualité du système de santé. Ce travail a été enrichi par les entretiens de neuf professionnels d'horizons variés (juriste, assureur, représentants syndicaux, échographistes, membres du CCNE, représentant de personnes handicapées). Chacun mesure l'étendue du travail qui reste à réaliser par les médecins et par l'ensemble de la population sur cette pratique du diagnostic prénatal dans son ensemble.

145

GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE (SESSION PLENIÈRE)

Passage : Samedi 31 janvier - Auditorium - 10h30

DES MUTATIONS DANS LE GÈNE LIFR (LEUKEMIA INHIBITORY FACTOR RECEPTOR) SONT RESPONSABLES DU SYNDROME DE STÜVE-WIEDEMANN (SWS).

N. Dagoneau (1), D. Scheffer (1), C. Huber (1), L. I Al-Gazali (2), M. Di Rocco (3), A. Godard (4), J. Martinovic (1), A. Raas-Rothschild (5), S. Sigaudy (6), S. Unger (7), A. Superti-Furga (8), M. Le Merrer (1), J. Bonaventure (1), A. Munnich (1), L. Legeai-Mallet (1), V. Cormier-Daire (1)
 (1) Département de Génétique Médicale, INSERM U 393, Hôpital

Necker-Enfants Malades, Paris

(2) Département de Pédiatrie, Université des Emirats Arabes Unis, Al Ain, Emirats Arabes Unis

(3) Unité de Pédiatrie, Institut G. Gaslini, Gênes, Italie

(4) INSERM U463, Institut de Biologie-CHR, Nantes

(5) Département de Génétique, Hadassah University Medical Center, Jerusalem, Israel

(6) Département de Génétique, Hôpital d'Enfants de La Timone, Marseille

(7) Division de Métabolisme, Université de Toronto, Toronto, Canada

(8) Département de Pédiatrie, Université de Lausanne, Lausanne, Suisse

Le syndrome de Stüve-Wiedemann (SWS) est une affection rare transmise sur un mode autosomique récessif et caractérisé par une incurvation des os longs, une camptodactylie, une détresse respiratoire, des difficultés alimentaires et des épisodes d'hyperthermie conduisant au décès dans les premières années de vie. Les similitudes phénotypiques avec le syndrome de Schwartz-Jampel de type 2 (SJS2) ont suggéré que ces deux syndromes correspondent à une même entité.

L'étude d'une série de 18 familles SWS ou SJS2 nous a permis de localiser la maladie en 5p13.1 entre les marqueurs D5S1964 et D5S1457 ($Z_{max}=10.66$ à $\theta_{eta}=0$ pour le marqueur D5S418).

L'analyse des gènes présents dans la région nous a permis d'identifier 13 mutations différentes dans le gène LIFR (Leukemia Inhibitory Factor Receptor). Ces mutations conduisent à l'apparition d'un codon stop prématuré. L'analyse du transcript en RT-PCR chez les patients montre que celui-ci est instable ou absent. La voie de signalisation naturellement empruntée par LIFR est JAK/STAT. Des études en Western Blot et en immunofluorescence nous ont permis de démontrer chez les patients SWS que la voie des STAT est inactivée avec une absence de la protéine STAT3 à l'état phosphorylé.

Nous concluons que les syndromes de Stüve-Wiedemann et de Schwartz-Jampel de type 2 constituent une entité clinique et génétique unique due à des mutations perte de fonction dans LIFR.

436

GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE (SESSION PLENIÈRE)

Passage : Samedi 31 janvier - Auditorium - 10h45

GRADIENT DE SÉVÉRITÉ CLINIQUE ET BIOLOGIQUE ENTRE QUATRE DIFFÉRENTES FORMES MOLÉCULAIRES D'HYPERCHOLESTÉROLÉMIE FAMILIALE

M. Varret (1), M. Devillers (1), M. Abi-Fadel (1), D. Allard (1), D. Erlich (1), C. Junien (1,2), C. Boileau (1,2), JP. Rabès (1,2) et le Réseau National de Recherche sur les Hypercholestérolémies
 (1) INSERM U383, Paris
 (2) Laboratoire de Biochimie, d'Hormonologie et de Génétique Moléculaire, CHU Ambroise Paré, Boulogne

L'hypercholestérolémie familiale (HCF) est caractérisée par une élévation plasmatique du taux de cholestérol-LDL due à un défaut des gènes LDLR (récepteur des LDL), APOB (apolipoprotéine B), PCSK9 (convertase) ou HCHOLA4.

Notre objectif est d'évaluer la contribution respective de ces gènes à l'HCF et de révéler d'éventuelles différences clinico-biologiques entre les 4 groupes moléculaires.

Nous avons testé des marqueurs polymorphes de ces gènes chez 814 sujets de 140 familles hypercholestérolémiques. Les analyses génétiques (MLINK,

HOMOG3R) ont estimé que les défauts des gènes LDLR et APOB sont impliqués dans 67% et 14% des cas et que 19% des familles ne sont liées à aucun de ces deux gènes ($P = 1.8 \cdot 10^{-24}$). Les défauts des gènes PCSK9 et HCHOLA4 interviennent dans 12% et 10% des familles dites "nonLDLR-nonAPOB". Avec ces résultats génétiques, nous avons constitué 4 groupes moléculaires: "LDLR", "APOB", "PCSK9" et "HCHOLA4". Nous montrons qu'il existe des différences significatives entre ces groupes pour les taux circulants de cholestérol-LDL et d'apo B, révélant un gradient de sévérité: "LDLR" > "PCSK9" > "APOB" > "HCHOLA4". Du point de vue clinique, les différences entre les 4 groupes sont difficiles à évaluer de par le petit nombre de familles "PCSK9" et "HCHOLA4". Cependant, le gradient de sévérité est retrouvé pour la proportion de sujets avec xanthomes ou infarctus du myocarde précoce.

En conclusion, ces résultats montrent qu'il existe des différences biologiques entre les 4 groupes qui peuvent aider à l'identification et au diagnostic de cette maladie génétique fréquente et encore largement sous-diagnostiquée.

296

GÉNÉTIQUE CHROMOSOMIQUE (SESSION PLENIERE)

Passage : Samedi 31 janvier - Auditorium - 11h00

ETUDE QUANTITATIVE DU STATUT GÉNOMIQUE TUMORAL PAR CGH-ARRAY : NEUROBLASTOMES ET RÉGION 17Q

M. Guillaud-Bataille (1), A. Valent (1,6), C. Perot (1), P. Soularue (2), A. Pittaval (2), H. Roest Crolius (3), H. Ripoché (4), J. Bénard (5), Y. Lazar (6), M.J. Terrier-Lacombe (7), G. Lenoir (6), P. Dessen (4), X. Gidrol (2), A. Bernheim (1), G. Danglot (1)

(1) Génomique Cellulaire des Cancers, Institut Gustave Roussy (IGR), Villejuif

(2) Génomique Fonctionnelle, CEA, Evry

(3) Centre National de Séquençage, Evry

(4) Bioinformatique, IGR, Villejuif

(5) Service de génétique, IGR, Villejuif

(6) Génomique Fonctionnelle, IGR, Villejuif

(7) Anatomopathologie, IGR, Villejuif

Les cellules cancéreuses accumulent constamment des remaniements génétiques, conduisant à des pertes et des gains de vastes régions chromosomiques. Parmi ceux-ci, le gain du bras 17q est très fréquent dans plusieurs cancers pédiatriques, comme les neuroblastomes et les médulloblastomes, où il est fortement associé à un mauvais pronostic. Pour identifier les oncogènes potentiellement impliqués, nous avons construit une micromatrice d'ADNs génomiques (BACs) essentiellement dédiée au bras 17q, en utilisant les cartographies du génome humain établies par le NCBI et l'UCSC.

Tous les BACs ont été contrôlés par FISH sur des métaphases humaines normales. Environ 20 pour cent d'entre eux ont présenté une hybridation non conforme et ont été éliminés. Les ADNs des clones donnant un signal unique à l'endroit attendu ont été déposés en 6 répliqués sur lames GAPS.

Les expériences de CGH-array réalisées avec des ADNs normaux et des ADNs de lignées tumorales parallèlement caractérisées par CGH classique et/ou FISH, ont montré une reproductibilité et une fiabilité dans l'évaluation du nombre de copies supérieures à 90 pour cent.

L'étude d'une série de tumeurs primaires a pour objectif de déterminer la plus petite région du 17q sur-

représentée. Les résultats actuels suggèrent la présence de plusieurs régions importantes.

Ce travail a par ailleurs révélé la nécessité d'une méthode d'amplification fidèle du génome entier, afin d'étudier des échantillons tumoraux prélevés à l'aiguille, avant toute interférence thérapeutique. La technique d'amplification retenue permet de synthétiser environ 5 microgrammes d'ADN à partir d'un nanogramme, tout en conservant la spécificité des anomalies quantitatives.

127

ONCOGÉNÉTIQUE (SESSION PLENIERE)

Passage : Samedi 31 janvier - Auditorium - 11h15

SUIVI PROSPECTIF DE PATIENTES BRCA+/- NON MALADES : IMPACT PSYCHOLOGIQUE DES RÉSULTATS DES TESTS DE PRÉDISPOSITION GÉNÉTIQUE AU CANCER DU SEIN ET/OU DE L'OVAIRE

C. Julian-Reynier (1), G. Santin (1), D. Stoppa-Lyonnet (2), C. Lasset (3), J.P. Fricker (4), E. Luporsi (5), A. Chompret (6), R. Guimbaud (7), the French Cancer Genetic Group (8), C. Noguès (9)

(1) INSERM U379, Institut Paoli-Calmettes, Marseille

(2) Département d'oncogénétique, Institut Curie, Paris

(3) Département d'oncogénétique, Centre Léon Bérard, Lyon

(4) Département de biologie médicale, Centre Paul Strauss, Strasbourg

(5) Département d'oncologie médicale, Centre Alexis Vautrin, Nancy

(6) Département d'oncogénétique, Institut Gustave Roussy, Villejuif

(7) Département d'oncogénétique, Institut Claudius Rigaud, Toulouse

(8) Centre François Baclesse, Caen ; Centre Jean Perrin, Clermont Ferrand ; Centre Henri Becquerel, Rouen ; Polyclinique Courlancy, Reims ; Clinique Sainte Catherine, Avignon ; Centre Eugène Marquis, Rennes ; Centre Antoine Lacassagne, Nice ; CHR, Niort ; Institut Bergonié, Bordeaux ; Centre Paul Papin, Angers ; Institut Jean Godinot, Reims ; Institut Paoli Calmettes, Marseille ; CHU, Limoges ; Centre Oscar Lambret, Lille ; CHU Timone, Marseille

(9) Département d'oncogénétique, Centre René Huguenin, Saint Cloud

Première étude française à documenter l'impact psychologique des résultats des tests génétiques BRCA.

Objectif : Evaluation prospective de l'évolution psychologique de patientes, porteuses ou non porteuses d'un gène prédisposant au cancer du sein et/ou de l'ovaire. Méthodes : Cohorte nationale - patientes non malades - porteuses ou non d'une mutation gène BRCA1/2 préalablement identifiée dans la famille. Auto-questionnaires avant les résultats puis à 15 jours et 6 mois. 161 personnes (70%) ayant répondu aux 3 questionnaires ont été incluses. Variables dépendantes : dépression (CES-D), impact psychologique de l'annonce (IES), perception du risque (cancer sein et/ou ovaire).

Résultats : Pour les femmes BRCA+ (n=68), le niveau de dépression et les idées intrusives ont augmenté après l'annonce des résultats, à un mois ($p < 0.05$), pour redescendre au niveau de base à 6 mois. Pour les femmes BRCA- (n=93), ces indicateurs sont restés stables au cours du suivi. Avant les résultats, le risque de cancer du sein était perçu comme élevé par 54% de l'échantillon. A 6 mois, les femmes BRCA+ avaient une augmentation significative de leur perception (76%, $p < 0.05$) alors qu'une diminution était observée pour les femmes BRCA- (seulement 11% estimaient toujours avoir un risque élevé; $p < 0.001$). Les mêmes tendances étaient observées pour la perception du risque de cancer de l'ovaire. L'ajustement multivarié de ces données sera détaillé en tenant compte des corrélations

intra-familiales.

Conclusions : Les indicateurs synthétiques mesurés permettent de comprendre la dynamique des changements cognitifs opérés par les patientes. Ils soulignent la nécessité d'étudier de manière clinique les variabilités individuelles du vécu de ces résultats.

55

GÉNÉTIQUE ÉPIDÉMIOLOGIQUE

Passage : Samedi 31 janvier - Auditorium - 14h00

MÉTHODES D'ESTIMATION DE LA PÉNÉTRANCE D'UNE MUTATION À PARTIR DE DONNÉES FAMILIALES

*J. Carayol, C. Bonaiti-Pellié
INSERM U535, Villejuif*

On connaît maintenant de très nombreuses mutations responsables de maladies héréditaires ou de prédispositions génétiques à des maladies communes, en particulier à certains cancers. Dans bien des cas, la pénétrance est incomplète et il est important de l'évaluer pour la prise en charge des patients et de leur famille. Les résultats des recherches de mutations dans les familles peuvent être utilisés pour estimer la pénétrance à condition de corriger pour le biais de sélection par l'intermédiaire d'individus atteints. Cette correction est relativement simple dans les maladies héréditaires où les patients sont tous porteurs d'une mutation délétère. Elle est beaucoup plus délicate dans les syndromes de prédisposition génétique à des maladies communes. En effet, la majorité des cas étant sporadique, on utilise des critères familiaux pour reconnaître ces syndromes. Dans ce type de situation, en particulier si les critères sont complexes et multiples, il faut utiliser une méthode qui conditionne à l'ensemble des phénotypes observés dans la famille et qui peut alors s'appliquer à n'importe quel type de critères.

Nous présenterons les différentes méthodes et l'organisation du logiciel que nous sommes en train de développer et nous donnerons quelques exemples d'application à des cas réels de maladie héréditaire et de syndromes familiaux dus à des mutations constitutionnelles de gènes provoquant un risque très important de cancer chez les individus porteurs.

258

GÉNÉTIQUE ÉPIDÉMIOLOGIQUE

Passage : Samedi 31 janvier - Auditorium - 14h15

ESTIMATION DU COEFFICIENT DE CONSANGUINITÉ D'UN INDIVIDU À PARTIR DE SA SEULE INFORMATION GÉNOMIQUE

*AL. Leutenegger (1,2), B. Prum (3), E. Genin (1), EA. Thompson (2), F. Clerget-Darpoux (1)
(1) INSERM U535, Villejuif
(2) University of Washington, Seattle, USA
(3) CNRS 8071, Evry*

De nombreuses analyses de liaison génétique sont réalisées dans des populations consanguines, que ce soient de petites populations isolées ou de grandes populations dans lesquelles, pour des raisons culturelles ou religieuses, on favorise les mariages entre apparentés. Dans ces populations, la généalogie d'un individu peut être très complexe avec de multiples boucles dont certaines sont inconnues. Le coefficient de consanguinité de cet individu

n'est alors pas connu précisément. Une bonne estimation de ce coefficient (f) est pourtant nécessaire pour les analyses de liaison. Nous avons en effet montré qu'une sous-estimation de f pouvait conduire à de fausses conclusions de liaison.

Nous présentons ici une méthode pour estimer le coefficient de consanguinité f d'un individu à partir de ses données génotypiques sur des marqueurs répartis sur le génome. La méthode, basée sur le maximum de vraisemblance, prend en compte la dépendance entre marqueurs grâce à une chaîne de Markov cachée. Nous avons simulé, pour différentes cartes génétiques, les génotypes pour un enfant issu de cousins germains (1), et pour un enfant issu de quadruples cousins au second degré (2) et montré que notre méthode estimait correctement f. Cette estimée de f peut donc être utilisée pour faire des analyses de liaison, de type "homozygosity mapping", et ceci même en l'absence d'information familiale.

285

GÉNÉTIQUE ÉPIDÉMIOLOGIQUE

Passage : Samedi 31 janvier - Auditorium - 14h30

COMMENT UTILISER AU MIEUX PLUSIEURS SNPs DANS UN GÈNE LORSQU'ON TESTE SON ASSOCIATION AVEC UNE MALADIE? APPLICATION À L'ÉTUDE DE L'ASSOCIATION ENTRE LE MÉLANOME ET OCA2

*AS. Jannot (1), N. Soufir (2), R. Meziani (2), P. Verpillat (3), B. Gérard (2), V. Descamps (4), A. Archimbaud (4), C. Picard (4), L. Ollivaud (5), N. Basset-Sequin (5), D. Kerob (5), G. Lanternier (6), C. Lebbe (5), P. Saiag (7), B. Crickx (4), B. Grandchamp (2), F. Clerget-Darpoux (1)
(1) Unité d'Epidémiologie Génétique INSERM 535, Hôpital Paul Brousse, Villejuif
(2) Laboratoire de Biochimie Hormonale et Génétique, Hôpital Bichat-Claude Bernard, Paris
(3) Département d'épidémiologie, de biostatistiques et de recherche clinique, Hôpital Bichat-Claude Bernard, Paris
(4) Service de Dermatologie, Hôpital Bichat-Claude Bernard, Paris
(5) Service de Dermatologie, Hôpital Saint-Louis, Paris
(6) Service de Dermatologie, Hôpital Percy, Clamart
(7) Service de Dermatologie, Hôpital Ambroise Paré, Boulogne Billancourt*

Une stratégie pour montrer qu'un gène est facteur de risque pour une maladie multifactorielle est de tester l'association entre des SNPs intragéniques et cette maladie. Lorsque plusieurs SNPs sont typés, les haplotypes formés par les allèles de ces SNPs peuvent contenir plus d'information que chaque SNP pris séparément. En effet, le modèle qui sous-tend le rôle du gène dans la maladie étudiée peut impliquer l'interaction de plusieurs SNPs. Pour utiliser au mieux l'information sur l'ensemble des SNPs typés, nous avons développé une stratégie, le « combination test », qui teste l'association entre la maladie et l'ensemble des génotypes formés avec un nombre variable de SNPs. Nous avons montré l'avantage de cette méthode par rapport aux stratégies testant l'association avec les génotypes formés par chaque SNP séparément et celles considérant l'ensemble des SNPs simultanément, plus particulièrement lorsque l'effet du gène est dû à l'interaction de plusieurs SNPs. Nous avons appliqué cette méthode à l'étude de l'association entre le mélanome et le gène OCA2 (10 SNPs typés), sur un échantillon de 113 cas et de 105 témoins. OCA2 est impliqué dans la forme la plus fréquente d'albinisme occulo-cutané induisant des caractéristiques pigmentaires claires et une susceptibilité accrue aux cancers de la peau. Nous avons montré qu'une

combinaison de SNPs est significativement associée au risque de mélanome ($p=0.003$). Si les SNPs avaient été considérés individuellement, cette association n'aurait pas été détectée. Grâce à cette stratégie originale, nous avons donc mis en évidence le rôle d'un nouveau gène dans la susceptibilité au mélanome.

95

ONCOGÉNÉTIQUE

Passage : Samedi 31 janvier - Auditorium - 14h45

DÉRÉGULATION ET HYPEREXPRESSION DE HMGA2 DANS LA SPLÉNOMÉGALIE MYÉLOÏDE.

J. Andrieux (1,2), J.L. Demory (3), B. Dupriez (4), S. Quief (1), C. Roumier (1,5), N. Grardel (5), J.L. Lai (1,2), J.P. Kerckaert (1)

(1) INSERM U524, Lille

(2) Laboratoire de Génétique Médicale, Hôpital Jeanne de Flandre, CHU, Lille

(3) Département d'Hématologie, Hôpital St-Vincent de Paul, Lille

(4) Service d'Hématologie, CH, Lens

(5) Laboratoire d'Hématologie, Hôpital Calmette, CHU, Lille

La Splénomégalie Myéloïde (SM), est un syndrome myéloprolifératif rare caractérisé par une fibrose de la moelle osseuse, et une hématopoïèse extra-médullaire. La survie médiane ne dépasse pas 48 mois et le traitement est principalement palliatif.

Il a été démontré que la SM implique une prolifération clonale de progéniteurs multipotents avec une fibrose réactionnelle.

A partir du sang périphérique, il est possible d'obtenir un caryotype des progéniteurs myéloïdes et dans près de la moitié des cas on retrouve des anomalies à type de del 13q, del 20q et trisomie 8.

Parmi les autres anomalies cytogénétiques rencontrées, nous avons pu étudier 2 patients présentant une $t(4;12)(q33;q15)$ et une $t(5;12)(p14;q15)$. L'analyse en cytogénétique moléculaire, utilisant 50 BACs, a mis en évidence le BAC RP11-366L20 qui couvre le point de cassure de la translocation chez ces 2 patients.

Le seul gène candidat présent dans ce BAC est HMGA2. Ce gène est impliqué dans des tumeurs solides d'origine mésenchymateuse (lipomes, léiomyomes, chondrohamatomes).

Par QRT-PCR (Taq-Man), nous avons mis en évidence une dérégulation et une hyper-expression de HMGA2 dans les cellules sanguines nucléées de nos deux patients ainsi que chez 100% des 25 autres patients SM, ne présentant pas d'anomalie en 12q. Une hyper-expression d'HMGA2 a été également montrée dans les cellules CD34+ (fréquemment augmentées dans le sang de sujets atteints de SM), isolées de 8 patients (versus témoins).

Nous postulons donc que la dérégulation de ce gène et son hyperexpression dans les progéniteurs myéloïdes puisse avoir un rôle dans la pathogénèse de la Splénomégalie Myéloïde.

434

ONCOGÉNÉTIQUE

Passage : Samedi 31 janvier - Auditorium - 15h00

LE POLYMORPHISME SDF1 (-801 GA) : UN NOUVEAU FACTEUR PRONOSTIQUE DANS LA LEUCÉMIE LYMPHOÏDE CHRONIQUE (LLC) ?

S. Poulain (1), A.C. Chevert (1), L. Stalniewicz (2), C. Wierre (1),

J.P. Pollet (3), M. Simon (3), P. Duthilleul (1), P. Morel (2)

(1) Département d'Hématologie, CH, Valenciennes

(2) Service d'Hématologie Clinique, CH, Lens

(3) Service d'Hématologie Clinique, CH, Valenciennes

Le rôle de la chémokine SDF1 dans la physiopathologie de la LLC a été évoqué. Le gène codant pour SDF1 présente un polymorphisme en position 801 de la région 3' UTR (SDF1 GA). Notre objectif est d'évaluer la valeur pronostique de ce polymorphisme dans la LLC. **Matériel et Méthodes** : Ont été étudiés 113 patients (pts): 100 pts au stade A, 13 aux stades B et C selon la classification de Binet (suivi médian : 27.4 mois). Le génotypage de SDF1GA a été réalisé par PCR/RFLP. **Résultats** : Parmi les 113 pts, 72.4% sont hétérozygotes, 23.9% SDF1GG, 3 SDF1AA. La fréquence de l'allèle SDF1A est significativement augmentée dans les stades avancés B et C (66.6 %) par rapport aux stades A (17.6%) ($p = 0.005$). Une corrélation est établie entre la présence de l'allèle SDF1A et l'expression du CD38 ($p=0.02$) et la présence d'une splénomégalie ($p=0.02$). Aucune différence statistique significative entre le génotype et l'âge au diagnostic et le taux de $\beta 2$ microglobuline n'est observée. La médiane de survie sans événement (EFS) et la survie à 5 ans (OS) des pts porteurs de l'allèle SDF1A sont significativement plus courtes que celles des pts SDF1GG (EFS : 39.6 versus 85.2 mois ($p=0.03$) / OS : 72% versus 95% ($p=0.009$)). Cette valeur pronostique est indépendante du stade de Binet. En conclusion, la présence de l'allèle SDF1A constitue un nouveau facteur pronostique péjoratif indépendant de la classification de Binet dans la LLC.

218

ONCOGÉNÉTIQUE

Passage : Samedi 31 janvier - Auditorium - 15h15

LES DÉSÉQUILIBRES CHROMOSOMIQUES DÉTECTÉS PAR HYBRIDATION GÉNOMIQUE COMPARATIVE (CGH) SONT DES MARQUEURS DE MALIGNITÉ PRÉCOCES DANS LES TUMEURS PHYLLODES DU SEIN

M. Laé (1), I. Huon (2), C. Dubois d'Enghien (2), P. Fréneaux (3), A. Vincent-Salomon (3), X. Sastre-Garau (3), J. Couturier (2)

(1) Department of Pathology, Memorial Sloan-Kettering Cancer Center, New-York, USA

(2) Service de Génétique Oncologique, Institut Curie, Paris

(3) Service de Pathologie, Institut Curie, Paris

Les tumeurs phyllodes sont des tumeurs fibro-épithéliales rares du sein. Leur composant épithélial est bénin, mais, en fonction de l'histologie de leur composant stromal, elles sont classées comme bénignes, intermédiaires, et malignes. Toutefois, les critères sur lesquels doit être basée cette classification et sa signification pronostique restent controversés. Nous avons recherché si la CGH permettait d'identifier des déséquilibres chromosomiques pouvant être une aide au diagnostic de malignité.

Une série de 28 tumeurs a été analysée (8 bénignes, 11 intermédiaires, et 9 malignes). Des déséquilibres récurrents ont été observés dans 4/8 tumeurs bénignes, 10/11 intermédiaires, et 9/9 malignes. Les anomalies les plus fréquentes sont le gain de 1q (11/28) et de 5p (8/28), la perte de 13q (8/28), de 6q (8/28) et de 10p (7/28). La région minimum de perte du 13q est q14.2, suggérant que le gène RB pourrait être la cible des délétions. Des amplifications ont été observées dans deux cas, en 8q24, et en 7q11 et 12q14. La FISH avec les sondes MYC et MDM2 confirme l'amplification de ces gènes dans le contingent stromal seulement.

Cette étude montre que les tumeurs intermédiaires et

malignes, caractérisées par les gains de 1q, ne peuvent être différenciées sur la base de leurs déséquilibres chromosomiques, et que des tumeurs classées comme bénignes comportent déjà des anomalies, en particulier la perte de 6q. Ceci suggère l'existence de deux types seulement de tumeurs phyllodes, bénignes et malignes. La perte de 13q14.2 et l'amplification de MDM2 apparentent les tumeurs malignes aux sarcomes.

267**ONCOGÉNÉTIQUE****Passage** : Samedi 31 janvier - Auditorium - 15h30**NEUROFIBROMATOSE DE TYPE 1 : IDENTIFICATION DE GÈNES IMPLIQUÉS DANS LA PHYSIOPATHOLOGIE DES NEUROFIBROMES PAR ANALYSE DU TRANSCRIPTOME**

P. Lévy (1), I. Bièche (1), K. Leroy (2), B. Parfait (1), J. Wechsler (2), I. Laurendeau (1), P. Wolkenstein (3), M. Vidaud (1), D. Vidaud (1)
 (1) Laboratoire de Génétique Moléculaire, EA3618, Faculté de Pharmacie - Université Paris 5
 (2) Laboratoire d'Anatomie Pathologique, Hôpital Henri Mondor, Créteil
 (3) Service de Dermatologie, Hôpital Henri Mondor, Créteil

Le neurofibrome (Nf) est une tumeur bénigne caractéristique de la neurofibromatose de type 1, maladie fréquente de transmission autosomique dominante. Le nombre, la taille et la localisation des neurofibromes varient d'un individu à l'autre et, dans environ 5% des cas, leur transformation maligne en neurofibrosarcome ou MPNSTs (Malignant Peripheral Nerve Sheath Tumors) met en jeu le pronostic vital des patients. Afin de mieux comprendre la physiopathologie des neurofibromes et d'identifier des marqueurs moléculaires susceptibles de prédire leur évolution en neurofibrosarcome, nous avons analysé par RT-PCR quantitative en temps réel le niveau d'expression de 349 gènes d'intérêt incluant des gènes contrôles et en particulier les gènes MKI67 (marqueur de prolifération), S100B (marqueur des cellules de Schwann) et TPSB (marqueur des mastocytes) dans une série de 14 neurofibromes plexiformes (NfP) dont 4 ayant évolué en MPNST comparativement à 22 neurofibromes cutanés (NfC).

Cette étude nous a permis d'identifier :

- 30 gènes significativement surexprimés dans les NfP comparativement aux NfC incluant des gènes codant des chimokines (IL8, GRO1, IL1b β , IL6, TNF, LIF), des gènes du complexe AP1 (FOS, FOSB, JUN et JUNB), des gènes de l'angiogénèse (MMP9, VEGFR3, COX2, ANGPT2, THBD) et de l'apoptose (TRAILR1 et TRAILR2), Aucun gène n'a montré de diminution d'expression significative.
- une signature moléculaire de 5 gènes (MMP9, VEGFR3, TRAILR2, SHH et GLI1) permettant de prédire l'évolution des neurofibromes plexiformes en MPNST. De façon intéressante, deux de ces gènes font partie de la voie de signalisation Sonic hedgehog.

198**ONCOGÉNÉTIQUE****Passage** : Samedi 31 janvier - Auditorium - 15h45**LA RECHERCHE DE RÉARRANGEMENTS GÉNOMIQUES DES GÈNES DE RÉPARATION DE L'ADN DOIT ÊTRE SYSTÉMATIQUEMENT INTÉGRÉE AU DIAGNOSTIC MOLÉCULAIRE DU SYNDROME HNPCC**

F. Di Fiore (1), F. Charbonnier (1), C. Martin (1), S. Frerot (1), S. Olschwang (2), Q. Wang (3), C. Boisson (2), M.P. Buisine (4), M.

Nilbert (5), A. Lindblom (6), T. Frebourg (1)

(1) Service de Génétique, CHU de Rouen et Inserm EMI 9906, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Rouen
 (2) INSERM U434 et Hôpital Saint Antoine, Paris
 (3) Unité d'Oncologie Moléculaire, Centre Léon Bérard, Lyon
 (4) Laboratoire de Biochimie et Biologie Moléculaire, CHU de Lille
 (5) Department of Oncology, University Hospital, Lund, Sweden
 (6) Department of Clinical Genetics, Karolinska Hospital, Stockholm, Sweden

Dans le syndrome HNPCC, les mutations ponctuelles des gènes MMR sont détectées dans 55 % des familles répondant aux critères d'Amsterdam (AMS+). L'analyse par QMPSF (Quantitative Multiplex PCR of Short Fluorescent Fragments) de familles AMS+, sans mutation détectable des gènes MSH2 et MLH1, nous avait permis d'identifier un réarrangement génomique de MSH2 dans 20% des cas. Nous avons intégré la QMPSF au diagnostic de routine du syndrome HNPCC et analysé 332 familles (120 AMS+ et 212 AMS-) sans mutation ponctuelle détectable. Nous avons identifié dans 43 familles (27 AMS+ (22 %) et 16 AMS- (8 %)), 19 délétions exoniques distinctes et 2 cas de duplication de MSH2. Le scanning par QMPSF de 50 Kb de la région 5' UTR a révélé 7 points de cassure et indiqué que les mêmes délétions exoniques résultaient d'évènements mutationnels différents. L'analyse de MLH1 par QMPSF dans 192 familles (86 AMS+ et 106 AMS-), a détecté dans 6 familles AMS+ (7 %) et 3 familles AMS- (3%), 7 délétions exoniques de MLH1. Nous avons constaté que l'extinction sélective d'une protéine MMR dans la tumeur était hautement prédictive du gène altéré. Nous concluons que les réarrangements de MSH2 sont remarquablement hétérogènes et retrouvés dans au moins 10% des familles AMS+, ce qui justifie d'inclure leur recherche dans le diagnostic du syndrome HNPCC. Si les réarrangements de MLH1 sont plus rares, il convient de les rechercher dans les familles AMS+, dès lors que le marquage immunohistochimique de la tumeur a révélé une extinction sélective de MLH1.

66**CONSEIL GÉNÉTIQUE ET PROBLÈMES ÉTHIQUES****Passage** : Samedi 31 janvier - Salle OSNABRÜCK - 14h00**IMPACT DE L'INFORMATION SUR LES COMPORTEMENTS DES UTILISATEURS DANS LE DOMAINE DES SERVICES SPÉCIALISÉS DANS LES MALADIES RARES**

H. Nabarette, D. Oziel, B. Urbero, S. Ayme
 INSERM SC11, Paris

Une étude d'impact de l'information mise en ligne sur Orphanet, serveur dédié aux maladies rares, a été effectuée à partir de 2 enquêtes : Une enquête en ligne menée au cours du mois de septembre 2002, auprès de 1 038 utilisateurs du site et une enquête par questionnaire envoyé à tous les experts dont l'activité de consultation (677) ou de laboratoire clinique (304) est référencée sur le site. L'enquête en ligne a permis de déterminer que les 2000 utilisateurs français quotidiens du site se répartissent en 40,3% de professionnels de santé, 45,2% de malades et leur famille et 14,5% d'autres utilisateurs. Le tiers des professionnels de santé sont des utilisateurs réguliers. Plus l'utilisateur est expert, plus l'utilisation du serveur est fréquente. L'enquête par questionnaire a tenté d'apprécier l'impact perçu par les professionnels sur leur recrutement de patients. Les médecins en charge d'une consultation spécialisée sont 9,3% à penser qu'Orphanet a un impact

significatif sur leur recrutement, 46,2% à penser que non et 44,4% à ne pas savoir. Si l'on exclut les consultations de conseil génétique pour ne garder que les consultations spécialisées, 19,1% des cliniciens jugent qu'Orphanet a un impact significatif sur leur recrutement. En ce qui concerne les laboratoires, 29% des biologistes attribuent un rôle significatif à Orphanet (37,5% pour les tests concernant des maladies très rares) Ces résultats soulignent l'influence qu'a aujourd'hui l'information sur Internet sur le comportement des acteurs dans le système de santé et offre des perspectives pour une rationalisation de l'utilisation de l'offre de soin.

187

CONSEIL GÉNÉTIQUE ET PROBLÈMES ÉTHIQUES

Passage : Samedi 31 janvier - Salle OSNABRÜCK - 14h20

ÉTAT DES LIEUX DU DIAGNOSTIC MOLÉCULAIRE DE LA DYSTROPHIE FACIO-SCAPULO-HUMÉRALE. A PROPOS DE L'EXPÉRIENCE DU LABORATOIRE DU DÉPARTEMENT DE GÉNÉTIQUE MÉDICALE DE MARSEILLE

P. Malzac (1), C. Paquentin (1), J. Pouget (2), S. Attarian (2), MA. Voelckel (1)

(1) Département de Génétique Médicale, CHU Timone, Marseille

(2) Service de Neurologie, CHU Timone, Marseille

La FSHD est une pathologie musculaire d'évolution progressive, d'origine génétique, à transmission autosomique dominante. Depuis environ 10 ans, il est possible de proposer aux patients souffrant de cette affection, ou à leurs apparentés, un test génétique d'aide au diagnostic. L'anomalie moléculaire recherchée est une délétion dans une région constituée d'unités répétées en tandem, au niveau de la région subtélomérique du chromosome 4. La présence d'un fragment constitué d'un nombre inférieur ou égal à 10 unités répétées peut être reliée à un diagnostic de FSHD.

Nous présentons le bilan des analyses réalisées pour FSHD, depuis février 1995, au laboratoire de Biologie Moléculaire du Département de Génétique Médicale de Marseille. A ce jour, 381 patients ont fait l'objet d'une demande d'analyse moléculaire. Après avoir décrit les caractéristiques du groupe de patients étudiés (âge, sexe, indication, qualité du prescripteur, données généalogiques, données cliniques), nous détaillerons les résultats obtenus. Nous montrerons, à propos d'exemples, les difficultés d'interprétation rencontrées, dans des situations d'aide au diagnostic, de conseil génétique, de diagnostic présymptomatique et même de demande de diagnostic prénatal. Nous décrirons les solutions qui peuvent, parfois, être apportées. Enfin, nous plaiderons pour une plus grande collaboration entre cliniciens, généticiens et biologistes dans le but d'améliorer les conditions d'utilisation de ce test génétique.

212

CONSEIL GÉNÉTIQUE ET PROBLÈMES ÉTHIQUES

Passage : Samedi 31 janvier - Salle OSNABRÜCK - 14h40

LE GÉNÉTIICIEN FACE AU DIAGNOSTIC MOLÉCULAIRE DE ROUTINE DANS LES MALADIES OSSEUSES CONSTITUTIONNELLES

M. Le Merrer

INSERM U393 et département de Génétique, Hôpital Necker Enfants-Malades, Paris

Ces dernières années des progrès considérables ont été faits dans l'identification des gènes responsables des maladies osseuses constitutionnelles. Ces affections pourvoyeuses d'handicaps physiques plus ou moins sévères en particulier de nanisme ou de petite taille, de déformations et d'arthroses précoce et invalidantes. Ces affections sont extrêmement polymorphes et se regroupent dans des spectres de gravité variable.

Le généticien est conduit à proposer un diagnostic moléculaire dans plusieurs situations : 1- confirmer son diagnostic et préciser le pronostic, 2- donner un conseil génétique précis tant l'hétérogénéité génétique est grande dans certaines de ces affections, 3- mettre en œuvre un diagnostic prénatal... Il est cependant confronté aux limites de ces études moléculaires liées aux difficultés techniques (grands gènes, séquençage difficile, hétérogénéité génétique, absence de laboratoire intéressé) et au coût financier qu'elles représentent. La demande des patients est pourtant forte car elle concerne des anomalies morphologiques de moins en moins bien supportées sur le plan social.

A partir d'exemples, l'attention des généticiens cliniciens est attirée sur l'utilisation qui sera faite des résultats escomptés et sur la nécessité de bien peser les indications. Il apparaît que dans bien des cas, une analyse clinique de qualité peut répondre aux questions posées par les patients. Une gestion rigoureuse des indications de l'étude moléculaire de routine est nécessaire à une diffusion appropriée des examens utiles

465

CONSEIL GÉNÉTIQUE ET PROBLÈMES ÉTHIQUES

Passage : Samedi 31 janvier - Salle OSNABRÜCK - 15h00

INTÉRÊT DE L'ACCOMPAGNEMENT PSYCHOLOGIQUE DANS LE SYNDROME HNPCC ET LA POLYPOSE ADÉNOMATEUSE FAMILIALE : L'EXPÉRIENCE DU SERVICE DE GÉNÉTIQUE DU CHU DE ROUEN

A. Hédouin, M. Frey, J. Mauillon, T. Frebourg

Service de Génétique, CHU de Rouen

Dans le syndrome HNPCC et la polypose adénomateuse familiale, la recherche chez les apparentés asymptomatiques de la mutation identifiée chez le cas index, permet de rationaliser la surveillance coloscopique chez les porteurs et de dispenser les non porteurs d'une surveillance inappropriée. Afin que ce bénéfice médical ne soit pas neutralisé par l'impact psychologique du résultat, nous avons mis en place la procédure suivante : (1) Consultation d'information, effectuée le plus souvent en binôme, généticien / psychologue, permettant le repérage de l'anxiété et la verbalisation des inquiétudes. (2) Entretien avec le psychologue, après un délai de réflexion. Ce délai, d'environ 1 mois, est imposé au sujet désirant connaître son statut génétique pour éviter une demande de dépistage qui serait un passage à l'acte motivé uniquement par l'anxiété. Cet entretien a pour but d'évaluer les motivations du consultant, de détecter une éventuelle fragilité psychologique ou de prévoir des réactions inadaptées. Il s'agit de permettre une véritable élaboration de la demande délogée de l'urgence. (3) Consultation avec le généticien en vue des prélèvements. (4) Rendu du résultat, environ 1 mois après les prélèvements, par le généticien en présence du psychologue. (5) Consultation(s) avec le psychologue, à distance, quelque soit le résultat. Actuellement, environ 100 apparentés ont bénéficié de cette procédure. Cette

procédure permet de distinguer ce qui relève d'une attitude adaptée à la situation de test d'une attitude singulière, témoignant d'une souffrance psychologique ancienne, d'aborder la culpabilité intrinsèque aux maladies génétiques et les modalités de la transmission de l'information en particulier aux enfants.

502

CONSEIL GÉNÉTIQUE ET PROBLÈMES ÉTHIQUES

Passage : Samedi 31 janvier - Salle OSNABRÜCK - 15h20

IMPACT PSYCHOLOGIQUE DU DÉPISTAGE NÉONATAL DE LA MUCOVISCIDOSE SUR LES PARENTS D'ENFANTS INDEMNES DE LA MALADIE

S. de Rothschild (1), A. Munnich (1), MN. Feuillet- Fieux (2), T. Nguyen-Khoa (2), JL. Pérignon (3), P. Canoui (4), G. Lenoir (5), P. Scheinmann (5), I. Sermet (5), M. Le Bourgeois (5), V. Marchac (5), P. Sinet (5)

(1) Service de Génétique

(2) Laboratoire de Biochimie A

(3) Laboratoire de Biochimie B

(4) Service de Pédiopsychiatrie

(5) Cliniciens du CRCM

Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris

Le dépistage néonatal de la mucoviscidose est en place depuis Septembre 2002.

En un an, 66 enfants dépistés ont subi un test de la sueur qui a révélé 8 atteints. Pour les autres enfants, 39 n'ont aucune mutation, et 19 sont hétérozygotes.

Nous disposons à ce jour d'une observation, pour 22 parents des 58 enfants non atteints.

Une lettre leur a été adressée expliquant l'objet de l'enquête, 6 mois après le dépistage, suivie d'un appel téléphonique, afin de fixer les modalités de l'entretien selon les disponibilités du couple, au téléphone (50%), ou en consultation (50%).

L'enquête se présente sous forme d'un questionnaire, revenant sur les modalités de l'information relative au dépistage à la maternité, les conditions de la convocation pour les tests de contrôle (test de la sueur et consultation médicale).

Il ressort de cette enquête que la majorité des couples sont très angoissés. Quatre couples souhaiteraient une meilleure information sur le dépistage, à la maternité. La lettre à J21, les convoquant pour effectuer un nouveau prélèvement de sang, est particulièrement incriminée. Presque tous les parents auraient souhaité être davantage rassurés au téléphone.

Le dépistage néonatal de la mucoviscidose est vécu de façon très angoissante par les parents, d'autant qu'en absence de mutation retrouvée, ils vivent deux étapes avant d'être reçus. (la lettre à J21 et l'appel).

Comme un enfant sur 10 000, seulement, est atteint de mucoviscidose en Ile de France, il nous semble urgent de nous interroger sur les moyens de réduire le stress infligé aux parents, confrontés au dépistage de la mucoviscidose.

520

CONSEIL GÉNÉTIQUE ET PROBLÈMES ÉTHIQUES

Passage : Samedi 31 janvier - Salle OSNABRÜCK - 15h40

LES PROBLÈMES ÉTHIQUES PROVOQUÉS PAR LES CONDITIONS DE PRESTATION DES SERVICES DE GÉNÉTIQUE MÉDICALE AU QUÉBEC : UNE PERSPECTIVE ANTHROPOLOGIQUE

C. Bouffard

Centre de recherche en droit public, Université de Montréal

Les problèmes concernant la protection des personnes participant à des projets de recherche en génétique ont suscité beaucoup d'intérêt en bioéthique. Cependant, au Québec, une fois la technologie transférée en clinique, peu de stratégies éthiques sont mises en oeuvre pour encadrer les pratiques de génétique médicale. Des tendances à institutionnaliser le déséquilibre entre les sommes d'argent investies en recherche et en clinique et à considérer que les normes déontologiques garantissent une pratique médicale éthique contribuent à perpétuer ce paradoxe. Dans ce contexte, la finalité des principes éthiques et des valeurs morales visant à protéger la personne contre les dérives de la génétique est questionnable.

Par conséquent, je me suis demandée si les mesures éthiques actuelles étaient suffisantes pour permettre d'assurer : le respect des personnes - de les rendre apte à prendre les décisions les plus éclairées possible - de minimiser l'induction d'événements causant plus de souffrances que de bienfaits dans des situations déjà dramatiques.

Après six ans d'études ethnographiques sur le terrain de la génétique médicale québécoise, je présente des résultats qui tendent à démontrer que : le manque de ressources humaines, le manque de ressources financières et l'insuffisance des connaissances et de la formation sont les facteurs les plus susceptibles de provoquer des conditions de prestation des services propices aux manquements éthiques. Entre autres, nous verrons pourquoi les principes liés au respect de la personne comme : la non-malfaisance et la bienfaisance, l'autonomie, ainsi que la justice et l'équité sont particulièrement difficiles à respecter dans un tel environnement.

125

GÉNÉTIQUE CHROMOSOMIQUE

Passage : Samedi 31 janvier - Salle HAARLEM - 14h00

CARACTÉRISATION MOLÉCULAIRE ET CORRÉLATION GÉNOTYPE-PHÉNOTYPE DE LA DÉLÉTION SUBTÉLOMÉRIQUE 22Q13.3 CHEZ ONZE PATIENTS

C. Dupont (1), E. Pipiras (1), P. Bitoun (2), D. Heron (3), C. Baumann (4), H. Moïrot (5), JM. Pinard (6), JP. Siffroi (7), JP. Wolf (1), B. Benzacken (1)

(1) Service d'Histologie Embryologie Cytogénétique et Biologie de la Reproduction, Hôpital Jean Verdier, Bondy

(2) Service de Pédiatrie Hôpital Jean Verdier, Bondy

(3) Département de Génétique Cytogénétique Embryologie, Hôpital La Pitié Salpêtrière, Paris

(4) Service de Pédiatrie Néonatalogie, Hôpital Robert Debré, Paris

(5) Laboratoire de Cytogénétique, Hôpital Charles Nicolle, Rouen

(6) Service de Pédiatrie Réanimation et Neuropédiatrie, Hôpital Raymond Poincaré, Garches

(7) Service d'Histologie Embryologie Biologie de la Reproduction et Cytogénétique, Hôpital Tenon, Paris

Parmi les anomalies subtélomériques impliquées dans le retard mental, la délétion 22q13.3 est très fréquente et associe : retard mental, absence de langage, hypotonie et dysmorphie mineure. Au laboratoire, 11 patients appartenant à 7 familles différentes ont présenté un remaniement impliquant la région 22q13.3. Le gène candidat ProSAP2 était délété chez nos patients car les sondes subtélomériques commerciales ayant fait le diagnostic initial couvraient, au moins en partie, ce gène. Le principal objectif de ce travail a été de localiser

précisément le point de cassure dans ces 7 familles grâce à un contig de BACs/PACs chevauchant de la région. Grâce à l'analyse, en parallèle, des signes cliniques de ces enfants, nous avons pu établir une corrélation génotype-phénotype en fonction de la taille du fragment délété.

La taille des délétions que nous avons caractérisée s'étendait de 5,27 Mb pour la plus grande à 170 kb pour la plus petite. Lors de la corrélation génotype-phénotype, nous avons identifié une région candidate de 1 Mb pour un symptôme présent uniquement dans les grandes délétions : une croissance accélérée ou sub-normale.

Nos données ont confirmé l'implication du gène ProSAP2 dans le retard mental. Il serait intéressant, par la suite, de rechercher des mutations de ce gène chez des enfants présentant le phénotype de la délétion mais sans microdélétion visible en FISH. Les perspectives de ce travail sont, de corrélater nos résultats sur une plus grande série de patients porteurs d'une délétion 22q13.3 afin de délimiter une région candidate plus petite.

178

GÉNÉTIQUE CHROMOSOMIQUE

Passage : Samedi 31 janvier - Salle HAARLEM - 14h15

MICRODÉLÉTION 20Q13.3 : UN NOUVEAU SYNDROME IDENTIFIABLE ?

D. Geneviève, D. Sanlaville, P. Gosset, L. Faivre, M. Prieur, C. Estrade, M. Picq, C. Ozilou, V. Cormier-Daire, A. Munnich, M. Vekemans, O. Raoul

Département de Génétique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris

Les délétions intercalaires du bras long du chromosome 20 sont rares puisque seulement 6 cas ont été décrits dans la littérature. Nous rapportons ici 2 patientes présentant un retard de croissance pré et post natal sévère avec microcéphalie, difficultés alimentaires majeures nécessitant une nutrition par sonde nasogastrique, dysmorphie faciale similaire incluant un front haut et bombant, une énophtalmie, une racine du nez large et saillante, des oreilles décollées, un philtrum court projeté en avant, une pâleur cutanéomuqueuse ainsi que des phanères et un retard psychomoteur. Les caryotypes standards de ces enfants ont été interprétés comme normaux. En revanche les caryotypes en haute résolution ont permis de mettre en évidence une délétion 20q13.3 confirmée par FISH. Les deux délétions sont intercalaires et ne peuvent être détectées par les sondes subtélomériques classiquement utilisées. Ces délétions sont estimées à environs 4 à 5 Mb et emportent entre autre le complexe de gènes GNAS, locus soumis à empreinte parentale. Chez une des patientes, l'origine de la délétion est paternelle, mais l'étude en biologie moléculaire était non informative pour l'autre enfant. Le phénotype observé chez nos 2 patientes est discuté selon les gènes impliqués dans la délétion notamment le locus GNAS.

179

GÉNÉTIQUE CHROMOSOMIQUE

Passage : Samedi 31 janvier - Salle HAARLEM - 14h30

HÉTÉROGÉNÉITÉ DU SYNDROME D'HERMANSKY-PUDLAK (HPS) : IDENTIFICATION D'UN NOUVEAU GÈNE CANDIDAT

S. Geffroy (1), S. Defoort-Dhellemmes (2), O. Boute (3), B. de Martinville (1,4)

(1) Laboratoire de Génétique Médicale

(2) Service d'Explorations Fonctionnelles de la Vision

(3) Service de Génétique Clinique, CRHU, Lille

(4) Faculté de Médecine, Université de Lille II, Lille

Le syndrome HPS est une affection génétique rare de transmission autosomique récessive, caractérisée cliniquement, par un albinisme oculo-cutané associé à une tendance hémorragique par thrombopathie, et un syndrome de surcharge par accumulation de matériel ceroïde pouvant conduire à une fibrose pulmonaire progressive. Ce syndrome est maintenant considéré comme une pathologie liée à un dysfonctionnement d'au moins trois organelles provenant de l'appareil de Golgi, les mélanosomes, les granules plaquettaires denses et les lysosomes. Le syndrome HPS est génétiquement très hétérogène, puisque au moins sept gènes ont été identifiés à ce jour. Nous avons étudié un patient présentant une forme familiale de retard mental avec microcéphalie, qui était également suivi pour un albinisme essentiellement oculaire associé à des manifestations hémorragiques, dues à un syndrome d'Hermansky-Pudlak, de nature sporadique. L'analyse cytogénétique a mis en évidence l'existence d'un remaniement chromosomique complexe (RCC) familial, entre les chromosomes 3, 10 et 11, avec des points de cassures localisés, approximativement, dans les régions contenant les gènes HPS1, HPS3 et HPS6. L'analyse des remaniements avec 116 BACs ordonnés (Wellcome Trust Sanger Institute) a permis d'identifier un gène connu DDX10 et quatre gènes « prédits » interrompus par le RCC. L'exclusion systématique des gènes HPS1, HPS3, HPS6 et SORCS1 situés à proximité des points de cassure, et l'étude des groupes de synténies Homme-Souris dans ces régions, nous permettent de postuler l'existence d'un huitième gène HPS chez l'homme dans la région 10q25.1 et qui ne correspond actuellement à aucun gène connu. La caractérisation de ce gène est en cours d'étude.

185

GÉNÉTIQUE CHROMOSOMIQUE

Passage : Samedi 31 janvier - Salle HAARLEM - 14h45

APPLICATION DE LA CGH SUR PUCES À ADN POUR L'IDENTIFICATION DE DÉSÉQUILIBRES CHROMOSOMIQUES SUBTILS CHEZ LES PATIENTS ATTEINTS DE RETARDS MENTAUX SYNDROMIQUES.

R. Redon (1), H. Fiegler (1), L. Colleaux (2), N. Carter (1)

(1) The Wellcome Trust Sanger Institute, Hinxton, Cambridge, UK

(2) INSERM U393, Hôpital Necker - Enfants Malades, Paris

Les déséquilibres chromosomiques constitutionnels sont fréquemment associés à des phénotypes complexes, résultant de la délétion ou de la duplication de plusieurs gènes consécutifs. Les techniques exploratoires disponibles actuellement, comme le caryotype en bandes et l'hybridation génomique comparative (CGH) sur chromosomes, ne sont pas suffisamment sensibles pour détecter les réarrangements impliquant des segments de taille inférieure à 5-10 Mb. La méthode d'hybridation génomique comparative sur puces à ADN (CGH array), développée récemment, permet un criblage à haute résolution de ces anomalies quantitatives subtiles, par co-hybridation d'un ADN à tester et d'un ADN contrôle marqué distinctement sur des clones génomiques préalablement déposés sur lame de verre. Pour tester la sensibilité de cette technique, nous avons débuté une étude pilote en utilisant des puces composées de 3523 clones (BAC ou PAC,

longueur: 80-240 kb). Ces puces couvrent l'ensemble du génome avec une résolution moyenne de 1 clone par mégabase. 100 patients présentant un retard mental syndromique sans étiologie connue ont été inclus dans cette étude. 20 patients ont déjà été analysés et 5 remaniements dont les tailles varient entre 0,7 et 7 Mb ont pu être identifiés. Les résultats obtenus à ce jour démontrent donc d'ors et déjà l'efficacité et la fiabilité de cette approche pour détecter micro-délétions et micro-duplications et suggèrent que cette application devrait rapidement prendre une place de première importance pour le diagnostic clinique et la prévention de pathologies complexes associées ou non à un retard mental.

269

GÉNÉTIQUE CHROMOSOMIQUE

Passage : Samedi 31 janvier - Salle HAARLEM - 15h00

DÉLÉTION 3P25.3 : ANALYSE CLINIQUE, CYTOGÉNÉTIQUE ET MOLÉCULAIRE DE TROIS CAS.

B. Laudier (1), A. Moncla (2), G. Viot (3), S. Girard (4), S. Briault (1), C. Moraine (1)

(1) Service de Génétique, CHU Bretonneau, Tours

(2) Département de Génétique Médicale, Hôpital La Timone, Marseille

(3) Consultation de conseil génétique, Hôpital Cochin, Paris

(4) Laboratoire d'histologie embryologie cytogénétique et anatomie pathologique, Hôpital Saint Vincent de Paul, Paris

A notre connaissance, 35 observations de délétion terminale du bras court du chromosome 3 ont été rapportées. Les principaux signes cliniques de ce « syndrome 3pter » sont un retard du développement psychomoteur, une microcéphalie et un retard de croissance pré et postnatal. La dysmorphie faciale, évocatrice, comprend un visage triangulaire, un occiput plat, un blépharophimosis ou des fentes palpébrales étroites, un ptosis, un hypertélorisme, un nez large ou proéminent, un philtrum long, une micrognathie et des pavillons auriculaires malformés et bas implantés. Une polydactylie post-axiale est présente dans 50% des cas rapportés et une cryptorchie ou un hypogénitalisme masculin dans 65% des patients masculins. Une étude moléculaire n'a été réalisée que chez 16 patients de la littérature : tous les points de cassure rapportés semblent distincts mais sont situés dans la bande 3p25.

Pour tenter de corrélérer l'expression phénotypique à la taille du territoire délété, nous avons mené une étude clino-biologique chez trois patients qui présentent une délétion terminale du bras court d'un chromosome 3. Nous rapportons les résultats obtenus.

354

GÉNÉTIQUE CHROMOSOMIQUE

Passage : Samedi 31 janvier - Salle HAARLEM - 15h15

MISE AU POINT ET ÉVALUATION DE LA TECHNIQUE D'HYBRIDATION GÉNOMIQUE COMPARATIVE SUR PUCES À ADN POUR LA RECHERCHE DE REMANIEMENTS CHROMOSOMIQUES

A. Moncla (1), C. Missirian (1), M. Till (2), N. Philip (1)

(1) Département de Génétique, CHU Timone-Enfants, Marseille

(2) Service de génétique, Hôpital Debrousse, Lyon

Le développement très récent de l'Hybridation Génomique Comparative (CGH) sur puce à ADN permet d'envisager une exploration simultanée et globale du génome humain

avec une résolution de 1 mégabases (Mb) ce qui représente l'avancée la plus significative si l'on compare au niveau de résolution des techniques actuelles de cytogénétique qui est au mieux de 5 Mb pour la recherche de remaniements chromosomiques inframicroscopiques.

Nous avons mis au point la technique de CGH sur une puce à ADN génomique de première génération d'une résolution de 2-4 Mb. Nous avons testé la sensibilité de cette technique en choisissant un échantillon représentatif d'anomalies chromosomiques bien caractérisées. Nous présenterons les aspects techniques et en particulier les difficultés de reproductibilité de cette technique. Cependant, l'efficacité de cette puce a pu être prouvée puisque toutes les anomalies ont été identifiées. De plus, dans un cas, cette analyse a permis de montrer que l'anomalie présente chez le patient était en réalité plus complexe.

Nous présenterons également les résultats de l'étude de 10 patients présentant un syndrome cliniquement connu ou un retard mental inexplicé avec une puce d'ADN d'une résolution de 1 Mb. Ces résultats montrent la puissance de cette analyse pour l'identification la caractérisation, dans un même temps, du type et de la taille des remaniements mais également soulignent la difficulté d'interprétation des résultats compte tenu des polymorphismes du génome humain.

Cette technique va probablement modifier notre pratique médicale mais le caryotype restera nécessaire car seul examen permettant une analyse de la morphologie des chromosomes.

397

GÉNÉTIQUE CHROMOSOMIQUE

Passage : Samedi 31 janvier - Salle HAARLEM - 15h30

TRANSMISSION DÉSÉQUILIBRÉE D'UNE INVERSION PÉRICENTRIQUE DU CHROMOSOME 9 PAR CROSSING-OVER EN U CHEZ UN ENFANT AUTISTE

M. Doco-Fenzy (1), M. Mozelle-Nivoix (1), J. Albuissou (2), N. Collot (2), F. Dastot-le Moal (2), J. Martin (2), N. Gruson (1), N. Michel (1), D. Gaillard (1), M. Goossens (2)

(1) Service de Génétique, CHU, Reims

(2) INSERM U468, Service de Biochimie Génétique, CHU Henri Mondor, Créteil

Les inversions péricentriques de l'hétérochromatine du chromosome 9 sont fréquentes et souvent considérées comme des variants.

Nous rapportons le cas d'un enfant de 14 ans présentant une petite taille, une dysmorphie, une constipation chronique, et un autisme caractérisé par des troubles du comportement majeurs avec automutilation. Son retard psychomoteur n'a pu être évalué car il s'exprime uniquement par des grognements (bande vidéo disponible). Le caryotype en prométaphase a révélé une anomalie complexe du chromosome 9. Sa mère et son grand-père sont porteurs d'une inversion péricentrique du 9 : inv(9)(p13.1;q21.1). L'inversion péricentrique s'est transmise ici chez l'enfant sur un mode déséquilibré inhabituel et différent du dérivé classiquement décrit avec duplication-déficiences de segments distaux. L'enfant a hérité d'un dérivé 9 composé du bras p du 9 inversé et d'un bras q de 9 normal. Sa formation s'explique par l'hypothèse d'un crossing-over au sein de la boucle d'inversion à proximité du centromère puis réunion en U des deux chromatides sœurs.

Cette formation en U a été antérieurement décrite dans

une inversion paracentrique du 8. Nous avons défini les points de cassure de l'inversion par la FISH et nous avons vérifié notre hypothèse par l'analyse des marqueurs microsatellites du chromosome 9. Ainsi le bras p du dérivé est d'origine grand-paternel et le bras q est d'origine grand-maternel par crossing-over entre le bras p et le bras q. L'enfant a donc une délétion pour la bande proximale 9p11p13.1 et une duplication pour la bande incluant l'hétérochromatine p11.1q21.1 associées à une forme d'autisme avec automutilation.

486

GÉNÉTIQUE CHROMOSOMIQUE

Passage : Samedi 31 janvier - Salle HAARLEM - 15h45

TÉTTRASOMIE 15Q25-QTER INSTABLE ET PHÉNOTYPE ANORMAL

C. Schluth (1), M.G. Mattei (2), C. Mignon-Ravix (2), Y. Alembik (3), S. Salman (4), E. Ginglinger (1), J. Willig (1), E. Jeandidier (1)
(1) Laboratoire de Génétique - Mulhouse
(2) INSERM U 491 - Marseille
(3) Service de Génétique Médicale - Strasbourg
(4) Fondation Sonnenhof - Bischwiller

Un patient porteur d'un chromosome 15q+ diagnostiqué en période néonatale, a été réévalué sur le plan clinique et cytogénétique à l'âge de 23 ans.

Le phénotype associe un retard mental profond, une dysmorphie faciale, une arachnodactylie, une scoliose, une maigreur et un néphroblastome traité à 6 ans.

Le caryotype identifie un large fragment de chromosome 15 en excès dans la grande majorité des cellules. Dans 68% des cellules, ce fragment est localisé à l'extrémité du bras long d'un chromosome 15, suggérant une duplication chromosomique. Dans 7% des cellules, il apparaît sur le bras court d'un chromosome 3, évoquant une translocation "sauteuse". 25% des cellules présentent une formule chromosomique normale.

L'hybridation *in situ* de sondes spécifiques du chromosome 15 suggère une organisation complexe de ce fragment, de type duplication inversée. Le caryotype est alors interprété comme une tétrasomie 15q25-15qter en mosaïque.

Les tétrasomies 15q distales sont des anomalies rares. Seules 7 observations sont décrites dans la littérature, qui toutes résultent de la présence d'un chromosome surnuméraire analphoïde contenant une duplication inversée.

Cette observation est originale à double titre:

- 1) La duplication inversée 15q, bien qu'apparemment instable, n'est jamais retrouvée sous forme de chromosome surnuméraire. Une étude plus poussée devrait permettre de mieux comprendre les mécanismes mis en cause.
- 2) A notre connaissance, il s'agit du patient avec tétrasomie 15q distale le plus âgé décrit dans la littérature, ce qui contribuerait à établir le phénotype évolutif lié à cette anomalie.

318

FŒTOPATHOLOGIE ET DIAGNOSTIC PRÉNATAL (SESSION PLENIERE)

Passage : Dimanche 1er février - Auditorium - 08h30

MALADIE DE SURCHARGE EN ACIDE SIALIQUE LIBRE À PRÉSENTATION ANTÉNATALE. ETUDE DE 11 CAS.

R. Froissart, S. Tourret, V. Bonnet, M. Fouillet, I. Maire
Laboratoire de Biochimie Pédiatrique, Hôpital Debrousse, Lyon

La maladie de surcharge en acide sialique libre est une maladie autosomique récessive rare, due au dysfonctionnement du transporteur membranaire lysosomal SLC17A5 assurant la sortie de l'acide sialique libre du lysosome. Le diagnostic biochimique repose sur la mise en évidence de l'excrétion accrue d'acide sialique libre dans les urines et de son augmentation dans les cellules cultivées.

Les présentations cliniques sont très hétérogènes. La forme infantile (ISSD) constitue la présentation la plus sévère, avec début néonatal (retard psychomoteur sévère, viscéromégalie avec ascite, dysmorphie, dysostose multiple) voire *in utero* avec ascite sévère (nécessitant souvent des ponctions répétées) associée ou non à une anasarque fœtoplacentaire.

Nous avons diagnostiqué 11 malades atteints d'ISSD : 7 cas à révélation anténatale et 4 cas à révélation néonatale. Pour les premiers, les signes d'appel échographiques ont été notés entre la 18^e et la 30^e semaine d'aménorrhée. L'examen fœtopathologique du fœtus a retrouvé une ascite, des oedèmes plus ou moins étendus, et en général une hépatomégalie, une dysmorphie et des anomalies osseuses. Parmi les 4 cas diagnostiqués après la naissance, il existait pour 3 d'entre eux des signes échographiques en anténatal qui auraient justifié la recherche de maladie de surcharge lysosomale.

L'étude du gène SLC17A5 a permis d'identifier le génotype de tous les patients. Douze altérations différentes, dont 5 nouvelles, ont été identifiées.

Contrairement à ce qui est observé en Finlande, la forme sévère (ISSD) est de loin la plus fréquente en France : nous n'avons diagnostiqué qu'un cas de maladie de Salla, mais 11 cas à révélation périnatale. L'identification des mutations facilite le diagnostic prénatal, qui est possible par mesure de l'acide sialique libre dans les villosités chorales en direct mais qui nécessite une quantité importante de matériel. Les pathologies lysosomales impliquant le métabolisme de l'acide sialique (sialidose, galactosialidose, ISSD) se caractérisent par la fréquence des présentations fœtales, suggérant une importance particulière du métabolisme de l'acide sialique au cours de la vie fœtale. (Ce travail a été possible grâce à la Société Française de fœtopathologie.)

469

GÉNÉTIQUE CLINIQUE (SESSION PLENIERE)

Passage : Dimanche 1er février - Auditorium - 08h45

EXPRESSION EMBRYONNAIRE DU GÈNE MID1 ET SPECTRE DES MUTATIONS DANS LE SYNDROME D'OPITZ.

L. Pinson (1), J. Augé (1), S. Audollent (1), G. Mattéi (1), H. Etchevers (1), N. Gigarel (1), F. Razavi (1), D. Lacombe (2), S. Odent (3), M. Le Merrer (1), J. Amiel (1), A. Munnich (1), G. Meroni (4), S. Lyonnet (1), M. Vekemans (1), T. Attié-Bitach (1)
(1) INSERM U393, Paris
(2) Service de Génétique Médicale, CHU, Bordeaux
(3) Service de Génétique Médicale, CHU, Rennes
(4) Telethon Institute of Genetics and Medicine, Naples, Italy

Le syndrome d'Opitz (OS, G/BBB syndrome, MIM145410 et MIM300 000) est un syndrome malformatif de la ligne médiane caractérisé par un hypertélorisme, un hypospadias et des anomalies oeso-laryngo-trachéales. Ce syndrome est génétiquement hétérogène avec une forme autosomique dominante localisée en 22q11.2 et une forme

récessive liée à l'X localisée en Xp22.3. Des mutations du gène MID1 qui appartient à la famille des protéines B-box, ont récemment été identifiées dans la forme récessive liée à l'X alors que le gène responsable de la forme dominante n'est pas connu.

Nous rapportons six mutations du gène MID1 sur une série de 14 patients présentant un syndrome d'Opitz : cinq sont identifiées dans des formes familiales et une dans un cas isolé. Ces mutations sont nouvelles excepté la mutation R495X déjà rapportée chez trois patients non apparentés. De manière intéressante, 4 des patients pour lesquels une mutation du gène MID1 est identifiée présentent une hypoplasie ou agénésie vermiennne. Notre série et la revue de la littérature montrent une association entre l'anomalie cérébelleuse et la mutation R495X.

Nous rapportons également le patron d'expression par hybridation *in situ* du gène MID1 au cours du développement humain précoce. L'expression de MID1 dans le cœur et dans le cervelet confirme que le spectre du syndrome d'Opitz s'étend aux malformations cardiaques septales et à l'hypoplasie/agénésie vermiennne. Enfin, dans notre cohorte, l'étude de l'inactivation de l'X chez les mères conductrices obligatoires ne montre pas de biais d'inactivation et ne permet donc pas d'orienter vers une hérédité liée au chromosome X.

210

GÉNÉTIQUE ÉPIDÉMIOLOGIQUE (SESSION PLENIERE)

Passage : Dimanche 1er février - Auditorium - 09h00

ANALYSE DES HAPLOTYPES ET ÂGE DES MUTATIONS: EXEMPLE DU SYNDROME TRIPLE-A

E. Génin (1), A. Tullio-Pelet (2), F. Begeot (2), S. Lyonnet (2), L. Abel (3)

(1) INSERM U535, Villejuif

(2) INSERM U393, Hôpital Necker, Paris

(3) INSERM U550, Université René Descartes, Paris

Lorsqu'une mutation impliquée dans une maladie est identifiée, on cherche souvent à la dater pour reconstituer son histoire et comprendre sa dispersion. Pour ce faire, on peut utiliser l'information apportée par des marqueurs génétiques situés autour de la mutation et comparer les haplotypes des malades. En effet, on s'attend à ce que les malades porteurs de la mutation partagent une région du génome autour de cette mutation. Cette région partagée sera d'autant plus petite que l'ancêtre commun qui a introduit la mutation dans la population est ancien. Nous avons développé une méthode du maximum de vraisemblance qui, à partir des données haplotypiques sur les malades, permet d'obtenir un estimateur de l'âge de l'ancêtre commun et un intervalle de confiance. Par simulation, nous avons étudié le comportement de cette méthode dans différentes situations (âge de la mutation, nombre de malades, densité de la carte, fréquences des allèles et taux de mutation aux marqueurs). Nous montrons que la méthode est efficace même à partir de petits échantillons de malades (N=5). Lorsque la mutation est ancienne et/ou les allèles des marqueurs sont fréquents, il est nécessaire de disposer de cartes très denses de marqueurs. Nous avons appliqué cette méthode sur des données concernant le syndrome du triple-A (Adrenal-insufficiency, Achalasia, Alacryma) dont le gène est localisé en 12q13. A partir de neuf patients originaires d'Afrique du Nord, nous avons pu estimer à 1000-1175 ans l'âge d'apparition de la mutation IVS14+1G/A.

38

GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE (SESSION PLENIERE)

Passage : Dimanche 1er février - Auditorium - 09h15

LE TRANSCRIPTOME DE L'ONCOCYTOME THYROÏDIEN RÉVÈLE UNE AUGMENTATION COORDONNÉE DE L'EXPRESSION DES GÈNES DU MÉTABOLISME OXYDATIF

O. Baris (1), F. Savagner (1), V. Nasser (2), B. Lorigod (3), S. Granjeaud (3), S. Guyetant (4), B. Franc (5), P. Rodien (1,6), V. Rohmer (1,6), F. Bertucci (2), D. Birnbaum (2), Y. Malthiery (1), R. Houlgatte (3), P. Reynier (1)

(1) INSERM EMI-U 0018, Laboratoire de Biochimie et Biologie Moléculaire, CHU, Angers

(2) Département d'Oncologie Moléculaire, Institut Paoli-Calmettes, U119 INSERM, Marseille

(3) Laboratoire TAGC/INSERM ERM 206, Parc scientifique de Luminy, Marseille

(4) Laboratoire d'Anatomie Pathologique, CHRU, Tours

(5) Laboratoire d'Anatomie Pathologique, Hôpital A. Paré, Boulogne

(6) Service d'Endocrinologie, Nutrition et Médecine Interne, CHU, Angers

Les oncocytomes sont des tumeurs constituées de grandes cellules éosinophiles caractérisées par une intense prolifération mitochondriale. Afin d'étudier ce phénomène, nous avons déterminé le profil d'expression de 87 échantillons à l'aide de microarrays contenant 6720 séquences d'ADNc : 29 oncocytomes thyroïdiens, ainsi que des échantillons provenant de diverses pathologies thyroïdiennes, de tumeurs riches en mitochondries, de tissu sain thyroïdien et de deux lignées cellulaires thyroïdiennes humaines.

Nos deux approches d'analyse (supervisée et non supervisée) ont permis d'identifier 2 clusters de gènes spécifiques de l'oncocytome thyroïdien et de dresser une liste de 163 gènes différentiellement régulés entre l'oncocytome et la thyroïde saine. L'expression différentielle de 5 gènes sélectionnés dans la liste (APOD, BCL-2, COX, CTSB, MAP2) a été confirmée au niveau protéique. Les 2 clusters spécifiques de l'oncocytome thyroïdien sont riches en gènes mitochondriaux et révèlent une coordination de l'expression des gènes de la chaîne respiratoire mitochondriale. Nous avons aussi observé une sur-expression de gènes impliqués dans la biogenèse mitochondriale (NRF1, NOS3, MRLP49). Plusieurs gènes codant pour des enzymes de la glycolyse (GAPD, GPI, ENO1) ou du cycle de Krebs (MDH1, SDH) sont sur-exprimés dans les oncocytomes alors que le gène codant pour la lactate déhydrogenase (LDHA), impliquée dans la glycolyse anaérobie, est sous exprimé dans ces tumeurs. Nos résultats montrent que les oncocytomes thyroïdiens présentent une augmentation coordonnée de l'expression de gènes du métabolisme oxydatif. Cela suggère que, contrairement à un grand nombre de tumeurs solides, les oncocytomes thyroïdiens tirent leur énergie principalement de la voie aérobie.

COMMUNICATIONS

NB : Vous trouverez dans cette seconde partie les textes des communications qui ne sont pas présentées oralement par leurs auteurs, classées par n° de soumission. Pour les textes retenus pour une communication affichée (POSTER), vous trouverez également son numéro d'affichage.

CONSEIL GÉNÉTIQUE ET PROBLÈMES ÉTHIQUES

108 >> Poster n°1

CONSEIL GÉNÉTIQUE ET PROBLÈMES ÉTHIQUES

TRANSMISSION PATERNELLE D'UNE FORME CONGÉNITALE DE MYOTONIE DE STEINERT, UN PIÈGE POUR LE CONSEIL GÉNÉTIQUE

F. Prieur (1), P. Chopard (2), M. Bost (3), R. Touraine (1)
 (1) Service de génétique, Hôpital Nord, CHU St Etienne
 (2) Service de pédiatrie, centre hospitalier Le Puy En Velay
 (3) Laboratoire de biochimie pédiatrique, unité de neurogénétique, Hôpital Debrousse, Hospices Civils, Lyon

Jacinthe est née le 11 décembre 2002, à l'issue d'une grossesse marquée par la notion d'un hydramnios de cause indéterminée. Elle a une sœur aînée en bonne santé. La mère est suivie pour hypothyroïdie, les parents de l'enfant ont chacun une myopie.

Jacinthe présente d'emblée une hypotonie néonatale majeure avec amimie, des pieds bots varus équins bilatéraux. L'alimentation nécessitera le recours à des gavages. Il n'y a pas de difficultés respiratoires.

Devant ce tableau, on évoque la possibilité d'une forme congénitale de myotonie de Steinert, malgré l'absence d'antécédent neuromusculaire connu dans la famille et l'absence de symptomatologie notamment chez la mère de l'enfant.

L'étude moléculaire confirme notre présomption clinique en objectivant chez l'enfant atteint une amplification pathologique de 3.3 Kb sur un allèle, soit environ 1100 répétitions CTG. Le résultat de l'étude en biologie moléculaire menée chez les deux parents nous surprend car elle révèle l'existence d'une amplification de 0.3 Kb, soit environ 100 répétitions sur l'un des allèles paternels, alors que l'étude maternelle montre deux allèles de taille normale.

L'amplification anormale s'est donc produite à partir de l'allèle paternel, prémuté. Cette situation est rare puisque seulement dix cas de transmission paternelle ont été rapportés dans la littérature, à ce jour. Cela représente un piège pour le conseil génétique, d'autant plus que la grande majorité des cas répertoriés proviennent de pères porteurs de petites amplifications, inférieures à 200 répétitions donc asymptomatiques. On ne peut donc pas toujours compter sur une histoire familiale évocatrice !

216 >> Poster n°2

CONSEIL GÉNÉTIQUE ET PROBLÈMES ÉTHIQUES

CALCULS DE RISQUE POUR LA MUCOVISCIDOSE. OUTILS INFORMATIQUES

H. Journel(1), M.P. Audrezet (2), V. Scottet(2), V. Moisan-Petit (1), C. Ferec (2)
 (1) Consultation de Génétique Médicale, CHBA, Vannes
 (2) Laboratoire Génétique Moléculaire, CRTS, CHU, Brest

Les diverses pratiques du conseil génétique dans la Mucoviscidose amènent à rendre des calculs de risque pour un individu ou pour un couple. Le généticien dispose pour cela d'au moins 4 paramètres : (1) le risque de la population d'origine (2) la parenté avec le sujet atteint (3) les résultats de l'analyse moléculaire du sujet atteint et (4) les résultats des tests pratiqués dans la famille, chez l'individu conseillé et ses plus proches parents.

En dehors du couple où les 2 conjoints sont porteurs d'une mutation, il faut calculer un risque résiduel.

Certains paramètres sont aisés à utiliser, comme la parenté. D'autres sont plus difficiles à connaître comme le risque de la population d'origine, les répartitions des mutations et la corrélation avec les kits du commerce.

Aussi la stratégie « en cascade » de dépistage des individus à risque comprend elle 2 calculs : (a) le calcul théorique - a priori - fait sur l'arbre généalogique, et (b) le calcul résiduel fait après les tests moléculaires.

Un algorithme de calcul, des tables donnant les risques selon les kits moléculaires utilisés et la population d'origine, et un outil informatique adapté (Access® ou Excel®, transposable sur page HTML) permet au clinicien de donner un calcul le plus précis possible.

Certaines circonstances particulières, comme la découverte d'une masse hyperéchogène pendant la grossesse et le dépistage néonatal, peuvent amener à une démarche similaire de calcul de risque résiduel, et l'utilisation d'algorithmes particuliers sur outils informatiques adaptés.

308 >> Poster n°3

CONSEIL GÉNÉTIQUE ET PROBLÈMES ÉTHIQUES

RÉFLEXION ÉTHIQUE ET ANALYSE DES PRATIQUES DANS LE CADRE DU DIAGNOSTIC PRÉNATAL

AC. Orsini (1), L. Despinoy (1), R. Bernard (2), S. Sigaudy (2), P. Malzac (2)

(1) CAMSP la Rose - Centre hospitalier spécialisé Edouard Toulouse, Marseille

(2) Département de Génétique Médicale, Hôpital d'enfants de la Timone, Marseille

Dans le cadre de la pratique de la consultation de génétique, et en articulation avec l'Espace Ethique Méditerranéen, nous avons mis en place depuis 2 ans un groupe de réflexion autour des enjeux éthiques et psychologiques du diagnostic prénatal (DPN). Ce travail, reposant sur l'étude de dossiers a posteriori, nous a amenés à reformuler certains principes qui restent selon nous les fondements d'une juste pratique du DPN : -La démarche de DPN s'inscrit dans le cadre d'un accès à la parentalité ; - Les angoissantes notions de risque et de doute sont centrales et ne peuvent être évitées ; - Toute décision prise dans ce contexte est singulière, partagée, et non urgente. A partir de ces principes, nous avons travaillé autour de la notion de cadre d'accueil pour la démarche de DPN, et réfléchi sur le dispositif actuellement mis en place. Nous avons ainsi constaté l'existence de certains points de discordance entre les principes énoncés et les réalités pratiques. Nous nous interrogeons sur l'existence de résistances tant du côté des médecins que de celui des couples. Ainsi la réflexion semble t-elle devoir

s'inscrire dans un cadre plus large, concernant en particulier la relation de notre société au handicap.

338 >> Poster n°4

CONSEIL GÉNÉTIQUE ET PROBLÈMES ÉTHIQUES

CONSÉQUENCES FAMILIALES DU DIAGNOSTIC D'ADRÉNOLEUCODYSTROPHIE CHEZ UNE CONDUCTRICE ISOLÉE

G. Lesca (1,2), P. Aubourg (3), M.T. Vanier (4), H. Plauchu (5), E. Ollagnon-Roman (1)

(1) Consultation de neurogénétique, Hôpital de la Croix-Rousse, Lyon

(2) Laboratoire de Génétique, Hôpital E. Herriot, Lyon

(3) Service d'endocrinologie pédiatrique, Hôpital Saint-Vincent de Paul, Paris

(4) Fondation Gillet-Mérieux, Centre Hospitalier Lyon-Sud, Lyon

(5) Service de Génétique, Hôtel-Dieu, Lyon

L'adrénoleucodystrophie liée à l'X (ALD) est la leucodystrophie la plus fréquente (1/17.000 garçons). Le phénotype varie chez le garçon de la forme infantile sévère à une atteinte surrénalienne isolée. La moitié des conductrices présentent des signes de myélopathie après 40 ans. Nous rapportons une famille dont le diagnostic est porté chez la proposante, âgée de 40 ans, sur une symptomatologie de paraparésie spastique et de troubles sphinctériens apparue dans les suites de son accouchement. Il n'existe aucun antécédent familial d'ALD. L'étude des AGTLC est réalisée chez son fils à 1 an afin de mettre en place une surveillance neurologique et endocrinologique adaptée. Le résultat montre qu'il est porteur. Une insuffisance surrénalienne est mise en évidence chez lui. Aucun facteur pronostique ne permet de prévoir la sévérité de l'atteinte neurologique qui débute rarement avant 4 à 5 ans. Une IRM cérébrale bi-annuelle sera proposée dès 3 ans. Une des sœurs de la proposante a deux garçons (6 et 7 ans) et l'autre deux filles (6 et 10 ans). Le dosage des AGTLC est normal chez les deux sœurs. Comme il peut être normal chez 15% des conductrices, le dosage est contrôlé chez les fils de la sœur aînée. Le frère de la proposante, âgé de 38 ans, présente un risque d'être atteint ultérieurement mais peut également être conducteur sain (10% des porteurs). Son dosage d'AGTLC est normal. L'étude familiale est élargie à la génération précédente. L'identification de la mutation familiale permettra un conseil génétique plus fiable et facilitera le diagnostic prénatal.

346 >> Poster n°5

CONSEIL GÉNÉTIQUE ET PROBLÈMES ÉTHIQUES

CONTRIBUTION DE L'ÉTUDE DE L'INACTIVATION DE L'X DANS LE RETARD MENTAL LIÉ À L'X

M.L. Jacquemont, V. Raclin, D. Genevieve, S. Lyonnet, J.P. Bonnefont, A. Munnich

Département de Génétique, Hôpital Necker-Enfants-Malades, Paris

Le retard mental lié à l'X est souvent évoqué chez les garçons présentant un retard psychomoteur. L'étude de l'inactivation de l'X peut parfois être un outil d'aide au conseil génétique lorsque le diagnostic précis n'est pas établi. Trente cinq mères de garçons présentant un retard de développement ont été incluses dans cette étude comprenant huit cas sporadiques et vingt-sept cas familiaux. Pour déterminer leur patron d'inactivation de l'X, nous avons utilisé une PCR-digestion au locus du récepteur

aux androgènes (AR) que nous avons comparée au produit de PCR non digéré. Un taux d'inactivation de 80% a été déterminé comme significatif d'un biais d'inactivation.

Vingt-cinq femmes (71%) avaient une inactivation au hasard (dont cinq cas familiaux), une (3%) n'était pas informative au locus AR, et neuf (26%), correspondant à 9 cas familiaux, avaient un biais d'inactivation. Cependant, nous avons observé une discordance entre trois mères conductrices obligatoires d'après l'histoire familiale présentant un biais d'inactivation et leurs apparentées également conductrices obligatoires mais sans biais d'inactivation.

En conclusion, l'étude de l'inactivation de l'X en vue d'un conseil génétique doit être utilisée avec précaution et devrait être réservée de préférence aux pathologies dominantes liées à l'X.

485 >> Poster n°6

CONSEIL GÉNÉTIQUE ET PROBLÈMES ÉTHIQUES

RECHERCHE DE CORRÉLATIONS GÉNOTYPE-PHÉNOTYPE DANS LA NEUROFIBROMATOSE DE TYPE 2

L. Demange (1), M. Kalamarides (2), G. Thomas (1), S. Olschwang (1)

(1) Hôpital Saint Antoine, Paris

(2) Hôpital Beaujon, Paris

Afin d'apprécier si la variabilité d'expression de la neurofibromatose 2 pouvait être reliée aux différentes mutations du gène NF2, nous nous sommes proposés d'analyser le phénotype de 154 patients dont la mutation avait été identifiée par notre équipe.

Pour ce faire, nous avons complété par un questionnaire rétrospectif les informations phénotypiques en rapport avec la pathologie de nos patients et nous avons testé la dépendance des différentes natures de mutations aux différents critères du phénotype par comparaison des moyennes et tests de corrélation.

Dans notre population de malades, la nature de la mutation n'est corrélée ni au sexe des patients, ni au mode de survenue de la maladie. Les mutations faux sens sont associées à une pathologie de révélation plus tardive et moins sévère, alors que les mutations non sens et frame shift sont plus fréquentes en cas de méningiomes et de tumeurs spinales.

Bien que dans notre étude n'apparaisse pas de corrélation significative entre le génotype et le phénotype de la NF2, le criblage de son gène garde son indication à la fois pour les formes typiques et les formes modérées. Dans les formes typiques, il authentifie la maladie dans plus de 80% des cas, dans les formes modérées, l'identification d'une mutation faux sens rend compte d'une moindre évolutivité de la maladie. Néanmoins, cette observation ne justifie pas la prise en compte de la mutation dans les recommandations de prise en charge de la maladie.

FŒTOPATHOLOGIE ET DIAGNOSTIC PRÉNATAL

5 >> Poster n°7

FOETOPATHOLOGIE ET DIAGNOSTIC PRÉNATAL

MONOSOMIES PARTIELLES DU CHROMOSOME 13: ETUDE FOETOPATHOLOGIQUE ET CYTOGÉNÉTIQUE (A PROPOS DE 6 CAS)

A. Amouri (1), N. Bouayed Abdelmoula (2), M. Gonzales(3), MF. Portnoi(3), N. Joyé (3), S. Toujani (1), I. El Kamel (1), JL.Taillemite (3) (1) Laboratoire de Cytogénétique, Institut Pasteur, Tunis, Tunisie (2) Laboratoire d'Histologie, Faculté de Médecine, Sfax, Tunisie (3) Laboratoire d'Embryologie Pathologique et de Cytogénétique, Hôpital Saint-Antoine, Paris

De nombreuses observations dans la littérature ont décrit des cas de monosomies partielles du chromosome 13.

Nous avons réuni les observations de six foetus dont l'autopsie a été réalisée dans l'unité de fœtopathologie de l'Hôpital Saint Antoine de Paris. Ces foetus ont tous, une monosomie partielle du chromosome 13 retrouvée à l'examen de leur caryotype. Cette monosomie et en rapport avec une délétion du bras long ou avec un anneau. Nous avons analysé les malformations et le phénotype des foetus pour tenter de définir des tableaux cliniques propres à chaque type de délétion.

Ce travail et la revue de la littérature nous amènent à souligner la grande variabilité du phénotype et la difficulté de corréler les points de cassure avec les manifestations cliniques.

19 >> Poster n°8

FOETOPATHOLOGIE ET DIAGNOSTIC PRÉNATAL

VERS UN MEILLEUR DÉPISTAGE PRÉNATAL DE LA MUCOVISCIDOSE

JL. Serre (1), J. Feingold (2), B. Simon-Bouy (3), F. Muller (1) (1) Equipe de cytogénétique et génétique moléculaire humaine, EA 2493, UFR de médecine, Université de Versailles. (2) Laboratoire d'Anthropologie biologique, Université Denis Diderot-Paris VII (3) Laboratoire de diagnostic génétique SESEP, Université de Versailles.

La mucoviscidose touche en France un enfant sur 3 000. Les technologies de dépistage moléculaire permettent de tester simultanément, avec un coût acceptable, plusieurs dizaines de mutations du gène afin de statuer sur la présence ou l'absence de chacune d'entre elles. Mais cette technologie très utile pour le diagnostic prénatal chez les couples à risque, pour les grossesses ultérieures à la naissance d'un enfant atteint, reste d'une efficacité limitée pour le dépistage des porteurs sains ou des couples à risque avant la naissance du premier enfant atteint. Or un tel dépistage serait le seul moyen d'abaisser significativement la fréquence d'une maladie qui reste, malgré les progrès thérapeutiques, une maladie chronique très grave. Aujourd'hui la possibilité de dépister des couples à risque avant la naissance du premier enfant atteint devient possible grâce à la mise en évidence d'un signe d'appel échographique, constitué par un aspect hyperéchogène digestif chez le fœtus au deuxième trimestre, suivi, dans ce cas seulement, d'une analyse moléculaire de l'ADN. Une étude récente montre que la fréquence des grossesses

présentant ce signe d'appel échographique avoisine 0,75%, compte tenu de l'incidence de la maladie et du nombre de fœtus atteints parmi ceux présentant le signe d'appel (20 sur 641 dans une étude récente). L'ordre de grandeur de la sensibilité et de l'efficacité d'un dépistage systématique de la mucoviscidose à travers la recherche de ce signe d'appel pourrait permettre de diviser au moins par deux le nombre de naissances d'enfants atteints.

24 >> Poster n°9

FOETOPATHOLOGIE ET DIAGNOSTIC PRÉNATAL

EXPÉRIENCE NANCÉENNE DE LA QF-PCR APPLIQUÉE AU DIAGNOSTIC PRÉNATAL CHROMOSOMIQUE

M. Valduga (1), C. Philippe (1), F. Sloan-Bena (2), S. Miesch (1), C. Jacquot (1), S. Cacciatore (1), P. Jonveaux (1) (1) Laboratoire de génétique CHU de Nancy-Brabois, Vandœuvre-lès-Nancy (2) Laboratoires Cinqualbre-Paulus, Nancy

Certaines situations anxiogènes de diagnostic anténatal avec étude du caryotype fœtal ont motivé la mise au point de techniques permettant un résultat de trisomies 13, 18 et 21 en 24 à 48 heures après l'amniocentèse. Deux techniques différentes peuvent être réalisées sur amniocytes non cultivés: la FISH et une technique de biologie moléculaire (QF-PCR) basée sur l'analyse de marqueurs polymorphes type microsatellites situés sur les chromosomes 13, 18 et 21.

Nous utilisons depuis une dizaine d'années la technique FISH sans avoir jamais observé de discordance de résultats avec la cytogénétique conventionnelle. Depuis deux ans, nous avons réalisé 40 techniques rapides par QF-PCR dans le cadre d'un diagnostic prénatal et avons pu apprécier les avantages et limites de cette nouvelle méthode.

Les avantages essentiels résident dans la faible quantité de prélèvement nécessaire, la rapidité d'exécution et l'automatisation partielle de cette technique.

Nous avons également rencontré quelques difficultés :

- impossibilité de conclure sur le réel statut du fœtus par défaut d'informativité des quatre marqueurs utilisés pour le chromosome concerné,
- difficultés d'interprétation d'une mosaïque pour le chromosome 21 et d'une trisomie 18 avec profil bi-allélique pour deux marqueurs du chromosome 18,
- impossibilité de répondre une dysgonosomie.

Ces difficultés (5/40 soit 12,5%) ont parfois nécessité l'attente de l'établissement du caryotype fœtal pour être levées. Néanmoins, 35 fois sur 40 dans notre expérience (77,5%), cette technique a révélé ses avantages par rapport la technique FISH.

En conclusion, FISH et QF-PCR présentent des avantages et limites différents. Le choix d'une technique rapide doit être le plus possible orienté par le contexte échographique et obstétrical.

29 >> Poster n°10

FOETOPATHOLOGIE ET DIAGNOSTIC PRÉNATAL

AMPLIFICATION GÉNIQUE ET SUREXPRESSON DU GÈNE C-ERBB2 : INTÉRÊT DANS LA MALADIE TROPHOBLASTIQUE. A PROPOS D'UN CAS D'AVORTEMENT SPONTANÉ DU PREMIER TRIMESTRE

P. Marcorelles (1), M. Le Bourhis (1), A. Herry (2), Y. Laurent (3), M.J. Le Bris (2), F. Morel (2), M. De Braekeleer (2), N. Lagarde (1)
 (1) Service d'anatomie et cytologie pathologiques, CHU, Brest
 (2) Service de cytogénétique et biologie de la reproduction, CHU, Brest
 (3) Service de gynécologie-obstétrique, CHU, Brest

Devant toute fausse couche suspecte, il est important de différencier triploïdie, môle complète et hydrops villositaire. De plus la surexpression de c-erbB-2 est considéré dans les môles complètes comme un facteur prédictif du risque de maladie trophoblastique persistante et est aussi surexprimé dans le choriocarcinome.

Nous rapportons l'observation d'une fausse couche spontanée à 9 SA, très hémorragique, avec quelques villosités cisternales en échographie chez une femme de 37 ans sans antécédents. Il existe 2 populations villositaires microscopiques : l'une de petite taille, vascularisée et fibreuse, l'autre prédominante, cisternale vascularisée avec excès de trophoblaste extra-villeux.

Pour établir le diagnostic, nous avons appliqué la technique d'hybridation in situ fluorescente (FISH) sur coupes en paraffine en utilisant le kit Dako Her2Fishpharm DXTM K5331 qui couple une sonde centromérique du chromosome 17 et une sonde spécifique complémentaire du locus du gène c-erbB-2.

Alors que toutes les cellules analysées sont diploïdes (présence de 2 centromères du 17), une amplification génique du gène c-erbB-2 (4 copies et plus) est décelée dans certaines plages cellulaires sur la coupe. Cette observation est associée à la mise en évidence par immunohistochimie d'une surexpression de c-erbB-2 dans le trophoblaste extra-villeux.

L'amplification génique éventuelle de c-erbB-2 n'a jamais été recherchée dans ces pathologies. S'il s'avère que la surexpression de c-erbB-2 est due à une amplification génique, cette technique pourrait constituer un outil diagnostique et pronostique de la maladie trophoblastique.

57 >> Poster n°11

FOETOPATHOLOGIE ET DIAGNOSTIC PRÉNATAL

OMPHALOCÈLE GÉANTE ET SYNDROME DE PRUNE-BELLY, FORME FŒTOPATHOLOGIQUE D'UN SYNDROME DE BECKWITH WIEDEMANN

M. Gerard-Blanluet (1), M. Sinico (2), C. Touboul (3), B. Haddad (3), F. Encha-Razavi (2), J.B. Paniel (3), C. Gicquel (4)
 (1) Consultation de Génétique, Néonatalogie, CHIC, Créteil
 (2) Service de Foetopathologie, CHIC, Créteil
 (3) Service d'Obstétrique, CHIC, Créteil
 (4) Service de Biologie Moléculaire, Endocrinologie pédiatrique, Hôpital Trousseau, Paris

Le syndrome de Beckwith-Wiedemann (WBS) est reconnu en période prénatale sur l'association hydramnios, macrosomie fœtale, macroglossie et défauts de fermeture de la paroi abdominale.

Une jeune femme est adressée au Centre de DPN de Créteil pour omphalocèle géante, avec mégavessie, et retentissement rénal à 13 semaines. Les parents sont non consanguins. Une IMG est pratiquée à 16 SA. L'examen retrouve un fœtus entre le 75°P et le 90°P, avec une omphalocèle géante, contenant la mégavessie, une partie des anses digestives et le lobe gauche du foie. La paroi abdominale est anormalement fine, étirée au dessus de la mégavessie, sans musculature retrouvée, (aspect de Prune-Belly). Une organomégalie est présente. Une cytomégalie

surrénalienne est retrouvée. Le caryotype de l'enfant était normal. L'analyse de la méthylation de la région 11p15.5 retrouve une déméthylation isolée du gène KCNQ10T.

C'est la première observation d'une forme non-viable de syndrome de WBS, confirmée par biologie moléculaire. L'association WBS et syndrome de Prune -Belly a préalablement été décrite pour trois patients, deux sporadiques, et une forme familiale. (Knight et al., 1980; Watanabe and Yamanaka, 1990 ; Silengo et al., 2002). Dans la forme familiale, un des enfants avait un WBS classique, avec macrosomie, macroglossie et dysmorphie faciale, et le deuxième associait au WBS une omphalocèle géante, avec mégavessie et Prune-Belly, motivant une IMG.

Une recherche d'anomalie de la méthylation de la région 11p15.5 WBS est indiquée pour des malformations omphalo-pariétales sévères, surtout si une cytomégalie surrénalienne a été constatée.

58 >> Poster n°12

FOETOPATHOLOGIE ET DIAGNOSTIC PRÉNATAL

DEVENIR DES HYGROMAS CERVICAUX DÉPISTÉS AU PREMIER TRIMESTRE DE LA GROSSESSE, EN RÉGION CHAMPAGNE ARDENNE

E. Alanio-Detton (1), F. Carré-Pigeon (2), M.C. Melin-Blocquaux (2), M. Mozelle-Nivoix (2), J.P. Bory (3), O. Graesslin (3), H. Sartelet (1), D. Gaillard (1,2)
 (1) Laboratoire Pol Bouin, CHU, Reims
 (2) Service de Génétique, CHU, Reims
 (3) Service de Gynécologie Obstétrique, CHU, Reims

L'hygroma cervical dépisté par échographie au premier trimestre de grossesse peut être lié à des pathologies de gravité variable, rendant la prise en charge difficile. Dans la région Champagne Ardenne, entre janvier 1999 et décembre 2002, le dépistage échographique de 33 hygromas cervicaux a conduit à un prélèvement amniotique ou trophoblastique adressé dans le service de Génétique du CHU de Reims pour étudier le caryotype fœtal. Les anomalies associées à ce signe d'appel ont été répertoriées et le devenir des grossesses et des enfants nés a été analysé.

Une aneuploïdie a été retrouvée pour 19 des 33 cas (58%), avec une prédominance de trisomies 21, 18, 13 concernant essentiellement des filles (11/12) et 6 monosomies X. Quatorze caryotypes étaient normaux (42%). Ces grossesses ont abouti à 10 avortements spontanés ou morts fœtales in utero et ont fait l'objet de 16 interruptions médicales pour aneuploïdie (13/16) ou pour polymalformations (syndrome de Cuming très probable, syndrome de Franceschetti, malformations cérébrales complexes). Sept enfants (21,5%) sont nés vivants. Une fille présente un syndrome de Noonan, les autres, âgés de 3 mois à 2,5 ans sont actuellement en bonne santé, sans retard ou cardiopathie décelés.

Cette série confirme l'intérêt de proposer systématiquement l'étude précoce du caryotype fœtal, mais aussi de rechercher des anomalies associées, de surveiller attentivement par échographie les grossesses à caryotype normal et de suivre le développement des enfants après la naissance, à la recherche de pathologies se révélant plus tardivement.

73 >> Poster n°13**FOETOPATHOLOGIE ET DIAGNOSTIC PRÉNATAL****CALCIFICATIONS VISCÉRALES FOETALES ET PRÉLÈVEMENTS PRÉNATAUX : ASSOCIATION FORTUITE OU RELATION CAUSALE?**

C. Schluth (1), V. Lindner (1), R. Favre (2), B. Langer (3), B. Gasser (1)

Institut d'Anatomie Pathologique, Faculté de Médecine, Strasbourg

Service de Gynécologie Obstétrique, SIHCUS-CMCO, Schiltigheim
Service de Gynécologie Obstétrique, CHU Hautepierre, Strasbourg

Lors de l'examen fœtopathologique, la découverte de calcifications viscérales macroscopiques et surtout microscopiques n'est pas rare. Ces dernières reconnaissent classiquement comme étiologies : infections (TORCH), péritonites méconiales ou tumeurs. Cependant, un grand nombre d'entre elles demeure inexplicé. Une étude rétrospective, de 1990 à 2002, précisant le contexte clinique, biologique et les caractéristiques histologiques de ces calcifications a été réalisée afin de tenter une approche physiopathogénique.

3602 fœtus entre 11 et 31 semaines d'aménorrhée ont été examinés. 28 de ces fœtus (7,8%) présentent des calcifications dystrophiques, dont 5 (17,8%) dans le cadre d'une atteinte infectieuse. Parmi les 23 autres observations, les dépôts intéressent le foie (17 cas, 74%), notamment la région sous-glissonienne (13 cas), le septum interventriculaire et les piliers cardiaques (4 cas), le myocarde (1 cas), le cerveau (1 cas) et la rate (1 cas). Trois grossesses monochoriales biamniotiques, 3 cas de tabagisme maternel et 9 aberrations chromosomiques sont relevés. 18 des 23 fœtus (78,2%) ont bénéficié d'un prélèvement prénatal (amniocentèse, choriocentèse, cordocentèse), suggérant une possible relation entre prélèvement et calcification. Ces dépôts calciques se formeraient lors de la cicatrisation de foyers de nécrose ischémique infraclinique survenus lors du geste invasif, soit par microthrombi à partir des veines chorioniques ou des vaisseaux ombilicaux, soit par vasoconstriction. La petite taille des territoires atteints ne mettrait pas en jeu le pronostic vital du fœtus.

89 >> Poster n°14**FOETOPATHOLOGIE ET DIAGNOSTIC PRÉNATAL****DIAGNOSTIC PRÉNATAL D'UNE MALADIE DE SURCHARGE EN ACIDE SIALIQUE LIBRE (ISSD : INFANTILE SIALIC ACID STORAGE DISEASE)**

D. Amram (1), R. Froissart (2), M. Hoffet (3), J.E. Devellay (3), P. Blanchet (4), I. Maire (2).

(1) Service de Pédiatrie Néonatale CHU, Nîmes

(2) Biochimie Pédiatrique Hôpital Debrousse, Lyon

(3) Centre de Diagnostic Prénatal CHU, Nîmes

(4) Service de Génétique CHU, Montpellier

Madame V.J. 24 ans 2^{ème} geste primipare, un enfant en bonne santé.

Echographie de 12 SA clarté nucale 3,5 mm.

Caryotype :46,XY.

Echographie de 20 SA: oedème sous cutané, ascite, pieds bots.

Ponction de sang foetal; hémoglobine 11g, anticorps érythrocytaires et bilan infectieux négatifs.

Recherche d'une maladie de surcharge: l'étude du liquide

amniotique et des cellules amniotiques cultivées montre une augmentation en acide sialique libre en faveur d'une maladie de surcharge en acide sialique libre à révélation anténatale.

L'IMG est réalisée. L'étude mutationnelle montre une mutation dans l'exon 7 et une délétion dans l'exon 10.

La maladie de surcharge en acide sialique (SSD) ou maladie de Salla et Infantile Free Sialic Acid Storage Disease (ISSD) sont des maladies de surcharge lysosomale dues à un défaut d'un transporteur de la membrane lysosomale permettant la sortie de l'acide sialique du lysosome. La maladie est très rare sauf en Finlande la transmission est autosomique récessive. Il existe des formes sévères à révélation anténatale ascite, anasarque fœto-placentaire, hépatosplénomégalie anomalies osseuses et des formes plus modérées: la maladie de Salla.

Le diagnostic de l'ISSD repose sur l'accumulation d'acide sialique libre dans les fibroblastes, le trophoblaste, les amniocytes. Le gène est localisé en 6p14 plusieurs mutations ont été identifiées.

99 >> Poster n°15**FOETOPATHOLOGIE ET DIAGNOSTIC PRÉNATAL****FISH (HYBRIDATION IN SITU EN FLUORESCENCE) ET DIAGNOSTIC DE TÉTRAPLOÏDIE SUR PRODUITS DE FAUSSES COUCHES SPONTANÉES DU 1^{ER} TRIMESTRE**

D. Lescoat (1), M. Le Calvé (1), L. Loeuillet-Olivo (2), H. Jouan (2)

(1) Laboratoire de Cytogénétique et Biologie cellulaire, CHU Pontchaillou, Rennes

(2) Laboratoire d'Anatomie pathologique, CHU Pontchaillou, Rennes

Les anomalies chromosomiques sont la cause la plus fréquente des fausses couches spontanées du premier trimestre (FCS). Parmi elles, les anomalies de nombre : trisomies autosomiques, monosomies de l'X, triploïdies et tétraploïdies sont les plus courantes. Selon les données de la littérature, les tétraploïdies représenteraient 5% de ces FCS.

Cette étude a été entreprise pour voir si la technique de FISH utilisée en complément de l'examen anatomo-pathologique pouvait, dans certains cas, permettre de déterminer l'étiologie des FCS. Les anomalies du nombre de chromosomes et parmi elles plus particulièrement les tétraploïdies ne peuvent en effet être diagnostiquées de façon certaine par l'examen anatomo-pathologique.

337 produits de FCS, adressés de Janvier 2001 à Août 2003 au Laboratoire d'Anatomie Pathologique du CHU de Rennes, ont été explorés par la technique FISH suivant le protocole des Laboratoires Vysis. Nous avons utilisé les sondes CEP des chromosomes 7, 16, 18, X, Y ou la sonde LSI du chromosome 13 (Laboratoire Vysis). Pour chaque prélèvement, le nombre de signaux d'hybridation par noyau est compté sur 200 cellules mésoenchymateuses présentes au sein des villosités placentaires. Le diagnostic de tétraploïdie est établi lorsque 25 à 30% ou plus des noyaux présentent simultanément 4 spots pour 2 sondes.

Résultats : Sur les 337 produits de FCS étudiés, seulement 4 cas de tétraploïdie ont été diagnostiqués par FISH. Une corrélation avec l'examen microscopique standard a été recherchée.

Conclusion : Si l'examen anatomo-pathologique peut orienter le diagnostic vers une anomalie du nombre de chromosomes, l'intérêt de la FISH qui permet de déterminer la ploïdie des cellules est démontré pour l'obtention du diagnostic de tétraploïdie dans les FCS.

106 >> Poster n°16**FOETOPATHOLOGIE ET DIAGNOSTIC PRÉNATAL****DIAGNOSTIC PRÉNATAL DE TRISOMIE 6 EN MOSAÏQUE**

A. Destrée, C. Fourneau, C. Dugauquier, S. Rombout, D. Sartenaer, Y. Gillerot

Centre de Génétique Humaine, Loverval, Belgique

Nous rapportons le cas d'un fœtus présentant des anomalies congénitales multiples diagnostiquées lors d'une échographie prénatale. Une amniocentèse a été réalisée et a montré une trisomie 6 en mosaïque.

Le couple a décidé d'interrompre la grossesse dans la 18^e semaine et l'autopsie a confirmé la présence de malformations dont une arthrogrypose, une main droite en pince de homard, une hypoplasie du 4^e doigt de la main gauche, des syndactylies et un chevauchement des orteils, un dysmorphisme facial avec hypertélorisme et oreilles bas implantées, une malrotation intestinale, une scoliose et une séquence de Potter. La trisomie 6 en mosaïque a été confirmée sur les amniocytes cultivés (15 %), sur les fibroblastes funiculaires (40 %) et sur différents tissus fœtaux.

La trisomie 6 en mosaïque est une anomalie chromosomique rare avec 7 cas rapportés antérieurement.

121 >> Poster n°17**FOETOPATHOLOGIE ET DIAGNOSTIC PRÉNATAL****POLYMICROGYRIE PÉRISYLVIANNE CONGÉNITALE: DIVERSITÉ ÉTIOLOGIQUE ET HÉTÉROGÉNÉITÉ GÉNÉTIQUE. ÉTUDE DE 5 OBSERVATIONS ANATOMOCLINIQUES.**

C. Fallet-Bianco (1), P. Loget (2), T. Yacoubi (3), C. Dubois (4), A. Couture (4), C. Daumas-Duport (1)

(1) Neuropathologie, Hôpital Sainte-Anne, Paris

(2) Anatomie Pathologique, Centre hospitalier, Le Mans

(3) Anatomie Pathologique, CHU Faraht-Hached, Sousse, Tunisie

(4) CHU, Montpellier

La Polymicrogyrie Périsylyvienne Congénitale est une malformation corticale intéressant de façon bilatérale, la scissure de Sylvius et les régions operculaires, responsable chez l'enfant de troubles neurodéveloppementaux associés à une épilepsie et un retard mental de sévérité variable. Le diagnostic repose sur des critères cliniques et neuroradiologiques. Les données neuropathologiques sont rares.

Nous présentons 5 observations incluant 3 nouveaux-nés décédés au cours de la période néonatale et 2 fœtus issus d'une interruption médicale de grossesse. Chez 4/5 a été réalisée une IRM pré et/ou postnatale. Tous les sujets, de sexe masculin, ont eu une vérification anatomique complète avec examen neuropathologique.

L'imagerie identifiait la malformation corticale dans 3/4 cas. L'examen neuropathologique montrait une CPP étendue dans 4 cas, plus localisée dans 1 cas (non diagnostiqué par l'IRM). Les 3 nouveau-nés présentaient un tableau neurologique d'emblée sévère. Un enfant prématuré, issu d'une grossesse gémellaire, présentait un RCIU sévère. 2 enfants, à terme ont présenté des convulsions néonatales sévères associées, chez l'un, à des lésions de la corne antérieure avec arthrogrypose, l'autre enfant était issu d'un couple consanguin. Un fœtus était porteur d'une trisomie 1q. Chez le second fœtus étaient retrouvés des

antécédents familiaux de FCS et mort néonatale avec une possible consanguinité.

Ces observations montrent que la CPP possède une grande diversité étiologique et phénotypique, ainsi qu'une évidente hétérogénéité génétique. L'imagerie permet un diagnostic prénatal au 3^{ème} trimestre.

126**FOETOPATHOLOGIE ET DIAGNOSTIC PRÉNATAL****FIXATION FORMOLÉE ET DIAGNOSTIC RADIOGRAPHIQUE DES OSTÉOCHONDRODYSPLASIES CHEZ LE JEUNE FŒTUS**

P. Marcorelles (1), L. Marcorelles (2), P. Parent (3), N. Lagarde (1)

(1) Service d'anatomie et cytologie pathologiques, CHU, Brest

(2) Centre d'imagerie médicale Pasteur, Brest

(3) Département de pédiatrie et de génétique médicale, CHU, Brest

L'étude du squelette des jeunes foetus peut nécessiter une technique radiographique pour être de qualité satisfaisante. Chez 3 foetus âgés de 16 SA au plus, cet examen n'a pu être réalisé qu'après fixation de 12 à 48 h dans une solution de formol. Dans ces 3 cas il est apparu une radiotransparence complète du squelette malgré les variations des constantes radiologiques utilisées et l'utilisation d'agrandissement. Deux de ces foetus présentaient une ostéochondrodysplasie sévère découverte lors de la première échographie, le troisième comportait des malformations.

Une étude comparative a été réalisée sur plusieurs foetus de même âge et jusqu'à 20 SA, issus de fausse couche spontanée ou d'interruption médicale de grossesse. Des clichés ont été réalisés à l'état frais puis après une fixation formolée de 24 h, et de 15 jours. Chez les foetus d'âge inférieur à 16 SA sans pathologie osseuse ou cartilagineuse, seule la fixation prolongée entraîne une radiotransparence totale. Chez les foetus de 20 SA sans pathologie du squelette, il n'y a pas d'effet notable sur la radiotransparence.

Le liquide fixateur utilisé en anatomie pathologique est une solution aqueuse tamponnée de formaldéhyde instable comportant un degré de polymérisation variable. L'évolution spontanée de la solution se fait vers l'acidification aboutissant à des concentrations non négligeables d'acide formique qui a des propriétés décalcifiantes propres.

Cette étude a permis de mettre en cause le liquide fixateur qui peut produire en quelques heures une décalcification efficace chez de jeunes foetus d'autant qu'il existe une pathologie osseuse constitutionnelle.

129 >> Poster n°18**FOETOPATHOLOGIE ET DIAGNOSTIC PRÉNATAL****DYSPLASIE ACINEUSE CONGÉNITALE PARTIELLE DU POUMON : 3 OBSERVATIONS**

L. Devisme (1), A. Wacrenier (1), AS. Valat (2), O. Boute (3), B. Gosselin (1)

(1) Anatomie Pathologique, CHRU, Lille

(2) Pathologie Maternelle et Foetale, CHRU, Lille

(3) Génétique Clinique, CHRU, Lille

La première observation est une grossesse gémellaire avec réduction embryonnaire. Chez l'autre jumeau sont apparus un œdème sous-cutané et une atrophie cérébrale conduisant à une interruption médicale de grossesse (IMG) à 24 SA. L'examen fœtopathologique précisait la nature

ischémique de l'atteinte cérébrale et décelait des lésions pulmonaires. La seconde observation concerne un fœtus de 30 SA. La grossesse a été interrompue pour microcéphalie. L'autopsie montrait des lésions cérébrales anoxo-ischémiques sévères et des nodules pulmonaires blanchâtres. Le troisième cas correspond à une IMG à 24 SA pour syndrome de Potter. L'examen du fœtus objectivait une dysplasie rénale bilatérale et une hypoplasie pulmonaire.

Les lésions pulmonaires étaient similaires dans ces trois observations. L'étude microscopique montrait l'intégrité de la région hilare. Par contre, en périphérie, s'étendaient des bandes de tissu mésenchymateux lâche, renfermant de nombreux îlots de cartilage, des vaisseaux et des sidérophages. Les terminaisons alvéolaires étaient raréfiées, remplacées par des structures de type bronchiolaire.

La dysplasie ou aplasie acineuse congénitale du poumon est rare. Dans les trois cas de la littérature, elle était diffuse, entraînant une hypoplasie pulmonaire sévère et le décès précoce de l'enfant. Nos observations, marquées par un arrêt du développement distal des unités respiratoires terminales, correspondent à des formes partielles. L'existence de lésions ischémiques cérébrales chez deux fœtus fait évoquer une origine vasculaire. Mais l'association à une dysplasie rénale chez le troisième fœtus permet de discuter aussi une anomalie primitive des interactions entre le mésenchyme et la composante épithéliale au cours du développement.

131 >> Poster n°19

FOETOPATHOLOGIE ET DIAGNOSTIC PRÉNATAL

DIAGNOSTIC PRÉNATAL PRÉCOCE D'UN SYNDROME DE LARSEN RÉCIDIVANT

L. Devisme (1), A. Dieux-Coeslier (2), AS. Valat (3), M. Holder-Espinasse (2), S. Manouvrier-Hanu (2)

(1) Anatomie Pathologique, CHU, Lille

(2) Génétique Clinique, CHU, Lille

(3) Pathologie Maternelle et Foetale, CHU, Lille

Le syndrome de Larsen présente un large spectre de gravité allant de la forme létale à une expression clinique modérée. Nous rapportons l'observation de deux sœurs atteintes d'une forme létale.

La patiente qui avait un premier enfant normal, a présenté, en 1993, une grossesse gémellaire bi-choriale, bi-amniotique. Elle a accouché à 29 SA de deux filles, décédées à quelques minutes de vie et pour lesquelles une autopsie a été réalisée. L'une, de morphologie normale, était décédée des conséquences de la prématurité. L'autre jumelle présentait des malformations : dysmorphie faciale, brièveté des membres avec genu recurvatum, pieds bots, anomalies vertébrales, hypoplasie pulmonaire et hydrocéphalie, évocatrices d'un syndrome de Larsen néonatal, récessif autosomique. La patiente a ensuite présenté deux grossesses normales et trois avortements spontanés. Lors d'une nouvelle grossesse, en 2003, l'échographie du premier trimestre a permis de dépister des anomalies du rachis, une jambe désaxée et des pieds bots. La récurrence du syndrome de Larsen était évoquée, dix ans après le diagnostic initial, et une IMG réalisée à 14 SA. L'examen fœtopathologique montrait une dysmorphie faciale avec fente palatine, des membres inférieurs asymétriques avec genu recurvatum, des pieds bots, une hypoplasie pulmonaire et des anomalies osseuses des membres, rachidiennes et costales multiples. Le syndrome de Larsen est rare et hétérogène sur le plan

clinique et génétique. Les formes autosomiques récessives sont les plus sévères. Cette observation montre l'intérêt d'une autopsie détaillée permettant un diagnostic précis et un dépistage précoce et la nécessité d'une étroite collaboration entre obstétriciens, généticiens et fœtopathologistes.

132 >> Poster n°20

FOETOPATHOLOGIE ET DIAGNOSTIC PRÉNATAL

MALADIES KYSTIQUES RENALES A REVELATION FŒTALE ET NEONATALE : ETUDE FŒTOPATHOLOGIQUE DE 54 CAS

MT. Yacoubi(1), N. Abbas(1), S. Mestiri(1), H. Gazel(2), M. Mokni(1), H. Bennour(3), S. Korbi(1)

(1) Service d'anatomie pathologique, Hôpital F. Hached, Sousse, Tunisie

(2) Service de cytogénétique, Hôpital F. Hached, Sousse, Tunisie

(3) Service de gynécologie obstétrique, Hôpital de Mahdia, Mahdia

Les maladies kystiques rénales représentent 10 à 30 % des uropathies malformatives et posent souvent des problèmes diagnostiques cliniques et histologiques.

Notre étude a concerné 54 cas de maladies kystiques rénales diagnostiquées au laboratoire d'Anatomie et de Cytologie Pathologiques du CHU Farhat Hached de Sousse sur une période de 13 ans (1989-2001).

L'âge moyen des mères est de 28,5 ans, la consanguinité est de 33,5 %, des antécédents de mort fœtale in-utéro ont été retrouvés dans 7 cas et une IMG a été pratiquée dans 24 cas.

Notre série compte 13 nouveau-nés et 41 fœtus. L'âge des fœtus varie de 14 à 38 semaines, celui des nouveau-nés de 5 minutes à 3 jours ; 48 % étaient de sexe masculin, 42,5 % de sexe féminin et 9,5 % de sexe ambigu.

L'échographie anténatale a permis de poser le diagnostic d'une maladie kystique rénale dans 50 % des cas ; l'examen clinique néonatal associé à l'échographie l'a posé dans 9 % des cas, alors que 41 % des cas étaient de découverte autopsique.

L'échographie anténatale n'a permis de préciser le type exact de la maladie kystique rénale que dans 8 cas ; elle a pu objectiver des anomalies extra-rénales du reste de l'appareil urinaire dans un seul cas et des anomalies extra-urinaires dans 15 cas.

Le caryotype a été pratiqué dans 31 cas (soit 57,5 %). Il a noté une anomalie chromosomique du nombre dans 8 cas et une anomalie de structure dans 1 cas.

Sur les 54 cas, 3 avaient une polykystose autosomique dominante, 5 avaient une polykystose autosomique récessive, 12 avaient une dysplasie rénale multikystique isolée et 34 avaient des lésions kystiques rénales dans le cadre d'un syndrome polymalformatif. Ces syndromes polymalformatifs étaient des aberrations chromosomiques dans 9 cas, des syndromes géniques identifiables dans 15 cas, une séquence malformative dans 7 cas, une association malformative dans 2 cas et un syndrome génique non identifiable dans 1 cas. Ces lésions étaient à type de dysplasie rénale multikystique dans 31 cas, de microkystoses corticales dans 2 cas et de reins glomérulokystiques dans 1 cas.

Le diagnostic anténatal des maladies kystiques rénales est échographique. Il doit rechercher une atteinte uni ou bilatérale, associée ou non à des anomalies du reste de l'appareil urinaire ainsi que d'autres malformations extra-urinaires. L'examen fœtopathologique permet de préciser le type d'anomalie kystique et d'identifier les malformations

associées afin de les intégrer dans un tableau malformatif particulier.

Le conseil génétique s'impose surtout en cas de polykystose autosomique dominante, de polykystose autosomique récessive et de syndrome polymalformatifs, mais aussi dans tous les cas récurrents.

137

FOETOPATHOLOGIE ET DIAGNOSTIC PRÉNATAL

ROLE DES PROTEINES DE L'APOPTOSE DANS LA GÉNÈSE DES MALFORMATIONS DU SYSTÈME BILIAIRE INTRA-HÉPATIQUE (SBIH). EXEMPLE : LE SYNDROME DE MECKEL. ETUDE DE 20 CAS.

MT. Yacoubi, M. Ouragini, S. Mestiri, M. Mokni, S. Hmissa, S. Korbi
Service d'anatomie pathologique, Hôpital F. Hached, Sousse

Le processus de l'apoptose intervient dans l'oncogenèse ; il semble également qu'il peut contribuer au développement de certains systèmes pendant la vie embryonnaire et fœtale. Le but de notre étude est d'explorer l'intervention de ce processus dans les anomalies du développement du système biliaire intra-hépatique, malformations rentrant dans le cadre de la définition du syndrome de Meckel-Gruber.

Nous avons ainsi procédé à une étude immunohistochimique, avec l'anticorps anti-bcl2 anti-PCNA de 20 spécimens hépatiques de fœtus atteints de syndrome de Meckel (âgés entre 16 et 40 semaines) et de 20 cas témoins. Le taux de prolifération et de l'expression de bcl2 dans les fœtus malades, était élevé d'une façon constante au cours de la vie intra-utérine.

Ces résultats indiquent que :
- L'hyper-expression du bcl2 pourrait contribuer à l'explication de la genèse des anomalies du SBPIH qui pourrait correspondre à un trouble de remodelage cellulaire au niveau de la plaque biliaire primitive.
- l'animal porteur de gène du syndrome de Meckel, pourrait être un modèle d'étude du développement anormal du SBPIH.

142 >> Poster n°21

FOETOPATHOLOGIE ET DIAGNOSTIC PRÉNATAL

DÉLÉTION TERMINALE DU BRAS LONG DU CHROMOSOME 10. À PROPOS DE DEUX NOUVEAUX CAS MANIFESTÉS PAR UNE UROPATHIE OBSTRUCTIVE ANTÉNATALE.

S. Scigliano (1), M.J. Grégoire (2), M. Schmitt (3), P. Jonveaux (2), B. LeHeup (1)

(1) Service de Médecine Infantile III et Génétique Clinique, CHU, Nancy

(2) Laboratoire de Génétique, CHU, Nancy

(3) Service de Chirurgie Infantile B, CHU, Nancy

Nous rapportons deux observations féminines de syndrome de délétion subtélomérique 10q, manifestées pendant la période anténatale par des anomalies urinaires.

Patient 1 : à 32 semaines de grossesse, dilatation unilatérale du bassin et de l'uretère. Naissance à terme, dysmorphie faciale modérée (front proéminent, racine du nez large et haute, pointe du nez petite, antéversion nasale, fente palatine, micro-rétrognathisme, et implantation basse des oreilles), mégavessie avec reflux bilatéral. À quatre ans huit mois, l'enfant présente un retard de développement psychomoteur. Le premier caryotype à l'âge d'un mois à la résolution de 300 bandes met seulement

en évidence une inversion péricentrique du chromosome 9 d'origine paternelle. Le deuxième caryotype, réalisé à trois ans et sept mois, la formule chromosomique est 46,XX, inv(9)del(10)(q26.2).

Patient 2 : à 32 semaines : dilatation vésicale et urétérale. A la naissance : discrète réduction de la taille et du PC à - 2 sd. La mégavessie est associée à paroi épaisse témoignant reflet d'une dyscinésie cervicale. Une vésicostomie est en place de l'âge d'un mois à dix-huit mois. Le retard de développement moteur et du langage est manifeste vers 2 ans associé à un tableau d'hyperactivité. La morphologie faciale est identique de celle de la patiente 1. Deux examens cytogénétiques, dont un à la résolution de 550 bandes, sont rapportés comme normaux. En fonction de l'association d'anomalies du tractus urinaire et d'un retard de développement psychomoteur une analyse par technique FISH de la région 10q est demandée, la formule chromosomique est 46,XX, ish del(10)(q26.3)(D10S2490-). L'association d'anomalies urinaires avec une anomalie génitale en période anténatale chez un fœtus XY est une indication formelle d'évaluation de la région 10qter. Ces deux observations font discuter l'intérêt de l'évaluation d'une éventuelle délétion subtélomérique 10q devant la découverte anténatale de malformations urinaires isolées chez un fœtus féminin.

159 >> Poster n°22

FOETOPATHOLOGIE ET DIAGNOSTIC PRÉNATAL

ETUDE PAR FISH DE LA DISTRIBUTION D'UNE TRISOMIE 7 EN MOSAÏQUE ET DÉTERMINATION DE SON ORIGINE PARENTALE ET MÉIOTIQUE PAR QUANTIFICATION ALLÉLIQUE

H. Mittre, J. Dina, M. Lemaire, D. Gourdière, M.L. Kottler, N. Leporrier
Département Génétique et Reproduction, CHU Caen

L'étude a été réalisée sur amniocentèse à 18 semaines d'aménorrhée chez une femme de 41 ans. Le caryotype révèle une trisomie 7 en mosaïque dans 40% des cellules (47,XY[15] / 46,XY[23]). Cette trisomie autosomique rare peut s'accompagner de signes cliniques (syndrome de Silver Russel) dans les cas d'une disomie uniparentale des cellules diploïdes. Aucune anomalie fœtale n'est découverte à l'échographie mais une fissure de la poche des eaux provoque une fausse couche spontanée à 20 semaines de grossesse. L'examen anatomo-pathologique confirme l'absence de signes dysmorphique et de malformation.

Une étude de la distribution tissulaire de cette trisomie 7 a été réalisée par cytogénétique classique et moléculaire (FISH). L'origine parentale et méiotique du 7 surnuméraire a été réalisée par haplotypage avec 5 marqueurs microsatellites.

La mosaïque est retrouvée dans les différents prélèvements tissulaires fœtaux et placentaire, et varie de 5 à 65%.

L'étude des microsatellites permet de démontrer, dans un premier temps, que le chromosome surnuméraire provient soit d'une non disjonction en méiose II soit d'un accident mitotique post zygotique. Une étude complémentaire par quantification allélique des microsatellites permet ensuite de montrer l'origine maternelle de ce chromosome 7 supplémentaire et d'exclure une isodisomie maternelle dans les cellules diploïdes.

Ces résultats associés à une échographie morphologique sont une aide précieuse pour le conseil génétique. Cette approche méthodologique peut être applicable, en prénatal, à l'étude des disomies pour tous les chromosomes soumis à empreinte parentale responsable de pathologie grave.

165 >> Poster n°23**FOETOPATHOLOGIE ET DIAGNOSTIC PRÉNATAL****MONOSOMIE 21Q ET SÉQUENCE AKINÉSIE FŒTALE**

ML. Maurin-Ganne, J. Martinovic, I. Teissier, C. Bernardin, C. Esculpavit, D. Sanlaville, F. Encha-Razavi, M. Vekemans, N. Morichon Delvallez

Service d'Histo-Embryo-Cytogénétique, Hôpital Necker Enfants-Malades, Paris

La séquence akinésie fœtale regroupe un spectre d'anomalies liées à une diminution voire une absence de mouvements fœtaux intra-utérins. Les étiologies sont variées. Parmi les étiologies génétiques, des monosomies 21q ont été rapportées associant arthrogrypose, retard mental et dysmorphie. Nous rapportons ici une observation de séquence akinésie fœtale chez un fœtus de 17 SA. L'échographie fœtale montre en plus de l'arthrogrypose une nuque épaisse et un rétrognathisme. L'étude chromosomique réalisée sur amniocytes révèle une monosomie pure intéressant la région critique pour la monosomie 21, soit la région 21q21-22.1. Cette délétion est survenue de novo. Après conseil génétique les parents demandent une interruption médicale de grossesse. L'examen fœto-pathologique montre un retard staturopondéral avec un aspect longiligne, une dysmorphie faciale avec fente palatine, oreilles basses insérées, des reins en fer à cheval et une malposition des mains avec camptodactylie. L'étude neuropathologique réalisée montre une raréfaction et une altération des motoneurons de la corne antérieure tout le long de la moelle épinière. Notre hypothèse est que la région 21q21-22.1 contient un ou des gènes de survie neuronale. La délimitation moléculaire de la région est en cours.

193 >> Poster n°24**FOETOPATHOLOGIE ET DIAGNOSTIC PRÉNATAL****DYSPLASIE SPONDYLO-ÉPIPHYSIAIRE CONGÉNITALE : UN DIAGNOSTIC ANTÉNATAL RÉALISABLE ?**

N. Bigi (1), M.P. Le Gac (1), F. Poizat (1), C. Rouleau (2), A. Couture (3), P. Sarda (1), P. Blanchet (1)

(1) Service de Génétique Médicale, CHU, Montpellier

(2) Service d'Anatomopathologie, CHU, Montpellier

(3) Service de Radiologie Pédiatrique, CHU, Montpellier

La dysplasie spondylo-épiphyssaire congénitale (DSEC) se caractérise par une atteinte spécifique des vertèbres et des épiphyses.

A propos de 3 observations de fœtopathologie sur une période de 1 an, il nous a paru intéressant de préciser les critères ultrasonores accessibles au dépistage anténatal, aucun cas anténatal n'étant publié.

Les points d'appel en anténatal sont dans les 3 cas : une brièveté plus ou moins sévère des os longs, un petit thorax, des biométries céphaliques et abdominales conservées, sans autre malformation évidente. Les anomalies sont découvertes pour 2 des cas à 22 SA et pour le 3ème à 32 SA. Deux fois la recherche des mutations du gène de l'achondroplasie est négative.

Aucun des 3 diagnostics de DSEC n'a été évoqué en anténatal (contenu utérin, tomodynamométrie), c'est l'examen radiologique après IMG qui a posé le diagnostic. Dans les 3 cas il a été retrouvé une micromélie rhizo et mésomélie sévère, un aspect ovoïde des vertèbres, une absence d'ossification des branches ischio-pubiennes, des

côtes courtes (2 fois avec hypoplasie pulmonaire) et dans 2 cas un retard d'ossification des points calcanéens et astragaliens.

Dans 2 cas l'étude du cartilage n'a pas montré d'anomalie caractéristique d'une dysplasie spondylo-épiphyssaire congénitale, cette discordance pouvant peut-être s'expliquer par l'hétérogénéité des DSEC.

A la découverte échographique anténatale d'une brièveté des os longs, avec biométries céphaliques et abdominales conservées (à la différence de l'achondroplasie), l'examen doit évoquer un diagnostic de DSEC devant un thorax étroit et l'absence d'ossification des branches ischio-pubiennes normalement visibles dès 22/23 SA.

203 >> Poster n°25**FOETOPATHOLOGIE ET DIAGNOSTIC PRÉNATAL****DIAGNOSTIC PRÉNATAL D'UNE ÉPIDERMOLYSE BULLEUSE CONGÉNITALE ASSOCIÉE À UNE ATRÉSIE PYLORIQUE: FORME LÉTHALE EN RAPPORT AVEC UN DÉFICIT EN PLECTINE**

RP. Dupuy (1), P. Loget (2), F. Muller (3), G. Meneguzzi (4), B. Le Fiblec (1)

(1) Centre Pluridisciplinaire de Diagnostic Prénatal, CH Saint-Brieuc

(2) Cabinet d'Anatomie et de Cytologie Pathologiques Richier, Rennes

(3) Service de Biochimie-Hormonologie, Hôpital Robert Debré, Paris

(4) INSERM, U.385, Nice

L'association d'une épidermolyse bulleuse congénitale et d'une atrésie pylorique est habituellement causée par une mutation du gène codant pour l'intégrine alpha6 beta4. Nous rapportons l'histoire d'une grossesse, de parents non consanguins, au cours de laquelle l'élévation de l'alpha-fœtoprotéine sérique et amniotique, l'électrophorèse des cholinestérases amniotiques et les signes échographiques au troisième trimestre (aspect floconneux du liquide amniotique, dilatation gastrique, aspect anormal des narines, des oreilles et du revêtement cutané) ont fait évoquer le diagnostic d'épidermolyse bulleuse congénitale de type jonctionnel. L'enfant, né à 33 semaines d'aménorrhée, présentait une aplasie cutanée et des lésions bulleuses étendues, un obstacle pylorique. Il est décédé au premier jour de vie. L'étude en immunofluorescence de la biopsie cutanée a montré un clivage intra-épidermique, une présence normale d'intégrine, une absence de marquage pour la plectine. Cette anomalie, décrite dans l'épidermolyse bulleuse avec dystrophie musculaire (EB-MD) n'est habituellement pas associée à une atrésie pylorique. Une mutation du gène codant pour la plectine (PLEC1) a été mise en évidence à l'état hétérozygote chez les deux parents, permettant d'envisager un diagnostic prénatal par trophocentèse.

Dorénavant, devant l'association épidermolyse bulleuse et obstacle pylorique, la recherche de mutations du gène PLEC1 est nécessaire.

206 >> Poster n°26**FOETOPATHOLOGIE ET DIAGNOSTIC PRÉNATAL****L'ADN FOETAL CIRCULANT DANS LE SÉRUM MATERNEL PROVIENT DES CELLULES CYTO- ET/OU SYNCITIO-TROPHOBLASTIQUES**

E. Flori (1), B. Doray (1), E. Gautier (2), M. Kohler (3), P. Ernault (2), J. Flori (3), JM. Costa (2)

(1) Laboratoire de Cytogénétique, Hôpital de Haute-pierre, Strasbourg

(2) Centre de Diagnostic Prénatal, Hôpital Américain de Paris, Neuilly,

(3) Service de Gynécologie-Obstétrique, CMCO-SIHCUS, Schiltigheim, France

La présence d'ADN foetal libre circulant dans le plasma et le sérum maternel offre de nouvelles possibilités de diagnostic prénatal non invasif. Le diagnostic de sexe foetal (par détection de séquences du gène SRY) ainsi que la détermination du génotype foetal RH1 (par détection de séquences du gène RHD) sont désormais réalisés à partir du sérum maternel. L'origine cellulaire de cet ADN foetal n'est cependant toujours pas identifiée même si de nombreux arguments sont en faveur d'une origine placentaire.

Nous rapportons le cas d'une patiente consultant pour un diagnostic prénatal d'hémophilie A sévère. Le diagnostic de sexe foetal par analyse du sérum maternel est réalisé chez cette patiente à 13 semaines d'aménorrhée; l'absence de séquences SRY conclut à un fœtus de sexe féminin, ce qui permet de surseoir au diagnostic prénatal. Toutefois, comme le contrôle échographique effectué à 20 semaines d'aménorrhée visualise un fœtus de sexe masculin, une biopsie de villosités choriales est réalisée. L'analyse chromosomique directe (cytotrophoblaste) révèle un caryotype foetal homogène 45,X (100 mitoses) alors que le caryotype sur culture (mésenchyme extra-embryonnaire) montre une mosaïque 45,X (51 mitoses)/ 46,XY (11 mitoses). L'examen d'un nouveau prélèvement sanguin maternel confirme l'absence de séquences SRY qui sont par contre retrouvées au niveau des cellules sanguines fœtales et des cellules amniotiques. Cette discordance nous permet de postuler que l'ADN foetal circulant dans le sérum maternel est très probablement relargué à partir des cellules cyto- et syncytiotrophoblastiques selon un mécanisme qui reste à démontrer.

209 >> Poster n°27

FOETOPATHOLOGIE ET DIAGNOSTIC PRÉNATAL

UN NOUVEAU SIGNE D'APPEL CARDIAQUE DE LA TRISOMIE 21 ?

M. Soulier (1), JE. Morice (3), A. Liprandi (1), N. Baschet (1), MD. Piercecchi-Marti (1), M. Gonzales (2), C. Fredouille (1,2)

(1) Unité de fœtoplacentologie, Service d'Anatomopathologie et de Neuropathologie, CHU La Timone, Marseille

(2) Unité de Fœto-Placentologie, Service de Cytogénétique, CHU Saint Antoine, Paris

(3) Maternité, CHU de Nîmes

Le dépistage actuel de la trisomie 21 avec mesure de la Clarté Nucale et dosages sériques met au 2^o plan les signes d'appels échographiques plus tardifs. Ce sont essentiellement des cardiopathies, en majorité celles du spectre du Canal Atrio-Ventriculaire.

Le cas d'un fœtus trisomique 21, diagnostiqué à l'échographie sur une CIV d'admission, et chez lequel seule une insertion linéaire des valves auriculo-ventriculaires (ILVAV) sans défaut, avait été retrouvée à l'examen fœtopathologique, nous a conduit à pratiquer une étude anatomique sur 52 cœurs de fœtus trisomiques 21. Cette série, publiée en 2002, confirme la répartition classique à l'examen standard : 44% de cardiopathies et 66% de cœurs normaux. Les cœurs supposés normaux (sans défaut) ont été ensuite coupés sur le plan de la coupe 4 Cavités échographique : au lieu du décalage normal au niveau de la croix du cœur, 69% présentent une ILVAV, comme dans les

CAV avec défaut. Seuls 31% des cœurs supposés normaux présentent un décalage et sont donc véritablement normaux. La spécificité de l'ILVAV est élevée ($p < 10^{-6}$) car, sur 100 cœurs témoins normaux, le décalage des valves est net et constant. Une série en cours (250 cas), confirme ces chiffres.

Avant de proposer une étude prospective sur l'ILVAV, nous avons étudié sa faisabilité échographique. Le décalage est présent sur plus de 300 cœurs normaux. Trois ILVAV ont conduit au diagnostic de trisomie 21.

Ce signe pourrait permettre aux familles de bénéficier d'un dépistage de la trisomie 21, lorsqu'il n'a pu être fait précocement.

221 >> Poster n°28

FOETOPATHOLOGIE ET DIAGNOSTIC PRÉNATAL

PHÉNOTYPE FOETAL DU SYNDROME DE PALLISTER-KILLIAN : ETUDE CLINIQUE À PARTIR DE 53 OBSERVATIONS.

B. Doray (1), A. Bazin (2), M. Gonzales (3), F. Girard-Lemaire (1), E. Flori (1)

(1) Fédération de Génétique, Strasbourg

(2) Laboratoire CERBA, Cergy-Pontoise

(3) Unité de foeto-pathologie, Hôpital Saint-Antoine, Paris

Le premier diagnostic anténatal de syndrome de Pallister-Killian a été rapporté par Gilgenkrantz et al en 1985. Depuis, environ soixante observations fœtales ont pu être rapportées mais le diagnostic tant clinique que cytogénétique n'en reste pas moins difficile. En effet, la distribution tissulaire aléatoire de l'isochromosome 12p surnuméraire ainsi que la variabilité phénotypique rencontrée dans cette pathologie conduisent à un risque élevé de méconnaître ce diagnostic en période anténatale, ou lors de l'examen fœtopathologique d'un fœtus polymalformé. Si la reconnaissance clinique de ce syndrome chez le fœtus est fondamentale afin d'orienter les examens cytogénétiques, elle reste difficile en raison de l'absence de données précises sur le phénotype fœtal (les études cliniques réalisées jusqu'à présent associées à la fois des observations prénatales et postnatales).

Notre étude concerne cinquante-trois observations de fœtus ou nouveau-nés présentant un syndrome de Pallister-Killian (cinquante-deux observations issues de la littérature et une observation personnelle). Son but est de préciser les caractéristiques du phénotype fœtal à partir du recueil détaillé et de l'analyse de l'ensemble des données cliniques de la littérature, en particulier malformatives et dysmorphiques. Si le diagnostic de syndrome de Pallister-Killian doit être suspecté de principe chez tout fœtus ou nouveau-né polymalformé présentant une hernie diaphragmatique, nos données suggèrent de l'évoquer systématiquement chez un fœtus macrosome, macrocéphale, en particulier lorsqu'il existe une micromélie rhizomélique très spécifique dans ce contexte, ou encore une dysplasie pigmentaire ou des anomalies des phanères, certes peu fréquentes chez le fœtus mais très évocatrices.

246**FŒTOPATHOLOGIE ET DIAGNOSTIC PRÉNATAL****BILAN DE 3 ANNÉES DE DIAGNOSTIC ANTÉNATAL**

C. Founeau, Y. Gillerot

Laboratoire de cytogénétique, Centre de Génétique Humaine, Loverval, Belgique

L'étude porte sur 6303 ponctions amniotiques correspondant aux prélèvements reçus en 1998-1999-2000. Toutes indications confondues, 164 anomalies chromosomiques sont décelées soit 2,6% des cas avec :

- 58 trisomies 21 (35,3% des anomalies et près de 1% des amniocentèses)
- 41 autres aneuploïdies dont 15 trisomies 18 et 19 anomalies des gonosomes
- 53 remaniements dont 40 équilibrés et hérités, 6 apparemment équilibrés de novo et 7 indéterminés (pas de suivi)
- 10 remaniements non équilibrés
- 1 mosaïque
- 1 del 22q11.2

Cette étude examine également l'incidence de la trisomie 21 en fonction de l'âge maternel et la répartition des anomalies chromosomiques en fonction de l'indication de l'amniocentèse.

247 >> Poster n°29**FŒTOPATHOLOGIE ET DIAGNOSTIC PRÉNATAL****DIAGNOSTIC FŒTOPATHOLOGIQUE D'UN SYNDROME DE MARFAN NÉONATAL RÉVÉLÉ PAR UN TABLEAU D'AKINÉSIE FŒTALE**

S. Blesson (1), C. Paillet (2), MC. Vaillant (3), F. Dijoud (4), MT. Zabot (5), C. Boileau (6), C. Moraine (1), A. Toutain (1)

(1) Service de Génétique, CHU Tours

(2) Unité de Diagnostic Anténatal, CHU Tours

(3) Cardiologie Pédiatrique, CHU Tours

(4) Service d'Anatomopathologie, CHU Lyon

(5) Centre de Biotechnologie Cellulaire, CHU Lyon

(6) Laboratoire de Biochimie, d'Hormonologie et de Génétique Moléculaire, CH Ambroise Paré, Boulogne

Nous rapportons l'observation d'un fœtus de 30 SA dont la grossesse a été interrompue en raison d'un tableau échographique anténatal d'akinésie fœtale. A 27 SA, l'échographie a objectivé un oligoamnios, une cardiopathie évoquant une interruption de l'arche aortique et un immobilisme fœtal avec aspect arthrogryposique des 4 extrémités. Le caryotype s'est révélé normal 46, XY, la recherche de microdélétion 22q11 négative et l'examen clinique des parents et l'enquête généalogique non contributifs.

L'examen fœtopathologique a permis de porter le diagnostic de syndrome de Marfan devant l'association :

- d'une grande taille (34 SA),
 - de membres graciles,
 - d'une arachnodactylie prononcée des 4 extrémités avec camptodactylie de certains doigts,
 - d'une dysmorphie avec rétrognathisme et visage allongé,
 - de coupes diaphragmatiques amincies,
 - d'une franche dilatation de l'aorte ascendante, des sinus de Valsalva et de l'artère pulmonaire et d'un aspect dysplasique des valvules aortiques et de la valve mitrale.
- Nous présentons les résultats de l'étude en

immunomarquage de la fibrilline de type 1 sur échantillon cutané, ceux de l'étude de l'expression de la fibrilline sur fibroblastes cultivés, ainsi que les résultats de la recherche de mutation dans le gène.

Cette observation inhabituelle devrait désormais conduire les différents spécialistes impliqués dans le diagnostic anténatal, à évoquer le diagnostic de syndrome de Marfan néonatal devant un tableau d'akinésie fœtale inexplicable par ailleurs.

256 >> Poster n°30**FŒTOPATHOLOGIE ET DIAGNOSTIC PRÉNATAL****HYPERGLYCINEMIE SANS CETOSE: DU DIAGNOSTIC ENZYMATIQUE AU DIAGNOSTIC MOLECULAIRE**

MO. Rolland, F. Chevalier-Porst, R. Froissart

Laboratoire de Biochimie Pédiatrique, Hôpital Debrousse, Lyon

L'hyperglycémie sans cétose est un désordre sévère du métabolisme portant sur le complexe clivant la glycine qui est composé de 4 protéines (majoritairement protéine T et P). Nous avons confirmé le diagnostic par étude enzymatique sur biopsie de foie (154 cas) ou lignée lymphoblastoïde (26 cas). L'identification de la protéine déficitaire a pu être faite chez 42 patients (27 protéine P, 15 protéine T) à partir d'une biopsie de foie.

En l'absence de traitement efficace, le diagnostic prénatal (enzymatique ou moléculaire) est la seule option qui peut être proposée aux familles. Une grosse demande existe avec 30 à 40 diagnostics prénatals chaque année.

Depuis 1990 nous avons effectué 365 diagnostics prénatals par enzymologie. 262 fœtus furent diagnostiqués non atteints et 90 atteints. Une conclusion formelle n'a pas été possible dans 13 cas. Un résultat faussement négatif a été donné dans 3 grossesses sans qu'aucun problème technique n'ait pu être évoqué. Plus tard chez 2 des 3 enfants, un déficit en protéine T a été identifié et les mutations trouvées.

Devant les difficultés du diagnostic prénatal enzymatique, nous avons développé l'analyse moléculaire du gène de la protéine T (amino méthyl transférase). Sur 36 allèles testés, 13 mutations différentes ont été identifiées. En 2003, nous avons fait notre premier diagnostic prénatal par recherche des mutations.

L'identification des mutations dans le gène de la protéine P (glycine decarboxylase) sera notre prochaine étape.

286**FŒTOPATHOLOGIE ET DIAGNOSTIC PRÉNATAL****RETARD DE CROISSANCE INTRA-UTÉRIN, ANOMALIES OSSEUSES, HYPOPLASIE SURRÉNALIENNE ET DES ORGANES GÉNITAUX CHEZ UN FŒTUS DE 30 S.A.: ASSOCIATION IMAGE ?**

J. Attia-Sobol (1,2,5), F. Allias (2), T. Martin-Denavit (1, 3), M.

Michel-Calemard (4), H. Plauchu (1), P. Morcel (5), M. Le Merer (6), F. Champion (5)

(1) Service de Génétique, Hôtel-Dieu, Lyon

(2) Laboratoire d'Anatomo-Pathologie, Hôtel-Dieu, Lyon

(3) Laboratoire de Génétique, Pavillon E, Hôpital E. Herriot, Lyon

(4) Laboratoire de Biochimie Moléculaire, Hôpital Debrousse, Lyon

(5) Centre Pluridisciplinaire de Diagnostic Anténatal, Service de Gynécologie-Obstétrique, Hôtel-Dieu, Lyon

Nous rapportons une observation concernant un fœtus issu d'un couple non apparenté, sans antécédent. La nuque est à 1,3mm à 12 SA. L'échographie de 19,5 SA montre un retard

de croissance intra-utérin (RCIU) dysharmonieux (os longs inférieurs au 3^{ème} percentile). Les bilans immunitaires et infectieux maternels sont négatifs, le caryotype normal 46,XY. L'échographie de 22 SA objective la persistance du RCIU et suspecte une dysmorphie faciale (ensellure nasale marquée, os propres du nez courts), ainsi qu'une verge enfouie. L'échographie de 26,5 SA confirme ces données. Aucune anomalie significative n'est retenue à la radiographie du contenu utérin. La recherche du syndrome de Smith-Lemli-Opitz est négative. Devant la forte suspicion de RCIU syndromique, une interruption médicale de grossesse est réalisée.

L'examen autopsique à 30 SA retrouve un RCIU dysharmonieux, une dysmorphie faciale avec front haut, ensellure nasale marquée, rétrognathisme, un pénis court avec hypospadias, une microrchidie, une hypoplasie surrénalienne avec aspect histologique inhabituel. Les clichés radiographiques montrent des métaphyses irrégulières, des ailes iliaques et des métacarpiens courts et une hypominéralisation des corps vertébraux thoraciques. Ce tableau polymalformatif nous amène à discuter les possibilités diagnostiques suivantes :

- association IMAGE, comportant RCIU(I) , dysplasie métaphysaire(M), hypoplasie congénitale des surrénales(A) et anomalies génitales(Ge), mais qui n'a jamais été décrite chez le fœtus.
- pathologie liée au gène DAX1, responsable d'une hypoplasie surrénalienne congénitale, mais l'hypogonadisme est plus tardif.
- pathologie liée au gène SOX9, variante du nanisme campomélisme, mais l'hypoplasie surrénalienne n'a jamais été rapportée.

Le bilan hormonal surrénalien sur liquide amniotique, ainsi que l'étude génétique, sont en cours

288 >> Poster n°31

FOETOPATHOLOGIE ET DIAGNOSTIC PRÉNATAL

DIAGNOSTIC PRÉNATAL D'UNE T(8;11)(Q24.1;QTER) AVEC RÉTENTION DE LA SONDE SUBTÉLOMÉRIQUE DU 11Q.

AC. Tabet (1), H. Dessuant (1), L. Druart (1), M. Le Lorc'h (2) T. Harvey (3), M. Vekemans (2), C. Turleau (2), D. Sanlaville (2)

(1) Département de cytogénétique, Laboratoire LCL, Paris

(2) Laboratoire de cytogénétique, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris

(3) Service de gynécologie-obstétrique, Hôpital des Diaconesses, Paris

Nous rapportons un cas inhabituel de translocation, découverte lors d'une amniocentèse pour marqueurs sériques, où l'un des points de cassure est distal par rapport à la sonde subtélomérique spécifique correspondante. Le fœtus est porteur d'une t(8q;11q) apparemment équilibrée. Les caryotypes des parents sont normaux. Les peintures du 8 et du 11 montrent du 8 en 11q, mais pas de 11 en 8q. Les sondes subtélomériques montrent que le der(11) est porteur de 2 régions subtélomériques : la sonde subtélomérique 11q qui est restée en place et la sonde subtélomérique 8q qui hybride en position distale. Une sonde consensus montre la présence de séquences TTAGGG à l'extrémité des 2 dérivés. Aucun signal intercalaire n'est retrouvé sur le der(11). Le caryotype ne montre pas de perte de matériel pour le 8q. L'hypothèse la plus probable est donc celle d'un point de cassure sur le 11 entre la sonde subtélomérique spécifique et le télomère, et un échange réciproque avec le 8 limité pour le 11 aux séquences non spécifiques. En absence de déséquilibre apparent et devant une échographie fœtale

sans particularité, le conseil génétique a été celui d'une translocation apparemment équilibrée survenue de novo. Cette observation montre que des remaniements chromosomiques visibles peuvent se produire entre les régions subtélomériques et télomériques. Plusieurs exemples de « rétention » de la sonde subtélomérique spécifique d'un chromosome receveur ont été rapportés. Il s'agit de remaniements équilibrés vus chez des sujets de phénotype normal étudiés pour troubles de la reproduction, ou non-équilibrés avec phénotype anormal.

290

FOETOPATHOLOGIE ET DIAGNOSTIC PRÉNATAL

ANOMALIES DE LA LATÉRALITÉ : À PROPOS D'UNE RÉCIDIVE

A. Bazin (1), J. Martinovic (1), P. Bussière (2), J. Belaish-Allart (2), B. Simon-Bouy (3), L. Fermont (4), M. Gonzalès (5)

(1) Unité de Foeto-pathologie, Service d'Anatomie Pathologique, Laboratoire Pasteur Cerba, St Ouen l'Aumône

(2) Service Maternité, Hôpital J. Rostand, Sèvres

(3) SESEP, Versailles

(4) Institut de Puériculture, Paris

(5) Laboratoire d'Embryologie Pathologique et de Cytogénétique, Hôpital Saint Antoine, Paris

Le syndrome d'hétérotaxie associe une cardiopathie souvent complexe à un défaut de latéralité d'expression variable. Il s'agit d'une pathologie hétérogène avec des modes de transmission variés (AR, AD, XL, polygénique) dont les bases moléculaires sont encore peu connues chez l'homme.

Nous rapportons l'observation d'un syndrome de latéralité récidivant.

Il s'agit d'une deuxième grossesse chez un couple jeune non apparenté. L'échographie morphologique à 22 SA montre une cardiopathie associant une veine cave supérieure gauche, une CIV et une valve mitrale sténosante. Le caryotype est masculin normal. Une IMG a lieu à 26 SA. L'autopsie retrouve la cardiopathie décrite en anténatal et montre par ailleurs un isomérisme pulmonaire gauche et une rate polylobée. L'examen neuropathologique est normal.

Lors de la grossesse suivante, l'échographie montre à nouveau une cardiopathie associant cette fois un défaut septal atrioventriculaire avec disproportion ventriculaire. Le caryotype est féminin normal. L'IMG a lieu à 23 SA. L'autopsie décrit, outre la cardiopathie, un isomérisme pulmonaire gauche, une veine cave supérieure gauche, une artère sous-clavière droite rétro-oesophagienne et un situs inversus abdominal complet. Le cerveau est normal.

Cette observation souligne la variabilité intra-familiale du syndrome de latéralité.

Nous discutons les modes de transmission possibles dans cette famille.

302 >> Poster n°32**FÆTOPATHOLOGIE ET DIAGNOSTIC PRÉNATAL****SYNDROME OROFACIODIGITAL AVEC DYSGÉNÉSIE CÉRÉBRALE**

G. Lesca (1,3), C. Fallet-Bianco (2), H. Plauchu (3), D. Vitrey (4), A. Verloes (5), J. Attia-Sobol (3)

(1) Laboratoire de Génétique, Pavillon E, Hôpital E Herriot, Lyon
(2) Laboratoire d'anatomo-pathologie, Hôpital Sainte-Anne, Paris
(3) Service de Génétique, Hôtel-Dieu, Lyon
(4) Laboratoire d'anatomo-pathologie, Hôtel-Dieu, Lyon

Les syndromes orofaciodygitaux sont un groupe d'affections classées selon les aspects cliniques et le mode de transmission. Nous rapportons un fœtus présentant certaines caractéristiques des OFD ainsi qu'une dysgénésie cérébrale globale. L'échographie à 21 SA montre une hypoplasie des hémisphères cérébraux avec un gros kyste intra-hémisphérique, une dysmorphie faciale et une brachysyndactylie IV-V. L'IRM cérébrale fœtale retrouve une agénésie vermienne, une agénésie complète du corps calleux et une pachygyrie de l'hémisphère gauche.

L'examen fœtopathologique met en évidence une macrocéphalie, des membres courts, un hypertélorisme, une racine du nez large, un long philtrum, une micrognathie, une microstomie, une fente palatine et une langue lobulée.

La radiographie retrouve les anomalies distales des quatre membres.

L'examen neuropathologique montre une perturbation sévère de l'architecture des deux hémisphères cérébraux, plus prononcée à droite, ainsi que quatre structures kystiques inter-hémisphériques. Les tiges olfactives, les tubercules mamillaires et les autres structures médianes sont absentes. Le cervelet et le tronc cérébral sont hypoplasiques. L'examen microscopique retrouve au niveau de l'hémisphère gauche et de la majeure partie de l'hémisphère droite une zone disruptive complète du manteau et une perturbation de la migration neuronale. Ce fœtus présente les caractéristiques dysmorphiques faciales, les lobules linguaux et les polysyndactylies des quatre membres des OFD. Du fait de l'atteinte cérébrale il pourrait être rapproché du type VI. Mais cette atteinte est beaucoup plus sévère dans le cas présent (une dysgénésie corticale généralisée), évoquant une perturbation très précoce de l'embryogenèse.

305**FÆTOPATHOLOGIE ET DIAGNOSTIC PRÉNATAL****DIAGNOSTIC PRÉNATAL D'UN ISODICENTRIC YP**

B. de Fréminville (1), H. Bruyere (2), MD. Speevak (3), B. McGillivray (4), D. McFadden (2), V. Adouard (1), D. Terespolsky (3), F. Prieur (1), T. Pantzar (2), S. Farrell (2), E. Winsor (2), M. Hrynchak (5)

(1) Service de Génétique, CHU, St-Etienne
(2) Department of Pathology, UBC, Vancouver
(3) Department of Laboratory Medicine, Credit Valley Hospital, Mississauga
(4) Department of Medical Genetics, UBC, Vancouver
(5) Cytogenetics Laboratory, Royal Columbian Hospital, New Westminster

Les anomalies chromosomiques ont souvent un pronostic différent selon qu'elles sont détectées en pré ou postnatal, en raison du biais de recrutement de ces dernières. Les personnes porteuses d'un chromosome isodicentrique du bras court de l'Y présentent une large variabilité de signes cliniques (phénotype féminin avec syndrome de Turner

jusqu'à un phénotype masculin cliniquement normal mais avec infertilité). Peu de données sont disponibles dans la littérature sur le phénotype des enfants porteurs d'un chromosome Yp isodicentrique détecté en prénatal. Nous présentons 6 cas. Dans 5 cas, une amniocentèse a été faite pour âge maternel. Pour une grossesse gémellaire, l'échographie prénatale montrait une clarté nucale augmentée chez un des jumeaux (cas 6). Le cas 1 présentait une mosaïque de trois lignées cellulaires: 45,X, 46,XY et isodicentrique Y. Dans un cas (3) l'anomalie était homogène, alors qu'une lignée 45,X était aussi présente pour les cas 4 et 5, le cas 2 présentait en plus de ces deux lignées des cellules avec deux copies de l'isodicentrique Yp. Le dernier cas (6) ne présentait qu'une lignée 45,X. Les grossesses 1, 2, 3 et 5 ont donné naissance à des garçons dont le suivi sur 3-8 mois a été normal. Une interruption de grossesse a été faite pour le cas 4, avec un fœtus mâle normal. Le cas 6 a donné lieu à la naissance d'un garçon avec une ambiguïté sexuelle. Le chromosome Yp isodicentrique détecté en prénatal semble avoir un bon pronostic avec la naissance d'un garçon phénotypiquement normal dans la plupart des cas.

322 >> Poster n°33**FÆTOPATHOLOGIE ET DIAGNOSTIC PRÉNATAL****HYPER CLARTÉ NUCALE DU PREMIER TRIMESTRE RÉVÉLANT UNE DYSPLASIE CAMPOMÉLIQUE VARIANTE**

G. Lesca (1,2), L. Michel-Calemard (3), Y. Morel (3), A. Rebaud (4), D. Boggio (2), H. Plauchu (2), D. Raudrant (4), J. Attia-Sobol (2,4)

(1) Laboratoire de Génétique, Pavillon E, Hôpital E. Herriot, Lyon
(2) Service de Génétique, Hôtel-Dieu, Lyon
(3) Laboratoire de Biochimie, Hôpital Debrousse, Lyon
(4) Service de Gynécologie-Obstétrique, Hôtel-Dieu, Lyon

Nous rapportons une observation de fœtus chez un couple non apparenté.

L'échographie de 12,5 SA met en évidence une hyperclarté nucale à 5,6 mm. Le caryotype s'avère 46 XY. L'échographie morphologique de 22 SA évoque un sexe féminin avec une mensuration fémorale normale. La nouvelle amniocentèse confirme le caryotype 46 XY avec testostérone basse, en faveur d'un fœtus de sexe féminin.

A 32 SA, l'échographie met en évidence une cassure de la croissance des os longs (< 3^{ème} percentile) sans anomalie de courbure. Une association syndromique grave est évoquée justifiant l'interruption médicale de grossesse.

Le fœtus à 33 SA de phénotype féminin présente une dysmorphie cranio-faciale.

Au niveau radiologique, il existe une hypoplasie de l'omoplate, une discrète platyspondylie, des têtes humérales et tibiales floues.

Etant donné l'inversion sexuelle, l'hypoplasie de l'omoplate avec os longs rectilignes, bien que le bassin ne soit pas typique, le nanisme campomélique variant est évoqué. Le diagnostic a été confirmé par la présence d'une mutation de SOX 9 chez ce fœtus.

La dysplasie campomélique est une affection autosomale sporadique dominante associant une incurvation des fémurs et tibias, un bassin étroit, une hypoplasie de l'omoplate.

Le SOX 9 est un facteur de transcription impliqué dans la chondrogenèse et dans la détermination sexuelle.

325 >> Poster n°34**FÆTOPATHOLOGIE ET DIAGNOSTIC PRÉNATAL****DIAGNOSTIC PRÉNATAL D'UNE DÉLÉTION INTERCALAIRE DU CHROMOSOME 1 DEL(1)(Q23Q25)**

M. Chaabouni (1,2), D. Sanlaville (1), Y. Martinovic (1), S. Caillat (1), M. Vekemans (1), N. Morichon-Delvallez (1)

(1) Service de cytogénétique, Hôpital Necker-enfants malades, Paris

(2) Laboratoire de génétique humaine, faculté de Médecine, Tunis

Nous rapportons ici un cas de délétion intercalaire proximale du chromosome 1 diagnostiquée à 28 semaines d'amenorrhée chez une patiente de 30 ans sans antécédent notable. L'amniocentèse a été réalisée après dosage des marqueurs sériques. Après conseil génétique, la patiente a décidé d'interrompre la grossesse. L'examen fœtopathologique montre un fœtus de sexe masculin avec un retard staturo-pondéral majeur, une dysmorphie cranio-faciale avec brachycéphalie, un front large, des fentes palpébrales en haut et en dehors, des mains trapues avec des doigts courts, des pieds en varus.

Il s'agit à notre connaissance du 2^{ème} cas de délétion (1q) diagnostiquée en période prénatale. Trois tableaux cliniques distincts ont été individualisés suivant les bandes concernées : del(1q) proximales (q21q25), del(1q) intermédiaires (q25q32) et del(1q) distales (q42qter). Les délétions proximales del(1)(q21q25) entraînent un retentissement phénotypique sévère avec retard de croissance intrautérin et post natal, une dysmorphie faciale avec en particulier une microcéphalie, une fente labiopalatine et de petites extrémités. Des malformations cardiaques et rénales ont aussi été décrites. La caractérisation moléculaire de notre cas est en cours afin de mieux préciser les corrélations phénotype-génotype.

333**FÆTOPATHOLOGIE ET DIAGNOSTIC PRÉNATAL****RECHERCHE DES PRINCIPALES ANOMALIES CHROMOSOMIQUES DANS LES PRODUITS DE FCS DU PREMIER TRIMESTRE PAR FISH INTERPHASIQUE SUR COUPES DE TISSU PRÉALABLEMENT FIXÉ ET PARAFFINÉ.**

M. Le Calvé (1), D. Lescoat (1), L. Loeuillet-Olivo (2), H. Jouan (2)

(1) Laboratoire de Cytogénétique et Biologie Cellulaire, CHU Pontchaillou, Rennes

(2) Laboratoire d'Anatomie Pathologique, CHU Pontchaillou, Rennes

Les fausses couches spontanées du premier trimestre (FCS) sont dues le plus souvent à des anomalies chromosomiques. Si certains critères anatomo-pathologiques peuvent orienter le diagnostic, l'aspect souvent rétionnel des produits de FCS ne permet pas d'avancer des arguments microscopiques à l'étiologie de la fausse couche.

L'objectif de cette étude consiste, en fonction de l'examen anatomo-pathologique, à rechercher les principales anomalies chromosomiques des FCS par la technique de FISH interphasique sur coupes de tissu préalablement fixé et paraffiné.

230 produits de FCS du premier trimestre reçus au Laboratoire d'Anatomie Pathologique du CHU de Rennes entre janvier 2001 et octobre 2002 ont été explorés par cette technique suivant le protocole des Laboratoires Vysis. L'utilisation de 3 sondes centromériques des chromosomes

16, X et Y nous a permis de dépister les principales anomalies chromosomiques, à savoir les trisomies 16, les triploïdies et les monosomies de l'X, et de confirmer le diagnostic de môle.

L'étiologie de la fausse couche a été déterminée dans 38.7% des cas : 89 FCS sur les 230 analysées.

La technique de FISH interphasique, sur coupes de villosités chorales, permet de diagnostiquer de façon fiable les anomalies chromosomiques les plus fréquentes des produits de FCS du 1^{er} trimestre. La recherche des principales anomalies chromosomiques à l'origine des FCS du premier trimestre pourrait donc être effectuée sur une seule lame en utilisant des fluorochromes différents pour chaque chromosome 16, X et Y.

361 >> Poster n°35**FÆTOPATHOLOGIE ET DIAGNOSTIC PRÉNATAL****LES MÔLES HYDATIFORMES ET LES CANCERS POST-MOLAIRE. UN MODÈLE POUR L'ÉTUDE DU PHÉNOMÈNE "D'EMPREINTES PARENTALES"**

P. Coullin (1), O. El-Maarri (2), Y. Bou Moglabey (2), M. del Mar Inda (1), H. Poaty (1), A. Bernheim (1), R. Slim (2)

(1) UMR 8125, IGR, Villejuif

(2) Université McGill, Montréal, Canada

Les môles hydatiformes complètes sont des conceptions humaines caractérisées par l'absence d'embryon et la dégénérescence villoseuse du placenta. Dans 80 % des cas, l'origine des chromosomes de la môle est exclusivement paternelle (androgénèse). Il est raisonnable de penser que le développement complètement anarchique du conceptus est la conséquence du phénomène de l'empreinte parentale poussée ici à son extrême. Pourtant, pour les 20 % des cas restant, la contribution chromosomique est normalement biparentale.

Nous avons étudié le profil de méthylation pour 4 gènes soumis à empreinte parentale sur une série de Môles "androgéniques" et "bi-parentales". Les gènes à "expression paternelle" et "maternelle" ont respectivement été observés hypo et hyper-méthylés. Bien que le phénomène soit un peu plus modulé pour les môles "bi-parentales", on peut pour cette dernière catégorie, faire l'hypothèse d'erreurs importantes dans la programmation de la méthylation-déméthylation durant la gaméto-genèse ou durant le développement post-zygotique précoce. (Éventuellement transmise dans les très rares cas de môles "familiales").

Les môles peuvent provoquer un choriocarcinome susceptible de donner des métastases entraînant le décès de la patiente. L'analyse cytogénétique par CGH d'un cas de métastases vaginales d'un choriocarcinome post molaire, contrairement à ce qui est généralement observé avec les tumeurs solides, n'a pas mis en évidence d'anomalies chromosomiques. Ce résultat très préliminaire pourrait suggérer, s'il est confirmé, que le problème d'empreintes pourrait être le seul "moteur" pour certains de ces cancers greffés ?

364 >> Poster n°36**FŒTOPATHOLOGIE ET DIAGNOSTIC PRÉNATAL****UNE CAUSE INHABITUELLE D'HYDROCÉPHALIE ANTÉNATALE: L'HAMARTOME GLIONEURONAL DE L'AQUEDUC DE SYLVIUS**

P. Marcorelles (1), C. Fallet Bianco (2), P. Parent (3), G. Labadie (4), A. Laquerrière (5)

(1) Anatomie Pathologique, Hôpital Morvan, CHU, Brest

(2) Anatomie Pathologique, Hôpital Sainte Anne, Paris

(3) Unité de Génétique, Hôpital Morvan, CHU, Brest

(4) Hôpital du Belvédère, Gynécologie Obstétrique, Mont Saint Aignan

(5) Anatomie Pathologique, CHU, Rouen

Les hydrocéphalies liées à une sténose de l'aqueduc de Sylvius sont classées en primitives (liées à l'X, atrésies, septa) et secondaires (infections, hémorragies, gliose, tumeurs). Il est ici rapporté 3 observations d'hydrocéphalie évolutive et sévère de découverte anténatale, dont 2 apparemment sporadiques, et la troisième familiale (4 enfants atteints dans une même fratrie).

L'examen macroscopique ne retrouve ni dysmorphie cranio-faciale, ni pouces adductus, ni malformation viscérale. L'examen du cerveau met en évidence une dilatation triventriculaire importante, et une sténose serrée de l'aqueduc. L'examen histologique révèle un volumineux nodule hypercellulaire constitué de cellules neuroépithéliales immatures, associées à quelques éléments gliaux, comprimant et obstruant partiellement l'aqueduc. Les immunomarquages confirment la nature glioneuronale de la lésion et son caractère proliférant. Il n'y a pas d'argument immunohistochimique suggérant un processus malformatif développé aux dépens de l'organe sous-commissural.

Les lésions tumorales et pseudotumorales de l'aqueduc décrites dans la littérature sont des astrocytomes, oligodendrogliomes, épendymomes, et subépendymomes. Ces lésions sont parfois décrites dans le cadre d'une NF1. A notre connaissance, aucun cas anténatal n'a été signalé, qu'il soit sporadique ou familial. Devant une telle pathologie, il convient donc, lors du conseil génétique, de s'assurer qu'il n'existe pas de contexte familial de phacomatose.

399**FŒTOPATHOLOGIE ET DIAGNOSTIC PRÉNATAL****RESTES NEPHROGÉNIQUES PSEUDOTUMORAUX DÉVELOPPÉS DANS LA PAROI COLIQUE CHEZ UN FŒTUS ATTEINT D'UNE REGRESSION CAUDALE**

MT. Yacoubi, M. Mokni, S. Korbi

Service d'anatomie pathologique, Hôpital F. Hached, Sousse

Les restes néphrogéniques hétérotopiques localisés dans la paroi colique est une éventualité rare, 5 cas seulement ont été décrits dans la littérature

Nous rapportons un cas de restes néphrogéniques d'allure pseudotumorale développé dans la paroi du colon chez un fœtus à terme (38 semaines) atteint d'une séquence de regression caudale.

La lésion était localisée au niveau du colon transverse sous forme d'une lésion polypoïde réalisant un aspect en grappe de raisin, obstruant quasi-totalement la lumière et occasionnant une dilatation colique en amont. Histologiquement, elle est faite par du tissu blastématique immature associé à des glomérules et des tubes matures et

immatures.

L'association de cette anomalie avec une séquence de regression caudale ou avec une association VACTERL pourrait avoir un lien pathogénique et pourrait théoriquement faire le terrain du développement d'une tumeur de Wilms extra-rénale.

402**FŒTOPATHOLOGIE ET DIAGNOSTIC PRÉNATAL****SYNDROME DE WALKER-WARBURG ET ANOMALIES TESTICULAIRES**

M. Joubert (1), F. Jossic (1), A. David (2), MP. Quere (3), O. Jourdan (4), C. Fallet (5)

(1) Service d'Anatomie Pathologique A, CHU Hôtel Dieu, Nantes

(2) Service de Génétique Médicale, CHU Hôtel Dieu, Nantes

(3) Service de Radiologie Pédiatrique, CHU Hôtel Dieu, Nantes

(4) Centre de Radiologie, Polyclinique de l'Atlantique, Saint-Herblain

(5) Service d'Anatomie Pathologique, CH Sainte-Anne, Paris

Patiente de 33 ans présentant une union consanguine.

L'échographie de 21 SA montre une hydrocéphalie tétraventriculaire avec des ventricules latéraux à 20 mm dans la région des carrefours et un 3^{ème} ventricule à 9,5mm.

L'IMG réalisée à 22 SA met en évidence des lésions cérébrales tout à fait caractéristiques d'une lissencéphalie de type Cobblestone ou syndrome de Walker Warburg (WWS).

L'examen microscopique testiculaire montre une dysplasie gonadoblastoïde diffuse bilatérale.

Des lésions testiculaires sont quelquefois rapportées dans le WWS mais il s'agit surtout de micropénis et cryptorchidie avec parfois à l'examen histologique anomalie de la différenciation.

La dysgénésie gonadoblastoïde testiculaire n'a été qu'exceptionnellement décrite en anténatal, dans un contexte polymalformatif ou avec une "apparente spécificité" pour le WWS. Des mutations au niveau du gène POMT1 ont récemment été décrites comme étant responsables d'un certain nombre de WWS. L'expression de ce gène au niveau de l'organisme est ubiquitaire mais affecte surtout le cerveau fœtal, le muscle squelettique et cardiaque, et les testicules.

404**FŒTOPATHOLOGIE ET DIAGNOSTIC PRÉNATAL****LESION SPLENIQUE DANS LA SCLÉROSE TUBÉREUSE DE BOURNEVILLE . ETUDE MORPHOLOGIQUE ET IMMUNOHISTOCHEMIQUE**

MT. Yacoubi, A. Soua, M. Mokni, S. Korbi

Service d'anatomie pathologique, Hôpital F. Hached, Sousse

La sclérose tubéreuse est une affection neuro-cutanée transmise selon le mode autosomique dominant. Elle se caractérise par une atteinte cutanée associée à une atteinte multiviscérale essentiellement nerveuse, cardiaque, rénale, hépatique et pancréatique. La localisation splénique est exceptionnelle, décrite la première fois en 1961 par MORALES et depuis 8 cas ont été rapportés.

Nous en rapportons une nouvelle observation. Les lésions spléniques étaient de découverte histologique chez un nouveau-né de sexe masculin, issu d'une grossesse à terme et qui présentait un tableau de sclérose tubéreuse. Ces lésions correspondaient à des amas de cellules de grandes

tailles dite "histiocytoides".

Nous discutons à travers cette observation, les caractéristiques anatomopathologiques, immunohistochimiques, et ultrastructurales des lésions spléniques en les comparant aux cellules retrouvées au niveau du cerveau et qui sont semblables morphologiquement aux cellules retrouvées au niveau de la rate.

407

FŒTOPATHOLOGIE ET DIAGNOSTIC PRÉNATAL

D'UNE MÉGAVESSIE PRÉCOCE À UNE ANOMALIE COMPLEXE DU PÔLE CAUDAL TARDIVE

D. Morin

Service d'Echographie, Centre Hospitalier de Château-Gontier

Mégavessie à 11 SA. Caryotype 46XY.

Régression puis ré-augmentation du volume de la vessie associée à une dilatation du bassin droit, faisant évoquer une uropathie à 21 SA. Surveillance échographique, à 27 SA : visualisation d'une dilatation digestive associée. IRM et contenu utérin à 29 SA mettant en évidence une malformation ano-rectale haute avec agénésie sacrée, moelle bas insérée et anomalies urinaires. IMG à 31 SA. Examen fœto-pathologique confirmant les malformations diagnostiquées en prénatal, avec un colon très court et une masse présacrée faisant évoquer un syndrome de CURRARINO. Masse non organisée à l'histologie : plutôt syndrome apparenté. Enquête familiale en cours, car maladie familiale dans la moitié des cas, à transmission autosomique dominante et gène identifié.

424 >> Poster n°37

FŒTOPATHOLOGIE ET DIAGNOSTIC PRÉNATAL

ETUDE PROSPECTIVE DU DEVENIR DES FŒTUS PORTEURS D'HYGROMA COLLI VUS AU CENTRE DE DIAGNOSTIC PRÉNATAL DU CHU D'AMIENS ENTRE AVRIL 1993 ET DÉCEMBRE 2002

G. Morin, E. Beauville, M. Mathieu, P. Naepels, C. Vergne, Y. Maingourd, E. Bourges-Petit, S. Najas, F. Thépot, J.C. Boulanger, J. Gondry

Centre de Diagnostic Prénatal, CHU, Amiens

L'hygroma colli est généralement repéré à l'échographie du premier trimestre. Ce défaut de connexion du réseau lymphatique foetal entraîne la constitution d'une masse cervicale hypoéchogène, supérieure à 3 mm dans son plus grand axe et séparée par au moins un cloison.

Entre avril 1993 et décembre 2002, 108 patientes ont été adressées dans notre Centre pour hygroma colli. Une patiente a été exclue car l'hygroma mesurait 2.8 mm. 106/107 ont bénéficié d'un caryotype fœtal, initialement par biopsie de trophoblaste, +/- confirmé par amniocentèse.

56/107 avaient un caryotype anormal : 21 syndromes de Turner, 12 trisomies 21, 11 trisomies 18, 6 triploïdies, 4 trisomies 13, 1 syndrome de Klinefelter, 1 monosomie 7q. Toutes ces grossesses ont été interrompues.

50/107 avaient un caryotype normal :

- 4 grossesses ont été interrompues volontairement.
- 8 ont été interrompues pour raison médicale : 1 anasarque,

1 coelosomie antérieure, 1 hernie diaphragmatique, 1 achondrogénèse, 1 nanisme thanatophore, 1 syndrome de Nager., 1 rupture prématurissime des membranes, 1 syndrome cérébro-costomandibulaire.

- 3 fœtus sont morts précocement in utero.

- 9 fœtus sont décédés en période néonatale dont 3 prématurés : 1 rupture prématurée des membranes, 2 hernies diaphragmatiques, 1 myocardiopathie sévère, 2 cardiopathies, 1 inhalation méconiale, 1 issu de parents consanguins ayant perdu dans les mêmes circonstances un autre enfant, 1 circulaire serrée.

- 26 enfants sont vivants : 22 ont un examen normal ; 1 présente un syndrome branchio-oto-rénal ; 2 ont un syndrome de Noonan ; 1 a un retard de langage.

441 >> Poster n°38

FŒTOPATHOLOGIE ET DIAGNOSTIC PRÉNATAL

DIAGNOSTIC DE L'HYDROCÉPHALIE LIÉE À L'X : DES CRITÈRES MORPHOLOGIQUES AU DIAGNOSTIC MOLÉCULAIRE

A. Laquerrière (1), N. Drouot (2), F. Encha-Razavi (3), C. Fallet-Bianco (4), P. Marcorelles (5), T. Frébourg (2), P. Saugier-Verber (2)

(1) Laboratoire d'Anatomie Pathologique, CHU de Rouen

(2) Service de Génétique, CHU de Rouen

(3) Département de Génétique, Hôpital Necker - Enfants Malades, Paris

(4) Laboratoire d'Anatomie Pathologique, Hôpital Sainte-Anne, Paris

(5) Laboratoire d'Anatomie Pathologique, CHU de Brest

L'hydrocéphalie liée à l'X (MIM 307000) représente près de 25% des causes de dilatation ventriculaire chez le garçon (hors anomalies de fermeture du tube neural). Elle résulte de mutations du gène L1CAM localisé en Xq28. De manière à définir les éléments anatomo-cliniques les plus pertinents pour décider du criblage de ce gène, nous avons repris les dossiers de 65 fœtus pour lesquels un criblage du gène L1CAM a été effectué entre 1996 et 2002. Nous avons comparé les éléments anatomo-cliniques du groupe des fœtus avec une mutation L1CAM (38 fœtus appartenant à 32 familles) avec le groupe sans mutation L1CAM (27 fœtus). Cette étude souligne la pertinence de quatre éléments anatomo-cliniques : 1) la dysgénésie du corps calleux (100 % L1CAM+ versus 29 % L1CAM-); 2) l'agénésie des pyramides bulbaires (93 % L1CAM+ versus 25 % L1CAM-); 3) l'existence de pouces adductus (88 % L1CAM+ versus 52 % L1CAM-); 4) la sténose de l'aqueduc de Sylvius (86 % L1CAM+ versus 44 % L1CAM-). Ainsi, la découverte d'une dilatation ventriculaire chez un fœtus de sexe masculin doit impérativement faire rechercher une anomalie du corps calleux et une agénésie des pyramides bulbaires, que l'aqueduc de Sylvius soit ou non sténosé, et vérifier l'absence de malformations viscérales et oculaires. Cette association implique la recherche d'une mutation du gène L1CAM. Son identification permet la prise en charge génétique de la famille : détermination du statut de conductrice de la mère et réalisation de diagnostics prénatals précoces ultérieurs.

450

FÆTOPATHOLOGIE ET DIAGNOSTIC PRÉNATAL**SYNDROME POLYMALFORMATIF AVEC PIED EN MIROIR UNILATÉRAL CHEZ UN FÆTUS DE 29 SA**

C. de La Rochebrochard (1), A. Goldenberg (1), C. Michel-Adde (1), G. Joly-Helas (2), D. Eurin (3), AL. Delezoïde (4), T. Frebourg (1), A. Laquerrière (5)

(1) Service de Génétique, CHU de Rouen

(2) Laboratoire d'Histologie, Cytogénétique et Biologie de la Reproduction, CHU de Rouen

(3) Service de Radiologie Pédiatrique, CHU de Rouen

(4) Laboratoire d'Anatomie Pathologique, Hôpital Robert Debré, Paris

(5) Laboratoire d'Anatomie Pathologique, CHU de Rouen

Nous rapportons l'observation d'un fœtus présentant un syndrome polymalformatif révélé à 28SA par un anamnios. L'examen fœto-pathologique a montré une agénésie rénale bilatérale et vésicale et a mis en évidence une phocomélie du membre inférieur gauche avec un pied en miroir. Au pôle caudal, il existait une malformation génitale complexe (organes génitaux externes indifférenciés, absence de vagin et d'utérus, gonade unique de type ovarien, et canaux de Müller présents), une imperforation anale et une agénésie sacro-coccygienne. D'autre part, une atrésie de l'œsophage, une communication inter-auriculaire et un myocarde hypertrophique ont été notés. La dysmorphie était évocatrice d'un syndrome de Potter. Le caryotype sur fibroblastes était normal (46,XX) ainsi que l'hybridation in situ en 7q36 et les caryotypes parentaux. L'anamnèse familiale était sans particularité et il n'y avait pas d'argument pour un diabète gestationnel. Les radiographies du bassin et les échographies rénales des parents étaient normales. Ce tableau polymalformatif associant anomalies du pôle caudal, du tractus digestif haut et des extrémités peut s'intégrer dans le spectre VACTERL. Il nous semble cependant que les anomalies génitales complexes et le pied en miroir sont inhabituels. Le pied en miroir est une affection rare, le plus souvent bilatérale et symétrique, atteignant les 4 membres, parfois décrit dans le cadre d'un syndrome polymalformatif mais aucune anomalie du pôle caudal associée n'a été rapportée. La présence d'un pied en miroir unilatéral chez ce fœtus fait discuter l'implication d'un gène de polarisation des bourgeons de membres en particulier de la famille des gènes homéotiques.

451

FÆTOPATHOLOGIE ET DIAGNOSTIC PRÉNATAL**DIAGNOSTIC PRÉNATAL D'UN SYNDROME DE PRADER-WILLI PAR DISOMIE UNIPARENTALE MATERNELLE DU CHROMOSOME 15**

S. Brisset (1), A. Coulomb L'Herminé (2), A. Aboura (1), L. Cuisset (3), V. Castaigne (4), P. Labrune (5), R. Frydman (4), G. Tachdjian (1)

(1) Laboratoire de Cytogénétique, Hôpital Antoine Bécclère, AP-HP, Clamart

(2) Service d'Anatomie Pathologique, Hôpital Antoine Bécclère, AP-HP, Clamart

(3) Service de Génétique Moléculaire, Hôpital Cochin, AP-HP, Paris

(4) Service de Gynécologie Obstétrique, Hôpital Antoine Bécclère, AP-HP, Clamart

(5) Pédiatrie et Génétique Médicale, Hôpital Antoine Bécclère, AP-HP, Clamart

Le syndrome de Prader-Willi (PWS) résulte soit d'une délétion paternelle de la région 15q11-q13, soit d'une

disomie uniparentale (DUP) maternelle du chromosome 15 ou exceptionnellement d'une mutation du centre de l'empreinte. La recherche de ce syndrome en prénatal est indiquée en présence d'une translocation parentale impliquant le chromosome 15 ou devant une diminution des mouvements actifs fœtaux. Nous rapportons ici le diagnostic prénatal d'un syndrome de Prader-Willi découvert au premier trimestre de grossesse ainsi que l'examen fœtopathologique. Un prélèvement de villosités choriales a été effectué à 13 semaines d'aménorrhée (SA) pour âge maternel. Le caryotype réalisé a mis en évidence une trisomie 15 en mosaïque. Un contrôle du caryotype fœtal, effectué sur liquide amniotique à 17 SA, a montré un caryotype masculin sans anomalie. Une analyse en biologie moléculaire a mis en évidence une DUP maternelle du chromosome 15. L'analyse des marqueurs microsatellites du chromosome 15 est en faveur d'une non-disjonction maternelle en méiose I (zygote trisomique 15) suivie de la perte du chromosome 15 paternel. L'échographie a décelé une dilatation des ventricules cérébraux ainsi qu'un hypogénitalisme sans retard de croissance associé. Après un conseil génétique, une interruption de grossesse a été réalisée à 25 SA. L'autopsie a montré un fœtus de sexe masculin eutrophe présentant une dysmorphie faciale, un hypogénitalisme, une malposition des pieds et une hypoplasie postérieure du corps calleux. Ces résultats suggèrent que la DUP du chromosome 15 devrait être recherchée chez des fœtus présentant une ambiguïté sexuelle et des anomalies cérébrales associées à un caryotype normal.

460 >> Poster n°39

FÆTOPATHOLOGIE ET DIAGNOSTIC PRÉNATAL**DIAGNOSTIC PRÉNATAL D'UNE TRISOMIE PARTIELLE PURE 17P13 : À PROPOS D'UN CAS**

F. Mugneret (1), P. Callier (1), N. Marle (1), L. Faivre (1), N. Laurent (2), C. Thauvin (1), V. Cusin (1), S. De Gea (3), T. Rousseau (3)

(1) Département de Génétique

(2) Anatomopathologie

(3) Clinique Gynécologique et Obstétricale

CHU Le Bocage, Dijon

Les cas de trisomie 17p pure sont rares. Nous rapportons l'observation d'un fœtus pour lequel un caryotype sur liquide amniotique a été réalisé après découverte échographique (25 semaines d'aménorrhée) d'une dilatation pyelo-calicielle majeure bilatérale, des pieds bots bilatéraux et un corps calleux non visible. Une amniocentèse est réalisée et le caryotype révèle la formule chromosomique : 46,XY,add(17)(pter). L'hybridation in situ sur des préparations métaphasiques du fœtus à l'aide de peinture du chromosome 17 a montré qu'il était constitué uniquement de matériel du chromosome 17. L'étude FISH à l'aide de la sonde subtélomérique de la région 17pter et de la sonde spécifique de la région Miller Dieker (17p13.3) ont montré une duplication de ces deux régions. Les techniques hautes résolutions ont permis de définir plus précisément la duplication de la bande 17p13 (17p13.1, 17p13.2 et 17p13.3). Il s'agit donc d'une trisomie par duplication directe. Les parents se sont opposés à la réalisation de leur caryotype.

Une interruption de médicale de grossesse est réalisée à 32 SA.

A l'examen fœtopathologique, le fœtus de sexe masculin, présente une microcéphalie avec une dysmorphie faciale comportant un hypertélorisme majeur, un front fuyant avec

profil plat, des oreilles basses orientées vers l'arrière, des pouces adductus bilatéraux, des pieds bots bilatéraux, un micropénis.

A la lumière des quelques rares cas publiés qui sont majoritairement des translocations déséquilibrées et de notre observation nous établirons le phénotype de la trisomie 17p13 et réaffirmerons la difficulté du diagnostic des réarrangements chromosomiques de petite taille sur des métaphases de liquide amniotique.

462 >> Poster n°40

FŒTOPATHOLOGIE ET DIAGNOSTIC PRÉNATAL

SYNDROMES RÉCURRENTS LÉTAUX EN FŒTOPATHOLOGIE

F. Ménez (1), MC. Dauge (2), Y. Hutten (1), C. Baumann (3), C. Garel (4), R. Guilherme (1), AL. Delezoide (1)

(1) Service de Biologie du Développement, Hôpital Robert Debré, Paris

(3) Génétique Médicale, Hôpital Robert Debré, Paris

(4) Radiologie Pédiatrique, Hôpital Robert Debré, Paris

(2) Service d'Anatomie Pathologique, Hôpital Bichat, AP-HP, Paris

Nous décrivons deux syndromes polymalformatifs différents, à caryotype normal, observés au Centre Pluridisciplinaire de Diagnostic Prénatal de l'Hôpital Robert Debré à Paris (Pr JF Oury) dans deux familles non consanguines. Chacun a fait l'objet d'une récurrence lors de deux grossesses successives, et n'a pu être rapporté à une entité connue.

Le premier concerne une famille d'origine chinoise qui a perdu un premier enfant à la naissance dans un contexte de "petite tête et ambiguïté sexuelle", et a une petite fille normale. 2 IMG consécutives ont été pratiquées à 28 et 19SA sur deux garçons porteurs d'une microcéphalie. L'examen fœtopathologique a précisé les caractères de la micrencéphalie, et montré un micropénis, une synostose radio-humérale bilatérale, et des anomalies des extrémités (brachyphalangies). L'un des fœtus présente également une fente labio-gingivo-palatine. L'histoire familiale suggère une hérédité récessive, autosomique ou liée à l'X.

Dans la deuxième famille, la patiente, après deux fausses couches précoces, subit une première IMG à 20SA pour hydrocéphalie majeure avec agénésie du corps calleux. Le fœtus, de sexe masculin présente en outre une scoliose en rapport avec 3 héli-vertèbres dorsales. La grossesse suivante est marquée par la récurrence de la dilatation ventriculaire, dans un contexte d'anamnios. L'IMG est pratiquée à 24 SA sur une petite fille qui présente une micrencéphalie globale avec malformation cérébrale complexe, des anomalies vertébro-costales entraînant une scoliose, l'agénésie des deux reins et de l'utérus.

Ces deux observations confirment que la pratique croissante de la fœtopathologie permet l'identification de nouveaux syndromes probablement méconnus jusqu'alors car létaux.

468 >> Poster n°41

FŒTOPATHOLOGIE ET DIAGNOSTIC PRÉNATAL

RÉCURRENCE D'UN NANISME LÉTAL DE TYPE HYPOPHOSPHATASIE PROBABLE, AVEC PRÉSENCE DE SPICULES OSSEUSES MÉTAPHYSAIRES.

M. Sinico (1), F. Encha-Razavi (1), C. Touboul (2), B. Haddad (2), JM. Levillant (2), A. Vergnaud (2), M. Le Merrer (3), M. Gerard-Blanluet (4)

(1) Service de Foetopathologie, CHIC, Créteil

(2) Service d'Obstétrique, CHIC, Créteil

(3) Département de Génétique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris

(4) Consultation de Génétique, Néonatalogie, CHIC, Créteil

L'hypophosphatasie est une dysplasie osseuse récessive, allant du nanisme prénatal léthal à une révélation chez l'adulte. Les caractéristiques de la forme sévère sont l'insuffisance d'ossification des os longs, avec un aspect bifide des diaphyses, des vertèbres à peine ossifiées, des clavicules et des côtes filiformes.

Une jeune femme est adressée pour récurrence d'un nanisme sévère. Les parents sont non apparentés. Une première grossesse avait montré un nanisme sévère, à 25 SA, avec des os longs << 1°P. L'examen post-IMG retrouvait des côtes courtes, un défaut d'ossification du rachis lombaire, et une incurvation des os longs. Pour cette nouvelle grossesse, à 12 SA, l'échographie montre une nuque normale (1,4 mm), et des os longs < 1°P, faisant évoquer une récurrence. L'anomalie osseuse confirmée, une IMG est proposée et acceptée. L'examen retrouve un fœtus avec des anomalies osseuses majeures. Les fémurs sont courts et angulés, avec excroissances osseuses (spicules), épidermisées, développées au dépend du tibia et péroné, courts et angulés également. La radio montre des diaphyses fines, d'aspect irrégulier, avec bifidité aux extrémités, et défaut d'ossification vertébrale.

La présence d'exostoses osseuses dans l'hypophosphatasie sévère létale a déjà été décrite (Kozlowski, 1976 ; Shohat, 1991 ; Vandevijver, 1998). Ces exostoses, localisées dans la partie médiane des membres inférieurs, sont très caractéristiques de la maladie, dans sa forme sévère. Dans cette récurrence familiale, le premier enfant montrait des anomalies osseuses compatibles avec une Atéléostéogenèse de type II, et la présentation clinique du deuxième enfant a permis de conclure à une hypophosphatasie létale.

493 >> Poster n°42

FŒTOPATHOLOGIE ET DIAGNOSTIC PRÉNATAL

MANIFESTATIONS INHABITUELLES DU SYNDROME DE SMITH-LEMLI-OPITZ : À PROPOS DE DEUX OBSERVATIONS

A. Bazin (1), J. Martinovic (1), MC. Aubry (2), C. Fallet-Bianco (3), A. Coffineau (4), B. Hermelin (5), C. Wolf (5), F. Chevy (5), M. Gonzales (6), MB. Leger-Ravet (6), JP. Aubry (2), L. Fermont (7), T. Harvey (8), L. Druart (9)

(1) Unité de Foeto-pathologie, Service d'Anatomie Pathologique, Laboratoire Pasteur Cerba, St Ouen l'Aumône

(2) Cabinet d'Echographie, Paris

(3) Service d'Anatomie-Pathologique, Hôpital Sainte-Anne, Paris

(4) Clinique du Parisis, Cormeilles en Parisis

(5) Laboratoire de Biologie Cellulaire et Moléculaire, Hôpital Saint-Antoine, Paris

(6) Laboratoire d'Embryologie Pathologique et de Cytogénétique, Hôpital Saint-Antoine, Paris

(7) Institut de Puériculture, Paris

(8) Maternité des Diaconesses, Paris

(9) Département de Cytogénétique, Laboratoire L.C.L., Paris

(10) Service d'Histo-Embryologie et de Cytogénétique, Hôpital Necker, Paris

Le Syndrome de Smith-Lemli-Opitz (SLO), récessif autosomique, est caractérisé par un RCIU, une dysmorphie craniofaciale, une hexadactylie post-axiale, une syndactylie des 2^e et 3^e orteils, une ambiguïté sexuelle chez les garçons et des malformations viscérales variées. Le SLO est

secondaire à un déficit de la biosynthèse de cholestérol dont les bases moléculaires sont identifiées.

La première observation concerne la troisième grossesse d'un couple jeune non apparenté. L'échographie morphologique difficile en raison d'un anamnios met en évidence un RCIU, une CIV et une polydactylie post-axiale. Le caryotype est masculin normal. L'examen fœtopathologique retrouve outre les malformations déjà citées, une dysmorphie faciale, des anomalies rénales, cérébrales et des anomalies squelettiques : micromélie sévère et asymétrique des membres supérieurs avec quasi agénésie du cubitus gauche, et des hémivertèbres lombosacrées.

Le deuxième fœtus est issu d'un couple non apparenté. L'échographie de 11 SA et 2j note une clarté nucale à 3,2 mm. L'échographie morphologique techniquement difficile constate un RCIU, une hexadactylie, un excès de liquide amniotique et un CAV. L'autopsie fœtale décrit de plus une dysmorphie faciale, des petits reins, des gonades d'aspect testiculaire contrastant avec des OGE féminins et un hamartome de l'hypothalamus.

Pour les deux fœtus, le diagnostic de SLO est confirmé par l'étude du cholestérol et par la biologie moléculaire sur les tissus fœtaux.

Ces manifestations inhabituelles auraient pu faire récuser le diagnostic de SLO pour le premier cas et en imposer pour un syndrome de Pallister-Hall pour le deuxième.

496 >> Poster n°43

FŒTOPATHOLOGIE ET DIAGNOSTIC PRÉNATAL

ETUDE D'UN GÈNE CANDIDAT DANS LE SYNDROME "TÉTRA-AMÉLIE ET HYPOPLASIE PULMONAIRE"

S. Julia (1), S. Sigaudy (2), A. Liprandy (3), R. Bernard (4), C. Chaud (5), C. Fredouille (3), N. Levy (4), N. Philip (2)

(1) Service de génétique médicale, Hôpital Purpan, Toulouse

(2) Département de génétique, Hôpital d'Enfants de la Timone Marseille

(3) Laboratoire d'anatomopathologie, Hôpital de la Timone Marseille

(4) Laboratoire de génétique moléculaire, Département Génétique Médicale, Hôpital d'Enfants de la Timone, Marseille

(5) Département Obstétrique, Hôpital Nord Marseille

L'embryologie des membres a bénéficié des avancées de la génétique, permettant d'identifier les bases moléculaires de syndromes comportant une atteinte des membres. L'amélie est un défaut du développement exceptionnel, caractérisé par l'absence complète d'un ou plusieurs membres, présentant une grande variabilité clinique et génétique.

Nous rapportons l'observation de deux fœtus d'un couple consanguin atteints d'un syndrome associant une tétra-amélie à une aplasie pulmonaire.

Cette association malformative a déjà été rapportée sous le nom de : "Tetra-amelia with pulmonary hypoplasia" (OMIM273395).

L'étude de la littérature sur les gènes impliqués dans l'induction du bourgeon de membre et dans le développement pulmonaire, nous a conduit à sélectionner plusieurs gènes candidats. Le gène FGF10 joue un rôle crucial dans le développement du poumon et des bourgeons de membre. Chez la souris, l'inactivation de Fgf10 à l'état homozygote est responsable d'un tableau identique à celui du syndrome humain.

Nous avons testé l'implication potentielle de FGF10 dans le syndrome "tétra-amélie-hypoplasie pulmonaire", en effectuant un séquençage complet de la région codante du gène FGF10 sur du tissu provenant de l'un des fœtus.

Bien qu'apparaissant comme un candidat très probable, FGF10 n'a pu être impliqué dans la pathologie présentée par ce fœtus.

De manière intéressante, un phénotype identique est retrouvé chez des souris présentant une absence de l'isoforme Fgfr11b, le récepteur de FGF10. Nous projetons d'en réaliser l'étude dans cette famille.

499 >> Poster n°44

FŒTOPATHOLOGIE ET DIAGNOSTIC PRÉNATAL

GÉNOTYPAGE RHD FOETAL PAR ANALYSE DU SÉRUM MATERNEL: DEUX ANS D'EXPÉRIENCE.

J.M. Costa (1), A. Benachi (2), Y. Giovangrandi (3), P. Ernault (1), M. Olivi (1), E. Gautier (1)

(1) Centre de Diagnostic Prénatal, Hôpital Américain de Paris, Neuilly

(2) Maternité, Hôpital Necker Enfants-Malades, Paris

(3) Maternité, Hôpital Notre-Dame de Bon Secours, Paris

La récente découverte de l'ADN fœtal libre circulant dans le sang maternel offre la possibilité d'analyser certaines caractéristiques génétiques du fœtus sans avoir recours à un prélèvement invasif (villosités chorales, liquide amniotique ou sang fœtal).

Le gène RHD est normalement absent du génome des individus caucasiens de phénotype rhésus négatif; sa mise en évidence dans le sérum des femmes enceintes rhésus négatives permet donc de prédire le génotype RHD du fœtus.

Cette analyse a été proposée à 286 femmes enceintes rhésus-négatives (terme moyen: 15.2 semaines d'aménorrhée ; range 9-35). Pour trois d'entre elles, la détermination du génotype fœtal n'a pu être réalisée en raison de la mise en évidence du gène RHD au sein de leur génome (variant RHD à phénotype RhD-négatif).

Pour les autres, la détection de séquences RHD fœtales s'est avérée positive chez 178 (62.9%) patientes (fœtus RhD positive) et négative chez 105 (37.1%) autres (fœtus RhD négatif).

Le résultat obtenu par analyse du sérum maternel a pu être confirmé pour 256 patientes, soit par analyse de l'ADN fœtal des cellules amniotiques, soit par la détermination sérologique du groupe rhésus du nouveau-né. Aucun résultat faussement négatif, ni faussement positif n'a été observé à ce jour.

La possibilité de déterminer de manière non invasive le génotype RHD fœtal doit permettre une meilleure prise en charge des patientes rhésus-négatives et de mieux cibler la prophylaxie en injectant les immunoglobulines anti-D (produit dérivé du sang) uniquement aux patientes à risque d'immunisation c'est à dire celles dont le fœtus est rhésus-positif.

500 >> Poster n°45

FŒTOPATHOLOGIE ET DIAGNOSTIC PRÉNATAL

MÉTHODE DE STANDARDISATION DE LA QUANTIFICATION DE L'ADN FOETAL DANS LE SANG MATERNEL ET DÉPISTAGE DES ANOMALIES CHROMOSOMIQUES FOETALES : ÉTAPE PRÉLIMINAIRE À UNE ÉTUDE MULTICENTRIQUE

B. Ponsillé (1), Y. Berdah (1), F. Muller (2), F. Roux (3), M.P. Brechard

(4), H. Chaudet (5), J. Mancini (6), C. D'Ercole (7), L. Boubli (7), J. Gabert (1), A. Levy-Mozziconacci (1,7)

(1) Laboratoire de Biochimie et Biologie Moléculaire, CHU Nord, Marseille

(2) Laboratoire de Biochimie et Hormonologie, CHU R. Debré, Paris

(3) Service de Médecine nucléaire, CHU Timone Marseille

(4) Laboratoire de cytogénétique, Hôpital St Joseph, Marseille

(5) DIM Nord, CHU Nord, Marseille

(6) DIM Hopitaux Sud, CHU Marseille

(7) Service de Gynécologie-Obstétrique, CHU Nord, Marseille

Le développement des techniques de PCR quantitative en temps réel (RQ-PCR) a permis de mettre en évidence la présence d'ADN fœtal libre dans le sang maternel. Des travaux récents ont avancés l'hypothèse d'un intérêt de son dosage dans le dépistage des anomalies chromosomiques. Malheureusement, compte tenu de la taille restreinte des séries publiées, de l'absence de standardisation de cette approche, les données de la littérature sont difficilement exploitables.

Afin de développer des études multicentriques indispensables à l'évaluation de l'intérêt clinique de ce dosage, nous proposons une méthodologie de standardisation de la quantification de l'ADN libre maternel. Pour cela nous nous sommes appuyées sur une approche originale de calibration déjà développée dans notre laboratoire (Gabert J., oct 2003) qui consiste à fabriquer un plasmide contenant une quantité connue de la séquence du gène à quantifier. Chaque échantillon est comparé à une gamme de dilution obtenu à partir de la construction de ce plasmide. Deux plasmides ont été ainsi fabriqués : l'un contenant une séquence du gène de la beta-globine qui permet de quantifier l'ADN total et l'autre contenant une séquence du gène SRY (chromosome Y) et qui permet de quantifier l'ADN fœtal. L'utilisation de tels outils permet une reproductibilité des résultats et la possibilité d'être utilisés comme calibrateurs universels par des laboratoires partenaires dans le cadre d'un travail en réseau.

Nous rapportons l'analyse de 21 sérums et 8 plasmas de mère présentant un fœtus trisomique 21 réalisées entre 15 et 22 SA dans les conditions décrites.

503 >> Poster n°46

FŒTOPATHOLOGIE ET DIAGNOSTIC PRÉNATAL

ABSENCE DE MUTATION PONCTUELLE DU GÈNE PTPN11 (SYNDROME DE NOONAN) CHEZ 13 FOETUS À CLARTÉ NUCALE AUGMENTÉE

JM. Costa (1), A. Benachi (2), Y. Giovangrandi (3), T. Gaillon (1), E. Gautier (1), Y. Dumez (2), M. Vidaud (4)

(1) Centre de Diagnostic Prénatal, Hôpital Américain de Paris, Neuilly

(2) Maternité, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris

(3) Maternité, Hôpital Notre-Dame de Bon Secours, Paris

(4) Laboratoire de Génétique Moléculaire, Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de Paris, Paris

La mesure de la clarté nucale (CN) au premier trimestre de la grossesse (associée ou non à l'âge maternel et aux marqueurs sériques) est largement utilisée comme méthode de dépistage de trisomie 21 fœtale. Toutefois, ce signe échographique n'est pas spécifique et il peut également être associé à d'autres anomalies chromosomiques fœtales et à diverses anomalies génétiques. C'est ainsi que plusieurs cas de syndrome de Noonan (SN) sont rapportés dans la littérature chez des foetus présentant une CN anormale. Il a été récemment démontré qu'environ 50% des individus atteints de SN sont porteurs d'une mutation ponctuelle du

gène PTPN11. L'analyse des régions codantes du gène PTPN11 a donc été réalisée chez des foetus dont la clarté nucale mesurée au premier trimestre de la grossesse était supérieur à 4mm (range: 4-11) et dont le caryotype conventionnel réalisé à partir des villosités s'est avéré normal.

L'étude est réalisée à partir de l'ADN des villosités chorales par amplification génique des 15 exons codants et séquençage direct des produits de PCR. A ce jour, 13 foetus ont fait l'objet de cette étude et aucune mutation ponctuelle du gène PTPN11 n'a pu être identifiée.

516 >> Poster n°47

FŒTOPATHOLOGIE ET DIAGNOSTIC PRÉNATAL

DIAPHANOSPONDYLODYSOSTOSE : CONFIRMATION D'UNE AFFECTION RÉCESSIVE AVEC ANOMALIE DE L'OSSIFICATION DES VERTÈBRES ET NÉPHROBLASTOMATOSE

M. Gonzales (1), A. Verloes (2), R. Grigorescu (1), MH. Saint Frison (1), C. Perrotez (1), O. Bourdet (3), F. Encha-Razavi (4), N. Joyé (1), JL. Taillemite (1), R. Walbaum (5), R. Pfeiffer (6), P. Maroteaux (7)

(1) Service d'Embryologie Pathologique et de Cytogénétique, Hôpital Saint-Antoine, Paris

(2) Unité de Génétique Clinique, Hôpital Robert Debré, Paris

(3) Service de Gynécologie Obstétrique, CHG de Saint-Denis

(4) Unité de Pathologie Foetale et Placentaire, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris

(5) Service de Pédiatrie, Centre Hospitalier, Roubaix

(6) Institut für Humangenetik und Anthropologie, Erlangen

(7) Service de Génétique Médicale, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris

Nous rapportons les observations de 4 patients provenant de 3 familles présentant une absence d'ossification de tous les corps vertébraux. Nous proposons de nommer ce tableau caractéristique facilement repérable : diaphanospondylodysostose.

Les deux premières observations concernent des nouveau-nés frère et sœur nés d'un couple apparenté, décédés dans un tableau de détresse respiratoire aigüe. Les deux enfants ont un cou et un tronc courts et deux gros reins kystiques. Le garçon a de plus un spina bifida. L'autopsie des deux nouveau-nés confirme la présence de reins volumineux kystiques qui présentent à l'histologie des plages de néphroblastomatoses.

L'aspect radiologique est semblable : absence complète d'ossification des corps vertébraux et du sacrum, anarchie des pédicules, diminution du nombre de côtes. Les ailes iliaques s'élargissent dans leur partie supérieure et sont excessivement rapprochées. La disposition des branches ischio-pubiennes est rendue anormale par l'anteverision du bassin. Les os longs sont normaux.

Les cas 3 et 4 sont deux garçons nés de deux couples non apparentés, et décédés peu de temps après la naissance d'insuffisance respiratoire. L'examen radiologique est identique aux précédents

Le patient 3 a une fente palatine ; l'examen post-mortem du patient 4 ne retrouve pas d'autre anomalie que l'anomalie squelettique.

Ces quatre patients semblent être porteurs de la même dysostose vertébrale qui présente des analogies avec les observations rapportées par Bohring mais en diffère par l'extension de l'atteinte vertébrale, aussi elle nous paraît représenter une nouvelle dysostose avec une probable transmission récessive autosomique.

521 >> Poster n°48**FŒTOPATHOLOGIE ET DIAGNOSTIC PRÉNATAL****DIAGNOSTIC ANTENATAL DE MICROMÉLIE SÉVÈRE : CHONDRODYSPLASIE PONCTUÉE DE TYPE CONRAD-HÜNERMANN-HAPPLE**

C. Vibert-Guigue (1), C. Azemar (2), Y. Binder (3), L. Rigonnot (1), C. Sassooun (1), F. Encha-Razavi (4), B. Hermelin (5), F. Chevy (5*), C. Wolf (5*), H. Dessuant (6), J.L. Taillemite (7), N. Joyé (7), P. Vabres (8), M. Gonzales (7)

(1) Service de Gynécologie Obstétrique, CHR Sud Francilien d'Evry

(2) Cabinet d'échographie, Meaux

(3) Cabinet d'échographie, Villeparisis

(4) Unité de Pathologie Foetale et Placentaire, CHU Necker-Enfants Malades, Paris

(5) Laboratoire de Biologie Moléculaire, CHU Saint-Antoine, Paris

(*) Laboratoire de spectrométrie de masse, CHU Saint-Antoine, Paris

(6) Laboratoire Claude Lévy, Paris

(7) Laboratoire d'Embryologie Pathologique et de Cytogénétique, CHU Saint-Antoine, Paris

(8) Service de Dermatologie, CHU Poitiers

Il s'agit de la première grossesse d'un couple d'origine indienne non apparenté sans antécédent. La mère est âgée de 23 ans, le père de 32 ans. A l'échographie de 13 SA, la morphologie est normale, mais les fémurs sont courts. A 22 sa, la micromélie est globale et touche tous les os longs. L'échographie de référence confirme la micromélie sévère sans anomalie de forme des os longs. L'IMG demandée par les parents est acceptée par le Centre Multidisciplinaire de Diagnostic Prénatal.

L'examen fœtopathologique (clinique, radiologique, biochimique) ainsi que l'enquête familiale font évoquer chez ce fœtus de sexe féminin le diagnostic de chondrodysplasie ponctuée liée à l'X, CDPX2. L'étude moléculaire du fœtus et de sa mère confirment le diagnostic.

La chondrodysplasie ponctuée CDPX2 entraîne une anomalie du développement ostéocartilagineux. Elle est liée à une mutation du gène de la delta8-delta7 stérol isomérase entraînant une perturbation de la synthèse du cholestérol. Le diagnostic différentiel est celui des autres chondrodysplasies ponctuées.

GÉNÉTIQUE CHROMOSOMIQUE**8****GÉNÉTIQUE CHROMOSOMIQUE****ISOCHROMOSOME Xq IN A GIRL HAVING A DELAYED PUBERTY AND SHORT STATURE**

N. Bouayed Abdelmoula (1), A. Amouri (2), MF. Portnoï (3), T. Rebai (1)

(1) Laboratoire d'Histologie, Faculté de Médecine de Sfax, Tunisie

(2) Laboratoire de Cytogénétique, Institut Pasteur de Tunis, Tunisie

(3) Laboratoire de Cytogénétique, Hôpital Saint-Antoine de Paris

We determined isochromosome Xq karyotype in a 23-year-old female patient having delayed puberty and short stature. The diagnosis of Turner's syndrome was made later, based on the presence of the primary amenorrhea and additional features such as growth retardation (her height and weight were 134 cm and 37 kg, respectively) and unusual hormonal profile. She had high plasma gonadotropin and low ovarian hormone levels. The patient did not show other classical Turner's syndrome traits such as broad chest, neck webbing, low posterior hairline, renal and cardiovascular anomalies. Karyotypes in the peripheral blood cells were pure isochromosome Xq constitution; 46,X,i(Xq). FISH analyses of the structurally altered X chromosome were undertaken for further characterization.

9**GÉNÉTIQUE CHROMOSOMIQUE****TWO CASES OF CYTOGENETIC Y DELETIONS; CLASSICAL AND MOLECULAR CYTOGENETIC APPROACH**

N. Bouayed Abdelmoula (1), A. Amouri (2), MF. Portnoï (3), T. Boudawara (4), A. Bahloul (5), T. Rebai (1)

(1) Laboratoire d'Histologie, Faculté de Médecine de Sfax, Tunisie

(2) Laboratoire de Cytogénétique, Institut Pasteur de Tunis, Tunisie

(3) Laboratoire de Cytogénétique, Hôpital Saint-Antoine de Paris

(4) Laboratoire de Cytologie et d'Anatomopathologie, Hôpital Hbib Bourguiba de Sfax, Tunisie

(5) Service d'Urologie, Hôpital Hbib Bourguiba de Sfax, Tunisie

Two infertile men carrying an Yq deletion shown par conventional cytogenetic analysis were studied using classical and molecular cytogenetic techniques.

Case 1: a 38 year-old man requested cytogenetic analysis because of azoospermia.

Case 2: a 33 year-old man requested cytogenetic analysis because of oligospermia.

In the first patient cytogenetic analysis revealed a homogeneous karyotype 46,X, del(Yq) whereas in the second, there was a mosaicism 46,XY/46,X,del(Yq).

FISH using the following chromosome specific DNA probes was undertaken to characterize these two deleted Y chromosomes: the Y heterochromatin specific probe (DYZ1), the Y alphasatellite centromere specific probe (DYZ3), the X alphasatellite centromere specific probe (DXZ1) and others Y specific DNA probes.

Cytogenetic Y deletions will be discussed through these two cases and review of literature.

27 >> Poster n°49**GÉNÉTIQUE CHROMOSOMIQUE****RECHERCHE DE REMANIEMENTS SUBTÉLOMÉRIQUES PAR TECHNIQUE DE FISH CHEZ 91 PATIENTS AVEC RETARD MENTAL**

C. Le Caignec (1), M. Bocéno (1), S. Blesson (2), D. Martin (3), A. David (1), JM. Rival (1)

(1) Service de Génétique Médicale, CHU, Nantes

(2) Service de Génétique Médicale, CHU, Tours

(3) Laboratoire de Génétique, Centre Hospitalier, Le Mans

Les remaniements impliquant les parties terminales des chromosomes apparaissent comme une cause fréquente des retards mentaux modérés à sévères. Malgré les progrès récents de la cytogénétique et les nombreux examens réalisés, la grande majorité des retards mentaux demeurent inexpliqués. La disponibilité de l'ensemble des sondes spécifiques de chaque région subtélomérique permet actuellement l'étude par hybridation in situ en fluorescence des remaniements de petite taille indétectables par les techniques de cytogénétique classique.

Nous présentons ici les résultats d'une étude portant sur 91 patients présentant un retard mental modéré à sévère parfois associé à une ou plusieurs malformations. Un remaniement est mis en évidence chez 6 patients soit environ 6%, résultat en accord avec ceux de la littérature. Les anomalies identifiées sont les suivantes : une délétion 1p, une délétion 2q, une délétion 4p, une délétion 6p, une délétion 8p associée à une trisomie 4p et une délétion 13q.

61**GÉNÉTIQUE CHROMOSOMIQUE****RECHERCHE DE REMANIEMENTS SUBTÉLOMÉRIQUES CHEZ 28 PATIENTS LIBANAIS ATTEINTS DE RETARD MENTAL IDIOPATHIQUE PAR GÉNOTYPAGE DE MARQUEURS MICROSATELLITES FLUORESCENTS**

M. Souaid, E. Chouery, V. Delague, A. Megarbane

Unité de Génétique Médicale, Université Saint-Joseph, Faculté de Médecine, Beyrouth, Liban

Objectifs : Le RMI, qui désigne les cas de RM de cause inconnue, représente 40% des cas de retard mental. Plusieurs études ont montré la présence de remaniements sub-télomériques chez certains patients atteints de RMI. Nous avons donc recherché la présence de tels remaniements chez des patients libanais atteints de retard mental idiopathique (RMI). **Matériel et Méthodes** : En consultation de conseil génétique, nous avons identifié 38 enfants atteints de retard mental idiopathique (RMI), dont 23 garçons et 15 filles, appartenant à 28 familles non apparentées entre elles. Pour chaque patient, 85 marqueurs microsatellites fluorescents, localisés aux extrémités télomériques des chromosomes, ont été amplifiés, ainsi que chez les deux parents, selon la méthode décrite par Collea et al. (Eur J Hum Genet (2001) 9 :319-327). Les produits de PCR ont été séparés et analysés sur un séquenceur automatique ABI 377 (Applied Biosystems). **Résultats** : Dans notre étude, aucun remaniement subtélomérique n'a été observé. **Conclusion** : L'absence de remaniements télomériques dans notre étude peut résulter d'une part, de la petite taille de l'échantillon ; d'autre part, du fort taux de consanguinité dans la population libanaise (10-15%), qui favorise les pathologies à transmission récessive.

76 >> Poster n°50**GÉNÉTIQUE CHROMOSOMIQUE****CARACTÉRISATION CYTOGÉNÉTIQUE ET MOLÉCULAIRE D'UNE DÉLÉTION TERMINALE DU BRAS COURT DU CHROMOSOME 1 DE TRÈS PETITE TAILLE : À PROPOS D'UNE OBSERVATION**

T. Martin-Denavit (1,2), G. Theuil (1), A. Moncla (4), C. Charrin (1), M. Teyssier (1), A. Rafat (1), JP. Magaud (1), M. Till (1,3)

(1) Laboratoire de Génétique Chromosomique, Hôpital E. Herriot, Lyon

(2) Service de Génétique Clinique, Hôpital Hôtel Dieu, Lyon

(3) Unité de Génétique Clinique, Hôpital Debrousse, Lyon

(4) Département de Génétique Médicale, CHU Thimone-Enfants, Marseille

Le retard mental a une incidence de 2 à 3 % dans la population générale. Dans plus de 40% des cas, aucune cause n'est retrouvée à ce handicap. Six à 10% des patients porteurs de remaniements chromosomiques subtélomériques ont un retard mental.

Les délétions terminales du bras court du chromosome 1 sont l'un des remaniements chromosomiques subtélomériques les plus fréquents. Elles sont de taille variable de novo ou héritée résultant du déséquilibre d'une translocation parentale.

Le syndrome 1p36 associe une dysmorphie craniofaciale, un retard de croissance, une hypotonie, un retard mental le plus souvent sévère et des malformations (cardiaques mineures, épilepsie, dilatation ventriculaire, surdité neurosensorielle et/ou anomalies oculaires).

Nous présentons l'observation d'une petite fille née à terme (TN 46 cm, PN 2780 g, PC 31 cm). Le bilan à la naissance est normal. La grossesse s'est déroulée sans particularités. A 2 ans, on note une hypotrophie globale, une dysmorphie craniofaciale (microcéphalie, énoptalmie, fentes palpébrales petites) et un retard de langage. Le caryotype met en évidence une inversion paracentrique du bras court du chromosome 1 d'origine maternelle et en FISH une délétion de la région terminale à l'aide des sondes subtélomériques 1p (clone CB108/T7) (Vysis) et (QBiogen). La formule chromosomique s'écrit 46,XX, inv(1)(p31.1p37). ish inv(1)(p31.1p37)(tel 1p-).

Nous précisons la taille de la délétion à l'aide de marqueurs de type microsatellite de la région d'intérêt. Nous tentons d'établir des corrélations génotype-phénotype d'après les données de la littérature (Heilstedt et coll., 2003).

90 >> Poster n°51**GÉNÉTIQUE CHROMOSOMIQUE****DUPLICATION 17P11.2-RECOMBINAISON HOMOLOGUE RÉCIPROQUE À LA MICRODÉLÉTION DU SYNDROME DE SMITH-MAGENIS : HÉTÉROGÉNÉITÉ CLINIQUE ?**

M. Holder-Espinasse (1), O. Goze-Martineau (2), JM. Cuisset (2), L. Vallée (2), S. Manouvrier-Hanu (1), B. de Martinville (3)

(1) Service de génétique clinique, Lille

(2) Service de neurologie pédiatrique, Lille

(3) Laboratoire de génétique médicale, Lille

Les recombinaisons entre des séquences répétées à différents loci du génome peuvent être à l'origine de

nombreuses pathologies génétiques. Ainsi, des remaniements de la région 17p12 sont impliqués dans la neuropathie héréditaire sensible à la pression (HNPP-délétion), et de la maladie de Charcot-Marie-Tooth de type 1A (CMT1A-duplication homologue réciproque).

Le syndrome de Smith-Magenis (SMS) est lié à des délétions de taille variable du chromosome 17p11.2. S'y associe un retard des acquisitions, des troubles du comportement, une dysmorphie faciale et des anomalies des extrémités. La plus petite délétion identifiée correspond à une région contenant une vingtaine de gènes dont le gène RAI1, et des mutations de ce gène ont été retrouvées chez des patients ayant un phénotype SMS sans délétion 17p11.2. Ce gène pourrait intervenir dans la genèse des troubles du comportement et de la dysmorphie faciale du SMS.

La revue de la littérature fait état de 7 patients ayant des duplications de la région habituellement délétée dans le SMS, et présentant un retard mental de sévérité variable (7/7), une hyperactivité (6/7), une dysmorphie différente du SMS (2/7), et un retard statural (5/7). Nous rapportons l'observation d'une patiente ayant une duplication 17p11.2 de novo et un phénotype différent du SMS, avec une dysmorphie faciale discrète, des extrémités normales, aucun trouble du comportement ni du sommeil, et un retard des acquisitions modéré.

Le diagnostic cytogénétique de cette duplication est souvent fortuit compte tenu de l'absence de tableau clinique spécifique associé, mais il est complexe et nécessite l'utilisation d'une FISH interphasique sur noyaux.

92

GÉNÉTIQUE CHROMOSOMIQUE

ASSOCIATION TRISOMIE 13 PARTIELLE ET LEUCODYSTROPHIE

L. Ben Jemaa (1), R. Mrad (1), E. Chabchoub (1), F. Maazoul (1), F. Bahri (2), M. Fredj (2), A. Mrabet (2), H. Chaabouni (1)

(1) Service des maladies congénitales et héréditaires, EPS Charles Nicolle, Tunis, Tunisie

(2) Service de Neurologie, EPS Charles Nicolle, Tunis, Tunisie

La trisomie 13 est une anomalie rare (1/90000 naissances) avec une espérance de vie faible pour les trisomies complètes.

Nous décrivons le cas d'une petite fille âgée de 3 ans présentant une trisomie 13 partielle,

elle est issue d'une grossesse normale, la mère est âgée de 29 ans au moment de la conception, l'enquête familiale est négative.

Elle présente un retard psychomoteur sévère, des troubles du comportement, une dysmorphie faciale, une rétinite pigmentaire et à l'IRM une anomalie de signal de la substance blanche périventriculaire évoquant une leucodystrophie. Le dosage des aryl sulfatases A est normal. Le caryotype a montré une duplication 13(q21àqter) secondaire à une inversion paracentrique du chromosome 13 chez la mère : 46,XX inv(13)(q11q21).

Cette association leucodystrophie anomalie chromosomique a déjà été rapportée pour les chromosomes 11, 18 et 22.

Cette observation constitue la première association de leucodystrophie avec une anomalie du chromosome 13.

93 >> Poster n°52

GÉNÉTIQUE CHROMOSOMIQUE

SCREENING MULTITÉLOMÉRIQUE CHEZ LES PATIENTS AVEC RM/ACM : LES REMANIEMENTS CRYPTIQUES DU CHROMOSOME 1 SONT-ILS PLUS FRÉQUENTS QUE CEUX DES AUTRES CHROMOSOMES ?

M. Jamar (1), C. Herens (1), AC. Hellin (1), V. Augenbron (1), E. Scalais (2), N. Francotte (3), A. Verloes (4), G. Pierquin (1)

(1) Centre universitaire de génétique humaine, CHU Sart Tilman, Liège, Belgique

(2) Service de neurologie pédiatrique, Centre Hospitalier de Luxembourg, Luxembourg, Grand-Duché du Luxembourg

(3) Département de Pédiatrie, CHC Espérance, Montegnée, Belgique

(4) Unité de Génétique Clinique, Hôpital Robert Debré, Paris

Depuis 1998, nous pratiquons systématiquement un screening multitélomérique par FISH pour les patients sélectionnés selon les critères suivants : caryotype standard normal et 1) soit un retard mental (RM) familial ; 2) soit un RM + anomalies mineures ; 3) soit une association RM/ACM (Anomalies Congénitales Multiples).

A ce jour, plus de 450 patients ont été investigués ; 16 remaniements chromosomiques cryptiques ont été détectés, parmi lesquels cinq concernent le télomère du bras court et/ou du bras long du chromosome 1 : deux cas de délétion 1p36 de novo, un cas de trisomie 1qter par translocation déséquilibrée t(1;1)(p36;q42), un cas de délétion 1q44 (en cours d'exploration) et un cas de monosomie 1q44 associée à une trisomie 18 partielle par translocation tmat(1;18)(q44;p11.3). Nous présenterons une description clinique succincte des cinq cas ainsi qu'une revue bibliographique des anomalies cryptiques du chromosome 1.

Depuis l'introduction, il y a quelques années, du screening multitélomérique dans la mise au point de patients présentant un retard mental et/ou des anomalies congénitales multiples, de nouveaux syndromes ont été décrits, tels que, par exemple, la monosomie 1p36 ou la monosomie 22qter. D'après différentes études (cf de Vries et al, 2003), certains chromosomes (12q, 19p, ...) n'ont pas encore été impliqués dans des microdélétions subtélomériques tandis que d'autres le seraient plus fréquemment.

Notre présentation renforce cette hypothèse.

97 >> Poster n°53

GÉNÉTIQUE CHROMOSOMIQUE

UN CAS DE TRANSLOCATIONS MULTIPLES CHEZ UNE FILLETTE ATTEINTE DE DYSTROPHINOPATHIE ET DE RETARD MENTAL.

C. Rouzier (1), C. Turc-Carel (1), P. Callier (2), S. Tuffery (2), C. Richelme (3), S. Taviaux (2), F. Giuliano (1), M. Claustre (2), JC. Lambert (1)

(1) Service de Génétique Médicale, CHU, Nice

(2) Laboratoire de Génétique Moléculaire et Chromosomique, CHU, Montpellier

(3) Service de Pédiatrie, CHU, Nice

Les explorations menées chez une petite fille de six mois, après la découverte fortuite lors d'une infection intercurrente d'un taux anormalement élevé de CPK (9876 UI/l), ont révélé l'existence (i) d'une authentique dystrophinopathie attestée par la constatation en Western-blot d'une dystrophine apparaissant tronquée avec

L'anticorps anti-DYS1 et quasi inexistant avec l'anticorps anti-DYS2, (ii) de deux translocations chromosomiques, survenues de novo, l'une réciproque simple $t(6;11)(q16;q22)$, l'autre complexe intéressant trois chromosomes $t(X;13;15)(p21;q22;q22)$. L'emploi de sondes fluorescentes marquant sur des préparations chromosomiques les extrémités 3' et 5' du gène de la dystrophine a permis d'affirmer que la cassure au niveau du chromosome X interrompait bien la séquence de ce gène. L'évolution clinique de l'enfant à l'âge de 4 ans est plus préoccupante en regard de son développement cognitif manifestement retardé qu'en raison de son déficit musculaire actuellement relativement limité.

98 >> Poster n°54

GÉNÉTIQUE CHROMOSOMIQUE

DEUX CAS DE PETITS CHROMOSOMES SURNUMÉRIQUES TRÈS INHABITUELS : 47,XY,+MAR.ISH DER(17)(D17Z1+, SMCR-)

C. Rouzier (1), F. Pedeutour (1), C. Missirian (2), C. Fossoud (3), F. Giuliano (1), A. Moncla (2), J.C. Lambert (1)

(1) Service de Génétique Médicale, CHU, Nice

(2) Département de Génétique Médicale, CHU, Marseille

(3) Service de Pédiatrie, CHU, Nice

Les observations d'un petit chromosome surnuméraire dérivé d'un chromosome 17 sont rapportées chez deux garçons atteints d'un retard mental modéré associé à des troubles du comportement, sans autre manifestation phénotypique à l'exception d'une note dysmorphique discrète et relativement différente dans les deux cas et d'une cryptorchidie bilatérale chez l'un. L'analyse chromosomique faite sur les lymphocytes circulants a révélé chez les deux enfants un petit chromosome surnuméraire à l'état de mosaïque, survenu de novo. L'étude par FISH a permis de mettre en évidence un signal positif avec la sonde centromérique D17Z1 et un signal négatif avec la sonde SMCR. La revue de la littérature n'a pas permis de retrouver d'observation identique à celles rapportées ici. Les seuls cas décrits concernent des anneaux surnuméraires du chromosome 17 de plus grande taille, contenant la région du syndrome de Smith-Magenis et à la symptomatologie plus marquée.

118 >> Poster n°55

GÉNÉTIQUE CHROMOSOMIQUE

ETUDE DE L'ÉQUIPEMENT CHROMOSOMIQUE DES SPERMATOZOÏDES D'UN HOMME AVEC UN CARYOTYPE 46,XY,T(9;22)(Q21;Q11.2) PAR FISH MULTI COULEURS

F. Morel (1), N. Douet-Guilbert (1), C. Marchetti (2), A.

Moerman (3), B. Delobel (4), M.J. Le Bris (1), M. De Braekeleer (1)

(1) Service de Cytogénétique, Cytologie et Biologie de la Reproduction, CHU Morvan et Faculté de Médecine, Université de Bretagne Occidentale, Brest

(2) Service de Biologie de la Reproduction, CHRU Lille

(3) Service de Génétique Clinique, CHRU Lille

(4) Centre de Génétique Chromosomique, Hôpital Saint Antoine, Lille

Un individu sur 500 en moyenne est porteur d'une anomalie chromosomique équilibrée.

Généralement, ces anomalies sont sans conséquence pour le porteur. Cependant, il existe un risque plus ou moins important, selon les cas, de déséquilibres chromosomiques pour leur descendance.

Le but de notre travail est d'étudier, par hybridation in situ fluorescente, les résultats de la ségrégation méiotique chez un homme porteur d'une translocation $t(9;22)(q21;q11.2)$.

L'échantillon de sperme a été étudié en triple FISH avec les sondes CEP 9, LSI ABL (9q34) et LSI BCR (22q11). Une triple FISH X-Y-18 et une double FISH 13-21 ont été effectuées sur l'échantillon de notre patient et sur 4 témoins également.

54,68% des noyaux analysés montrent un équipement chromosomique normal ou balancé équilibré, provenant d'une ségrégation alterne de la translocation. Les fréquences de spermatozoïdes avec un équipement déséquilibré résultant du mode de ségrégation adjacent 1, adjacent 2 et 3 : 1 sont évaluées à 27,09%, 11,39% et 6,02% respectivement ; 0,58% des cellules analysées proviennent de ségrégation 4 : 0 ou sont des cellules diploïdes.

Les analyses en double FISH 13-21 et triple FISH X-Y-18 ont montré une augmentation significative du taux de disomie 21 chez notre patient qui, serait en faveur d'un possible effet interchromosomique.

Le risque de déséquilibre chromosomique fœtal lié à la présence de la $t(9;22)$ chez le père est donc de 45,32% si nous considérons, notion admise par la plupart des équipes que les spermatozoïdes chromosomiquement déséquilibrés sont aussi féconds que les spermatozoïdes chromosomiquement normaux ou équilibrés.

123 >> Poster n°56

GÉNÉTIQUE CHROMOSOMIQUE

RÉCURRENCE DE DYSRAPHIE DU SYSTÈME NERVEUX CENTRAL ASSOCIÉE À UNE TRANSLOCATION CRYPTIQUE (3;5)(Q28;P14) PARENTALE

M. Soulier (1), C. Missirian (1), A. Liprandi (2), C. Piquet (1), A. Moncla (1), M. Devictor (1)

(1) Département de Génétique Médicale, Hôpital La Timone, Marseille

(2) Unité de Foeto-Placentologie, Service d'Anatomopathologie et de Neuropathologie, CHU La Timone, Marseille

En raison d'une récurrence d'anencéphalie, un couple d'origine algérienne, non consanguin, nous est adressé en consultation. Le premier enfant est en bonne santé, la deuxième grossesse est interrompue à 15 SA sur la découverte échographique d'une anencéphalie. La fœtopathologie ne retrouve pas de malformation associée. La troisième grossesse est marquée par une récurrence d'anencéphalie isolée interrompue à 14 SA ; le caryotype fœtal est apparemment normal. Le caryotype du couple montre chez le père une translocation cryptique $(3;5)(q28;p14)$ équilibrée, confirmée en FISH. L'enquête chromosomique familiale retrouve chez un frère, porteur de la même translocation, des antécédents d'IMG pour spina bifida isolé à caryotype « normal ». Il est vraisemblable que ces trois fœtus atteints de dysraphie sont porteurs d'une translocation déséquilibrée, trop fine pour être décelée sur liquide amniotique sans technique de FISH.

Les anomalies de fermeture du tube neural sont des malformations fréquentes d'étiologies multifactorielles. Si l'on connaît des formes transmissibles liées à l'X, ou à des gènes impliqués dans le métabolisme de l'acide folique, les dysraphies isolées, en rapport avec des microremaniements chromosomiques, sont rares, en dehors de cas de trisomies 2p partielles. Des gènes liés à l'anencéphalie, connus chez

des modèles murins, ont leurs homologues humains localisés en 3q28qter (Hes1) et 5p14pter (IRX1), confortant l'hypothèse de l'implication de ces régions dans la prédisposition aux anomalies du tube neural. Des analyses sur lignées cellulaires fœtales sont en cours, pour préciser le type de déséquilibre.

134 >> Poster n°57

GÉNÉTIQUE CHROMOSOMIQUE

ETUDE CYTOGÉNÉTIQUE AVEC FISH MULTITÉLOMÉRIQUE D'UNE POPULATION DE 32 PATIENTS RETARDÉS MENTAUX SÉVÈRES

C. Henry (1), L. Pasquier (2), A. Corbel (2), J. Lucas (1), N. Auger (1), F. Le Mee (1), S. Odent (2)

(1) Laboratoire de Cytogénétique et Biologie Cellulaire, CHU Rennes

(2) Service de Génétique Médicale, CHU Rennes

Le retard mental représente 20% des consultations de l'unité de génétique clinique du CHU de Rennes avec 30% de diagnostics étiologiques précis. L'introduction de la FISH multitélomérique a permis de progresser dans la connaissance de l'étiologie des retards mentaux sévères sans diagnostic précis après avoir réalisé l'examen clinique, le caryotype (haute résolution le plus souvent), l'imagerie cérébrale et la recherche d'X fragile. L'OBJECTIF était d'identifier une anomalie subtélomérique dans une population très sélectionnée de 32 patients, enfants et adultes, présentant tous au minimum un retard mental sévère associé à une anomalie de la croissance et une dysmorphie très marquée. Dans quatre cas nous étions en plus orientés par une histoire familiale particulière de fausses-couches répétées ou handicap dans la famille. RESULTATS : cinq remaniements subtélomériques ont été identifiés (15%) : der(6)t(6p;22q), del(14q), del(9q), der(7)t(7p;8p), del(22q). En plus des signes cliniques communs, les plus fréquents sont l'épilepsie (3 sur 5) et la surdité (2 sur 5). L'anomalie subtélomérique est héritée dans deux cas, et retrouvée chez deux autres enfants de la fratrie dans une famille [del(14q)]. A part, quatre autres anomalies subtélomériques ont été identifiées avec au départ une orientation clinique précise : del2q37, delXp22.3, der(18)t(9p;18q)pat, der(4)t(4p;7p). En CONCLUSION, l'apport diagnostique de la FISH multitélomérique est majeur sur une population de patients très sélectionnés sur le plan clinique.

138 >> Poster n°58

GÉNÉTIQUE CHROMOSOMIQUE

DELETION INTERCALAIRE DU BRAS COURT DU CHROMOSOME 10

H. Moïrot (1), N. Lemeur (1), G. Joly-Hélas (1), A.M. Devaux (2), E. Pipiras (3), B. Benzacken (3), A. Lebbar (4), A. Diquet (5), N. Guillou (1), F. Vilers (1), S. Le Mignot (1), A. Fécamp (1), B. Macé (1)

(1) Laboratoire de Cytogénétique et Biologie de la Reproduction, CHU Rouen

(2) Service de Réanimation Pédiatrique, CHU, Rouen

(3) Laboratoire de Cytogénétique, Hôpital Jean Verdier, Bondy

(4) Laboratoire de Cytogénétique, Hôpital Cochin, Paris

(5) Service de Gynécologie et d'Obstétrique, CHU, Rouen

Eline est née après rupture artificielle des membranes à 34,5 semaines d'aménorrhée pour suspicion d'infection maternelle. L'APGAR est de 1,3,5,7. : poids: 2210g;

taille:50cm ;périmètre crânien:30cm .

Le père a été opéré à la naissance d'une imperforation anale.

La grossesse a été marquée par la découverte à la 12^{ème} SA d'un hygroma kystique foetal de 4,5 mm puis 5,7mm d'épaisseur et à 23 SA d'un petit anévrisme du septum inter-auriculaire

L'amniocentèse a été effectuée à 15 semaines : le caryotype fœtal a été considéré comme normal.

A la naissance, Eline présente une sténose anale et une dysmorphie faciale : front large, fentes oculaires antimongoloïdes, racine du nez saillante, bout du nez large, petit menton, grandes oreilles dysplasiques

Il existe une laryngotrachéomalacie, une hypotonie axiale. L'IRM cérébrale montre une discrète dilatation tétraventriculaire.. Le décès survient lors d'un épisode de blockpnée à l'âge de 3 mois.

Le caryotype effectué sur lymphocytes sanguins en bandes RTBG, révèle une délétion intercalaire 10p : 46,XX,del(10)(p12.3p12.1) de novo qui est confirmée en CGH sur les cellules amniotiques.

En FISH, la région subtélomérique du bras court du chromosome 10 (VYSIS) est présente, la peinture du chromosome 10 (VYSIS) est homogène et le YAC 959b9 (CEPH), montre qu'il n'y a pas de micro-délétion de la région critique DGCR11 (10p13-14). La sonde Bac RP11-2 E5 montre 2 signaux positifs en 10p12.33 ; les sondes Bacs RP11-108B14 et RP11-115N6 confirment la délétion 10p12.2 et 10p12.1.

Cette observation est comparée à celles de la littérature .

155

GÉNÉTIQUE CHROMOSOMIQUE

DÉCOUVERTE PRÉNATALE FORTUITE D'UN DER(X)T(X;3)(P11.2;P23)

G. Joly-Hélas (1), A. Laquerrière (2), N. Le Meur (1), S. Le Mignot (1), A. Fécamp (1), P.Y. Mercier (3), H. Moïrot (1), B. Macé (1).

(1) Laboratoire de Cytogénétique, CHU, Rouen

(2) Service d'Anatomie et Cytologie Pathologiques, CHU, Rouen

(3) Service d'Obstétrique, CHG, Dieppe

Madame H. est âgée de 29 ans. C'est une deuxième geste, déjà mère d'une fille bien portante. L'échographie de la douzième semaine d'aménorrhée identifie un fœtus de sexe féminin ne présentant aucune anomalie morphologique. En raison d'un taux de marqueurs sériques faisant évaluer à 1/112 le risque de trisomie 21 fœtale, la patiente bénéficie à 19 semaines d'aménorrhée d'une amniocentèse pour caryotype fœtal.

Celui-ci, met en évidence la formule chromosomique : 46,XX,der(X)t(X ;3)(p11.2 ;p23).ish(KAL-,WCP3+,D3S4559+).

Devant l'existence d'une trisomie 3p partielle associée à une monosomie Xp partielle, une interruption médicale de grossesse est proposée et acceptée par le couple. Celle-ci est pratiquée au terme de 26 semaines d'aménorrhée.

L'examen fœto-pathologique macroscopique retrouve une dysmorphie crânio-faciale avec un petit front, un philtrum peu visible, des lèvres épaisses, une grande bouche. Le nez est petit, peu développé, court et fin. Il existe un micro-rétrognathisme important. Au niveau des membres supérieurs, il existe une implantation basse des pouces. Au niveau des pieds est notée une hexadactylie post-axiale bilatérale. Il existe également un rein en fer à cheval avec deux uretères. L'analyse histologique révèle un vagin et un utérus doubles ainsi qu'une hypoplasie et une asymétrie des

faisceaux pyramidaux bulbaires.

Ainsi, l'examen fœto-pathologique conforte les données cytogénétiques en faveur de cette trisomie partielle 3p.

L'originalité de cette observation repose sur l'existence de l'hypoplasie et de l'asymétrie des faisceaux pyramidaux qui, à notre connaissance, n'ont jamais été décrites associées à ce déséquilibre chromosomique.

157 >> Poster n°59

GÉNÉTIQUE CHROMOSOMIQUE

EVALUATION DU TAUX D'ANEUPLOIDIE ET DE DIPLOIDIE CHEZ DES HOMMES INFERTILES AVEC ANOMALIES DU CARYOTYPE ET/OU ANOMALIE DU SPERME.

N. Douet-Guilbert (1), F. Morel (1), M.J. Le Bris (1), V. Amice (1), C. Marchetti (2), B. Delobel (3), M. De Braekeleer (1).

(1) Faculté de Médecine et CHU Morvan, Brest

(2) Service de Génétique Chromosomique, Hôpital Saint Antoine, Lille

(3) Service de Biologie de la Reproduction, CHRU, Lille

L'infertilité masculine représente 1/3 des cas d'infertilité de couple. Le pronostic de ces infertilités a été considérablement modifié avec l'apparition des techniques d'injection intracytoplasmique d'un spermatozoïde (ICSI). L'origine paternelle des avortements par trisomie 13, 18 et 21 est estimée à 10%. Des études ont montré l'augmentation des aberrations chromosomiques constitutionnelles dans la population d'hommes infertiles et chez les enfants nés après ICSI. Dans cette étude, nous avons évalué la fréquence des aneuploïdies des chromosomes 7, 9, 13, 18, 21, X et Y par FISH dans les gamètes d'hommes infertiles, inclus dans un programme d'ICSI, porteurs ou non d'anomalie du caryotype sanguin, avec ou sans anomalie du sperme. Nous avons observé une augmentation statistiquement significative des aneuploïdies : des gonosomes chez un homme avec une translocation der(13;14) et chez un homme avec une oligoasthénospermie sévère, du chromosome 21 chez un homme avec une translocation t(9;22). Nous avons également retrouvé une augmentation significative du taux de diploïdie chez un homme avec oligoasthénospermie. Au vu de nos résultats et des données de la littérature, l'existence d'un phénomène intervenant sur la ségrégation méiotique de certains chromosomes dans la population d'hommes infertiles nous semble probable. Ce phénomène est variable et non prédictible pour un individu. Cette étude montre l'intérêt de réaliser une étude cytogénétique du sperme chez certains hommes infertiles, afin d'évaluer le risque d'aneuploïdie fœtale. Chez les couples avec un risque augmenté par rapport à la population générale, il sera alors nécessaire d'avoir un conseil génétique afin de discuter l'intérêt d'un diagnostic prénatal.

161 >> Poster n°60

GÉNÉTIQUE CHROMOSOMIQUE

MONOSOMIE 2Q12Q14.3 PURE PAR INS(9;2)(P12;Q12Q14.3)PAT. RÔLE DES DUPLICATIONS ?

D. Sanlaville (1), O. Raoul (1), C. Ozilou (1), M. Picq (1), M. Le Lorc'h (1), D. Genevieve (1), S. Saunier (2), C. Antignac (2), M. Prieur (1), SP. Romana (1), M. Vekemans (1), C. Turleau (1)

(1) Département de génétique, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris

(2) INSERM U423, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris

Nous rapportons le cas d'une enfant de 9 mois, deuxième

d'une fratrie de 2, présentant une monosomie 2q12q14.3 pure. Cette enfant présente un retard de croissance statural pré et postnatal, une dysmorphie faciale avec des fentes palpébrales obliques en bas et en dehors, un ptosis, des oreilles basses, des joues pleines et tombantes, une petite bouche, un menton en galoche et un cou court. Par ailleurs elle a une brachymétacarpie, une syndactylie 2-3 des orteils bilatérale, une fossette sacro-coccygienne, une malposition anale, une hernie ombilicale, une hypotonie importante, un torticolis congénital et des troubles de la succion déglutition. Le caryotype haute résolution a permis de mettre en évidence une délétion 2q12q14.3, qui a été confirmée par FISH à l'aide d'un BAC contenant le gène de la néphronoptise infantile. Le père est porteur d'une insertion de la région 2q12q14.3 en 9p12. Il s'agit donc d'une monosomie pure secondaire à la transmission du der(2) d'une ins(9;2)(p12;q12q14.3)pat. Les points de cassure sont situés dans les régions péricentromériques du 2 et du 9, riches en LCR ou duplions. Sur le 2, ils se situent au niveau du point de fusion des 2 acrocentriques ancestraux et encadrent le gène de la néphronoptise infantile. Sur le 9, le point de cassure est dans la région impliquée dans les inversions de l'hétérochromatine. Le séquençage du génome a mis en évidence des séquences communes au niveau de ces 2 régions. Cette insertion pourrait être un nouvel exemple de remaniement interchromosomique survenant par recombinaison entre des duplions.

164 >> Poster n°61

GÉNÉTIQUE CHROMOSOMIQUE

CARACTÉRISATION MOLÉCULAIRE D'UNE INVERSION-DUPLICATION DU BRAS COURT DU CHROMOSOME 8

S. Bourthoumieu (1), MC. Vincent (1), P. De Mas (1), G. Bourouillou (1), S. Julia (1), J.Y. Le Tallec (2), P. Calvas (1), E. Bieth (1)

(1) Service de Génétique Médicale, CHU de Toulouse, Hôpital Purpan, Toulouse

(2) Hôpital de Enfants, CHU de Toulouse

Les inversions duplications du bras court du chromosome 8 (inv dup 8p) sont considérées comme des anomalies cytogénétiques assez communes. Ce réarrangement détermine un syndrome clinique bien défini incluant une hypotonie, un retard mental, une agénésie du corps calleux, une dysmorphie et parfois une anomalie cardiaque congénitale.

Nous présentons le cas d'une petite fille de 21 mois qui a été adressée pour un retard de développement. A l'examen clinique, il a été retrouvé une dysmorphie faciale avec microcéphalie, un mamelon surnuméraire. Par ailleurs, elle présente une agénésie du corps calleux.

Le caryotype à partir des lymphocytes sanguins montre une inversion duplication du bras court du chromosome 8, 46,XX, inv dup(8)(p23p12). L'hybridation in situ d'une sonde subtélomérique révèle une délétion de la région 8pter et la présence de deux centromères : un en position centromérique et le second dans la région 8pter du chromosome dupliqué. Ces données confirment l'inversion duplication et permettent de proposer un mécanisme de réarrangement impliquant la formation d'un chromosome dicentrique intermédiaire (Florida et al.). Par ailleurs, une étude moléculaire a été effectuée à l'aide de marqueurs, microsatellites et SNPs afin de caractériser les points de cassure de la délétion, de la duplication et l'origine parentale de l'anomalie. A partir

de cette étude, il est possible de suspecter un mécanisme de réarrangement impliquant des séquences répétées LCRs (Low Copy Repeats) appartenant à la famille des récepteurs olfactifs.

181 >> Poster n°62

GÉNÉTIQUE CHROMOSOMIQUE

ANNEAU DU CHROMOSOME 6. NEOCENTROMÈRE OU FISSION CENTROMÉRIQUE ?

D. Sanlaville (1), MC. de Blois (1), A. Bachelot (2), C. Ozilou (1), S. Chevallier (1), MC. Waill-Perrier (1), M. Prieur (1), S. Romana (1), M. Vekemans (1), C. Turleau (1)

(1) Service de cytogénétique, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris

(2) Service d'endocrinologie et médecine de la reproduction, Hôpital

Necker Enfants Malades, Paris

Les anomalies chromosomiques retrouvées dans les troubles de la fertilité masculine sont le plus souvent des dysgonosomies ou des translocations équilibrées. Nous rapportons le cas d'un jeune africain ayant bénéficié d'un caryotype pour bilan d'infertilité avec azoospermie. Il ne présente par ailleurs aucune anomalie phénotypique. Dans toutes les cellules examinées, l'un des chr 6 est remplacé par 2 éléments : un 6 amputé de la majeure partie de son bras court, et un anneau. Notre première hypothèse était celle d'un néocentromère stabilisant un anneau formé à partir du bras court du 6. Les études complémentaires par FISH ont montré que l'anneau dérivait bien du 6 et que le 6 trop court avait conservé ses 2 extrémités télomériques. Les bandes C ne montraient un signal que sur l'anneau, suggérant un néocentromère sur le der(6). En fait, l'hybridation avec la sonde centromérique du 6 a montré la présence de séquences alphas sur les 2 éléments anormaux, mais avec un signal très faible sur le der(6). Le mécanisme de formation implique donc une fission centromérique, phénomène très rare chez l'homme. Cette anomalie peut par elle-même expliquer un blocage de la méiose : il existe 3 centromères au lieu de 2, et l'anneau est équivalent à une boucle d'inversion paracentrique. Il s'agit donc d'une cause chromosomique rare d'infertilité. Par ailleurs, des études complémentaires seront effectuées afin d'explorer les centromères du der(6) et de l'anneau du 6, ce qui pourrait apporter des informations sur les séquences minimales requises pour avoir un centromère fonctionnel.

194 >> Poster n°63

GÉNÉTIQUE CHROMOSOMIQUE

COEXISTENCE D'UNE MICRODÉLÉTION SUBTÉLOMÉRIQUE 8P HOMOGÈNE DANS LE SANG ET D'UN REMANIEMENT DU 8 EN MOSAÏQUE DANS LES FIBROBLASTES

E. Flori, F. Girard-Lemaire, G. Rudolf, B. Doray
Service de Cytogénétique, Hôpital de Hautepierre, Strasbourg

Nous rapportons l'observation d'une jeune fille de 18 ans chez laquelle, dès l'âge de 2 ans, ont été constatés un retard psychomoteur et une dysmorphie. Malgré des investigations approfondies, l'étiologie de ce syndrome malformatif, auquel s'associe un diabète insulino-dépendant à l'âge de 5 ans, reste indéterminée. Une anomalie chromosomique étant hautement probable, un caryotype sanguin en haute résolution ainsi qu'un caryotype sur les fibroblastes cutanés sont réalisés. Si le caryotype sanguin est considéré comme

normal (550 bandes), le caryotype sur fibroblastes met en évidence une mosaïque chromosomique comportant une lignée normale 46,XX et une lignée à 47 chromosomes où l'un des chromosomes 8 est remplacé par deux marqueurs identifiés par hybridation in situ comme des dérivés du 8. Une étude complémentaire des régions subtélomériques du chromosome 8 met en évidence une délétion du bras court d'un chromosome 8 dans le sang; la même délétion est retrouvée dans la lignée fibroblastique apparemment normale. Les caryotypes parentaux sont normaux. La nature des deux marqueurs ainsi que le mécanisme envisagé à l'origine de cette anomalie complexe ont pu être analysés par des techniques de cytogénétique moléculaire combinées à l'étude de microsatellites du chromosome 8. Cette observation souligne l'intérêt, en particulier pour le conseil génétique, d'analyser les régions subtélomériques en présence de tout remaniement intrachromosomique homogène ou en mosaïque, même si les télomères ne paraissent pas impliqués dans l'anomalie.

196 >> Poster n°64

GÉNÉTIQUE CHROMOSOMIQUE

ANALYSE CYTOGÉNÉTIQUE DE LA SÉGRÉGATION MÉIOTIQUE DANS LES SPERMATOZOÏDES D'UN REMANIEMENT CHROMOSOMIQUE COMPLEXE PAR HYBRIDATION IN SITU FLUORESCENTE

J. Puechberty (1), G. Lefort (2), A. Weise (3), T. Liehr (3), P. Sarda (1), F. Pellestor (3)

(1) Service de Génétique médicale, CHU Montpellier

(2) Service de Cytogénétique, CHU, Montpellier

(3) Institut de Génétique Humaine, CNRS, Montpellier

Les remaniements chromosomiques complexes (RCC) sont des événements rares impliquant au moins trois points de cassure situés en général sur plus de deux chromosomes. Leurs découvertes se font généralement à la suite de troubles de la reproduction et plus rarement d'un diagnostic prénatal. Les progrès récents apportés par les techniques de cytogénétique moléculaire ont permis de mieux caractériser les RCC afin d'apporter un conseil génétique mieux adapté. Nous rapportons le cas d'un RCC initialement diagnostiqué par les techniques de cytogénétique classique et analysé de façon complémentaire par des techniques de FISH.

CAS CLINIQUE : Dans le cadre d'un bilan de fausses couches d'un couple, l'étude génétique par caryotype sanguin et peinture chromosomique a montré l'existence chez le conjoint âgé de 49 ans d'un échange apparemment équilibré de matériel chromosomique avec trois points de cassure impliquant les chromosomes 5, 13 et 14 : t(5;13;14)(q23;q21;q31). Afin d'évaluer le potentiel reproductif de ce patient, une analyse de la ségrégation méiotique de ce RCC dans les spermatozoïdes a été faite par FISH en utilisant des sondes région-spécifiques chevauchant les points de cassure. Une étude préliminaire a permis l'analyse de 218 spermatozoïdes. Les fréquences des formes alternes et déséquilibrées (adjacent 1, 4:2 et 5:1) étaient respectivement de 28 % et 72 %. A cause de la présence d'un taux élevé de formes déséquilibrées, une assistance par FIV et DPI n'est pas envisagée. Ce type d'étude est intéressant pour le conseil génétique pour juger de l'opportunité d'une PMA pour les couples stériles dont le conjoint est porteur d'une translocation équilibrée.

197 >> Poster n°65**GÉNÉTIQUE CHROMOSOMIQUE****SYNDROME DYSMORPHIQUE, CRANIOSTÉNOSE, RETARD DE CROISSANCE ET HYPERTHYROÏDIE DE TYPE PSEUDO-BASEDOW CHEZ UN PATIENT PORTEUR D'UNE DÉLÉTION INTERCALAIRE 14q32.1**

M. Mathieu (1), G. Morin (1), O. Raoul (2), M. Prieur (2), D. Sanlaville (2), N. de Roux (3), H. Bony-Trifunovic (1)

(1) Unité de Génétique Clinique et d'Endocrinologie, Département de Pédiatrie, CHU, Amiens

(2) Laboratoire de Cytogénétique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris

(3) Laboratoire d'Hormonologie et de Biologie Moléculaire, CHU, Le Kremlin Bicêtre

Un jumeau présente un RCIU sévère, une scaphocéphalie et une dysmorphie particulière associant visage allongé, front haut, suture métopique saillante, fentes palpébrales étroites, petit nez retroussé, oreilles implantées bas et en rotation postérieure, bouche de très petite taille. Les doigts sont fléchis. Il existe un pli palmaire unique bilatéral. Les 2^{ème} et 4^{ème} orteils sont implantés haut et les gros orteils sont en adductus sous plantaires. Une cryptorchidie bilatérale est associée à une hypoplasie scrotale et une hernie inguinale bilatérale. Il n'existe pas de malformation viscérale.

À l'âge de 7 ans, l'évolution est marquée par une encéphalopathie sévère, avec absence de langage, des difficultés alimentaires, une hypotrophie majeure et une hyperthyroïdie ancienne d'origine périphérique rebelle au traitement. Le caryotype en prométaphase retrouve une délétion intercalaire 14q32.1.

Le phénotype identique à celui du patient de Bonthron (1993) et à certains patients porteurs d'un chromosome 14 en anneau avec cassure en 14q32 rend identifiable cette microdélétion.

En revanche, aucune hyperthyroïdie associée n'a jamais été rapportée. Une mutation activatrice du gène TSHR localisé en 14q31 a été éliminée. Aucun lien ne peut être affirmé entre cette hyperthyroïdie de type « pseudo-basedow » et la microdélétion présente, à moins de supposer un effet de position sur TSHR ou l'existence d'un autre gène de susceptibilité dans cette région.

208**GÉNÉTIQUE CHROMOSOMIQUE****VENTRICULOMÉGALIE CÉRÉBRALE ET KYSTES DES PLEXUS CHOROÏDES : SIGNE D'APPEL PRÉNATAL DE MONOSOMIE 22Q13 ?**

O. Ingster (1), D. Couet (1), M. Duque-Maréchaud (2), S. Kayemba Kay's (3), J. Quinton (1), P. Vandermarcq (4), B. Gilbert (1)

(1) Service de Génétique, CHU Poitiers

(2) Centre Pluridisciplinaire de Diagnostic Prénatal, CHU Poitiers

(3) Service de Pédiatrie, CHU Poitiers

(4) Service de Radiologie, CHU Poitiers

La monosomie 22q13 est responsable d'un tableau clinique peu spécifique associant hypotonie néonatale sévère, retard psycho-moteur et troubles du comportement (hyperactivité, troubles du sommeil, crises d'agressivité, état confusionnel) dans un contexte de croissance normale ou accélérée et de signes dysmorphiques mineurs. Le diagnostic cytogénétique est généralement fait sur caryotype en haute résolution ou lors de la recherche de la

micro-délétion 22q11 du syndrome de Di-Georges, par l'absence d'1 « spot » témoin du chromosome 22 correspondant à la région 22q13. Ces 2 techniques ne sont pas mises en œuvre en prénatal en cas de signe d'appel échographique à type de ventriculomégalie cérébrale. À notre connaissance, 1 seul cas de diagnostic prénatal de monosomie 22q13 avec anneau du chromosome 22 a été rapporté. L'observation suivante pose la question de la recherche prénatale de la monosomie 22q13, éventuellement par FISH, en cas de ventriculomégalie cérébrale.

Lors d'une 2^{ème} grossesse de parents jeunes, sont découverts à l'échographie de 22SA des kystes bilatéraux des plexus choroïdes et une ventriculomégalie cérébrale bilatérale modérée non évolutive. L'IRM cérébrale fœtale ne montre pas d'anomalie associée. Le caryotype sur amniocytes est interprété comme normal : 46, XX. Le bilan infectieux est négatif. La croissance fœtale est normale. En période néonatale, l'enfant présente une hypotonie généralisée. L'ETF et l'IRM cérébrale confirment la ventriculomégalie bilatérale, sans hydrocéphalie. Les kystes des plexus choroïdes ont régressé. À 7 mois, devant un tableau neurologique inquiétant avec retard majeur du tonus et des acquisitions, un caryotype en haute résolution montre une délétion télomérique 22q13.

219 >> Poster n°66**GÉNÉTIQUE CHROMOSOMIQUE****TRIPPLICATION 15Q11-Q13 D'ORIGINE PATERNELLE : UN PHÉNOTYPE SPÉCIFIQUE ?**

B. Doray, V. Biancalana, F. Girard-Lemaire, E. Flori
Fédération de Génétique, Strasbourg

Shanon, 6 ans, est adressée en consultation en raison d'un retard de développement et d'un syndrome dysmorphique. À la naissance, elle présente une hypotrophie et un syndrome malformatif (hernie inguinale bilatérale, syndactylie des troisièmes et quatrièmes doigts). L'évolution clinique comporte des difficultés alimentaires précoces avec régurgitations nasales puis la survenue d'un retard du langage avec troubles de prononciation liés à un dysfonctionnement vélaire majeur associé à des difficultés de compréhension et des troubles du comportement. Le développement moteur est satisfaisant. La taille est au 75^{ème} percentile, le poids au 97^{ème} percentile et il existe un syndrome dysmorphique (visage grossier, hypertélorisme, fentes palpébrales anti-mongoloïdes, nez large et bulbeux, palais ogival et court, extrémités courtes). Le caryotype sur sang met en évidence un allongement de la région proximale du bras long d'un chromosome 15, correspondant à une tripllication 15q11-q13 en hybridation in situ. Les caryotypes des parents sont normaux. L'analyse familiale par microsatellites établit l'origine paternelle de cette tripllication.

Les tripllications constituent des remaniements exceptionnels de la région 15q11-q13 (environ une dizaine de tripllications rapportées dans la littérature). Si un phénotype associant déficience mentale sévère, ataxie, et syndrome épileptique paraît associé aux tripllications d'origine maternelle, le faible nombre d'observations avec tripllication d'origine paternelle (deux patients) ne permet pas de dégager un phénotype spécifique.

Cette observation permet de préciser le phénotype clinique associé aux tripllications d'origine paternelle et suggère de rechercher un tel remaniement chez tout enfant présentant une déficience intellectuelle légère et un

dysfonctionnement vélaire après exclusion d'une microdélétion 22q11.2.

261 >> Poster n°67

GÉNÉTIQUE CHROMOSOMIQUE

RÉCURRENCE D'HOLOPROSENCÉPHALIE SECONDAIRE À UN REMANIEMENT CHROMOSOMIQUE PARENTAL DE PETITE TAILLE

C. Missirian (1), M.C. Pellissier (1), A. Liprandi (2), M. Devictor (1), N. Philip (1), A. Moncla (1)

(1) Département de Génétique Médicale, CHU Timone enfants, Marseille

(2) Service d'anatomopathologie, CHU Timone, Marseille

L'holoprosencéphalie est une malformation cérébrale dont l'incidence est comprise entre 1/10000 et 1/20000 naissances vivantes. L'étiologie de ce spectre malformatif est hétérogène, avec une implication de facteurs environnementaux et surtout génétiques. Une anomalie chromosomique est retrouvée dans environ 45% des cas, de nombre (trisomie 13, trisomie 18, triploïdie) ou de structure (délétions 2p, 7q, 13q, 18p, 21q partielles, duplications 3p, 13q partielles). Ces réarrangements chromosomiques ont permis l'identification de 5 gènes. Parmi eux, le gène ZIC2 (13q32) dont l'haploinsuffisance rend compte de cette malformation comme chez les patients présentant une délétion 13q terminale.

Nous rapportons l'observation d'une famille avec récurrence d'holoprosencéphalie de découverte précoce (15 SA). La récurrence de cette malformation suggérait a priori une transmission autosomique dominante, d'autant que le caryotype fœtal réalisé lors de la 1^o interruption médicale de grossesse était conclu normal.

Cependant la notion d'un retard mental chez le 2^o enfant vivant du couple nous a incité à reprendre les analyses cytogénétiques et ont permis d'identifier un chromosome 9 anormal chez ce dernier dérivant d'une translocation réciproque cryptique chez la mère, entre le bras court d'un chromosome 9 et le bras long d'un chromosome 13, ayant conduit à deux reprises à une monosomie partielle 13q32-pter associée à une trisomie partielle 9p23-pter expliquant la récurrence d'holoprosencéphalie.

Bien que les points de cassure soient de localisation subtélomérique, ce remaniement chromosomique a été identifié par orientation clinique sur un caryotype en technique conventionnelle de bonne qualité obtenu après synchronisation, permettant de surseoir à l'étude pan-télomérique par FISH plus coûteuse.

264

GÉNÉTIQUE CHROMOSOMIQUE

EVALUATION DU TAUX D'ANEUPLOÏDIES SPERMATIQUES CHEZ UN PATIENT 47,XYY

M. Monseux (1), F. Carré-Pigeon (1), B. Delépine (1), M.C. Melin-Blocquaux (1), G. Harika (2), Y. Youinou (3), I. Nakib (1,4), C. Quereux (2), F. Staerman (3), J. Caron (4), D. Gaillard (1)

(1) Service de Génétique et Biologie de la Reproduction-CECOS, CHU, Reims

(2) Service de Gynécologie-Obstétrique, CHU, Reims

(3) Département d'Urologie-Andrologie, CHU, Reims

(4) Service d'Endocrinologie-Maladies Métaboliques-Médecine Interne, CHU, Reims

La dysgonosomie 47,XYY a une incidence de 1 pour 1000 garçons.

Une oligozoospermie est retrouvée dans 50% des cas. Dans le but d'évaluer les risques d'aneuploïdies au niveau des spermatozoïdes, une étude par FISH a été effectuée comparativement à une population témoin.

Matériel et méthodes :

L'analyse de spermatozoïdes d'un patient 47,XYY présentant une OAT ainsi que de 8 témoins normo fertiles a été réalisée par triple FISH pour les chromosomes X,Y et 18 (DXZ1, DYZ3 et D18Z1), après décondensation nucléaire par DiThioThreitol.

Résultats :

Le taux d'aneuploïdie globale est de 2,61% pour notre patient 47,XYY versus 1,25% pour la population témoin, prédominant sur les disomies gonosomiques 24,XY et 24,YY (0,76% vs 0,19%). Par contre, nous n'avons pas retrouvé de modification du sex ratio X/Y.

Discussion et conclusion :

Les résultats obtenus sont en faveur d'une augmentation du taux de disomies gonosomiques chez ce patient 47,XYY par rapport aux témoins. Des résultats similaires ont été rapportés par d'autres équipes utilisant la triple FISH (Blanco 2001, Shi 2000).

Le faible taux de spermatozoïdes concernés (<1%) peut expliquer la normalité du caryotype de la plupart des enfants nés de père 47,XYY.

Le rôle de la persistance au stade pachytène de l'Y surnuméraire a été étudié : la présence d'un double Y perturbe l'achèvement de la spermatogenèse et entraîne une oligozoospermie alors que la perte de l'Y surnuméraire avant la méiose permet l'achèvement de la spermatogenèse avec un spermogramme normal.

270 >> Poster n°68

GÉNÉTIQUE CHROMOSOMIQUE

NÉPHROBLASTOME BILATÉRAL MULTINODULAIRE ET TRANSLOCATION RÉCIPROQUE ÉQUILIBRÉE(1 ; 2)(Q31 ; Q32) DE NOVO : ANALYSE PAR CYTOGÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE CHEZ UN SUJET DÉFICIENT MENTAL.

B. Laudier (1), F. Laumonnier (1), S. Dessay (1), M.C. Machet (2), C. Moraine (1), S. Briault (1)

(1) Service de Génétique, CHU Bretonneau, Tours

(2) service d'Anatomie pathologique, CHU Trousseau, Tours

Au cours de la dernière décennie, le développement des techniques d'hybridation in situ en fluorescence, l'élaboration de cartes intégrées qui réunissent les cartes cytogénétiques, physique et génétique, et le développement des programmes de séquençage systématique du génome humain ont facilité le clonage de gènes à partir de remaniements chromosomiques équilibrés associés à des phénotypes anormaux.

Nous rapportons l'étude clinique et moléculaire d'un garçon âgé de 14 ans, dont le phénotype associe une déficience mentale, une microcéphalie à - 3DS, une comitialité de survenue secondaire, une dysmorphie faciale et un néphroblastome bilatéral multinodulaire associé à une néphroblastomatose. L'analyse cytogénétique a montré l'existence d'une translocation réciproque équilibrée de novo [46, XY, t(1 ; 2)(q31 ; q32)].

L'existence de ce remaniement chromosomique équilibré associé à un phénotype anormal suggère la possible localisation, en 1q31 ou 2q32, d'un gène dont la rupture serait impliquée dans la genèse de la tumeur de Wilms et/ou dans la déficience mentale. L'analyse du remaniement par les techniques de cytogénétique moléculaire, nous a permis d'isoler les BACs chevauchants de la région des points de

cassure sur les chromosomes 1 et 2. Au niveau du point de cassure de la région 1q31, aucun gène n'est actuellement répertorié. Au niveau du point de cassure de la région 2q32, un seul gène est connu et coderait pour un facteur de transcription exprimé dans le cerveau et le rein. Ce gène constitue donc un bon candidat pour expliquer le tableau clinique présenté par notre patient.

272 >> Poster n°69

GÉNÉTIQUE CHROMOSOMIQUE

SYNDROME DE WILLI-PRADER PAR DISOMIE UNIPARENTALE DU CHROMOSOME 5, INV DUP(15) ET TRISOMIE 15 EN MOSAÏQUE

A. Bazin (1), P. Kleinfinger (1), M. Montagnon (1), S. Szpiro-Tapia (1), D. Bonneau (2), A. Guichet (2), J.L. Parmentier (3)

(1) Département de Génétique Humaine, Laboratoire Pasteur Cerba, St Ouen l'Aumône

(2) Service de Génétique, CHU, Angers

(3) Service Maternité, CH, Saumur

La disomie uniparentale du chromosome 15 est responsable de 20 à 25 % des syndromes de Willi-Prader (SWP) et a pour origine, entre autres, une correction de trisomie chez un conceptus initialement trisomique 15. La persistance d'une lignée trisomique serait pour E. Olander1 associée à un phénotype particulier, différant légèrement du SWP par délétion paternelle ou DUP maternelle.

Nous rapportons l'observation d'une patiente Vème Geste, II Pare, âgée de 37 ans. Le caryotype sur amniocytes pour risque sériel maternel de trisomie 21 montre la formule suivante : 47,XX,+mar.ish der (15)(D15Z1+, SNRPN-)[9]/47,XX,+15[1]/46,XX[16]. L'étude de la méthylation du locus SNRPN met en évidence une DUP(15) maternelle. L'échographie morphologique est sans particularité. L'IMG a lieu à 29 SA.

L'autopsie montre des éléments dysmorphiques discrets, une camptodactylie, une clinobrachydactylie des auriculaires, une CIA type Ostium II, une asymétrie de gyration et de maturation corticale.

La mosaïque chromosomique est confirmée dans les tissus fœtaux avec une répartition variable des différents clones cellulaires.

Nous discutons le mécanisme de formation de la mosaïque et de la disomie uniparentale.

Cette observation souligne la nécessité d'explorer de façon approfondie les marqueurs chromosomiques fortuitement découverts en anténatal et considérés comme de bon pronostic, ainsi que l'intérêt, en cas d'IMG, du caryotype sur tissus fœtaux.

1 E. Olander, Am. J. Med. Genet. ; 2000, 93 : 215-218

275 >> Poster n°70

GÉNÉTIQUE CHROMOSOMIQUE

PRATIQUE EN FRANCOPHONIE DE L'ÉTUDE DES RÉGIONS SUBTÉLOMÉRIQUES : RÉSULTATS - ANNÉE 2003 - DE L'ENQUÊTE ACLF

F. Amblard (1), A. Bazin (2), M. de Braekeleer (3), M. Bourrouillou (4), S. Briault (5), AM. Chaze (6), J. Chiesa (7), A. Choiset (8), S. Dahoun (9), F. Devillard (1), M. Doco-Fenzy (10), F. Esclaire (11), S. Fert-Ferrer (12), E. Flori (13), B. de Fréminville (14), AC. Gaide (15), S. Girard (8), F. Girard-Lemaire (13), MJ. Grégoire (16), H. Herens (17), C. Henry (18), A. Herry (3), G. Joly-Hélas (19), P. Jonveaux (16), P.

Kleinfinger (2), MJ. Le Bris (3), G. Lefort (6), C. Le Caignec (20), N. Le Meur (19), N. Leporrier (21), J. Lespinasse (12), C. Missirian (22), H. Moiro (19), A. Moncla (22), D. Molina-Gomes (23), M. Montagnon (2), F. Morel (3), F. Mugneret (24), F. Pedeutour (25), G. Plessis (26), M. Prieur (27), P. Saugier-veber (19), B. Simon Bouy (28), L. Taine (29), S. Tapia (2), G. Theuil (30), M. Till (30), C. Turleau (27), P. Vago (31), MR. Verschraegen-Spae (32), F. Vialard (23), MC. Vincent (4)

(1) Laboratoire de Cytogénétique, CHU Grenoble

(2) Laboratoire Pasteur-Cerba, Cergy Pontoise

(3) Laboratoire de Cytogénétique, Faculté de Médecine Brest

(4) Laboratoire de Génétique Médicale, CHU Toulouse

(5) INSERM U316, Université Tours

(6) Laboratoire de Cytogénétique, CHU Montpellier

(7) Laboratoire de Cytogénétique, Faculté de Médecine Nîmes

(8) Laboratoire de Cytogénétique, AP-HP St Vincent de Paul

(9) Laboratoire de Cytogénétique, CMU Genève

(10) Laboratoire de Cytogénétique, CHU Reims

(11) Laboratoire de Cytogénétique, CHU Limoges

(12) Laboratoire de Génétique Chromosomique, CHI Chambéry

(13) Laboratoire de Cytogénétique, CHU Strasbourg

(14) Laboratoire de Cytogénétique, CHU St Etienne

(15) Service de Génétique Médicale, CHU Lausanne

(16) Laboratoire de Génétique, CHU Nancy

(17) Service de Génétique et Cytogénétique, CHU Liège

(18) Laboratoire de Cytogénétique, CHU Rennes

(19) Laboratoire de Cytogénétique et Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHU Rouen

(20) Laboratoire de Cytogénétique, CHU Nantes

(21) Département de Génétique et Reproduction, CHU Caen

(22) Département de Génétique Médicale, AP-HM Timone Enfants

(23) Laboratoire de Cytogénétique, CHI Poissy

(24) Laboratoire de Cytogénétique, CHU Dijon

(25) Laboratoire de Génétique, CHU Nice

(26) Service de Génétique, CHU Caen

(27) Service d'Histo-Embryo-Cytogénétique, AP-HP Necker-Enfants

(28) Service de Génétique, Université Versailles-St Quentin

(29) Service de Génétique Médicale, CHU Bordeaux

(30) Laboratoire Central d'Hématologie et de Cytogénétique, CHU Lyon

(31) Cytogénétique Médicale, Faculté de Médecine Clermont-Ferrand

(32) Service de Génétique Médicale, Hôpital Universitaire Gent

L'enquête réalisée sur l'initiative de l'ACLF porte sur la pratique de l'analyse des régions subtélomériques avec la participation de 32 laboratoires de Belgique, France et Suisse.

Concernant les méthodes :

- ces analyses sont pratiquées aussi bien en étude FISH tous télomères qu'en étude télomérique spécifique sur orientation (clinique, caryotype),

- l'utilisation d'autres techniques (HR, CGH, autres) est pratiquée par 3 laboratoires sur 4.

Concernant les résultats :

- 1511 études tous télomères et 1314 études télomériques spécifiques orientées ont été réalisées avec un taux d'anomalies respectivement de 7,6% et 16,9%,

- 165 remaniements de novo (environ 70%) et 73 déséquilibres avec délétion-duplication secondaire à un remaniement équilibré cryptique (30%) sont colligés, ainsi que 19 remaniements d'origine indéterminée et 7 remaniements transmis,

- 56 remaniements de type polymorphisme ont été rapportés,

- un résumé des 337 réarrangements subtélomériques détaille les délétions et duplications identifiées, ceci par télomère et origine (de novo, secondaire, indéterminée transmise).

Les données de cette étude sont accessibles sur le site de l'ACLF (www.eACLF.org).

280 >> Poster n°71**GÉNÉTIQUE CHROMOSOMIQUE****TRISOMIE 20P PARTIELLE PAR RECOMBINAISON D'UNE INVERSION PÉRICENTRIQUE D'ORIGINE MATERNELLE**

D. Molina-Gomes (1), V. Nebout (1), F. Vialard (1), L. Allard (1), F. Daikha-Dahmane (2), L. Bidat (3), J. Selva (1)
 (1) Laboratoire de Cytogénétique, CHI Poissy-Saint Germain
 (2) Laboratoire d'anatomopathologie, CHI Poissy-Saint Germain
 (3) Service de Gynécologie et d'Obstétrique, CHI Poissy-Saint Germain

Nous rapportons le premier cas de diagnostic prénatal d'une trisomie 20p, associé à une monosomie 20q, et résultant d'une inversion péricentrique d'origine maternelle. Une femme de 32 ans deuxième geste, nullipare, est référée dans notre centre pour une biopsie de trophoblaste à 12 SA suite à la découverte d'une nuque épaisse à 3,6mm, seul signe d'appel échographique. Le caryotype, réalisé sur l'examen direct, montre un nombre normal de chromosomes chez un fœtus de sexe masculin. La culture montre quant à elle un caryotype déséquilibré avec un chromosome 20 remanié. Le caryotype des parents est effectué et montre chez la mère la présence d'une inversion péricentrique du chromosome 20. Une étude en FISH, chez le fœtus et sa mère permet de conclure à une trisomie 20p fœtale par recombinaison déséquilibrée de l'inversion péricentrique de la mère. Le caryotype fœtal est : 46,XY,der(20)inv(20)(p11.2;q13.3)mat, ish der(20)(WCP20+,tel 20p'2, tel 20q'0).

Devant ce tableau le couple demande une interruption médicale de grossesse. L'examen anatomopathologique montre un fœtus avec une nuque infiltrée, des pieds en piolet, une communication inter-auriculaire, et une dysplasie rénale. En postnatal ce syndrome est connu pour associer un retard mental, une dysmorphie faciale modérée, et une communication inter-ventriculaire.

Ce cas illustre l'intérêt de la culture en complément de l'examen direct qui ne permet pas dans tous les cas de déceler des anomalies fines de la structure des chromosomes, mais donne un résultat rapide. La culture est donc essentielle et de résolution comparable à celle obtenue pour un liquide amniotique.

281 >> Poster n°72**GÉNÉTIQUE CHROMOSOMIQUE****ESTIMATION DU RISQUE DE DÉSÉQUILIBRE GAMÉTIQUE CHEZ LES PATIENTS PORTEURS D'UNE TRANSLOCATION ROBERTSONNIENNE t(13;14).**

D. Molina Gomes (1), F. Vialard (1), M. Bergère (1), M. Dakouane (1), V. Delabroye (1), M. Albert (1), JP. Ayel (2), M. Bailly (2), R. Lombroso (2), B. Wainer (2), J. Selva (1)
 (1) Laboratoire de Cytogénétique et de Biologie de la Reproduction, CHI Poissy-Saint Germain
 (2) Service de Gynécologie et d'Obstétrique, CHI Poissy-Saint Germain

En cas de translocation robertsonnienne t(13;14), le risque de déséquilibre dans la descendance est très variable. 7 à 30% des spermatozoïdes sont déséquilibrés lorsque l'homme est porteur et sa fertilité est variable. Cette fréquence serait plus élevée dans les ovocytes de patientes porteuses (40%). Dans notre centre d'AMP une évaluation du taux d'aneuploïdies gamétiques est systématiquement faite avant ICSI dans ces situations. Nous présentons ici nos premiers résultats sur 3 hommes oligospermiques, et 3

femmes normo-ovulantes mais en échec de reproduction.

Méthodes :

Spermatozoïdes : FISH avec sondes spécifiques sur frottis après décondensation du noyau par de la soude 3M.

Globule polaire : FISH avec sondes centromériques après biopsie à l'aide d'un laser (Hamilton). Seuls sont injectés les ovocytes diagnostiqués normaux.

Résultats :

Chez les patients le taux d'aneuploïdie varie de 20% à 40%. Chez les femmes ce taux variait de 0 (0 anormal sur 4 GP analysés) à 85% (5 sur 6). Une grossesse est en cours chez l'une des 3 patientes traitées.

Discussion :

Nous avons observé une grande disparité des résultats chez les femmes. Il nous semble licite de proposer ce protocole aux femmes fertiles après plusieurs IMG ou FCS comme alternative au diagnostic préimplantatoire (DPI) difficilement accessible en France surtout pour les femmes de 35 ans ou plus.

Chez l'homme le taux d'aneuploïdie semble plus faible, mais le nombre de gamètes étudiés est beaucoup plus important. Cette estimation est importante avant conseil génétique en particulier dans la perspective d'un DPI.

282 >> Poster n°73**GÉNÉTIQUE CHROMOSOMIQUE****ANALYSE DU PREMIER GLOBULE POLAIRE CHEZ LES COUPLES EN ÉCHEC D'IMPLANTATION (TRANSFERT DE PLUS DE 10 EMBRYONS SANS GROSSESSE).**

F. Vialard (1), D. Molina Gomes (1), M. Bergère (1), M. Gombault (1), JP. Ayel (2), M. Bailly (2), R. Wainer (2), R. Lombroso (2), J. Selva (1)
 (1) Laboratoire de Cytogénétique et de Biologie de la reproduction, CHI Poissy-Saint Germain
 (2) Service de Gynécologie et d'Obstétrique, CHI Poissy-Saint Germain

Introduction : Les résultats du diagnostic préimplantatoire (DPI) montrent une fréquence accrue d'aneuploïdies chez les embryons issus de couples en échec d'implantation. Cette indication de DPI n'est pas autorisée en France. Le diagnostic préconceptionnel peut donc être une alternative car il intervient avant la fécondation.

Matériel et Méthodes : L'inclusion dans le protocole est proposée lorsque le transfert de 10 embryons n'a pas conduit à une grossesse et après un entretien d'information et signature du consentement. Le premier globule polaire est biopsié grâce à un laser (Hamilton) et le statut chromosomique établi en utilisant le kit polar body (Abbott) avec des sondes spécifiques pour les chromosomes 13, 16, 18, 21 et 22. Seuls les ovocytes à globule polaire normal sont injectés.

Résultats : 16 cycles ont été effectués chez 14 femmes différentes, de 31 à 37 ans. En moyenne il s'agissait de la 4^{ème} tentative, et une moyenne de 14 embryons avaient déjà été transférés sans grossesse. 145 ovocytes matures ont été ponctionnés, et parmi les ovocytes analysés 54% (25 à 67%) ont été conclus comme anormaux. Deux grossesses ont été obtenues, dont une évoluant vers une FCS.

Discussion : Ces premiers résultats mettent en lumière le taux très important d'ovocytes aneuploïdes chez les patientes en échec d'implantation. Les perturbations méiotiques peuvent donc expliquer ces cas d'échec d'implantation avec des taux d'aneuploïdie pouvant dépasser 50% alors que seulement 5 chromosomes ont été testés.

292 >> Poster n°74**GÉNÉTIQUE CHROMOSOMIQUE****TRISOMIE 14Q PARTIELLE : À PROPOS DE 5 OBSERVATIONS**

A. Schneider (1), W. Cucchini (1), F. Devillard (2), V. Duchamp (1), B. Demeer (1), N. Gruson (1), N. Michel (1), S. Clomes (1), M. Mozelle-Nivoix (1), B. Digeon (3), P. Giacomini (4), J. Motte (3), D. Gaillard (1), M. Doco-Fenzy (1)

(1) Service de Génétique et de Biologie de la Reproduction, CHU, Reims

(2) Service de Génétique, CHU, Grenoble

(3) Service de Pédiatrie, CHU, Reims

(4) Clinique de Courlancy, Reims

Nous rapportons 5 observations de duplication partielle du bras long du chromosome 14. Nous avons évalué la taille et la localisation des segments dupliqués par l'utilisation de techniques de cytogénétique conventionnelle et moléculaire dont la FISH et la CGH (Hybridation Génomique Comparative).

Synthèse clinique :

Cas n°1 : Observation d'un homme dont le caryotype est réalisé pour des antécédents de fausses-couches chez sa femme. Caryotype : 46,XY,dup(14)(q11.1q11.1). Nous avons analysé la nature du fragment péricentromérique dupliqué.

Cas n°2 : Enfant avec un développement psychomoteur normal hormis quelques difficultés d'apprentissage scolaire en mathématique. Elle présente une épilepsie qui s'exprime sous forme de grand mal. Caryotype : 46,XX,dup(14)(q11.2q21).

Cas n°3 : Enfant présentant un retard staturo-pondéral traité par hormone de croissance, une dysmorphie faciale associée à une microcéphalie et un retard psychomoteur. L'IRM montre une agénésie du corps calleux et de la post-hypophyse. Caryotype : 46,XY,dup(14)(q11q21.3).

Cas n°4 : Enfant de 3,5 mois présentant une discrète hypotonie, une dysmorphie faciale et une fontanelle large. Son caryotype est complexe avec une extrémité du 14q dupliquée accrochée soit à l'un des 14 soit au chromosome 7.

Cas n°5 : Enfant présentant à 7 ans un retard staturo-pondéral associé à une dysmorphie faciale et un retard de langage important. Son retard global du développement s'explique par une duplication de la région télomérique 14q.

Nous rapporterons les résultats cytogénétiques obtenus qui ont permis d'affiner la caractérisation des segments dupliqués dans ces remaniements. Nous en discuterons également les limites.

300**GÉNÉTIQUE CHROMOSOMIQUE****TRANSMISSION D'UNE MOSAÏQUE 18P- : À PROPOS D'UN CAS**

N. Le Dû (1), A. Lebbar (1), C. Mignot (2), D. Le Tessier (1), F. Baverel (1), J.M. Dupont (1)

(1) Laboratoire de cytogénétique, Hôpital Cochin, Paris

(2) Service de neuropédiatrie, Hôpital Armand Trousseau, Paris

Les mosaïques comportant une lignée normale et une lignée avec un remaniement de structure concernant un autosome sont rares puisqu'une vingtaine de cas seulement sont décrits dans la littérature. A peine 1/4 sont des délétions. Nous rapportons ici un cas de délétion 18p maternelle en

mosaïque transmise de façon homogène à son fils. L'enfant P. Lyvan, 5 ans, nous a été adressé pour caryotype dans le cadre d'un retard de croissance associé à un retard mental. Celui-ci a montré une formule 46,XY,del(18)(p11.21) dans toutes les cellules examinées. L'étude des caryotypes parentaux a permis de montrer que la maman était porteuse de la même anomalie chromosomique que son fils mais en mosaïque (40%). Cette dernière est apparemment bien portante. L'hypothèse la plus vraisemblable est la présence d'une mosaïque germinale chez la mère avec transmission d'un gamète déséquilibré 23,X,del(18)(p11.21) à l'enfant.

Ce type de transmission est un fait rare dans la littérature, d'autant plus que la mère ne présente pas de phénotype évocateur même à minima d'un syndrome 18p-, seul le diagnostic porté chez son enfant a permis de mettre en évidence l'anomalie maternelle.

311 >> Poster n°75**GÉNÉTIQUE CHROMOSOMIQUE****MICRODELETION 10Q23, INCLUANT LE LOCUS PTEN DANS DEUX CAS DE SYNDROME DE BANNAYAN-RILEY-RUVALCABA SÉVÈRES**

MC. de Blois (1), C. Houdayer (2), C. Talbotec (3), S. Gad (2), D. Sanlaville (1), O. Goulet (3), M. Vekemans (1), S. Romana (1), S. Lyonnet (1), D. Stoppa-Lyonnet (2)

(1) Département de Génétique, Hôpital Necker Enfants-Malades, Paris

(2) Institut Curie, Unité de Génétique oncologique, Paris

(3) Département de Pédiatrie, Hôpital Necker Enfants-Malades, Paris

Le syndrome de Bannayan-Riley-Ruvalcaba (BRRS), est une maladie dominante autosomique. Les caractéristiques cliniques de BRRS, comprennent une polypose hamartomateuse intestinale, une macrocéphalie, des lipomes, un retard psychomoteur et des anomalies vasculaires. Des mutations germinales de PTEN ou de rares délétions chromosomiques en 10q23 ont été rapportées dans les familles de BRRS. Nous rapportons ici deux observations de BRRS concernant deux enfants ayant une macrocéphalie, une polypose pancolique hamartomateuse, des lipomes et des angiomes cutanés pour l'une; une polypose hamartomateuse pancolique, une macrocéphalie et un retard psychomoteur pour l'autre.

Un caryotype en haute résolution a été réalisé pour les deux patients ainsi qu'une recherche de mutation du gène PTEN, (muté dans 60% des cas de BRRS). Aucune mutation n'a été mise en évidence et le caryotype est normal. L'étude des microsatellites avec des marqueurs intra et extra géniques a été réalisée. Une absence de contribution paternelle pour PTEN a été détectée pour le premier patient, suggérant une délétion qui a été confirmée par FISH. Pour le deuxième patient, les microsatellites étaient non informatifs pour PTEN mais montraient une non contribution maternelle dans une région entre PTEN et BMPR1A. Une délétion de PTEN a été confirmée en FISH. Ces deux enfants ont un phénotype très sévère. Des mutations du gène BMPR1A ont été rapportées dans des cas de polypose juvénile. Une délétion de ce gène pourrait expliquer la gravité du tableau présenté par nos deux patients. Des analyses microsatellites et des études en FISH avec la sonde BMPR1A sont en cours.

334 >> Poster n°76**GÉNÉTIQUE CHROMOSOMIQUE****DESCRIPTION DE TROIS ENFANTS PORTEURS D'UNE TRANSLOCATION FAMILIALE DÉSÉQUILIBRÉE IMPLIQUANT LES EXTRÉMITÉS 10Q26 ET 15Q26**

*B. de Fremenville, F. Prieur, MF. Commarmond, RL. Touraine
Service de Génétique, CHU St Etienne*

Nous rapportons le cas de 2 sœurs de 12 et 14 ans porteuses d'une déficience intellectuelle et d'un syndrome dysmorphique. Leurs parents, d'origine Algérienne, ne sont pas apparentés, mais du même village. Elles ont un frère qui est décédé à l'âge de 6 mois avec un tableau polymalformatif (avance staturale, polydactylie, dystrophie thoracique, rétrécissement pulmonaire et hypotonie).

Ces 2 sœurs ont un tableau clinique similaire avec une déficience intellectuelle sévère à modérée, une avance staturale dans la petite enfance, une croissance normale ensuite (P,T et PC), une cyphose, un pectus excavatum, une dysmorphie de la face (visage un peu grossier allongé, grand menton, racine du nez large, long nez et philtrum court et large, lèvres charnues bien dessinées, épicanthus, strabisme, fentes palpébrales petites, yeux enfoncés) et des extrémités (petits ongles, PPU ou pseudo PPU, gros orteils). L'une présente une symphalangie du pouce droit.

Le caryotype, que nous avons refait, a mis en évidence chez les 2 sœurs, une délétion terminale d'une extrémité 10q26 associée à une trisomie terminale d'une extrémité 15q26 par translocation familiale déséquilibrée héritée de leur mère.

L'anomalie visible sur le caryotype a été confirmée par l'étude des télomères en FISH. L'étude cytogénétique du frère décédé est en cours sur fibroblastes en culture, de même que l'analyse en haute résolution.

Certains signes cliniques proviennent de la trisomie 15qter et d'autres de la délétion 10qter.

Cette observation illustre une fois de plus l'intérêt de l'analyse cytogénétique répétée dans les formes familiales (pseudo-récessives) de déficience intellectuelle syndromique.

343**GÉNÉTIQUE CHROMOSOMIQUE****HYPERINSULINISME SÉVÈRE DANS UN SYNDROME DE BECKWITH-WIEDEMANN : PERTE DES 23 CHROMOSOMES D'ORIGINE MATERNELLE EN MOSAÏQUE DANS LES LEUCOCYTES ET DANS LE PANCRÉAS ET CANAUX POTASSIQUES FONCTIONNELS DANS LE PANCRÉAS**

I. Giurgea (1), D. Sanlaville (1), C. Bellanné (2), F. Jaubert (1), S. Lyonnet (1), JM. Saudubray (1), M. Vekemans (1), JJ. Robert (1), C. Gicquel (3), P. de Lonlay (1)

(1) INSERM U393, Départements de Pédiatrie et Génétique, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris

(2) Laboratoire de Biologie Moléculaire, Hôpital Saint-Antoine, Paris

(3) Département de Cytogénétique, Hôpital Trousseau, Paris

Le syndrome de Beckwith-Wiedemann (BWS) est associé à un hyperinsulinisme dans 30% à 50% de cas, mais nécessite une pancréatectomie dans moins de 5% des cas. En dépit des anomalies moléculaires récentes identifiées dans la région 11p15, le mécanisme de l'hypoglycémie du BWS demeure indéterminé.

Nous rapportons une patiente de 4 ans avec un BWS dû à une isodisomie paternelle en 11p15 présentant un hyperinsulinisme sévère ayant nécessité une pancréatectomie totale à l'âge de 13 mois. L'histologie pancréatique a montré une mosaïque composée de deux types d'îlots : des petits îlots avec les cellules bêta "au repos" (peu de cytoplasme et petits noyaux, pancréas normal), à côté d'îlots hyperactifs (cellules bêta riches en cytoplasme et gros noyaux, pancréas anormal). Une perte d'allèles d'origine maternelle des 23 chromosomes a été trouvée en mosaïque à l'aide de marqueurs microsatellites, dans les leucocytes et dans toutes les cellules du pancréas anormal, mais pas dans le pancréas normal, suggérant un événement post-zygotique très précoce. Une disomie paternelle de tous les chromosomes est confirmée par hybridation in situ fluorescent (FISH). L'hypoglycémie n'est pas expliquée par un dysfonctionnement des canaux potassiques ATP-dépendants (K+ATP). En effet 1) aucune mutation n'a été trouvée dans les gènes ABCC8 (SUR1) et KCNJ11 (Kir6.2) situés dans la région 11p15, codant pour ce canal ; 2) l'étude électrophysiologique des cellules bêta anormales a confirmé le bon fonctionnement des canaux; 3) une stimulation de l'insulinosécrétion a été provoquée par l'injection intraveineuse de tolbutamide (agoniste des canaux K+ATP) et non par l'injection de calcium.

345 >> Poster n°77**GÉNÉTIQUE CHROMOSOMIQUE****REMANIEMENT INTRACHROMOSOMIQUE DE NOVO ENTRAÎNANT UNE DUPLICATION 20P PURE**

M. Chaabouni (1,2), LB. Jemâa (1), L. Karboul (3), F. Maazoul (1), C. Turleau (2), M. Prieur (2), SP. Romana (2), S. Bousnina (3), M. Vekemans (2), H. Chaabouni (1)

(1) Laboratoire de génétique humaine, faculté de médecine, Tunis

(2) Service de cytogénétique, Hôpital Necker-Enfants malades, Paris

(3) Service de pédiatrie, Hôpital d'enfants, Tunis

Nous rapportons l'observation d'un garçon de 5 ans qui présente un retard psychomoteur modéré, une dysmorphie cranio-faciale, une hexadactylie pré-axiale gauche, une communication inter-ventriculaire, un hypogonadisme avec hypospadias, et une croissance normale. Le caryotype montre un chromosome 20 trop long et la haute résolution suggère la présence d'un 2ème bras court à l'extrémité du bras long. La peinture confirme que le dérivé n'est constitué que de chromosome 20. Les sondes télomériques 20p/20q montrent sur le dérivé la présence d'un télomère 20p à ses deux extrémités et l'absence de télomère 20q. Différentes sondes étagées sur le chromosome 20 ont permis de préciser les points de cassure : 46,XY,der(20)(pter=>q13.3::p11.2=>pter). La trisomie intéresse pratiquement tout le bras court. Les caryotypes des parents sont normaux. Il s'agit donc d'une anomalie intrachromosomique survenue de novo. Le mécanisme peut être soit une translocation entre homologues soit une aneusomie de recombinaison consécutive à une inversion péricentrique survenue dans les cellules germinales pré-méiotiques. Cette trisomie est quasiment pure, à l'exception de la perte de la région télomérique du bras long. Elle est bien caractérisée au plan moléculaire. La plupart des cas de trisomie 20p rapportés dans la littérature sont associés à des délétions d'autres chromosomes modifiant le phénotype. Cette observation permet donc de préciser le phénotype de la trisomie 20p.

352 >> Poster n°78**GÉNÉTIQUE CHROMOSOMIQUE****MLS SYNDROME : À PROPOS DE QUATRE NOUVELLES OBSERVATIONS**

ML. Jacquemont (1), MF. Portnoi (1), C. Le Caignec (2), A. David (3), D. Lacombe (4), A. Ardalan (1), S. Marlin (5), P. Vabres (6), M. Picq (7), C. Ozilou (7), S. Romana (7), JL. Taillemite (1), M. Vekemans (7), MC. de Blois (7)

(1) Laboratoire de Cytogénétique, Hôpital Saint-Antoine, Paris

(2) Laboratoire de Cytogénétique, CHU, Nantes

(3) Service de Génétique Médicale, CHU, Nantes

(4) Service de Génétique Médicale, CHU Hôpital Pellegrin, Bordeaux

(5) Service d'ORL pédiatrique et de chirurgie cervico-faciale, Hôpital Armand Trousseau, Paris

(6) Service de Dermatologie, CHU, Poitiers

(7) Laboratoire de Cytogénétique, Hôpital Necker-Enfants-Malades, Paris

Le syndrome MLS (microphthalmia with linear skin defects ; MIM 309801) est défini par l'association rare d'aplasies cutanées linéaires de la région cervico-faciale suivant les lignes de Blashko, d'une microphthalmie et d'une sclérocornée. Ce syndrome est également connu sous l'acronyme MIDAS (microphthalmia, dermal aplasia and sclerocornea). Une agénésie du corps calleux, des anomalies cardiaques, un retard psychomoteur sont plus rarement décrits. A l'exception de huit garçons XX, les observations rapportées dans la littérature concernent des filles, suggérant une hérédité liée à l'X avec létalité chez le garçon. La plupart des cas sont liés à une anomalie de la région Xp22.31 correspondant à plusieurs mécanismes : délétion du bras court de l'X, translocation impliquant le chromosome X, microdélétion. Plus de 36 cas ont été rapportés dans la littérature. Nous rapportons ici quatre nouvelles observations : une fille modérément atteinte dont l'X délété est dérivé d'une translocation (X ;3) maternelle équilibrée, une transmission mère-fille d'une délétion terminale du bras court du chromosome X sans phénotype chez la mère et avec un phénotype complet chez la fille, un troisième cas présentant un caryotype standard normal, et un nouveau-né ayant une délétion terminale du bras court du chromosome X en mosaïque. L'hétérogénéité des mécanismes cytogénétiques et de l'expression clinique observée dans nos quatre observations nous amène à discuter les différentes hypothèses physiopathologiques de ce syndrome et souligne la difficulté du conseil génétique.

369 >> Poster n°79**GÉNÉTIQUE CHROMOSOMIQUE****LOCALISATION CYTOGÉNÉTIQUE DES GÈNES DES FUCOSYLTRANSFÉRASES: INTÉRÊTS DE L'ÉTUDE COMPARATIVE OISEAU/HOMME.**

P. Coullin (1), R. Crooijmans (2), R. Oriol (3), R. Mollicone (3), M. Groenen (2), V. Fillon (4), R. Zoorob (5), A. Bernheim (1), J. Candelier (3)

(1) UMR 8125, Cytogénétique et génomique des cancers, IGR, Villejuif

(2) Animal Breeding and Genetics group, Wageningen University, The Netherlands

(3) INSERM U504, Villejuif

(4) Génétique Cellulaire, INRA Toulouse-Auzeville, Castanet Tolosan

(5) CNRS FRE 2376, Villejuif

Les fucosyltransférases (FUT) sont responsables de la biosynthèse des antigènes H et Lewis qui sont impliqués dans de nombreuses fonctions biologiques. Ces gènes sont présents chez les bactéries jusqu'aux primates. L'existence des orthologues de ces gènes a été recherchée chez le poulet dont le génome représente le tiers de celui de l'homme et où la synténie est particulièrement préservée. Les localisations ont été réalisées par FISH en utilisant des BACs d'ADN génomique de poulet. Trois gènes (FUT3, FUT5, FUT6) groupés chez l'homme ont été retrouvés sous la forme d'un gène unique ancêtre (FUT3/5/6). La localisation des orthologues des 6 gènes (FUT4, 7, 8, 10, 11 et POFUT1) chez le poulet confirme des zones de synténie. Les orthologues des gènes FUT3, 5, 6 et FUT9 représentent des insertions ou de nouvelles zones de synténie. Deux couples de gènes (FUT4-FUT3/5/6 et FUT8-FUT9) localisés sur des chromosomes différents chez l'homme ont été retrouvés sur un même chromosome chez l'oiseau suggérant la duplication de gènes ancestraux. Les deux gènes FUT1 et FUT2 présents avant l'évolution des oiseaux, n'ont pas été retrouvés chez eux, suggérant un phénomène de régression. Le chromosome 1 portant déjà FUT3/5/6 et FUT4 aurait dû porter ces deux gènes. L'ensemble de ces résultats suggère que les gènes FUT ont eu un ancêtre commun à un moment donné de l'évolution. Les gènes FUT fonctionnels chez l'embryon humain sont associés à des zones de fragilité du génome chez l'oiseau. L'étude de ces sites devrait permettre de préciser la régulation de ces gènes.

370 >> Poster n°80**GÉNÉTIQUE CHROMOSOMIQUE****DÉLÉTION PARTIELLE DE LA RÉGION 11P11.2 IMPLIQUÉE DANS LE SYNDROME DE POTOCKI-SHAFFER ET PHÉNOCOPIE DU SYNDROME DE PRADER WILLI**

V. Koubi (1), T. Salama (1), F. Baverel (1), L. Burglen (2), A. Lebbar (1), D. Le Tessier (1), D. Rabineau (1), JM. Dupont (1)

(1) Service d'Histologie-Embryologie-Cytogénétique, Hôpital Cochin, Paris

(2) Service de Neuropédiatrie, Hôpital Trousseau, Paris

Nous présentons le cas d'un garçon de 2 ans, adressé au laboratoire pour suspicion clinique de Prader-Willi (PWS), devant une hypotonie, une obésité et un retard des acquisitions.

Le caryotype standard et l'étude de la méthylation du locus SNRPN se sont révélés normaux, et la FISH n'a pas mis en évidence de microdélétion 15q11-13.

Le caryotype en haute résolution en revanche a permis de mettre en évidence une délétion interstitielle au niveau du bras court du chromosome 11. Des analyses complémentaires en cytogénétique moléculaire, utilisant des BACs spécifiques de la région, ont permis d'identifier une délétion de 5 Mb en 11p11.2

Cette délétion proximale du bras court du chromosome 11 est habituellement associée au syndrome de Potocki-Shaffer (PSS, MIM # 601224), syndrome de gènes contigus caractérisé par la présence d'exostoses multiples associées à un défaut d'ossification pariétale et à des signes inconstants (retard mental, hypotonie, dysmorphie faciale modérée, micropénis). Les exostoses et le défaut d'ossification sont secondaires à la perte des gènes EXT2 et ALX4 respectivement, situés en 11p11.2. Ces deux gènes sont conservés chez notre patient qui ne présente ni

exostoses ni défaut d'ossification.

La comparaison avec les autres patients décrits dans la littérature nous permet de préciser la région du chromosome 11p associée à la survenue des signes mineurs de ce syndrome, et particulièrement du retard mental.

Par ailleurs, ce cas démontre que les délétions 11p11.2, quand elles respectent les gènes EXT2 et ALX4, peuvent se traduire cliniquement par un syndrome Prader-Willi-like au moins chez les jeunes enfants.

423

GÉNÉTIQUE CHROMOSOMIQUE

DIAGNOSTIC PRÉNATAL D'UN PETIT ANNEAU SURNUMÉRAIRE DU CHROMOSOME 7 DE NOVO

A. Lebbar (1), J. Tantau (2), N. Le Dù (1), L. Cuisset (3), D. Letessier (1), D. Rabineau (1), JM. Dupont (1)

(1) Service d'Histologie-Embryologie-Cytogénétique, Hôpital Cochin, Paris

(2) Service d'Histologie-Embryologie-Cytogénétique et Anatomopathologie, Hôpital Saint Vincent de Paul

Les observations d'anneaux surnuméraires sont très rares, en particulier au cours d'un diagnostic prénatal. Une vingtaine de cas ont été rapportés, les plus fréquents étant les anneaux des chromosomes 1, 8 et 20. Nous décrivons ici la première observation de diagnostic prénatal d'un anneau surnuméraire dérivant du chromosome 7.

Mme C. a bénéficié d'une amniocentèse à 18 SA, à la suite d'un dépistage de trisomie 21 par les marqueurs sériques du deuxième trimestre indiquant un risque à 1/120. L'analyse du caryotype fœtal a révélé la présence, dans 35% des cellules, d'un petit marqueur surnuméraire en anneau, de petite taille. L'Hybridation in situ a permis de déterminer que cet anneau dérive du chromosome 7 et qu'il existe une trisomie partielle des régions péricentromériques du chromosome 7. Les caryotypes des parents sont normaux. Une recherche de disomie uniparentale du chromosome 7 a été réalisée à l'aide de microsatellites télomériques afin de déterminer la contribution parentale des cellules diploïdes de la mosaïque. Aucune anomalie n'a été retrouvée à l'échographie foetale réalisée à 22 SA.

Après un conseil génétique, le couple a demandé une interruption de grossesse qui a été réalisée à 22 SA. L'examen fœtopathologique a montré des anomalies mineures, externes et internes, ainsi que des anomalies radiologiques pouvant être attribuées à l'anomalie cytogénétique retrouvée chez le fœtus.

433

GÉNÉTIQUE CHROMOSOMIQUE

EPIGÉNÉTIQUE ET VARIABILITÉ DU PHÉNOTYPE EN CAS DE REMANIEMENT DÉSÉQUILIBRÉ

MN. Bonnet-Dupeyron (1), C. Goumy (1), M. Giollant (1), JY. Jaffray (1), A. Geneix (1), L. Janny (2), C. Francannet (3), O. Boespflug-Tanguy (3), P. Vago (1)

(1) Faculté de Médecine, Service de Cytogénétique, Clermont-Ferrand

(2) Biologie de la reproduction, CHU, Clermont-Ferrand

(3) Génétique Médicale, CHU, Clermont-Ferrand

Nous rapportons deux cas de remaniements déséquilibrés associés à un phénotype non attendu.

Le premier, familial, a été dépisté dans le cadre d'un retard psychomoteur associé à une discrète dysmorphie chez un

enfant. Au caryotype standard, un chromosome 9 était remanié au niveau du centromère. La CGH a révélé une duplication des régions p11p12 et q13q21. La FISH, avec des sondes WCP9 et CEP9, a permis de préciser qu'il s'agissait d'un chromosome 9 dicentrique. La formule chromosomique a été établie à : 46,XY,rev ish amp(9p11p12,9q13q21). L'enquête familiale a mis en évidence la présence du même remaniement chez son frère, qui présente des troubles modérés du langage, et chez son père, sans particularité phénotypique.

Le deuxième cas a été dépisté lors du bilan d'une stérilité. Le caryotype standard retrouve un marqueur surnuméraire. La FISH, avec les sondes 15q11.2, 15q11q13 et 15q22, a montré qu'il s'agissait d'un chromosome 15 isodicentrique. La CGH a mis en évidence une duplication 15q11q12 et a permis de d'établir la formule chromosomique suivante: 47,XY,+der(15) rev ish, idic(15)amp(15q11q12). L'enquête familiale est en cours.

Dans le cas familial, des profils différents de méthylation chez les membres porteurs du remaniement pourrait expliquer la variabilité phénotypique. Dans le second cas, une méthylation de la région dupliquée pourrait expliquer l'absence d'anomalie du phénotype, en dehors de l'hypofertilité. Un effet de position lié à l'hétérochromatine qui encadre les régions dupliquées dans les deux cas ou une empreinte parentale dans le deuxième cas pourrait expliquer des variations de la méthylation.

439

GÉNÉTIQUE CHROMOSOMIQUE

AVANCE STATURALE, RETARD MENTAL, SYNDROME AUTISTIQUE ET DELETION SUBTELOMERIQUE 22Q : EVOLUTION DU PHENOTYPE AVEC L'AGE

V. Cusin (1), F. Mugneret (2), P. Callier (2), C. Thauvin-Robinet (1), L. Faivre (1)

(1) Centre de Génétique, Hôpital d'Enfants, CHU de Dijon

(2) Laboratoire de Cytogénétique, CHU de Dijon

Contrairement aux autres délétions chromosomiques habituellement associées à un retard de croissance, les délétions 22qter sont souvent associées à une avance staturale. Les rares cas rapportés dans la littérature concernent des enfants en bas âge et l'évolution du phénotype est mal connue. Nous rapportons ici l'observation d'un homme de 23 ans présentant une délétion 22qter mise en évidence par l'étude des extrémités subtélomériques en FISH. Il présentait une avance staturale à la naissance (T 54 cm, P 3100g, PC 34.5 cm). La tenue de la tête a été acquise à 13 mois, la tenue assise à 6 ans. A l'âge de 23 ans, il mesure 175 cm et a donc progressivement rejoint les courbes normales. Il présente un retard mental sévère avec une composante autistique et absence de langage, une amyotrophie importante, une marche incertaine, une arachnodactylie, une syndactylie 2-3 bilatérale des orteils. La dysmorphie faciale est mineure (dolichocéphalie, cheveux épais, pyramide nasale large, philtrum long, bouche large, lèvres épaisses). Le bilan polymalformatif est négatif et le caryotype standard normal. En raison d'une symptomatologie identique chez deux cousins paternels, une recherche de réarrangements subtélomériques a été réalisée et a révélée une délétion 22qter et une trisomie 10qter résultant du déséquilibre d'une translocation probablement d'origine paternelle. Cette observation confirme donc l'avance staturale essentiellement prénatale associée aux délétions 22qter. Elle fait partie des 4/32 réarrangements déséquilibrés

dépistés par FISH subtélomérique au CHU de Dijon (12.5%), justifiant l'importance de ces analyses devant l'association retard psychomoteur sévère, dysmorphie faciale et antécédents familiaux.

445 >> Poster n°81

GÉNÉTIQUE CHROMOSOMIQUE

CARACTÉRISATION RAPIDE DE DÉLÉTIONS PAR QMPSF CHEZ DEUX PATIENTS NON APPARENTÉS PRÉSENTANT UN SYNDROME DE GÈNES CONTIGUS EN XP21

A. Goldenberg (1), V. Drouin-Garraud (1), S. Baert (1), D. Recan (2), C. Michel-Adde (3), S. Marret (3), C. Kolly (4), C. Vanhulle (3), C. Forget (5), E. Bessenay (1), MA. Gougerot-Pocidallo (6), T. Frebourg (1)

(1) Service de Génétique, CHU, Rouen

(2) Laboratoire de Biochimie et de Génétique Moléculaire, Hôpital Cochin, Paris

(3) Département de Néonatalogie, CHU, Rouen

(4) Département de Pédiatrie, CHU, Rouen

(5) Département de Pédiatrie, CHG, Elbeuf

(6) Laboratoire d'Hématologie et d'Immunologie biologique, CHU Bichat-Claude Bernard, Paris

Les syndromes de délétion de gènes contigus en Xp21 sont caractérisés par l'association de la dystrophie musculaire de Duchenne, l'hypoplasie congénitale des surrénales, le déficit en glycérol kinase, le syndrome de MacLeod, et la granulomatose septique, impliquant respectivement les gènes DMD, DAX/NROB, GK, XK et CYBB. Nous rapportons deux cas non apparentés de délétion Xp21. Le premier patient s'est présenté à la naissance à terme avec une hypotonie et un syndrome de perte de sel. Une élévation des CPK à 7000 UI/l et une hypertriglycéridémie ont orienté vers une délétion Xp21. Le deuxième patient s'est présenté à l'âge de 10 mois avec une hypotonie sévère, des abcès récidivants, un retard de croissance et une dysmorphie modérée. L'élévation des CPK à 6660 UI/l puis le diagnostic de granulomatose septique ont fait évoquer une délétion Xp21. L'étude par QMPSF (Quantitative Multiplex PCR of Short Fluorescent Fragments) a révélé chez le patient 1, une délétion de 5 Mb, emportant les exons 53-79 du gène DMD, la totalité des gènes GK, DAX/NROB1 et IL1RAPL1. Chez le patient 2, la délétion de 7 Mb emportait les exons 1-55 du gène DMD, le gène XK et le gène CYBB. La QMPSF a permis une caractérisation rapide des délétions et un conseil génétique dans les deux cas grâce à l'identification du statut de conductrice chez les mères. Ces observations confirment que la QMPSF est une méthode de choix pour l'exploration des syndromes de gènes contigus.

448 >> Poster n°82

GÉNÉTIQUE CHROMOSOMIQUE

TRANSLOCATION DÉSÉQUILIBRÉE EN MOSAÏQUE CHEZ UN ENFANT AVEC RETARD MENTAL ET POLYDACTYLIE PRÉ-AXIALE

V. Drouin-Garraud (1), A. Goldenberg (1), A. Charollais (2), C. Vanhulle (2), T. Frébourg (1), G. Joly-Hélas (1,3)

(1) Service de Génétique, CHU de Rouen

(2) Département de Néonatalogie, CHU de Rouen

(3) Laboratoire de Cytogénétique, CHU Rouen

Les translocations déséquilibrées en mosaïque sont rares. Nous rapportons l'observation d'un patient présentant un syndrome malformatif en rapport avec une trisomie 1q41-

pter et une monosomie 10p25-pter mises en évidence dans les fibroblastes. Léo est le premier enfant de parents non apparentés, né à terme avec des mensurations normales, une polydactylie pré axiale droite, une dysmorphie faciale, une petite tache dépigmentée dorsale, un hypospade, une hypotonie axiale et un reflux vésico-urétéral sévère. L'évolution a été marquée par l'apparition d'un retard psychomoteur important et d'un retard de croissance. Le caryotype standard et en prométaphase, la FISH tous télomères et la CGH sur lymphocytes sanguins n'ont révélé aucune anomalie. Le caryotype standard sur fibroblastes à partir d'une biopsie faite en peau saine a montré le déséquilibre suivant : 46,XY, der(10)t(1;10)(q41;p15). Cet enfant présente certains des signes cliniques décrits dans les trisomies 1q partielles homogènes dont la polydactylie préaxiale et la dysmorphie faciale. Six autres observations de trisomie partielle 1q en mosaïque par translocation déséquilibrées ont été rapportées dans la littérature. Il s'agissait dans cinq cas de diagnostic anténatal réalisé à partir de cellules amniotiques et, dans un cas, d'un diagnostic postnatal sur lymphocytes réalisé dans le cadre d'un syndrome polymalformatif. Cette nouvelle observation souligne l'importance de la réalisation d'un caryotype sur fibroblastes dans des tableaux cliniques évocateurs d'anomalie chromosomique même s'il n'existe que peu de signes cutanés.

456 >> Poster n°83

GÉNÉTIQUE CHROMOSOMIQUE

DIFFICULTÉS D'INTERPRÉTATION CYTOGÉNÉTIQUE DEVANT LA DÉCOUVERTE D'UN MARQUEUR CHROMOSOMIQUE SURNUMÉRAIRE EN MOSAÏQUE : INTÉRÊT DE LA CGH ?

T. Martin-Denavit (1,2), C. Dupont (3), E. Pipiras (3), MP. Cordier (2), P. Ederly (4), A. Verloes (5), G. Theuil (1), JP. Magaud (1), B. Benzacken (3), M. Till (1,4)

(1) Laboratoire de Génétique Chromosomique, Hôpital E. Herriot, Lyon

(2) Service de Génétique Clinique, Hôpital Hôtel Dieu, Lyon

(3) Service d'Histologie Embryologie Cytogénétique et Biologie de la

reproduction, Hôpital Jean Verdier, Bondy

(4) Unité de Génétique Clinique, Hôpital Debrousse, Lyon

(5) Unité de Génétique Médicale, Hôpital Robert Debré, Paris

Un Chromosome Surnuméraire de type Marqueur (SMC) est habituellement défini comme un chromosome supplémentaire dont l'origine et la composition ne peuvent être résolus par les techniques habituelles de Cytogénétique conventionnelle. Leur incidence est de 0,3/1000 parmi les nouveau-nés et de 3/1000 soit 10 fois plus dans la population des sujets porteurs d'un retard mental. La technique d'exploration de ces marqueurs repose actuellement sur l'Hybridation in situ en Fluorescence (FISH) qui permet d'identifier leur origine et de préciser leur contenu génétique euchromatique et hétérochromatique. Néanmoins, l'Hybridation Génomique Comparative (CGH) peut être utile dans certaines circonstances.

Nous rapportons 2 observations pour lesquelles nous avons pu identifier l'origine d'un SMC en mosaïque par l'utilisation combinée de la FISH et de la CGH.

La première observation concerne une petite fille hypotrophe âgée de 9 mois qui présente une dysmorphie craniofaciale, une microcéphalie (- 4DS), une imperforation anale, une hypotonie axiale. Le caryotype (RHG) montre la présence d'un SMC de novo et en mosaïque : 42% sur les fibroblastes de la peau et 9% dans le sang périphérique. La

FISH et la CGH confirment qu'il s'agit d'un dérivé du chromosome 19. La deuxième observation concerne un enfant âgé de 8 ans qui présente une hypotonie, une dysmorphie craniofaciale et un retard mental modéré. Le caryotype (RHG) montre la présence dans le sang d'un SMC de novo et en mosaïque (50%). La FISH et la CGH confirment qu'il s'agit d'un SMC dérivé du bras court du chromosome 17 (Dupont C et coll., 2003).

459 >> Poster n°84

GÉNÉTIQUE CHROMOSOMIQUE

SYNDROME D'ANEUPLOÏDIES VARIÉE EN MOSAÏQUE : À PROPOS D'UN CAS

P. Callier (1), N. Marle (1), L. Faivre (2), C. Thauvin (2), V. Cusin (2), F. Mugneret (1)

(1) Laboratoire de Cytogénétique, CHU Le Bocage, Dijon

(2) Génétique médicale, CHU Le Bocage, Dijon

Le Syndrome d'Aneuploïdie Variée en Mosaïque (MVAS) est rare et il associe des trisomies multiples à une microcéphalie, un retard de croissance et un retard mental. Nous rapportons l'observation d'un nourrisson de sexe masculin avec MVAS. L'échographie à 32 SA a révélé un retard de croissance intra-utérin entre le 10^{ème} et 25^{ème} percentile ainsi qu'un oligoamnios n'ayant pas motivé de diagnostic anténatal. A la naissance, le nourrisson présente une dysmorphie faciale sans microcéphalie associant un front asymétrique, un hypertélorisme, des fentes palpébrales étroites, une asymétrie orbitaire, une asymétrie de hauteur des oreilles, un cou court, des anomalies des extrémités avec un pouce adductus, des pieds en piolets et une luxation de la hanche gauche. La présence de cette dysmorphie et d'anomalies des extrémités fait prescrire un caryotype post natal.

Le caryotype sanguin et l'étude FISH mettent en évidence une trisomie 19 et une trisomie 18 en mosaïque (respectivement 53 % et 3%). Devant cette double aneuploïdie un caryotype sur fibroblastes est réalisé et montre la présence d'une trisomie 8 isolée en mosaïque (16%). Le diagnostic de MVAS est alors porté.

Il s'agit donc du premier cas de MVAS sans microcéphalie et cette observation illustre la difficulté de diagnostic de MVAS en prénatal comme en postnatal devant une trisomie mosaïque faible. Avec la revue de la littérature nous discuterons les aspects phénotypiques, éthiopathogéniques de ce syndrome.

466 >> Poster n°85

GÉNÉTIQUE CHROMOSOMIQUE

CARACTÉRISATION MOLÉCULAIRE D'UNE DÉLÉTION 14Q23Q31.1 CHEZ UN PATIENT AU PHÉNOTYPE ÉVOCATEUR DE SYNDROME DE HOLT-ORAM

N. Le Meur (1,2), A. Goldenberg (2), C. Michel-Adde (2), P. Kleinfinger (3), V. Drouin-Garraud (2), G. Blaysat (4), S. Marret (5), S. Abu Amara (4), H. Moïrot (1), G. Joly-Hélas (1), B. Macé (1), P. Sauquier-Veber (2), T. Frebourg (2), A. Rossi (6)

(1) Laboratoire d'Histologie, Cytogénétique et Biologie de la Reproduction, CHU de Rouen

(2) Service de Génétique, CHU de Rouen

(3) Laboratoire Pasteur-Cerba, Cergy-Pontoise

(4) Service de Pédiatrie, CHU de Rouen

(5) Service de Néonatalogie, CHU de Rouen

(6) Laboratoire de Cytogénétique, Etablissement Français du Sang de Normandie, Bois-Guillaume

Le syndrome de Holt-Oram, est un syndrome rare de transmission autosomique dominante, défini par l'association d'anomalies de l'axe radial et d'une cardiopathie septale. Le gène responsable TBX5, localisé en 12q24.1, code pour un facteur de transcription appartenant à la famille "T box" et est impliqué dans la différenciation des cardiomyocytes et la formation des membres supérieurs. L'absence de mutation du gène TBX5 dans environ deux tiers des familles atteintes de syndrome de Holt-Oram a suggéré l'existence d'une hétérogénéité génétique. Nous rapportons le cas d'une délétion interstitielle du bras long du chromosome 14 chez un enfant présentant une aplasie radiale bilatérale asymétrique, une cardiopathie septale, un retard de développement et des éléments dysmorphiques. Il s'agit du deuxième cas de délétion 14q interstitielle associée au phénotype Holt-Oram. Dans notre observation la délétion est héritée de la mère qui est porteuse d'une insertion interchromosomique équilibrée (46,XX,ins(4 ;14)(q31.1;q23q31.1). La caractérisation de la délétion en cytogénétique moléculaire nous a permis de montrer qu'elle emportait des gènes codant pour des facteurs de transcription et des facteurs de croissance potentiellement impliqués dans le développement des membres et du cœur. Cette observation suggère l'existence d'un nouveau locus "cœur-main" dans la région 14q23q31.1. L'étude moléculaire de cas similaires pourrait permettre d'affiner la région critique et de définir de nouveaux gènes candidats pour le syndrome de Holt-Oram.

477 >> Poster n°86

GÉNÉTIQUE CHROMOSOMIQUE

DUPLICATION/DÉLÉTION 5P DE NOVO ET CRI DU CHAT SANS AUTRE SIGNE CLINIQUE DU CDC SYNDROME

M. Pazoooki (1), N. Le Dû (1), A. Lebbar (1), F. Baverel (1), S. Passemard (2), D. Le Tessier (1), D. Rabineau (1), JM. Dupont (1).

(1) Laboratoire de Cytogénétique, Hôpital Cochin, Paris

(2) Service de Neuropédiatrie, Hôpital Armand-Trousseau, Paris

Nous rapportons un cas de duplication/délétion de novo du bras court du chromosome 5 chez une fillette de 3 ans et demi adressée au laboratoire pour retard des acquisitions motrices, absence de langage, macrocéphalie, discrète dysmorphie faciale et cri aigu évocateur d'un cri-du-chat. L'analyse cytogénétique en bandes R et G a permis de mettre en évidence un excédent de matériel chromosomique en 5p. Celui-ci a ensuite été exploré à l'aide de peintures chromosomiques et de sondes locus-spécifiques.

Le dérivé 5 étant entièrement marqué par la peinture spécifique du chromosome 5, le diagnostic de duplication a été posé. Afin de préciser la zone dupliquée, de nombreux BAC situés entre 5p13 et 5p15 ont été étudiés et ont permis de préciser les points de cassure de la duplication et de montrer qu'il existait une délétion terminale associée ; la sonde CDCR spécifique du syndrome du cri-du-chat n'étant ni dupliquée ni délétée.

L'association duplication/délétion a été rapportée pour plusieurs chromosomes, le plus fréquemment impliqué étant le chromosome 8. Une seule observation concernant le 5p est retrouvée dans la littérature, l'enfant présentant un tableau clinique similaire au nôtre (retard des acquisitions avec cri aigu évoquant celui du chat mais sans autre signe clinique de ce syndrome). Notre observation confirme que les gènes impliqués dans le cri seraient localisés en 5pter. Ainsi, chez les patients présentant un cri évocateur,

L'analyse cytogénétique peut mettre en évidence un remaniement chromosomique à type de duplication/délétion et éliminer un syndrome du cri-du-chat dont le pronostic est beaucoup plus sévère.

479

GÉNÉTIQUE CHROMOSOMIQUE**RECHERCHE ET IDENTIFICATION DE GÈNES POTENTIELLEMENT IMPLIQUÉS DANS LE CANCER DU REIN HUMAIN PAR LA CARTOGRAPHIE COMPARÉE HOMME-POULET.**

P. Coullin (1), L. Changlong (2), R. Zoorob (3), J.J. Candelier (4), M. Tessier (1), L. Ziercher (1), D. Vettese (1), A. Bernheim (1), B. Perbal (2)

(1) UMR 8125, IGR, Villejuif

(2) UFR Biochimie, Paris VII, Paris

(3) CNRS FRE 2376, Villejuif

(4) INSERM U504, Villejuif

La cartographie comparative entre l'homme et certains animaux devient un outil de choix pour l'étude des pathologies complexes. Le poulet possède un génome simplifié pour un nombre de gènes équivalent à celui de l'homme. La synténie des marqueurs se révèle être bien conservée entre les deux espèces. Nous avons donc utilisé le poulet comme modèle pour rechercher de nouveaux gènes potentiellement impliqués dans le néphroblastome humain. Les poulets infectés par le virus MAV-1(N) (avian myeloblastosis-associated virus) développent systématiquement des néphroblastomes. À partir de l'ADN de telles tumeurs, nous avons obtenu des sondes représentant 23 sites d'intégrations. Ces sondes ont été utilisées pour cribler une banque de BACs génomiques du poulet. Lesquels ont à leur tour été utilisés comme sondes pour cartographier par hybridation in situ fluorescente (FISH) les sites d'intégration.

Ces expériences ont montré que les sites d'intégration des virus MAV détectés sur les cellules tumorales, n'étaient pas répartis au hasard : sur-représentation sur un chromosome, co-localisations observées avec des sondes obtenues à partir de tumeurs différentes. Deux oncogènes putatifs ont été identifiés dans deux des BACs : nov assigné chez le poulet en Gga2q34-36 versus Hsa 8q11-24 chez l'homme et AdamTS1 en Gga1q12-14 versus Hsa 21q21. Ces gènes sont tous deux sur des segments bien conservés entre le poulet et l'homme.

Pour chacune des localisations de sites d'insertion, les segments orthologues humains sont explorés pour identifier, des gènes potentiellement impliqués. Exemple : WTAP assigné en Hsa 6q25-27 correspondant au segment Gga 3q24-28 allumé en FISH par le BAC-MAV71.

487 >> Poster n°87

GÉNÉTIQUE CHROMOSOMIQUE**APPORT DES SONDES EN CONTIG POUR LE DIAGNOSTIC PRÉ IMPLANTATOIRE DES TRANSLOCATIONS ROBERTSONIENNES**

M. Le Iorc'h (1), G. Tachdjian (2), N. Frydman (2), R. Frydman (3), M. Vekemans (1), S. Romana (1)

(1) Service d'Histologie-Embryologie-Cytogénétique, Hôpital Necker-Enfants malades, Paris

(2) Service d'Histologie-Embryologie-Cytogénétique, Hôpital Antoine Béclère, Clamart

(3) Service de Gynécologie-Obstétrique, Hôpital Antoine Béclère, Clamart

Le diagnostic pré implantatoire (D.P.I.) est une alternative au diagnostic pré-natal pour les couples porteurs d'anomalie chromosomique. La technique utilisée est l'hybridation in situ fluorescente (FISH) sur les noyaux d'un ou deux blastomères. La difficulté principale de cette technique tient au fait que la sensibilité de la FISH sur noyaux en interphase est de l'ordre de 95%, ce qui rend parfois difficile l'interprétation d'un résultat. Ainsi, dans le cas des translocations Robertsoniennes, le taux d'embryons équilibrés rapporté dans la littérature varie de 40% à 77% de l'ensemble des embryons testés. Dans notre expérience, ce taux était de 40%.

Nous avons fait l'hypothèse que cette grande variation des résultats venait de difficultés techniques liées à la qualité des sondes utilisées (sondes télomériques de 200kb disponibles dans le commerce). Pour améliorer ces résultats, nous avons construit de nouvelles sondes télomériques spécifiques des extrémités des chromosomes 13, 14 et 21 couvrant de façon continue (en contig) 1 Mb des parties subtélomériques spécifiques de ces chromosomes. Avec ces sondes, donnant un meilleur signal, nous avons obtenu une diminution du taux d'échec de 18% à 2%, $p < 0,5\%$ et une augmentation du taux d'embryons équilibrés de 40% à 60% ($p < 0,5\%$).

Cette nouvelle stratégie de sondes contiguës permet donc, grâce au très faible taux d'échecs d'hybridation d'augmenter sensiblement le nombre d'embryons équilibrés, déclarés aptes au transfert embryonnaire. Cette approche va maintenant être étendue à l'ensemble des autres translocations.

506 >> Poster n°88

GÉNÉTIQUE CHROMOSOMIQUE**ETUDE D'UNE TRANSLOCATION T(X;Y)(P22.3;Q11.2) DÉSÉQUILBRÉE CHEZ DEUX GARÇONS NON APPARENTÉS : RÉDUCTION DE L'INTERVALLE CRITIQUE SUR LE CHROMOSOME X ET LE CHROMOSOME Y.**

L. Pinson (1), F. Morel (1), P. Parent (2), C. Metz (2), C. Queinnee (3), M.J. Mitchell (4), N. Levy (5), M.J. Lebris (1), M. de Braeckeleer (1)

(1) Service de Cytogénétique, CHU, Brest

(2) Département de Pédiatrie et de Génétique Médicale, CHU, Brest

(3) Service de Pédiatrie, CHR, Quimper

(4) INSERM U491, Marseille

(5) Service de Génétique Moléculaire, CHU, Marseille

L'étude d'une même translocation t(X;Y)(p22.3;q11.2) déséquilibrée dans deux familles non apparentées est réalisée afin d'optimiser la prise en charge de deux garçons nullisomiques pour la région Xp22.3 et disomiques pour la région Yq11.2. Ils présentent une petite taille, une ichtyose congénitale, une chondrodysplasie ponctuée (évidente dans un cas) et un retard psychomoteur (sévère dans un cas). Ce phénotype est associé au syndrome des gènes contigus des délétions terminales Xp22.3 qui implique potentiellement six gènes répartis sur près de 10 mégabases : SHOX, ARSE, STS, VCX-A, KAL, OA1.

Les études biochimiques et de cytogénétique moléculaire confirment chez les deux enfants le déficit en enzyme arylsulfatase C, témoin de la délétion du gène STS (ichtyose récessive liée à l'X) et la délétion du gène SHOX, suspectée devant la petite taille familiale. L'amplification par PCR à l'aide de marqueurs microsatellites confirme l'absence du gène ARSE (Chondrodysplasie ponctuée) et cerne le point de cassure entre les gènes STS et KAL sur le chromosome

X et leurs pseudogènes sur le chromosome Y. L'analyse des cas similaires décrits dans la littérature confirme l'hétérogénéité phénotypique présentée dans notre travail et évoque l'existence d'un HOT SPOT de recombinaison entre la région en Xp22.31 et une région fortement homologue en Yq11.21. Les gènes VCX et VCY, situés dans les intervalles critiques pourraient favoriser la survenue de crossing-over ectopiques et rendre compte de la fréquence des translocations Xp22.3/Yq11.2. Le clonage des points de cassure chez nos deux patients devrait permettre de confirmer cette hypothèse.

508 >> Poster n°89

GÉNÉTIQUE CHROMOSOMIQUE

UN NOUVEAU CAS D'HOMME APPAREMMENT 45,X AVEC TRANSLOCATION Y;21

F. Fellmann, MA. Collonge-Rame, P. Khau Van Kien, JL. Bresson
Service de Génétique - Histologie - BDR, CHU Saint-Jacques, Besançon

Lors d'une consultation de génétique demandée dans le cadre d'un bilan familial d'amyotrophie spinale, le caryotype masculin a été prescrit en raison de la notion d'une infertilité du couple associée à la découverte récente d'une azoospermie chez un homme de petite taille, âgé de 41 ans. La formule chromosomique a montré l'existence d'une translocation Y;21. La perte de l'hétérochromatine était suggérée par l'absence de marquage en bandes Q. Les études complémentaires par FISH et l'étude moléculaire du chromosome Y ont permis de compléter les données initiales : le dérivé de la translocation est dicentrique, respectant a priori l'intégrité du chromosome 21. Le point de cassure sur le bras long de l'Y est localisé entre les régions AZFb et AZFc. La formule chromosomique s'écrit donc : 45,X,dic(Y;21)(q11.23;p11). Le caryotype du frère, normal, conforte l'hypothèse que ce remaniement est survenu de novo.

Il s'agit à notre connaissance du troisième cas de translocation Y;21 chez un homme apparemment 45,X. Si le résultat du caryotype explique vraisemblablement l'infertilité, son rôle dans les autres éléments du phénotype, et notamment la petite taille, reste à discuter.

GÉNÉTIQUE CLINIQUE

12 >> Poster n°90

GÉNÉTIQUE CLINIQUE

LES DÉLÉTIONS PARTIELLES DU LOCUS DAZ NE SONT QUE RAREMENT IMPLIQUÉES DANS LA SURVENUE D'UNE INFERTILITÉ CHEZ L'HOMME

AC. Lepretre (1,2), C. Patrat (2), P. Jouannet (2), T. Bienvenu (1)
(1) Laboratoire de Biochimie et Génétique Moléculaires, CHU Cochin, Paris
(2) Laboratoire de Biologie de la Reproduction, GREFH, CHU Cochin, Paris

Des microdélétions du bras long du chromosome Y emportant les 4 copies du gène DAZ sont retrouvées chez 3 à 15% des sujets azoospermiques ou oligozoospermiques. Récemment, une réduction du nombre de copies du gène DAZ a été mise en évidence chez des hommes infertiles. Afin de comprendre l'importance clinique de ces délétions partielles, nous avons étudié le nombre de copies du gène DAZ, par PCR et Southern blot, chez 47 hommes partenaires de femmes enceintes au moment de l'étude, et chez 81 hommes infertiles dont les caractéristiques spermatozoaires ont été analysées. Nos résultats montrent que les 4 copies du gène DAZ ne sont présentes que chez 74.5% des hommes fertiles et 63% des sujets infertiles. Seules des délétions de DAZ2 et DAZ4 ont été retrouvées chez les hommes fertiles alors que chez les sujets infertiles, des délétions de DAZ1 ou DAZ3 ont été identifiées. Les paramètres spermatozoaires des sujets fertiles possédant moins de 4 copies étaient comparables à ceux des sujets fertiles possédant les 4 copies. La comparaison des résultats obtenus par les 2 approches moléculaires suggère que toute délétion suspectée par PCR devrait être confirmée par Southern blot car les délétions partielles détectées par PCR n'ont pas été confirmées par Southern blot dans 37% des cas. Nos résultats suggèrent que la variation des paramètres spermatozoaires est indépendante du nombre de copies de DAZ et de la présence de DAZ2 ou DAZ4. En revanche, 2 à 3% des infertilités idiopathiques pourraient être liées à des délétions partielles de DAZ incluant DAZ1 et DAZ3.

13 >> Poster n°91

GÉNÉTIQUE CLINIQUE

LE SYNDROME DE PSEUDO-OBSTRUCTION INTESTINALE CHRONIQUE LIÉ À L'X. A PROPOS D'UN NOUVEAU CAS.

A. Toutain (1), H. Lardy (2), C. Muraige (3), MC. Machet (4), A. Le Touze (2), B. Delahousse (4)
(1) Service de Génétique, CHU Bretonneau, Tours
(2) Service de Chirurgie Viscérale, CHU Clocheville, Tours
(3) Service de Pédiatrie R, CHU Clocheville, Tours
(4) Laboratoire d'Anatomie Pathologique, CHU Trousseau, Tours
(5) Laboratoire d'Hématologie, CHU Trousseau, Tours

Les pseudo-obstructions intestinales chroniques (POIC) constituent un cadre clinique hétérogène sur le plan étiopathogénique au sein duquel de nouvelles entités nosologiques restent à identifier.

Nous rapportons l'observation d'un nouveau-né de sexe masculin, sans antécédents familiaux particuliers, présentant un syndrome occlusif néonatal lié à une POIC de type neurogénique associé à des malformations viscérales (mésentère commun avec bride de Ladd, artère ombilicale

unique, canal artériel et foramen ovale, dilatation de la grande citerne et dilatation pyélocalicielle régressive), une thrombopénie persistante et de discrets signes dysmorphiques.

Cette association correspond à une forme de POIC syndromique rare, décrite chez 7 patients de sexe masculin issus de 4 familles différentes. Cette nouvelle entité associe une POIC de type neurogénique (cellules ganglionnaires présentes mais qualitativement voire quantitativement anormales), des malformations (malrotation intestinale, canal artériel, sténose du pylore, hydronéphrose), des signes dysmorphiques discrets et variables, et des anomalies plaquettaires (thrombopénie et plaquettes géantes) sans traduction hémorragique habituellement. A ce jour, il n'a pas été décrit d'anomalies du système nerveux central, notamment pas de malformation, mais trop peu d'observations ont été rapportées pour déterminer l'étendue du spectre phénotypique. Dans deux familles, une liaison à l'X a pu être prouvée avec une localisation en Xq28 mais le gène n'est pas identifié à ce jour.

La reconnaissance de cette entité a des conséquences importantes pour le conseil génétique et doit inciter les cliniciens à rechercher chez tout enfant de sexe masculin présentant une POIC de type neurogénique, des malformations associées, même banales, et des anomalies plaquettaires.

16 >> Poster n°92

GÉNÉTIQUE CLINIQUE

DYSPLASIE SPODYLO-ÉPI-MÉTAPHYSAIRE DE TYPE HALL AVEC STÉNOSE LARYNGÉE : UN NOUVEAU CRITÈRE DIAGNOSTIC?

M. Holder-Espinasse (1), P. Fayoux (2), S. Morillon (3), C. Fourier (3), A. Dieux-Coeslier (1), S. Manouvrier-Hanu (1), M. Le Merrer (4), CM. Hall (5)

(1) Service de génétique clinique, Lille

(2) Service d'ORL, Lille

(3) Service de réanimation pédiatrique, Lille

(4) Département de génétique médicale, Hôpital Necker, Paris,

(5) Department of Radiology, Great Ormond Street Hospital, London

Les dysplasies spondylo-épi-métaphysaires (SEMD) correspondent à un large groupe de pathologies osseuses génétiquement hétérogènes et de sévérité variable, classées selon leurs particularités cliniques et radiologiques. La dysplasie spondylo-épi-métaphysaire avec luxations multiples de type Hall a été identifiée récemment (MIM 603546; Hall et al., 1998), et se présente comme une entité distincte de la dysplasie spondylo-épi-métaphysaire avec hyperlaxité ligamentaire. Il s'agit d'une affection caractérisée par l'association d'anomalies épiphysaires et métaphysaires majeures au niveau des os longs, d'une hyperlaxité ligamentaire, de luxations multiples des grosses articulations impliquant particulièrement les genoux et d'une dysmorphie faciale caractéristique. Le mode d'hérédité semble être autosomique dominant d'après la littérature.

Nous rapportons l'observation d'une patiente âgée de 2 ans, sans antécédents familiaux, ayant une forme modérée de ce type de dysplasie spondylo-épi-métaphysaire, associée à un stridor persistant secondaire à une sténose laryngée. Cette enfant présente un retard de croissance à -3SD; une dysmorphie faciale avec une racine du nez aplatie, une hypoplasie malaire, un petit nez et des narines antéversées; une hyperlaxité majeure sans luxations articulaires et des anomalies radiologiques compatibles

avec le diagnostic de SEMD de type Hall. Les métaphyses ont un aspect élargi et irrégulier; il existe une platyspondylie avec des corps vertébraux en «poire» et un retard d'âge osseux. Bien que les anomalies laryngées n'aient été décrites qu'une seule fois en association avec ce type de SEMD, nous pensons qu'elles font partie intégrante du spectre clinique de cette affection.

17 >> Poster n°93

GÉNÉTIQUE CLINIQUE

DEUX NOUVELLES PATHOLOGIES ASSOCIÉES À DES MUTATIONS DE CDMP-1 : DYSPLASIE EN AILE D'ANGES ET ANOMALIES DENTAIRES.

M. Holder-Espinasse (1), F. Escande (2), E. Mayrargue (3), A. Dieux-Coeslier (1), D. Fron (3), A. Doual-Bisser (4), O. Boute-Benejean (1), Y. Robert (5), N. Porchet (2), S. Manouvrier-Hanu (1)

(1) Service de génétique clinique, Lille

(2) Laboratoire de biochimie et biologie moléculaire, Lille

(3) Service de chirurgie orthopédique pédiatrique, Lille

(4) Service d'Odontologie, Lille

(5) Service de radiologie pédiatrique, Lille

Des phalanges en «d'ailes d'anges» ont été rapportées dans des dysplasies épiphysaires multiples avec retard d'âge osseux et coxarthrose sévère (Bachman 1967; Giedion 1969), mais ont été considérées comme des épiphyses en cônes jusqu'en 1993, lorsque Giedion et al. identifient la dysplasie en ailes d'anges (ASPED) en raison de sa ressemblance avec les anges utilisés pour décorer les arbres de Noël. Cette dysplasie correspond à l'association d'une brachydactylie particulière, d'anomalies dentaires, d'un retard d'ossification des épiphyses fémorales et d'une coxarthrose évolutive d'apparition précoce.

CDMP-1 appartient à la superfamille des TGFbeta. Cette molécule joue un rôle dans la chondrogénèse, la croissance et la formation du squelette des vertébrés. Les mutations à l'état homozygote ou hétérozygote composite de CDMP-1 sont responsables de chondrodysplasies acromésoméliques (de type Grebe ou Hunter-Thompson), tandis que les mutations à l'état hétérozygote peuvent donner lieu à des phénotypes variables, allant de la brachydactylie de type C (BDC) à l'absence de signe radiologique ou clinique.

Nous avons identifié une ASPED chez 3 patients, dont nous rapportons les signes cliniques et radiologiques. L'analyse de CDMP-1 dans cette famille a permis d'identifier une mutation causale. Indépendamment, nous avons identifié une autre mutation de CDMP-1 chez 3 patients présentant une BDC associée à des anomalies dentaires et à une dysplasie de hanche. Nous pensons que la ASPED est liée à des mutations à l'état hétérozygote de CDMP-1, et que les anomalies dentaires pourraient représenter un signe associé au spectre CDMP-1, d'autant plus que ce gène est exprimé au niveau de la pulpe dentaire.

21

GÉNÉTIQUE CLINIQUE

DIAGNOSTIC PRÉNATAL D'UNE TRISOMIE 21 CHEZ UN JUMENT MONOZYGOTE

S. Dahoun (1), S. Gagos (1), J.L. Blouin (1), M. Morris (1), SE. Antonarakis (1), P. Extermann (2)

(1) Service de Génétique Médicale, Hôpital Cantonal Universitaire, Genève, Suisse

(2) Dianecho, 6, rue de la colline, CH-1205 Genève

Une amniocentèse est réalisée à 13 5/7 semaines

d'aménorrhée pour une grossesse gémellaire (survenue après FIV) monochoriale, biamniotique chez une patiente âgée de 31 ans en raison de signes échographiques (hygroma colli, hydrops) chez un des jumeaux (j1). Le caryotype du jumeau 1 est homogène 47,XX,+21[7], celui du jumeau 2 est en mosaïque 47,XX,+21[2]/46,XX[19]. Après un conseil génétique, une ITG non sélective est décidée. L'étude des tissus post mortem (peau, rein, poumon) montre une trisomie 21 homogène pour le jumeau 1 et un caryotype normal 46,XX pour le jumeau 2. Une mitose trisomique 21 sur 100 mitoses a été retrouvée sur le cordon du jumeau 2. Le placenta (2 biopsies) est homogène 47,XX,+21[100]. Il est à noter que la ponction de liquide amniotique du jumeau 2 était trans placentaire.

Une vingtaine de cas de jumeaux monozygotes discordants pour les chromosomes sexuels, 3 cas de discordances pour la trisomie 21, 1 cas de discordance pour une trisomie 13 sont retrouvés dans la littérature. Le phénotype de chaque jumeau a une corrélation clinique meilleure avec les analyses cytogénétiques du liquide amniotique ou de tissu plutôt qu'avec un caryotype sanguin à cause de la possibilité d'un chimérisme.

Il existe 2 mécanismes, évidemment post zygotiques pouvant expliquer la discordance entre les 2 caryotypes, soit une non-disjonction post mitotique pour le jumeau 1 soit correction d'une trisomie 21 pour le jumeau 2, événement survenant pour une cellule ou groupe cellulaire suivi d'une séparation en 2 blastomères, cette « correction » pouvant avoir un rôle dans la séparation en 2 blastomères. Ce second mécanisme pourrait être envisagé, dans notre cas, en raison de la trisomie 21 du placenta et du jumeau 1, de l'origine parentale du chromosome 21 supplémentaire (méiose 2 ou mitotique), ce « sauvetage » se faisant au 7^{ème} jour du développement au moment de la formation de l'épiblaste

36 >> Poster n°94

GÉNÉTIQUE CLINIQUE

ANALYSE MOLÉCULAIRE DU GÈNE MECP2 CHEZ 352 PATIENTS PRÉSENTANT UN RETARD MENTAL

L. Pasquier (1), V. Gicquel (2), C. Dubourg (2), AM. Jouanolle (2), P. Boisseau (3), S. Odent (1), V. David (2)

(1) Unité de Génétique clinique, CHU, Rennes

(2) Laboratoire de génétique moléculaire, CHU Rennes

(3) Laboratoire de génétique moléculaire, CHU Nantes

Des mutations du gène MECP2, initialement impliqué dans le syndrome de Rett, ont été mises en évidence chez des garçons présentant une encéphalopathie non spécifique. L'implication du gène MECP2 dans le retard mental varie, selon les auteurs, de 0,1% [Yntema et al., 2002] à 2% [Couvert et al., 2001]. Nous avons donc voulu préciser cette fréquence dans une population de patients de la région Est Bretagne ; pour cela nous avons testé 321 patients (231 garçons et 90 filles) présentant un retard mental ou psychomoteur non spécifique (recherche du syndrome d'X fragile négative) et 31 patients dont la clinique évoquait un syndrome d'Angelman (pas d'anomalies de la PCR-méthylation).

Les mutations ont été recherchées par séquençage systématique de toute la région codante du gène MECP2 ou par DHPLC.

Résultats : Parmi les 352 patients testés, une seule mutation (délétion de 4pb dans l'exon 3) a été identifiée chez une petite fille qui, a posteriori, présentait des stéréotypies manuelles sans notion de perte des

acquisitions psychomotrices.

A l'issue de ce travail, il apparaît donc raisonnable de réserver l'étude moléculaire du gène MECP2 à certains patients sélectionnés sur des critères cliniques stricts [Moog et al., 2003] [Huppke et al., 2003]. D'autre part, la technique de DHPLC semble tout à fait adaptée au criblage du gène MECP2 du fait de sa sensibilité et de sa rapidité.

37

GÉNÉTIQUE CLINIQUE

SYNDROME D'ELLIS VAN CREVELD: DIAGNOSTIC AU PREMIER TRIMESTRE. A PROPOS D'UN CAS.

O. Esperandieu (1), P. Ermacora (2), J.G. Martin (3)

(1) Service d'Anatomo-pathologie, CHR Orléans

(2) Cabinet d'échographie, Montargis

(3) Service de Gynécologie-obstétrique, CHR Orléans

Le syndrome d'Ellis Van Creveld est une maladie autosomique récessive dont les gènes EVC et EVC2 se situent en 4p16 et sont l'objet d'une grande hétérogénéité mutationnelle, la nature des mutations n'étant pas corrélée au pronostic foetal, à l'heure actuelle.

Notre observation concerne un diagnostic prénatal échographique de syndrome EVC au premier trimestre, posé sur la conjonction d'un tableau clinique évocateur et d'un antécédent familial (grand-oncle du conjoint), qui a permis le diagnostic différentiel avec les autres syndromes polydactylie-côtes courtes.

Il s'agit de la 3^{ème} publication de diagnostic échographique d'EVC au premier trimestre, et la première en l'absence de cas index dans la fratrie.

Sont présentées les imageries échographique, radiologique et l'histologie osseuse.

42 >> Poster n°95

GÉNÉTIQUE CLINIQUE

UNE DUPLICATION ENTANDEM D'UNE PARTIE DU GÈNE COL4A5 EST LA MUTATION FONDATRICE RESPONSABLE DE LA PRÉVALENCE ÉLEVÉE DU SYNDROME D'ALPORT EN POLYNÉSIE FRANÇAISE

C. Arrondel (1), G. Deschênes (2), Y. Le Meur (3), A. Viau (1), C. Cordonnier (4), S. Amadeo (5), MC. Gubler (1), C. Antignac (1,6), L. Heidet (1)

(1) Inserm U574, Paris

(2) Service de Néphrologie Pédiatrique, Hôpital Trousseau, Paris

(3) Service de Néphrologie, Hôpital universitaire Dupuytren, Limoges

(4) Service de Néphrologie, Centre Hospitalier territorial, Papeete, Tahiti, Polynésie Française

(5) Banque d'ADN de Polynésie, Papeete, Tahiti, Polynésie Française

(6) Service de génétique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France

La prévalence du syndrome d'Alport (SA) lié à l'X, une néphropathie héréditaire progressive associée à des mutations du gène COL4A5, codant la chaîne alpha 5 du collagène de type IV, est remarquablement élevée en Polynésie Française. Certains aspects cliniques et morphologiques de la maladie sont particuliers dans cette région: (i) l'atteinte oculaire est beaucoup plus sévère et fréquente que partout ailleurs dans le monde, (ii) l'examen des biopsies rénales en microscopie électronique montre un aspect d'amincissement diffus des membranes basales glomérulaires (iii) l'étude des membranes basales rénales et dermo-épidermiques par immunofluorescence montre une

expression normale de la chaîne alpha 5(IV), empêchant la pratique d'un diagnostic basé sur l'examen d'une biopsie cutanée.

Nous avons réalisé une vaste étude clinique et moléculaire et avons montré que le SA en Polynésie est associé à une mutation fondatrice survenue avant 1870 sur un haplotype fréquent, commun aux individus atteints et à certains individus sains, empêchant ainsi de pratiquer un diagnostic moléculaire indirect. Cette mutation consiste en une duplication de 35 exons du gène COL4A5 responsable d'un allongement d'environ 65% de la longueur du domaine collagénique de la molécule. Cette mutation n'était détectable ni par le séquençage des exons du gène, ni par le séquençage de fragments chevauchants couvrant l'ensemble de l'ADNc. La caractérisation du fragment de jonction suggère une duplication secondaire à une recombinaison illégitime, et a permis l'établissement d'un diagnostic moléculaire par PCR afin de détecter les femmes transmettrices et de proposer un conseil génétique approprié dans cette région.

45

GÉNÉTIQUE CLINIQUE

ESSAI CLINIQUE DE L'ACIDE FOLINIQUE DANS LA TRISOMIE 21. - ETUDE ENTRAIN

H. Bléhaut et le Groupe d'Etude sur les Maladies Génétiques de l'Intelligence (AM. Baud, E. Beltran, H. Bléhaut, M. Conté, S. Frileux, A. La Raillière, T. Lapenne, C. Mircher, G. Poret, V. De Portzamparc, A. Ravel, MO. Rethoré, V. Siré, F. Smadja) Institut Jérôme Lejeune, Paris

Le but de cet essai est d'apprécier l'activité de l'acide folinique administré pendant un an à la dose de 1 mg/kg/j à une cohorte de jeunes patients porteurs de trisomie 21. Le critère de jugement principal est le développement psychomoteur évalué par le test de Brunet-Lézine révisé. La méthodologie adoptée pour cette étude de phase 2-3 est celle d'un essai en double aveugle versus placebo sur deux groupes parallèles.

Les patients sélectionnés étaient dans un état stable, capables de passer le test psychométrique. N'étaient pas retenus les enfants ayant des antécédents de syndrome myéloprolifératif, des spasmes infantiles, un démarrage de traitement thyroïdien dans les trois derniers mois, un traitement associé par folates. Le démarrage d'un traitement thyroïdien en cours d'essai entraînait une sortie prématurée de l'étude.

Entre octobre 2000 et décembre 2002, 117 enfants trisomiques 21 âgés de 3 mois à 32 mois ont été inclus. 109 observations sont exploitables. Le recueil des observations sera terminé en décembre 2003 et les résultats seront soumis à publication début 2004. L'épidémiologie de la cohorte incluse est donnée et le déroulement de l'étude est décrit.

59 >> Poster n°96

GÉNÉTIQUE CLINIQUE

DÉPLÉTION DE L'ADN MITOCHONDRIAL ET MUTATIONS DU GÈNE DE LA DÉOXYGUANOSINE KINASE

S. Narbonnet (1), B. Chabi (2), M. Chassagne (1), S. Padet (1), P. Clerc-Renaud (1), C. Bonnemains (3), N. Guffon (4), A. Lachaux (4), M. Till (5), G. Stepien (2), J. W. Taanman (6), B. Mousson de Camaret (1)

*1) Laboratoire de Biochimie Pédiatrique, Hôpital Debrousse, Lyon
2) Unité du Métabolisme Protéino Énergétique, UMR INRA 1019,*

Clermont-Ferrand

3) Département de Pédiatrie, CHU, Angers

4) Département de Pédiatrie, Hôpital Edouard Herriot, Lyon

5) Génétique Pédiatrique, Hôpital Debrousse, Lyon

6) University Department of Clinical Neurosciences, RFUCM, UCL, London

Le syndrome de déplétion de l'ADN mitochondrial (mt), de transmission autosomique récessive, est une maladie rare, due à une anomalie quantitative de l'ADNmt avec réduction du nombre de copies. D'expression clinique hétérogène, il se déclare généralement dans les premiers mois de vie et est létal avant l'âge d'un an. Un certain nombre de formes myopathiques et hépatocérébrales a été rattaché à des mutations des gènes, respectivement de la thymidine kinase 2 (TK2) et de la déoxyguanosine kinase (dGK), conduisant à un dysfonctionnement du métabolisme mitochondrial des nucléosides et secondairement à un défaut de réplication de l'ADNmt.

Nous décrivons quatre patients, présentant trois formes cliniques différentes de déplétion évaluée par PCR quantitative en temps réel. Pour trois patients, le séquençage du gène dGK a permis d'identifier trois types de mutations, à l'état homozygote ou hétérozygote et dont l'impact sur la fonctionnalité de la protéine dGK est documenté : 1) une insertion (g.31356-31357insTTGA), pour l'un des patients atteints de la forme hépatocérébrale ; 2) deux mutations d'épissage originales (g.204+1G>A et g.23884G>A), pour le second cas de forme hépatocérébrale ; 3) deux nouvelles mutations faux sens (N46S et L266R) pour le troisième patient ayant présenté une réversion inattendue d'une déplétion hépatique isolée. En revanche, le séquençage des gènes dGK et TK2 n'a révélé aucune mutation dans la forme multisystémique.

L'identification de mutations dans ces deux gènes nucléaires ouvre désormais la perspective, pour certaines familles, d'un diagnostic prénatal fiable jusqu'alors rendu difficile par la spécificité tissulaire des déplétions de l'ADNmt.

62 >> Poster n°97

GÉNÉTIQUE CLINIQUE

SYNDROME D'AICARDI GOUTIÈRES: PREMIÈRE OBSERVATION DE RÉCIDIVE DIAGNOSTIQUÉE EN ANTÉNATAL PAR IMAGERIE ET BIOCHIMIE

M. Till (1), P. Gaucherand (2), L. Guibaud (3), A. Buenard (4), P. Lebon (5)

(1) service de génétique, hôpital Debrousse, Lyon

(2) service de gynécologie obstétrique, hôpital E Herriot, Lyon

(3) service de radiologie, hôpital Debrousse, Lyon

(4) laboratoire d'anatomopathologie, hôpital E Herriot, Lyon

(5) service de virologie, hôpital St Vincent de Paul, Paris

Le syndrome d'AICARDI GOUTIÈRES (OMIM 225750) est une encéphalopathie génétique de transmission autosomique récessive responsable chez le nourrisson d'un arrêt de développement psychomoteur associé à des lésions cérébrales avec microcéphalie acquise post-natale, calcifications intracérébrales et pathologie dégénérative de la substance blanche. Les marqueurs biologiques associés sont une hyperlymphocytose et une augmentation de l'interféron alpha dans le LCR. Jusqu'alors, on ne reconnaissait pas de signes échographiques ou biologiques permettant un diagnostic anténatal.

Nous rapportons l'étude d'une famille dont le premier enfant est atteint de ce syndrome, diagnostic porté à l'âge de 15 mois selon les critères cliniques, radiologiques et

biologiques décrits. Lors de la deuxième grossesse, alors que le suivi échographique et biologique classique est normal, une IRM foetale est demandée à titre systématique à 26 SA. Elle met en évidence une petite lame d'ascite et quelques calcifications intracérébrales avec des ventricules cérébraux limites. Le bilan biologique foetal montre une augmentation importante de l'interféron alpha dans le sang foetal. Une IMG est accordée et l'autopsie révèle les lésions cérébrales et hépatiques du syndrome d'Aicardi Goutières. Nous proposons donc pour ces familles pour lesquelles le diagnostic génétique n'est pas encore possible (gène suspecté en 3p mais hétérogénéité) un diagnostic anténatal par IRM foetale et dosage d'interféron alpha dans le sang foetal à la fin du 2^{ème} trimestre de la grossesse.

72 >> Poster n°98

GÉNÉTIQUE CLINIQUE

ETUDE DE LA REPRÉSENTATION DES ACTIONS ROUTINIÈRES DANS LA MALADIE DE HUNTINGTON

C. Verny (1), P. Allain (1, 2), G. Aubin (1,2), F. Dubas (1), D. Le Gall (1,2), D. Bonneau (3)

(1) Département de Neurologie, Centre Hospitalier Universitaire, Angers

(2) Laboratoire de Psychologie (UPRES EA 2646), Université d'Angers

(3) Service de Génétique, Centre Hospitalier Universitaire, Angers

Introduction : Les troubles cognitifs sont très précoces dans la maladie de Huntington (MH). Peu d'outils sont disponibles pour le diagnostic et l'évaluation des formes débutantes qui correspondent aux cibles privilégiées des essais thérapeutiques en cours ou à venir.

Objectifs : Dans ce travail, nous avons étudié la capacité de patients atteints d'une maladie de Huntington (MH) à manipuler des schémas routiniers d'actions (scripts). En effet, en neuropsychologie humaine, un rôle central dans l'activation et la gestion des schémas d'actions familiaux de type script est habituellement attribué aux noyaux gris centraux.

Méthodes : Neuf patients avec MH symptomatique peu évoluée et 9 sujets contrôles appariés ont rétabli la chronologie d'actions de scripts, comportant ou non des distracteurs.

Résultats : Les patients avec MH ont commis significativement plus d'erreurs de séquence sans intégrer plus de distracteurs que les contrôles dans leurs arrangements.

Discussion et conclusion : Nos résultats suggèrent l'existence d'un déficit très précoce du traitement des séquences sans déficit du traitement des distracteurs chez les patients souffrant de MH. L'utilisation de ce type de test pourrait donc permettre d'affiner le diagnostic précoce de passage d'un stade présymptomatique à une forme symptomatique et de mieux évaluer une possible action thérapeutique chez des patients débutant la maladie.

79 >> Poster n°99

GÉNÉTIQUE CLINIQUE

EXPRESSION TRÈS VARIABLE DU SYNDROME DE JOUBERT DANS UNE MÊME FAMILLE

B. Demeer (1), J. Couchot (2), M. Doco-Fenzy (1), M. Mozelle-Nivoix, D. Gaillard (1)

(1) Service de Génétique, CHRU, Reims

(2) Service de Pédiatrie, CHG, Charleville-Mezières

Le syndrome de Joubert, décrit en 1969, se transmet sur un mode autosomique récessif et reste cliniquement et génétiquement hétérogène. Au sein d'une même famille, son expression clinique peut être extrêmement variable, comme en témoigne cette observation.

La première grossesse du couple, apparenté avec un coefficient de consanguinité de 1/64, a été interrompue médicalement au terme de 21 semaines d'aménorrhées pour méningocèle occipitale de petite taille, sans anomalie du corps calleux avec un cervelet plat de longueur normale, et sans autres malformations associées. La seconde grossesse a été menée à terme, sans anomalies décelées. Le diagnostic de syndrome de Joubert (SJ) a été évoqué dès 4 mois chez cette petite fille hypotonique et ataxique, présentant des mouvements oculaires anormaux, des troubles respiratoires à type de polypnées-apnées et une imagerie cérébrale évocatrice avec hypoplasie vermienne. Un reflux vesico-rénal gauche a été identifié et traité chirurgicalement. Le FO était normal.

Cette observation souligne une nouvelle fois l'intérêt de l'interrogatoire précis et de l'examen foetopathologique pour le conseil génétique. Plusieurs syndromes, ayant en commun avec le SJ, le signe neuroradiologique de la « molaire » (hypoplasie vermienne avec modification des pédoncules cérébelleux), ont été décrits. Le syndrome de Joubert de type 1 est, dans certains cas liés, au locus JBTS1 en 9q34.3, et le type 2, encore appelé CORS 2 (Cerebello-Oculo-Rénal 2) par certains auteurs, à un locus situé en 11p12-q13.3, d'autres loci restant à être identifiés.

82 >> Poster n°100

GÉNÉTIQUE CLINIQUE

HÉTÉROPLASIE OSSEUSE PROGRESSIVE ASSOCIÉE À UNE MUTATION DE NOVO DU GÈNE GNAS1

A. Dieux-Coeslier (1), C. Morisot (2), M. Holder-Espinasse (1), M.L. Kottler (3), S. Manouvrier-Hanu (1)

(1) Service de génétique médicale, Hôpital Jeanne de Flandre, CHRU, Lille

(2) Service de réanimation et médecine néonatale, CH Docteur Schaffner, Lens

(3) Département Génétique et Reproduction, Hôpital Clémenceau, Caen

Les lésions d'ossification hétérotopiques sont rares et habituellement secondaires à des tumeurs ou à des traumatismes locaux. Cependant, elles peuvent s'associer à des pathologies génétiques, dont la fibrodysplasie ossifiante progressive (FOP), l'ostéodystrophie héréditaire d'Albright (AHO) et l'hétéroplasie osseuse progressive (POH).

L'hétéroplasie osseuse progressive est une affection génétique rare caractérisée par des lésions d'ossification du derme survenant dans l'enfance (osteoma cutis) puis s'étendant progressivement à la peau et aux tissus conjonctifs profonds. Des mutations inactivatrices à l'état hétérozygotes du gène de la sous-unité alpha de la protéine G (GNAS1) ont récemment été identifiées chez des patients ayant ce type d'affection.

Nous rapportons l'observation d'une patiente de 18 mois présentant des lésions d'ostéoma cutis étendues, associées à un retard de croissance intra utérin et post natal sévère et à une hypomobilité importante. Un bilan paraclinique exhaustif a également permis de mettre en évidence des tumeurs infiltratives du myocarde, une dysplasie vermienne et un petit rein droit kystique chez cette enfant. Malgré le tableau clinique inhabituel, la normalité du bilan

phosphocalcique et de l'activité de la protéine G, nous avons effectué une analyse en biologie moléculaire du gène GNAS1. Cette étude a montré l'existence d'une insertion de novo d'une Thymine en position 345 de l'exon 5, ayant été préalablement décrite en association à la POH.

83 >> Poster n°101

GÉNÉTIQUE CLINIQUE

ENCÉPHALOPATHIE CONVULSIVANTE PRÉCOCE SÉVÈRE AVEC DÉFICIT EN NAGA : CAUSE OU DÉCOUVERTE FORTUITE?

I. Maire (1), D. Ville (2), R. Froissart (1)

(1) Laboratoire de Biochimie Pédiatrique, Hôpital Debrousse, Lyon

(2) service de Neuropédiatrie (Pr. Ponsot), Hôpital Saint Vincent de Paul, Paris

L'alpha-N-acétylgalactosaminidase (NAGA) est une enzyme lysosomale dont le déficit entraîne une surcharge tissulaire et une excrétion urinaire accrue d'oligosaccharides caractéristiques. Son déficit a été rapporté chez une douzaine de malades présentant des pathologies aussi diverses qu'une dystrophie neuroaxonale (maladie de Schindler), des cas d'épilepsie et aussi d'« angiokeratoma corporis diffusum » (maladie de Kanzaki) sans atteinte neurologique ou un discret retard mental.

Observation : l'examen clinique révèle, à la naissance, une hypotonie axiale. Une épilepsie sévère incontrôlable s'installe à partir de 2 mois, conduisant au décès à 1 an. A partir de 8 mois, on note un œdème cutané, une hépatosplénomégalie ainsi que des anomalies squelettiques. Les études biochimiques montrent une excrétion des oligosaccharides urinaires caractéristique, et une activité NAGA diminuée dans les fibroblastes, les leucocytes et le plasma (18%, 11% et 67% de la moyenne des valeurs normales, respectivement). Le séquençage du gène NAGA révèle une mutation faux-sens non décrite D346N à l'état homozygote.

L'étude familiale montre chez la mère un génotype D346N/N et une activité NAGA dans les leucocytes en bon accord avec une hétérozygote. Par contre, le père présente dans les leucocytes une activité NAGA à 20%, en accord avec son état homozygote pour la mutation D346N.

Discussion. L'absence de symptômes cliniques chez le père suggère que la mutation D346N pourrait être un polymorphisme rare responsable de « pseudodéficit » comme il en a été décrit dans plusieurs maladies de surcharge lysosomale. Toutefois les sujets homozygotes pour des pseudodéficits n'excrètent pas, comme notre malade, de produits de surcharge. L'autre hypothèse, est que le déficit en NAGA n'est pas responsable des pathologies observées et que notre malade et au moins certains décrits dans la littérature souffraient d'autres pathologies.

84 >> Poster n°102

GÉNÉTIQUE CLINIQUE

ANOMALIES NEUROLOGIQUES DU SYNDROME DE COSTELLO

MA. Delrue (1), C. Goizet (2), B. Arveiler (1), D. Lacombe (1)

(1) Service de Génétique Médicale, Hôpital Pellegrin-Enfants, Bordeaux

(2) Service de Neurologie, CHU Bordeaux

Le syndrome de Costello est un syndrome rare de mieux en mieux identifié. Son étiologie précise reste encore inconnue, mais une anomalie du métabolisme de l'élastine est

suggérée. A propos d'un patient associant une syringomyélie, nous avons fait une revue de la littérature des anomalies neurologiques (morphologiques et électrophysiologiques) qui sont fréquentes dans le syndrome. Les malformations anatomiques retrouvées sont : dilatation ventriculaire (40%), atrophie cérébrale (29%), anomalies cérébelleuses (26%), malformation d'Arnold Chiari (13%) et syringomyélie (8%). L'EEG est anormal chez 30% des patients, mais seule la moitié d'entre eux présente une symptomatologie épileptique. Par ailleurs, ces patients ont un risque particulier de développer un neuroblastome. Bien que les données soient encore insuffisantes pour proposer un protocole strict, il semble raisonnable d'avoir facilement recours à la neuro-imagerie. De même qu'une recherche systématique des anomalies cardiaques et des complications tumorales est déjà proposée, un dépistage des anomalies neurologiques, incluant une IRM cérébrale et un EEG, doit être proposé lorsque le diagnostic de syndrome de Costello est porté. La répétition de ces investigations est ensuite dictée par les données de l'examen neurologique.

96 >> Poster n°103

GÉNÉTIQUE CLINIQUE

MOSAIC TRISOMY 22 IN A MALFORMED NEWBORN FEMALE

N. Bouayed Abdelmoula (1), N. Ayadi (2), A. Amouri (3), MF. Portnoï (4), H. Kamoun (2), H. Elguezal (5), A. Saad (5), M. Chaabouni (2), T. Rebai (1)

(1) Laboratoire d'Histologie, Faculté de Médecine de Sfax, Tunisie

(2) Service de Pédiatrie, Hôpital Hédi Chaker de Sfax, Tunisie

(3) Laboratoire de Cytogénétique, Institut Pasteur de Tunis, Tunisie

(4) Laboratoire de Cytogénétique, Hôpital Saint-Antoine de Paris

(5) Laboratoire de Cytogénétique, Hôpital Farhat Hached de Sousse, Tunisie

We describe a new case of mosaic trisomy 22 in a malformed newborn female who died three month after birth.

Our patient was the third child of a healthy non-cosanguineous couple. The father was 36-years old. The mother was 35-years old, gravida 5 and para 3. Two previous pregnancies ended in miscarriages. The girl was born at term (37 weeks of a normal gestation) by spontaneous vaginal delivery. Her birth weight was 1520 g (<3rd centile), her length was 39cm (<3rd centile), and her FOC measured 29cm (<3rd centile). She was noted at birth to have growth retardation and dysmorphic features.

At dysmorphological examination, craniofacial features include microcephaly, large anterior fontanelles, widely patent cranial sutures, abnormal posteriorly rotated ears with bilateral preauricular pits and sinus, hypertelorism, downward slanting palpebral fissures, bilateral blepharoptosis and scarce eyebrows. The nose was short and beaked with a flattened nasal bridge, anteverted nares and irregular ear canal. Further findings were a long philtrum, thin lips, cleft velo-palate, micro/retrognathia and short webbed neck. The fingers were long with hypoplastic nails and syndactyly of the second and 3rd toes.

Organ involvement included a combined heart defect (large atrial septal defect, pulmonary stenosis and patent ductus arteriosus), ectopic left kidney and sacral dimple.

Cytogenetic analysis revealed a 46,XX[8]/47,XX,+22 karyotype. Further investigations including FISH analysis and chromosome studies of the parents are undertaken to confirm diagnosis of trisomy 22 mosaicism and ruled out an eventual supernumerary der(22) syndrome secondary to a parental reciprocal translocation t(11;22)(q23.3;q11.2).

103 >> Poster n°104**GÉNÉTIQUE CLINIQUE****SYNDROME ALPHA THALASSÉMIE - RETARD MENTAL LIÉ À L'X (ATR-X) : UNE NOUVELLE MUTATION IDENTIFIÉE OU UN PHÉNOTYPE QUI NE TROMPE PAS**

F. Giuliano (1), C. Badens (2), C. Richelme (3), N. Levy (2), J.C. Lambert (1)

(1) Service de Génétique Médicale, CHU, Nice

(2) Département de Génétique Médicale, CHU, Marseille

(3) Service de Pédiatrie, CHU, Nice

L'observation rapportée est celle d'un garçon de 2 ans dont le phénotype suggérait le diagnostic d'ATR-X bien qu'aucun stigmate d'alpha-thalassémie ne soit présent. Une étude moléculaire était menée selon le protocole alors en vigueur limitée à l'examen des exons 7, 8 et 9 du gène ATRX qui regroupent les principales mutations causales du syndrome. Aucune de celles-ci n'étaient trouvées. La réévaluation attentive et critique du cas de l'enfant confortait le diagnostic initialement envisagé. L'analyse moléculaire était alors reprise sur toute la séquence codante du gène aboutissant à l'identification d'une mutation faux sens R2145W dans l'exon 30 inconnue jusqu'alors.

Cette observation souligne l'importance d'une expertise clinique rigoureuse et d'un dialogue étroit entre cliniciens et biologistes dans l'indication de l'analyse moléculaire des syndromes polymalformatifs.

104 >> Poster n°105**GÉNÉTIQUE CLINIQUE****FIÈVRE MÉDITERRANÉENNE FAMILIALE : CONFRONTATION DU DIAGNOSTIC CLINIQUE AU DIAGNOSTIC MOLÉCULAIRE ET PROPOSITION D'UN NOUVEAU SET DE CRITÈRES CLINIQUES DE DIAGNOSTIC.**

D. Tchernitchko(1), A. Delahaye(1), M. Legendre(1), S. Moutereau(1), C. Cazeneuve(2), C. Lacombe(1), S. Amsalem(1,2)

(1) Service de Biochimie, Hôpital Henri-Mondor, Créteil

(2) INSERM U.468 Génétique moléculaire et physiopathologie, Créteil

La fièvre méditerranéenne familiale (FMF) est une maladie autosomique récessive qui se manifeste par des crises fébriles accompagnées de douleurs abdominales, thoraciques et/ou articulaires. Le diagnostic précoce est crucial pour débiter un traitement par colchicine, qui prévient la survenue des crises et le développement d'une amylose. Le diagnostic clinique repose sur les critères de Livneh (1997) ou ceux de Tel Hashomer (Pras, 1998). Ces critères ont été établis en Israël, pays où la FMF est particulièrement fréquente, avant l'identification du gène responsable (MEFV). La mise en évidence de mutations de MEFV est aujourd'hui le seul moyen objectif d'établir un diagnostic de certitude.

Afin d'évaluer la valeur diagnostique de ces critères ; cliniques, nous avons investigué 548 patients français, d'origine différente, présentant un phénotype évocateur de FMF. Les exons 10, 5, 3 et 2, où siègent plus de 90% des mutations de MEFV, ont été analysés. La sensibilité et la spécificité des critères de Livneh pour détecter les patients porteurs de deux allèles MEFV mutés sont respectivement de 92,1% et de 15,2%; pour les critères de Tel Hashomer, la sensibilité est de 67,9% et la spécificité est de 77,7%.

La confrontation des données moléculaires au phénotype

des patients nous conduit à proposer un nouveau set de critères qui permet d'identifier plus précisément les patients présentant une FMF due à des mutations de MEFV (sensibilité : 96,4%, spécificité : 46,1%) évitant ainsi une analyse moléculaire coûteuse et vaine, à des patients dont le phénotype n'est probablement pas secondaire à des anomalies de ce gène.

135 >> Poster n°106**GÉNÉTIQUE CLINIQUE****DÉMOGRAPHIE DES JEUNES GÉNÉTICIENS**

O. Caron

Société des Internes en Génétique de France

Depuis 1995, un nouveau diplôme d'étude spécialisé a été ouvert aux choix des internes en médecine : le DES « Génétique clinique, chromosomique et moléculaire ». Discipline médicale, elle offre la possibilité d'une formation à la fois en laboratoire et dans des services cliniques. En 2003, 45 jeunes médecins s'étaient engagés dans cette voie. 28 étaient encore dans le cursus de la maquette. Nous présentons ici l'évolution du nombre de jeunes généticiens dans les différentes inter-régions, de même que leur orientation (clinique, chromosomique, moléculaire) et leur souhait de région d'exercice. Ces informations seront une éventuelle aide à la décision de création de postes d'assistants hospitalo-universitaires ou de chef de clinique, et permettront d'orienter les internes nouvellement reçus au concours de l'internat et intéressés par le DES dans leur choix de CHU.

136 >> Poster n°107**GÉNÉTIQUE CLINIQUE****SYNDROME DE SILVER RUSSEL PAR DISOMIE UNIPARENTALE MATERNELLE**

D. Amram (1), A. Roubertie (2), D. Martin (3), J. Chiesa (4)

(1) Consultation de Génétique, CHU, Nîmes

(2) Service de Neurologie Pédiatrique, CHU, Montpellier

(3) Cabinet de Pédiatrie, Alès

(4) Unité de Cytogénétique, CHU, Nîmes

Le syndrome de Silver Russel (SRR) se caractérise par un retard de croissance prè et post-natal, une dysmorphie faciale avec un visage triangulaire, une macrocéphalie relative, clinodactylie, commissures labiales tombantes. L'étiologie est discutée. Une disomie parentale (DUP) maternelle du chromosome 7 serait présente dans 10% des cas.

Nous rapportons un nouveau cas de SRR secondaire à une DUP maternelle pour le chromosome 7.

L'enfant B.K. né le 3/05/2001

Deuxième enfant, pas d'antécédent.

Grossesse : RCIU constaté à 5 mois.

Naissance à terme : PN 2720g, TN : 47 cm, PC: 36,5 cm

Echographie transfontanellaire: hydrocéphalie externe.

A 2ans: Poids 8Kg270 (-3DS, Taille 80 cm, PC: 50,5 cm.

Syndrome dysmorphique: faciès triangulaire, petit menton, commissures labiales tombantes, clinodactylie et syndactylie du 5ème, dents petites et espacées. Le diagnostic de SRR est évoqué.

La recherche d'une DUP réalisée avec 4 marqueurs micrsatellites montre une DUP maternelle de l'intégralité du chromosome 7 de nature hétérodisomique.

L'enfant BK ne présente ni retard de langage ni sueur excessive retrouvés dans les cas de SRR par DUP maternelle

149 >> Poster n°108**GÉNÉTIQUE CLINIQUE****SYNDROME DE COSTELLO : ÉTUDE CLINIQUE ET ANTHROPOMÉTRIQUE**

S. Sigaudy (1), L. Guyot (2), O. Dutour (3), N. Philip (1)

(1) Département de Génétique Médicale, Hôpital Timone Enfant, Marseille

(2) Service de Chirurgie Maxillofaciale, Hôpital Nord, Marseille

(3) Laboratoire d'anthropologie, UMR 6578-CNRS-Université de la Méditerranée, Faculté de Médecine, Marseille

Le syndrome de Costello est une affection génétique rare qui se manifeste par : une croissance prénatale excessive, un retard de croissance postnatal, un faciès grossier, une peau lâche, une cardiomyopathie non évolutive, un retard de développement et une personnalité joviale et sociable. Nous avons réalisé à partir d'une série de 17 patients une étude clinique, anthropométrique et photoanthropométrique.

Sur le plan clinique l'interrogatoire des parents, l'analyse du carnet de santé et des compte rendus médicaux ont permis d'ajouter au spectre clinique des signes mineurs mais hautement significatifs non rapportés jusqu'à présent et susceptibles de conforter le diagnostic clinique dans des situations difficiles :

- une sudation très abondante (12 cas /12)
- des épisodes d'hyperthermie inexplicée (7 cas /11)
- des troubles du sommeil (10 cas /12)
- une éruption dentaire lactéale souvent retardée (6 cas /10)
- des extrémités de petite taille (15 cas /17)
- une myopie évolutive d'apparition secondaire (6/17)

Par ailleurs, alors que la dysmorphie faciale fait partie des critères diagnostiques du syndrome, les résultats de l'étude anthropométrique faciale ne permettent pas de dégager les critères d'une dysmorphie faciale nette. Le fait que peu d'indices morphologiques s'écartent significativement de la population de référence associé à une déformabilité accrue des parties molles à l'origine de l'exagération de certains traits dysmorphiques constituent deux arguments cliniques en faveur de l'hypothèse selon laquelle la dysmorphie faciale pourrait être davantage liée à des anomalies cutanées qu'à des anomalies de la morphogénèse crâniofaciale.

172**GÉNÉTIQUE CLINIQUE****DÉLÉTION 1P36 ET SYNDROME D'AICARDI**

C. Vincent-Delorme (1), B. Delobel (2), P. Marquis (3), P. Bernard (4), L. Vallée (5), S. Defoort-Dhelemmes (6), N. Kacet (7), G. Vaksman (8), B. Benzacken (9)

(1) Consultation de génétique, CH d'Arras

(2) Service de Cytogénétique, Hôpital Saint-Antoine, Lille

(3) Service de Gynécologie-Obstétrique, CH d'Arras

(4) Service de Pédiatrie, CH d'Arras

(5) Service de Neuropédiatrie, CHRU de Lille

(6) Service d'Exploration Fonctionnelle de la Vision, CHRU de Lille

(7) Service de Médecine Néonatale, CHRU de Lille

(8) Service des maladies cardiovasculaires Infantiles et Congénitales, CHRU de Lille

(9) Laboratoire de Cytogénétique, Hôpital J. Verdier, Bondy

Nous rapportons l'observation d'une fillette suivie depuis la période néonatale pour un syndrome d'Aicardi, reçue en conseil génétique à l'occasion d'une nouvelle grossesse débutée par sa maman.

L'existence d'une dysmorphie évocatrice et de

malformations associées, a incité à poursuivre les explorations cytogénétiques préalablement réalisées. Les cariotypes lymphocytaires standard et haute résolution en bandes R pratiqués il y a un peu moins d'une dizaine d'années étaient normaux.

L'étude des régions subtélomériques a permis la mise en évidence d'une délétion 1p36. Nous avons pu vérifier l'absence de remaniement maternel et établir un conseil génétique rassurant, la grossesse actuelle étant d'un procréateur différent.

Cette observation suscite par ailleurs plusieurs réflexions :
- association fortuite de ces deux anomalies.

- intérêt à rechercher des délétions subtélomériques chez les patients atteints de syndrome d'Aicardi..

- implication directe de la région 1p36 dans le syndrome d'Aicardi, classiquement réputé, dominant lié à l'X, suggérant ainsi une hétérogénéité génétique.

175 >> Poster n°109**GÉNÉTIQUE CLINIQUE****SYNDROME DE WEILL-MARCHESANI-LIKE OU SYNDROME GEMSS**

J. Quinton (1), J.J. Gicquel (2), P. Vabres (3), C. Gohler (4), M. Mercier (2), P. Dighiero (2), B. Gilbert (1)

(1) Service de Génétique Médicale, CHU Poitiers

(2) Service d'Ophthalmologie, CHU Poitiers

(3) Service de Dermatologie, CHU Poitiers

(4) Département d'ORL, CHU Poitiers

Le Syndrome de Weill-Marchesani (SMW) associe petite taille, dysmorphie faciale, brachydactylie, raideur articulaire et anomalies ophtalmologiques diverses parmi lesquelles microsphérophakie (cristallin sphérique), luxation du cristallin, myopie sévère et/ou glaucome. C'est une affection génétiquement hétérogène de transmission autosomique récessive (1 locus rapporté en 19p13.3-p13.2) ou dominante (affection allélique de la maladie de Marfan par mutation du gène de la fibrilline-1. L'acronyme GEMSS (Glaucoma, Ectopia, Microspherophakia, Stiff joints, Short stature) a été proposé pour la forme dominante

Nous rapportons le cas d'une jeune femme âgée de 32 ans ayant une présentation ophtalmologique atypique. Elle est issue de parents non consanguins. Elle est la dernière d'une fratrie de 4. Son père était âgé de 42 ans à sa naissance. Elle présente un retard statural harmonieux à -3.5DS, un retard psychomoteur prédominant sur le langage, une hypertrophie des articulations inter-phalangiennes des doigts avec raideur, une dysmorphie faciale associant hypoplasie des maxillaires supérieurs, prognathisme, philtrum court, nez proéminent, épicanthus, hypoplasie des cils de la paupière inférieure, implantation basse des cheveux, hirsutisme modéré, absence de lchette, voile du palais long avec insuffisance vélopalatine, oreilles dysplasiques, surdité mixte bilatérale. Sur le plan ophtalmologique, elle présente une myopie sévère et une hypertonie oculaire (étiquetée glaucome) faussement majorée par une pachycornée, sans microsphérophakie. Néanmoins, la concordance clinique avec les cas de SWM rapportés nous amène à proposer le diagnostic de SWM-like. L'âge avancé du père à la conception fait suspecter une néomutation dominante. Des études génétique et immunohistochimique de la fibrilline sont en cours.

190 >> Poster n°110**GÉNÉTIQUE CLINIQUE****SYNDROME DE COHEN : DIVERSITÉ DU PHÉNOTYPE CHEZ 3 PATIENTS AVEC MUTATIONS DU GÈNE COH1**

P. Sarda (1), M. Noruzinia (1), C. Coubes (1), G. Mochida (2), C. Walsh (2), P. Blanchet (1)

(1) Service de Génétique médicale, CHU, Montpellier

(2) Howard Hughes Medical Institute, Beth Israel Deaconess Medical Center, and Department of Neurology, Harvard Medical School, Boston, MA, USA

Le syndrome de Cohen est un syndrome génétique autosomique récessif rare. Son incidence en Finlande, pays ayant la population de patients la plus élevée, est estimée à 1/100 000.

Dans ce pays le phénotype est relativement homogène, tous les patients rapportés présentent les caractéristiques suivantes : retard psychomoteur non progressif, microcéphalie, hypotonie, hyperlaxité articulaire, maladresse, sourcils arqués, philtrum court, cheveux épais et bas implantés, granulopénie périodique, dystrophie choriorétinienne et comportement agréable. Les patients décrits dans les autres pays ayant des caractères cliniques moins homogènes, il a été suspecté une hétérogénéité génétique du syndrome.

Nous rapportons l'observation d'une famille de trois patients originaires d'Europe du sud avec un diagnostic de syndrome de Cohen porté devant un phénotype typique chez un frère. Les deux sœurs présentent une dysmorphie faciale typique, mais sans microcéphalie ni l'aspect classique des mains.

L'analyse moléculaire du gène COH1 confirme le diagnostic chez les trois patients avec la présence de deux mutations, la première déjà rapportée : 7051C>T (exon 39) abouti à un codon stop en position 2351, la seconde, jamais décrite : 11598delA (exon 61) cause un décalage du cadre de lecture et conduit à l'arrêt prématuré de la protéine après adjonction de 10 acides aminés anormaux.

La mise en évidence de mutations du gène COH1 dans cette famille ainsi que dans d'autres familles atypiques (Moyen Orient et Japon) est en faveur d'un spectre clinique moins homogène du syndrome et doit faire rechercher les mutations du gène COH1 même chez des patients ayant un phénotype incomplet.

191**GÉNÉTIQUE CLINIQUE****SYNDROME DE KNOBLOCH ET ANOMALIES DU SYSTÈME NERVEUX CENTRAL**

B. Keren (1), A. Monnier (1), N. Blanc (1), M. Elmaleh (2), C. Baumann (1), D. Bremond (2), A. Verloes (1)

(1) Unité de génétique médicale, Hôpital Robert Debré

(2) Service de radiologie, Hôpital Robert Debré

(3) Service d'ophtalmologie, Hôpital Robert Debré

Le syndrome de Knobloch associe un encéphalocèle occipital sur la ligne médiane et une myopie sévère qui se complique d'une dégénérescence vitréorétinienne et de décollement de rétine, et est probablement du à des altérations de la morphogenèse précoce du neuroectoderme. L'intelligence est habituellement normale. 7 familles comportant un total de 28 patients ont pour l'instant été décrites et suggèrent un mode transmission autosomique récessif.

Des mutations du gène COL18A1 localisé en 21q22.3 en sont responsables. Cela conduit à une expression anormale du collagène XVIII. L'endostatine est le dérivé protéolytique C-terminal du collagène XVIII, et est localisé dans la membrane basale de tous les endothéliums vasculaires et des épithéliums des organes majeurs. Des anomalies de la migrations neuronale ont été récemment rapportées dans le syndrome de Knobloch (Kliemann et al. Am. J. Med. Genet. 2003,119A:15-9).

Nous décrivons une fille de 3 ans née de parents consanguins d'origine Maghrébine, qui présente une myopie sévère (-15 dioptries), un colobome rétinien périmaculaire, une dysplasie septo-optique, et une polymicrogyrie fronto-temporale. Cette patiente étend le phénotype des anomalies du système nerveux central observées dans le syndrome de Knobloch et confirme l'implication de l'endostatine dans la migration neuronale. La recherche d'une mutation du gène COL18A1 est en cours.

192 >> Poster n°111**GÉNÉTIQUE CLINIQUE****LEUCONYCHIE TOTALE ET KYSTES SÉBACÉS : COSÉGRÉGATION SUR 5 GÉNÉRATIONS DANS UNE NOUVELLE FAMILLE.**

G. Morin (1), M. Mathieu (1), C. Desenclos (2)

(1) Unité de Génétique Clinique, Département de Pédiatrie, CHU, Amiens

(2) Service de Neurochirurgie, CHU, Amiens

Nous rapportons une famille sur 5 générations où coségrègent une leuconychie totale des mains et des pieds (ongles totalement blancs) et des kystes sébacés chez 6 personnes (5 femmes, 1 garçon). Le cas index, une femme de 41 ans, est adressé pour des neurinomes inopérables de l'acoustique. Aucun des autres membres de la famille n'a de tumeur des nerfs crâniens. Ces derniers semblent sans rapport avec les anomalies des ongles et pourraient être dus à une neurofibromatose de type 2.

L'association leuconychie totale - kystes sébacés est rare. Bauer le premier (1920) rapporta une famille où 19 personnes avaient une leuconychie, dont 17 des kystes sébacés. Plus tard (1975), Gorlin et Bushkell décrivent une famille où 5 garçons avaient une leuconychie, 4 des kystes sébacés, 3 des calculs rénaux et 1 une pancréatite aiguë. Puis Friedel (1986) relata une autre famille où 11 personnes avaient une leuconychie totale, inconstamment associée à des kystes trichilemmaux et une dystrophie ciliaire. Enfin en 1997, Slee rapporta une mère et sa fille atteintes de leuconychie totale et kystes sébacés, aucune des deux n'ayant de calcul rénal, mais un antécédent de pancréatite aiguë chez la mère.

La transmission de cette entité apparaît clairement autosomique dominante. A part la nécessité d'ablations périodiques des kystes, la pathologie n'a que peu de retentissement sur la santé des patients. Une inconstante prédisposition aux calculs rénaux et à la pancréatite aiguë est cependant décrite. Aucune tumeur des nerfs crâniens n'a jamais été rapportée dans ce cadre.

195

GÉNÉTIQUE CLINIQUE**DÉFAILLANCE MULTIVISCÉRALE PRÉCOCE CHEZ UN PATIENT ATTEINT DE SYNDROME D'AARSKOG : IMPLICATION DE LA GLYCOGÉNATION DES PROTÉINES**

G. Morin (1,7), C. Mathieu (1), R. Léfèvre (2), C. Lenaerts (3), G. Krim (4), N. Seta (5), S. Vuillaumier-Barrot (6), J. Gondry (7), M. Mathieu (1,7)

(1) Unité de Génétique Clinique, Département de Pédiatrie, CHU, Amiens

(2) Service de Néonatalogie, CHG, Boulogne sur Mer

(3) Gastroentérologie Pédiatrique, Département de Pédiatrie, CHU, Amiens

(4) Réanimation Pédiatrique, Département de Pédiatrie, CHU, Amiens

(5) Laboratoire de Biochimie A, Groupe Hospitalier Bichat - Claude Bernard, Paris

(6) Laboratoire de Biochimie Génétique, Hôpital Robert Debré, Paris

(7) Centre de Diagnostic Prénatal, Centre Gynéco-Obstétrique, CHU, Amiens

Le patient est le premier enfant d'un couple jeune et non apparenté. La grossesse est marquée par la découverte d'os longs courts à 23 SA. Le caryotype fœtal est normal et la recherche des mutations G1138A et G1138C du gène FGFR3 négative. Un oncle maternel est de petite taille. L'accouchement survient à 39 SA (poids : 2780 g, taille : 47 cm, périmètre crânien : 33,5 cm). Il existe un syndrome dysmorphique avec hypertélorisme, base du nez large, strabisme divergent, oreilles implantées bas, peau dure et infiltrée, mamelons exagérément écartés, camptodactylie des trois derniers doigts à droite, œdème des pieds, scrotum en châte et cryptorchidie bilatérale. Un syndrome d'Aarskog est évoqué. Cependant, il existe une hypotonie axiale, des troubles de déglutition, une thrombopénie et un syndrome néphrotique n'entrant pas dans ce cadre. L'hypothèse du syndrome d'Aarskog est confortée par l'apparentement existant entre le patient et une grande famille atteinte de ce syndrome et déjà connue de notre service.

A 6 semaines de vie, alors que les troubles neurologiques persistent, il survient brusquement des pauses respiratoires nécessitant son intubation et son transfert en Réanimation. Il existe une importante cytolysé hépatique. Peu après la pose d'un accès central, une bradycardie sévère rebelle aux manœuvres réanimatoires entraîne le décès. Un épanchement péricardique est découvert.

La défaillance multiviscérale n'étant pas expliquée par le syndrome d'Aarskog, une anomalie de la glycosylation des protéines est recherchée. Deux mutations (R141H et F119L) du gène PMM2 sont identifiées, signant l'existence d'un CDG syndrome de type Ia.

200 >> Poster n°112**GÉNÉTIQUE CLINIQUE****SYNDROME DE SIMPSON GOLABI BEHMEL : ANALYSE CLINIQUE FINE DE SUJETS PORTEURS D'UNE MUTATION DU GÈNE GPC3**

I. Mortemousque, MP. Moizard, C. Moraine
Service de Génétique, CHU, Tours

Le syndrome de Simpson Golabi Behmel (SGB), de

transmission récessive liée à l'X, fait partie des syndromes génétiques avec avance staturale-pondérale. Classiquement, ce syndrome est évoqué devant l'association, chez un garçon, d'une macrosomie, d'une polydactylie, de mamelons surnuméraires et d'une organomégalie.

En 1996, à partir d'études de liaison et d'études de translocation X-autosomes, le gène GPC3 qui code pour une protéoglycane membranaire liant des facteurs de croissance, a été localisé en Xq26 et cloné.

Depuis trois ans, l'étude moléculaire du gène GPC3 est effectuée au laboratoire de génétique moléculaire du CHRU de Tours. A ce jour, 48 sujets présentant un tableau clinique évocateur de SGB ont été explorés et 4 mutations ont pu être identifiées (voir le poster de MP Moizard, résumé n°324).

Certains signes cliniques observés dans le syndrome de Simpson Golabi Behmel sont communs à d'autres syndromes avec avance staturale-pondérale, ce qui rend le diagnostic différentiel difficile. L'analyse clinique fine des sujets mutés de notre population associée aux données de la littérature nous ont permis de préciser le phénotype clinique du syndrome de Simpson Golabi Behmel, notamment en ce qui concerne la fréquence des signes décrits. Enfin, nous avons tenté de mettre en avant d'éventuels signes cliniques spécifiques du syndrome de Simpson Golabi Behmel avec mutation du gène GPC3

217 >> Poster n°113**GÉNÉTIQUE CLINIQUE****POLYMALFORMATION ET EMBRYOFŒTOPATHIE AU VALPROATE**

H. Journal (1), L. Pasquier (2), S. Odent (2)

(1) Consultation de Génétique Médicale, CHBA, Vannes

(2) Consultation de Génétique Médicale, CHU, Rennes

L'Embryofœtopathie au Valproate (Fetal Valproate Syndrome (FVS) des anglo-saxons) est identifiée depuis les années 1979-1982, mais les mécanismes tératoogènes sont encore à découvrir. Parmi ceux-ci, l'interaction gènes - médicaments est hautement suspecte, mais aucune preuve du rôle direct de gènes incriminés chez la souris tels que TBX1, HOX, PAX 2 et 6 n'a été démontré dans l'espèce humaine.

En étudiant les FVS associant au moins 2 malformations majeures, nous souhaitons rechercher un « profil » particulier d'association préférentielle de ces malformations, pouvant être en faveur de l'action d'un gène particuliers. Cette étude est basée sur 4 nouveaux cas et 18 cas tirés de la littérature. Chez ces enfants, les malformations cardiaques (50%), génitales (70%), osseuses (malformations du tube neural) (35%) et les craniosténoses (40%) sont les plus fréquemment rencontrées, mais on ne peut ni décrire une association préférentielle, ni impliquer tel ou tel gène de façon plausible. Un rapprochement entre les malformations observées et les malformations attendues en fonction de la fréquence des malformation isolées et des effets connus de certains gènes montre néanmoins qu'il s'agit d'une possible voie de recherche.

223 >> Poster n°114**GÉNÉTIQUE CLINIQUE****ASSOCIATION D'UNE DYSTROPHIE MUSCULAIRE DES CEINTURES AVEC CALPAÏNOPATHIE ET SYNDROME D'INSULINO-RÉSISTANCE.**

S. Jellimann (1,2), F. Beltramo (3), F. Leturcq (4), B. Leheup (1)
 (1) Service de Médecine Infantile III et Génétique Clinique, CHU, Nancy
 (2) Service de Médecine G, CHU, Nancy
 (3) Médecine Physique et réadaptation pédiatrique, CHU, Nancy,
 (4) Laboratoire de biochimie et génétique moléculaire, Hôpital Cochin, Paris

Les dystrophies musculaires des ceintures constituent un groupe de pathologies musculaires complexes pour laquelle de multiples mécanismes moléculaires ont pu être démontrés. Certaines de ces dystrophies musculaires sont associées à des mutations du gène de la calpaïne 3 (CPN3) et constitue le groupe LGMD2A.

Plusieurs types de calpaïnes ont été rapportés. Il s'agit de protéases neutres à cystéine, de localisation intracytoplasmiques non lysosomales. La calpaïne 3 est spécifiquement exprimée au niveau musculaire. La perte de fonction de la protéine est liée à la présence chez les sujets atteints de mutations à l'état homozygote ou hétérozygote composite.

Une augmentation du risque de diabète de type II, avec insulino-résistance, est associée avec certaines configurations alléliques du gène CPN10 qui code pour une autre calpaïne, la calpaïne 10 qui est exprimée dans tous les tissus.

Nous rapportons une observation de dystrophie musculaire congénitale associée à une insulino-résistance. Il s'agit d'une jeune fille dont les premiers signes sont apparus vers l'âge de dix ans, avec difficulté à la descente des escaliers. Le diagnostic est affirmé à l'âge de 13 ans par la biopsie musculaire. L'étude en western-blot démontre l'absence d'expression de la calpaïne 3. L'étude moléculaire est en cours (Drs Ametz Saenz et Lopez de Munain, San Sebastian).

Le bilan diagnostique étiologique d'un malaise à l'âge de 16 ans a permis de mettre en évidence une élévation importante des insulïnémies sans anomalie de la glycémie. Elle ne présente pas, pour l'instant, d'autres anomalies métaboliques qui peuvent être associées au tableau d'insulino-résistance.

Au plan familial, il n'existe aucune susceptibilité diabétique reconnue.

Cette observation fait discuter le mécanisme moléculaire potentiellement impliqué dans la dysrégulation de la sensibilité insulinique associée au tableau de la dystrophie musculaire congénitale.

229 >> Poster n°115**GÉNÉTIQUE CLINIQUE****ANALYSE DÉTAILLÉE D'UNE FAMILLE ATTEINTE DE MALADIE DE GÜNTHER COMPORTANT UNE PATIENTE HOMOZYGOTE MUTÉE ASYMPTOMATIQUE**

C. Ged (1), H. Mégarbané (2), M. Lalanne (1), E. Chouery (2), A. Mégarbané (3), H. de Verneuil (1)
 (1) INSERM E217, Bordeaux
 (2) Service de Dermatologie de l'Hôtel Dieu de France, Beyrouth, Liban

(3) Université Saint-Joseph, Beyrouth, Liban

La porphyrie érythroïdétique congénitale (maladie de Günther ou PEC) est une forme sévère et rare de porphyrie érythroïdétique transmise sur le mode autosomique récessif. La PEC est caractérisée par un déficit en uroporphyrinogène III synthase (UROS) enzyme qui catalyse la 4^e étape de la biosynthèse de l'hème. Une quarantaine de mutations du gène UROS ont été décrites, la plus fréquente est une mutation faux-sens (C73R) associée à un phénotype sévère.

Il s'agit d'une famille palestinienne de 13 enfants dont les parents sont probablement apparentés. La mère et 7 enfants ont été analysés, 5 enfants présentent des lésions cutanées sévères. Chez 4 patients atteints, une élimination urinaire massive de porphyrines et un déficit enzymatique profond ont été observés. Une nouvelle mutation du gène UROS a été identifiée par séquençage : la substitution de sérine par proline en position 47 de la chaîne peptidique (S47P) codée par le 3^e exon du gène UROS. Cette mutation est présente à l'état homozygote chez 4 sujets atteints, à l'état hétérozygote chez la mère et un fils qui ont une activité UROS réduite de 50 % sans accumulation de porphyrines. Le dernier fils est indemne. De façon surprenante, chez une jeune fille porteuse d'anomalies cutanées discrètes, l'activité est présente à l'état homozygote et l'activité UROS est effondrée. Le rôle pathogène de la mutation S47P a été démontré dans un système d'expression procaryote. Cette observation est le premier cas de pénétrance incomplète dans la PEC. Plusieurs hypothèses seront discutées.

230 >> Poster n°116**GÉNÉTIQUE CLINIQUE****SYNDROME DU QT LONG CONGÉNITAL : RELATION GÉNOTYPE-PHÉNOTYPE DANS LA PÉRIODE NÉONATALE**

J.M. Lupoglazoff (1,2), V. Fressart (3), F. Simon (3), I. Denjoy (1,2,4), E. Villain (5), A. Bozio (6), M. Berthet (2), N. Benammar (2), P. Guicheney (2), B. Hainque (2,3)

(1) Cardiologie Pédiatrique, Robert Debré Hôpital (AP-HP) Paris
 (2) INSERM U582, Institut de Myologie Hôpital Pitié-Salpêtrière (AP-HP), Paris
 (3) Service de Biochimie, unité de Cardiomyogénétique Hôpital Pitié-Salpêtrière (AP-HP) Paris
 (4) Cardiologie, Hôpital Lariboisière, (AP-HP) Paris
 (5) Cardiologie Pédiatrique, Necker-Enfants-Malades, (AP-HP) Paris
 (6) Cardiologie Pédiatrique, Lyon

Les manifestations cliniques périnatales du syndrome du QT long congénital (SQTL) sont rares mais sévères à type de bradycardie sinusale ou d'anomalies de la conduction. Aucune étude à notre connaissance n'a décrit un lien entre un tableau clinique donné et un locus particulier.

Notre étude a porté sur 23 nouveaux nés présentant un SQTL. Les prélèvements d'ADN de 18 des 23 propositus ont été analysés sur les trois gènes les plus fréquemment impliqués : KCNQ1, KCNH2 et SCN5A.

Le diagnostic de QT long congénital a été posé sur l'allongement de l'intervalle QT sur l'ECG (QTc = 558 ± 62 ms) associé à une bradycardie sinusale néonatale (8 cas) ou à un bloc auriculo-ventriculaire 2:1 (BAV) (15 cas) a permis de diagnostiquer un syndrome du QT long.

3 enfants présentant un BAV sont décédés. Tous les patients vivants reçoivent un traitement bêta-bloquant associé ou

non à un pace maker et sont asymptomatiques.

Les mutations ont été identifiées chez 16 patients, 8 dans KCNH2, et 8 dans KCNQ1. Un enfant présentait deux mutations, l'une dans KCNH2, l'autre dans KCNQ1 ainsi qu'un polymorphisme rare dans SCN5A.

Nous avons montré que les troubles de conduction sont associés à des mutations dans KCNH2 alors que les bradycardies sinusales sont liées à des mutations dans KCNQ1.

Les troubles de conduction du syndrome du QT long, associés à des mutations dans KCNH2, sont de mauvais pronostic durant le premier mois de vie. En revanche, les bradycardies sinusales liées à des mutations dans KCNQ1 sont de bon pronostic.

232 >> Poster n°117

GÉNÉTIQUE CLINIQUE

ATTEINTE ORO-LARYNGÉE DANS LA NEUROFIBROMATOSE : À PROPOS D'UN CAS.

S. Pinson (1,3), AMB. Zetoune (1), P. Combemale (2,3), S. Giraud (1), G. Lesca (1), A. Calender (1)

(1) Laboratoire de génétique HEH, CHU, Lyon

(2) Service de dermatologie, HIA Desgenettes, Lyon

(3) Réseau NF FRANCE

La neurofibromatose 1 (NF1) ou maladie de Recklinghausen est une maladie génétique fréquente caractérisée par une très grande variabilité inter et intrafamiliale. C'est une affection autosomique dominante et sa pénétrance est quasi-complète à l'âge de 8 ans. Le diagnostic de la NF1 est posé si deux critères sont réunis chez un même individu parmi les sept critères cliniques décrits lors de la conférence de consensus du National Institute of Health de Bethesda en 1988.

Nous rapportons le cas d'une jeune patiente de 3 ans présentant une forme rare de NF1 avec une atteinte laryngée grave isolée sans signe dermatologique : lésion extensive entraînant une dyspnée et une dysphagie avec cassure de la courbe de poids. L'examen anatomopathologique n'ayant pas été contributif, le diagnostic a été difficile et les premières démarches ont fait rechercher une mutation du gène RET dans le cadre d'une NEM de type 2B. L'absence d'anomalie du gène RET et l'hypothèse que la tumeur soit un neurofibrome plexiforme a orienté la recherche vers l'analyse moléculaire du gène NF1. La découverte d'une mutation constitutionnelle délétère du gène NF1 dans l'exon 13 (Q 682 X) a permis finalement de poser le diagnostic de NF1 chez cette patiente.

L'enquête familiale a permis, dans un deuxième temps, de diagnostiquer la maladie sous une forme très modérée chez le père et d'apporter le deuxième critère diagnostique manquant chez l'enfant.

Cette observation montre la grande variabilité phénotypique intra-familiale de la NF1, l'importance de l'examen clinique systématique de la famille.

234 >> Poster n°118

GÉNÉTIQUE CLINIQUE

INTÉRÊT DE L'ÉCHOGRAPHIE DE LA PEAU DANS LE DIAGNOSTIC NON-INVASIF DE NEUROFIBROMES PRÉSENTANT UN ASPECT DE «TACHES BLEUTÉES».

JL. Estival (1), S. Pinson (2,3), M. Dupin (1), P. Combemale (1,3)

(1) Service de dermatologie, HIA Desgenettes, Lyon

(2) Laboratoire de génétique HEH, CHU, Lyon

(3) Réseau NF FRANCE

La conférence de consensus du National Institute of Health de Bethesda (USA) a précisé, en 1988 sept critères cardinaux pour le diagnostic de neurofibromatose (NF1). Le diagnostic de la NF1 est posé si deux de ces signes sont réunis chez un même individu.

Chez l'adulte, le diagnostic de NF1 est en règle facile sur les données de l'examen clinique. Mais chez l'enfant les taches café au lait peuvent demeurer longtemps le seul signe et le diagnostic demeure parfois en suspens.

L'examen clinique attentif fait parfois découvrir de petites macules bleutées, dépressives au toucher, qui suggèrent l'existence de neurofibromes. L'examen anatomopathologique de ces lésions montre sans ambiguïté leur nature histologique, mais il s'agit d'un geste invasif et traumatisant pour le jeune enfant. Nous avons émis l'hypothèse que l'échographie cutanée pourrait être une alternative intéressante pour diagnostiquer ces neurofibromes.

Vingt-cinq patients, atteints de NF1 et présentant ces macules, bleutées ont bénéficié d'une échographie cutanée. Chez cinq adultes, une biopsie des lésions a été également faite après consentement des patients. Une analyse comparative a été entreprise entre les données cliniques, échographiques et histologiques. Les résultats montrent une concordance claire entre l'image échographique hypo-échogène et bien limitée et les résultats histologiques qui montrent un aspect typique de neurofibrome.

En raison de la facilité de mise en place, de la rapidité d'exécution et du caractère non invasif de cet examen, l'échographie cutanée permet d'apporter une aide importante pour le diagnostic précoce de neurofibromatose 1 chez les jeunes enfants.

235 >> Poster n°119

GÉNÉTIQUE CLINIQUE

LES MUTATIONS DU GÈNE FOXL2 DANS LE SYNDROME BPES

S. Caburet (1), J. Cocquet (1), E. De Baere (2), S. Christin-Maitre (3), P. Touraine (4), P. Bouchard (3), F. Kutten (4), M. Fellous (1), R. Veitia (1)

(1) INSERM U361 - E0021, Hôpital Cochin, Paris

(2) Départements de Génétique médicale et d'Ophthalmologie, Hôpital

Universitaire, Gand, Belgique

(3) Département d'Endocrinologie, Hôpital Saint-Antoine, Paris

(4) Département d'Endocrinologie et de Médecine Reproductive, Hôpital

Necker, Paris

Le syndrome BPES (Blepharophimosis-Ptoxis-Epicanthus inversus Syndrome) est une maladie génétique rare à transmission autosomique dominante, résultant de mutations dans l'ORF du gène FOXL2 pour 70% des cas. Le syndrome se manifeste par une malformation de la paupière et une insuffisance ovarienne prématurée, et se classifie selon la présentation clinique : le type I associe la malformation palpébrale et l'IOP tandis que le type II présente uniquement la malformation des paupières. Si le phénotype palpébral du BPES est détectable dès la naissance, le phénotype ovarien n'apparaît que tardivement, à la puberté ou lors d'aménorrhées secondaires, lorsque l'infertilité est déjà effective.

Une corrélation génotype-phénotype, associant certaines mutations à un type de BPES, permet d'améliorer le conseil

génétiq ue aux patientes BPES, mais cette corrélation présente des exceptions et une variabilité inter et intra-familiale. Pour l'améliorer, nous cherchons donc à caractériser de nouvelles mutations dans l'ORF de FOXL2. Des mutations sont également recherchées dans les régions régulatrices du gène, pour tenter d'expliquer les 30% de cas de BPES sans mutation dans l'ORF de FOXL2. Une étude est notamment en cours pour déterminer si deux variations détectées dans le promoteur de FOXL2 chez des patients BPES sont des mutations régulatrices ou des polymorphismes, conférant ou non une susceptibilité supplémentaire en présence d'une mutation causale dans l'ORF de FOXL2.

Le gène FOXL2 apparaissant comme un acteur majeur du développement ovarien, une meilleure connaissance de son implication dans le BPES servira sans doute à améliorer le diagnostic des infertilités féminines dans leur ensemble.

238 >> Poster n°120

GÉNÉTIQUE CLINIQUE

AMYLOSE CUTANÉO-VISCÉRALE DE MOULIN AVEC MUTATION DU GÈNE DE L'APOLIPOPROTÉINE A1

P. Vabres (1), S. Valleix (2), L. Handiri (1), JM. Goujon (1), D. Droz (3), M. Delpech (2), M. Larrègue (1)

(1) Centre Hospitalier Universitaire, Poitiers

(2) Hôpital Cochin, Paris

(3) Hôpital Saint-Louis, Paris

L'amylose familiale décrite par Moulin en 1988 se caractérise par une atteinte cutanée, laryngée et cardiaque. Les dépôts amyloïdes proviennent de l'apolipoprotéine A1. Nous rapportons l'observation de six patientes sur trois générations qui montre une grande variabilité de l'âge d'apparition et de l'intensité des manifestations. Trois soeurs, examinées vers l'âge de 50 ans, avaient un purpura et une pigmentation jaune du visage, allant de quelques macules péribuccales à une infiltration massive défigurante. Leur voix était rauque, du fait d'une infiltration des cordes vocales, mais elles n'avaient aucune manifestation cardiaque malgré une hypertrophie septale. Deux de leurs filles, examinées vers 20 ans, n'avaient qu'une atteinte cutanée et une dysphonie discrètes. Leur mère, décédée à 90 ans sans atteinte cardiaque, avait une dysphonie et une coloration jaune du visage apparues vers 60 ans. Des dépôts amyloïdes dermiques ont été retrouvés en microscopie optique et électronique, mais la protéine déposée n'a pas pu être caractérisée par immunohistochimie. Le dosage de l'ApoA1 sérique était normal. Le séquençage du gène de l'apolipoprotéine A1 chez deux patientes a montré une mutation Leu178His, située dans la région C-terminale, comme dans la plupart des rares familles avec manifestations cutanées et laryngées, alors que les mutations de la région N-terminale se traduisent par une amylose avec neuropathie périphérique et atteinte rénale. L'enquête généalogique a montré que ces patientes étaient apparentées à une fratrie porteuse de la même mutation, mais où l'atteinte cardiaque prédominait, l'un des patients en étant décédé avant 40 ans. Cette variabilité d'expression n'est pas expliquée.

239 >> Poster n°121

GÉNÉTIQUE CLINIQUE

DE NOUVELLES MUTATIONS RÉCURRENTES DANS LES DÉFICITS DE LA CHAÎNE RESPIRATOIRE MITOCHONDRIALE

S. Lebon (1), M. Chol (1), P. Bénit (1), C. Mugnier (1), D. Chrétien (1), I. Giurgea (1), I. Kern (3), E. Girardin (3), L. Hertz-Pannier (2), P. de Lonlay (1), A. Rötig (1), P. Rustin (1), A. Munnich (1)

(1) INSERM U-393 et Département de Génétique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris

(2) Département de Radiologie Pédiatrique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris

(3) Département de Pédiatrie, Hôpitaux Universitaires de Genève, Genève, Suisse

A partir d'une série de 50 patients présentant un déficit du complexe I de la chaîne respiratoire mitochondriale, nous avons entrepris l'analyse systématique des sous-unités du complexe I codées par l'ADN mitochondrial (ND1 à ND6 et ND4L) par séquençage direct dans les tissus atteints. Cette étude a permis de mettre en évidence un fort taux de mutation (20%) chez nos patients. Nous avons identifié deux mutations nouvelles, T10158C dans le gène ND3 (deux patients indépendants) et T14487C dans le gène ND6 (un patient), ainsi que trois mutations récurrentes déjà connues, T10191C (ND3, deux patients indépendants), T12706C (ND5, un patient) et A13514G (ND5, un patient), chez des enfants présentant un syndrome de Leigh ou de pseudo-Leigh. Ces mutations récurrentes sont très majoritairement des transitions TC ($p < 10^{-4}$). Cette étude montre l'importance de l'identification précise d'un déficit de la chaîne respiratoire pour la mise en place d'un diagnostic moléculaire des maladies mitochondriales.

248 >> Poster n°122

GÉNÉTIQUE CLINIQUE

FORME INFANTILE PRÉCOCE DE LA MALADIE DE STEINERT: UNE NOUVELLE ENTITÉ CLINIQUE ?

A. Jacquette (1), N. Angeard (2), B. Eymard (2), P. Laforêt (2), D. Héron (1)

(1) Département de Génétique, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris

(2) Service de Myologie, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris

La myotonie de Steinert est une affection autosomique dominante à expression variable dont on distingue habituellement quatre formes cliniques: chez l'adulte une forme classique et une forme tardive pauci-symptomatique, chez l'enfant une forme congénitale (de transmission quasi-exclusivement maternelle) et une forme infantile débutant après l'âge d'un an (de transmission paternelle et maternelle).

Afin de mieux caractériser les formes pédiatriques, nous avons étudié rétrospectivement une cohorte de 50 enfants suivis à l'institut de myologie (Hôpital Pitié-Salpêtrière) dont le diagnostic de myotonie de Steinert a été fait avant l'âge de 18 ans. L'analyse des résultats permet de distinguer trois groupes: (i) 12 enfants présentent une forme congénitale dont les caractéristiques cliniques et l'évolution sont similaires à celles de la littérature, (ii) 23 enfants présentent une forme infantile classique avec un début toujours après l'âge d'un an et (iii) 15 enfants présentent des signes modérés en période périnatale (ne justifiant pas d'hospitalisation néonatale) permettant d'identifier un

nouveau sous-groupe d'enfants atteints dont l'évolution est intermédiaire entre les formes congénitale et infantile classique, en terme de retard de langage, de difficultés scolaires et de retard mental. Par contre, le développement moteur et l'atteinte musculaire ne semblent pas différentes de la forme infantile classique. La transmission peut être paternelle. Le nombre moyen de triplets CTG est également intermédiaire. Le continuum clinique que représente cette nouvelle forme est important à repérer pour affiner le pronostic et le conseil génétique de cette affection.

284 >> Poster n°123

GÉNÉTIQUE CLINIQUE

MICROCÉPHALIE, PETITE TAILLE, HYPOGONADISME ET RETARD MENTAL CHEZ L'HOMME MÂLE: LE SYNDROME DE RENPENNING

H. Van Esch (1), G. Van Buggenhout (1), G. Zanni (2), J. Chelly (2), JP. Fryns (1), K. Devriendt (1)

(1) Centre for Human Genetics, Division of Clinical Genetics, University Hospital Leuven, Belgique

(2) Laboratoire de Génétique et de Physiopathologie des Retards Mentaux, Institut Cochin, Inserm U567, Paris

Nous présentons dans ce travail deux familles comprenant plusieurs mâles qui présentent un phénotype identique avec un retard mental léger à modéré, une microcéphalie sévère, une petite taille et un hypogonadisme post-pubertaire. Ce dernier est la conséquence d'un déficit testiculaire primaire étant donné les concentrations plasmatiques anormalement basses en testostérone et les taux élevés de gonadotrophines. Ces observations sont compatibles avec la description par Renpenning et al. en 1962 d'une maladie liée à X et dont le locus a été localisé dans une région de 8cM en Xp11.2-Xp11.4 (Stevenson et al. 1998). Néanmoins, comparé à la famille d'origine de Renpenning, le retard mental est moins sévère dans nos deux familles, par contre, la microcéphalie est nettement plus prononcée. Deux individus mâles de la famille 1 ont développé un diabète, ce qui a aussi été décrit chez 4 des 14 hommes dans la famille d'origine (Stevenson et al. 1998). Récemment, une autre famille avec microcéphalie, retard mental sévère, petite taille variable mais sans hypogonadisme a été décrite avec un locus situé dans une autre région non chevauchant du chromosome X. (Schrimpton et al., 1999). L'analyse de liaison dans ces deux nouvelles familles sera présentée.

287 >> Poster n°124

GÉNÉTIQUE CLINIQUE

MUTATION DU GÈNE ARX CHEZ UN GARÇON ATTEINT DE RETARD MENTAL ASSOCIÉ À UNE ENCÉPHALOCÈLE TRANSSPHÉNOÏDALE, À UNE AGÉNÉSIE DU CORPS CALLEUX ET À UN DÉFICIT HYPOPHYSIAIRE PARTIEL.

H. Van Esch (1), K. Poirier (3), F. de Zegher (2), M. Holvoet (1), T. Bienvenu (3), J. Chelly (3), K. Devriendt (1), JP. Fryns (1)

(1) Centre for Human Genetics, Division of Clinical Genetics, University Hospital Leuven, Belgique

(2) Department of Paediatrics, University Hospital Leuven, Belgique

(3) Laboratoire de Génétique et de Physiopathologie des Retards Mentaux, Institut Cochin, Inserm U567, Paris

Le gène ARX (Aristaless related homeobox gene) est impliqué dans le retard mental lié au chromosome X et associé à un large spectre de manifestations neurologiques. Il existe une corrélation stricte entre les phénotypes

observés et le caractère des mutations identifiées. Des mutations faux sens non-conservatives et des expansions dans des stretches de polyalanines ont été identifiées dans des phénotypes moins sévères associés à une épilepsie ou à une dystonie, du type Partington. Par contre, les mutations entraînant une perte totale de la fonction protéique provoquent des malformations sévères du cerveau chez l'homme et chez la souris.

Nous présentons dans ce travail une famille composée de 4 hommes porteurs de la même duplication de 24pb et présentant un retard mental plus ou moins sévère, illustrant la variabilité phénotypique intrafamiliale liée à ce gène. De plus, un des garçons atteints présente une encéphalocèle transsphénoïdale associée à une agénésie du corps calleux et à un déficit hypophysaire partiel. Cette observation ajoute un nouveau phénotype à la liste des maladies associées aux mutations du gène ARX.

289 >> Poster n°125

GÉNÉTIQUE CLINIQUE

EXPRESSION CLINIQUE DES PORTEUSES SYMPTOMATIQUES DE MUTATIONS DU GÈNE EMD. A PROPOS DE 4 CAS.

R. Ben Yaou (1,2), S. Llense (3), N. Deburgrave (3), C. Peccate (3), N. Canki-Klain (4), D. Amsellem (5), H. Journal (6), P. Laforêt (7), JC. Kaplan (3), F. Leturcq (3), D. Recan (3)

(1) INSERM U 582, Bâtiment Babinski, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris

(2) Service des Affaires Médicales, Association Française contre les Myopathies, Evry

(3) Laboratoire de Biochimie et Génétique Moléculaire, Hôpital Cochin, Paris

(4) Division of Neurogenetics, Department Of Neurology, Zagreb University Medical School, Zagreb, Croatie

(5) Service de pédiatrie 1, CHU de Besançon, Besançon

(6) Unité de Génétique Médicale, CH Chubert, Vannes

(7) Institut de Myologie, G.H. Pitié-Salpêtrière, Paris

Objectifs : Les mutations du gène EMD, codant l'émerine, sont responsables de la forme liée à l'X de la Dystrophie musculaire d'Emery-Dreifuss (X-EDMD), caractérisée par une faiblesse et amyotrophie huméro-péronièrès, des rétractions tendineuses et une cardiopathie dominée par des troubles conductifs auriculo-ventriculaire avec risque accru de mort subite. Les femmes transmettrices sont souvent asymptomatiques. Nous rapportons ici 4 femmes porteuses d'une mutation du gène EMD et présentant soit une atteinte cardiaque ou musculaire pures, soit un phénotype EDMD complet.

Méthodes et résultats : Quatre femmes, mères de patients EDMD, ont été cliniquement analysées sur les plans neurologique et cardiologique. L'émerine a été quantifiée sur lymphoblastes par Western Blot et le gène EMD analysé par Southern blot/PCR-Séquençage. L'inactivation du chromosome X a été testée par l'analyse de la méthylation au locus du récepteur aux androgènes. Deux patientes avaient une cardiopathie pure, la troisième une myopathie des ceintures isolée et la dernière un EDMD complet associé à une hémiplégiè gauche probablement d'origine thromboembolique. Chez cette patiente, l'émerine est très diminuée et l'inactivation du chromosome X déséquilibrée. L'analyse du gène EMD a identifié quatre mutations nulles à l'état hétérozygote (un stop, une insertion et deux délétions).

Conclusion : La transmettrices de mutations EMD expriment

une symptomatologie variable non corrélée à la génétique, mais elle les expose au même risque cardiologique que les sujets masculins hémizygotés. Leur suivi cardiologique semble nécessaire pour détecter et prévenir les complications cardiaques.

Travail soutenu par l'Union Européenne ("Myo-Cluster-Euromen", #QLG1-1999-00870) et par INSERM/AFM (réseau EDMD et autres nucleopathies, #4MR06F).

291 >> Poster n°126

GÉNÉTIQUE CLINIQUE

VARIATION PHÉNOTYPIQUE DES MUTATIONS DU RÉCEPTEUR 1 AU FGF : SYNDROME DE KALLMANN

B. Goulet-Salmon (1), E. Malville (2), G. Plessis (2), C. Dodé (3), J.P. Hardelin (4), M.L. Kottler (2)

(1) Centre hospitalier d'Alençon

(2) Département Génétique et Reproduction, Hôpital Clemenceau, Caen

(3) Institut Cochin et Laboratoire de Biochimie et Génétique Moléculaire, Hôpital Cochin, Paris

(4) Unité de Génétique des Déficits Sensoriels, Institut Pasteur, Paris

L'hypogonadisme hypogonadotrope isolé (HHI) est caractérisé par un défaut de production des hormones gonadotropes LH et FSH. L'étiologie la plus fréquente est le syndrome de Kallmann qui inclut la présence d'une anosmie. Son incidence est de 1/10.000. Des mutations du gène KAL1 codant pour l'anosmine ont été associées à la forme liée à l'X qui représente moins de 15% des cas. Des mutations perte de fonction du gène FGFR1 ont été récemment décrites (Nature Genetics, 2003, 33 :463) dans une forme autosomique dominante (KAL2).

Nous décrivons le cas d'un patient avec mutation du FGFR1 retrouvée à l'état homozygote issu de parents consanguins. T. est un garçon de 19 ans qui consulte pour hypogonadisme. Ses 4 frères et sœurs sont en bonne santé. Il est impubère (TOP2) et présente une cryptorchidie bilatérale. Les dosages hormonaux confirment un HHI. L'examen ORL met en évidence une hyposmie gauche. L'ensemble évoque un syndrome de Kallmann. S'associe un syndrome dysmorphique : fente labiopalatine, aplasie du pavillon de l'oreille droite avec une surdité unilatérale d'origine mixte, prognathisme, hypoplasie malaire, brachydactylie du V, 4 orteils à droite et à gauche. Le caryotype est 46 XY. L'échographie abdominale trouve une ectopie rénale gauche et l'IRM cérébrale, une hypoplasie du vermis supérieur et inférieur.

Une mutation homozygote A167S, héritée de chacun de ses parents, est identifiée dans FGFR1.

Cette observation souligne le rôle de la biologie afin d'étudier l'activité fonctionnelle de la molécule mutée afin d'établir une relation phénotype/génotype rendue ici difficile par la consanguinité des parents.

294 >> Poster n°127

GÉNÉTIQUE CLINIQUE

DYSTROPHINOPATHIE DE RÉVÉLATION NÉONATALE CHEZ UN GARÇON PORTEUR D'UN REMANIEMENT DU CHROMOSOME X

G. Viot (1), A. Lebbar (1), N. Deburgrave (1), F. Baverel (1), F. Chapon (2), L. Viollet (3), N.Laisney (4), F. Leturcq (1)

(1) Département de Génétique, Hôpital Cochin, Paris

(2) Service d'Anatomopathologie, CHU, Caen

(3) Service de Pédiatrie, Hôpital Raymond Poincaré, Garches

(4) Service de Pédiatrie, CH, Saint-Lô

Nous rapportons l'histoire d'un garçon né par césarienne au terme d'une grossesse marquée par une diminution des mouvements actifs fœtaux. L'APGAR est à 2 puis 5. En raison d'une détresse respiratoire persistante, d'une hypotonie axiale, d'une hypomotilité, l'enfant est rapidement transféré en néonatalogie. La créatine kinase à J3 est à 20 fois la normale. La biopsie musculaire proposée à 3 semaines de vie montre des fibres de calibre inégal, de forme arrondie sans centralisation nucléaire. Le western-blot avec l'anticorps anti-DYS1 (rod domain) retrouve une dystrophine tronquée (317 kDa), en quantité diminuée. Il existe une absence de marquage avec l'anticorps anti-DYS2 (région C terminale). Le diagnostic de dystrophinopathie est alors avancé. La PCR multiplex semi-quantitative du gène ne retrouve ni délétion ni duplication. Les résultats de la RT-PCR sont compatibles avec la présence de deux points de cassure entre les exons 55 et 56 et les exons 61 et 62. Cependant, tous les exons sont présents et leur séquence est normale.

Le caryotype de l'enfant retrouve un remaniement de structure complexe du bras court du chromosome X intéressant la région du gène de la dystrophine. Le caryotype haute résolution de la maman montre qu'elle est porteuse du même réarrangement, sans biais d'inactivation en faveur de l'X normal.

L'insertion d'une partie de la région Xp22 dans le gène de la dystrophine est suspectée, expliquant le retard mental et de l'atteinte musculaire très précoce de l'enfant. Une validation est en cours par hybridation in situ.

299

GÉNÉTIQUE CLINIQUE

BASES DE DONNÉES LOCUS SPÉCIFIQUES UMD-LMNA ET UMD-EMD : UN OUTIL POUR L'ANALYSE CLINICO-GÉNÉTIQUE DES LAMINOPATHIES ET ÉMERINOPATHIES.

C. Bérout (1), R. Ben Yaou (2,3), A. Helbling-Leclerc (2), S. Llense (4), J.C. Kaplan (4), F. Leturcq (4), D. Récan (4), G. Bonne (2) et le réseau français des EDMD et autres nucleopathies

(1) Laboratoire de Génétique Moléculaire et Chromosomique, Institut Universitaire de Recherche Clinique, Montpellier

(2) INSERM U582, Bâtiment Babinski, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris

(3) Service des Affaires Médicales, Association Française contre les Myopathies, Evry

(4) Laboratoire de Biochimie et Génétique Moléculaire, Hôpital Cochin, Paris

Objectifs : Les mutations des gènes EMD et LMNA sont responsables respectivement des émerinopathies et des laminopathies, affections diverses touchant entre autres les tissus musculaires squelettique et cardiaque, graisseux, nerveux et osseux. Plus de 90 mutations du gène EMD et 150 mutations du gène LMNA ont été actuellement identifiées. Une large variabilité intra- et inter-familiale a été observée rendant très complexe toute relation entre phénotypes et génotypes. Pour exploiter rationnellement les nombreuses données collectées par le réseau français "dystrophie musculaire d'Emery-Dreifuss et autres nucleopathies" et le réseau européen "EUROMEN" nous avons développé deux bases de données locus spécifique (LSDB) pour ces deux gènes.

Méthodes et résultats : L'outil utilisé est le logiciel Universal Mutation Database (UMD®), précédemment utilisé pour

plusieurs LSDB, et permettant la description détaillée des événements mutationnels, des phénotypes en résultant ainsi que l'établissement de relations phénotype/génotype et génotype/phénotype optimales. Il a été adapté aux gènes EMD et LMNA et les données cliniques et biologiques pertinentes décrivant les patients porteurs de mutations de ces gènes y ont été intégrées. Actuellement, UMD-LMNA contient plus de 700 entrées et UMD-EMD contient plus de 150 entrées.

Conclusion : Le développement des LSDB UMD-EMD et UMD-LMNA (<http://www.umd.be>) devrait permettre une meilleure approche du diagnostic, de l'épidémiologie moléculaire et de la physiopathologie des émerinopathies et des laminopathies.

Cette étude a bénéficié de l'aide de l'Union Européenne: European Union Fifth Framework ("Myo-Cluster Euromen", contract # QLG1-1999-00870) et de l'INSERM/AFM: contrat Maladies Rares ("EDMD et autres nucleopathies", contract #4MR06F).

306 >> Poster n°128

GÉNÉTIQUE CLINIQUE

SPECTRE CLINIQUE ET GÉNÉTIQUE DES LAMINOPATHIES. L'EXPÉRIENCE DU RÉSEAU EUROPÉEN EUROMEN

R. Ben Yaou (1,2), P. Richard (3), L. Demay (3), L. Merlini (4), F. Muntoni (5), B. Talim (4), D. Toniolo (6), A.J. Van Der Kooij (7), M. De Visser (7), T. Voit (8), M-S. Wehnert (9), J.A. Urtizberea (10), B. Eymard (10), D. Recan (11), G. Bonne (1)

(1) INSERM UR 582-Institut de Myologie, G.H. Pitié-Salpêtrière, Paris

(2) Service des Affaires Médicales, Association Française contre les Myopathies, Evry

(3) UF Cardiogénétique et Myogénétique, Service de Biochimie B, G.H. Pitié-Salpêtrière, Paris

(4) Neuromuscular Unit, Istituto Ortopedico Rizzoli, Bologna, Italie

(5) Department of Paediatrics & Neonatal Medicine, Hammersmith Hospital Campus, London, Royaume Unis

(6) Institute of Molecular Genetics-CNR, Pavia, Italie

(7) Academic Medical Centre, University of Amsterdam, Pays Bas

(8) Department of pediatrics, University of Essen, Essen, Allemagne

(9) Institute of Human Genetics, Greifswald, Allemagne

(10) Institut de Myologie, G.H. Pitié-Salpêtrière, Paris

(11) Laboratoire de Biochimie et Génétique Moléculaire, Hôpital Cochin, Paris

Introduction : EUROMEN est un réseau dédié à la caractérisation clinico-génétique des patients potentiellement porteurs de mutations des gènes EMD et LMNA codant respectivement l'émerine et les lamines A/C. Les mutations EMD sont responsables de la forme liée à l'X de la dystrophie musculaire d'Emery-Dreifuss, alors que les mutations LMNA sont responsables des formes autosomiques d'EDMD ainsi qu'au moins 7 autres affections touchant entre autres les tissus musculaires squelettique et cardiaque, graisseux, nerveux et osseux. Nous rapportons ici les résultats d'une première synthèse de l'expérience d'EUROMEN.

Méthodes: 1074 sujets (817 atteints, 257 asymptomatiques, 532 familles) ont été cliniquement analysés dans les 7 centres d'EUROMEN. Le gène LMNA a été testé par SSCP/DHPLC/Séquençage.

Résultats et conclusions : 103 mutations différentes du gène LMNA ont été identifiées chez 291 sujets (160 familles). Sept groupes phénotypiques y ont été observés

allant de l'EDMD typique à l'absence de symptômes cliniques. Il n'a pas été observé de relation claire entre génotype et phénotype. Parmi les 536 sujets non mutés pour le gène LMNA, le spectre phénotypique était large allant de l'EDMD typique à des formes discrètes avec rétractions et histoire familiale de mort subite. Parmi eux, 24 ont été secondairement diagnostiqués comme porteurs de mutations dans 10 autres gènes responsables d'autres maladies musculaires et 239 présentaient un phénotype d'EDMD typique avec pour 19 d'entre eux une expression normale en émerine suggérant la responsabilité d'au moins un troisième gène pour l'EDMD.

Travail soutenu par l'Union Européenne ("Myo-Cluster-Euromen", #QLG1-1999-00870) et par INSERM/AFM (réseau EDMD et autres nucleopathies, #4MR06F).

310

GÉNÉTIQUE CLINIQUE

MYOPATHIE BRANCHIALE : DISCUSSION À PROPOS DE DEUX CAS

E. Ollagnon-Roman (1), P. Petiot (2), J.H. Ruel (3), J.F. de Saint Victor (4), N. Streichenberger (5)

(1) Unité de Neurogénétique, Hôpital Croix Rousse, CHU, Lyon

(2) Service de Neurologie, Hôpital Croix Rousse, CHU, Lyon

(3) Service de Neurologie, CH, Annecy

(4) Service de Neurologie, Hôpital P. Wertheimer, CHU, Lyon

(5) Service d'Anatomopathologie, Hôpital P. Wertheimer, CHU, Lyon

Les myopathies branchiales hypertrophiques sont des affections exceptionnelles d'origine encore inconnue, dont la sémiologie peut parfois être très invalidante, mais qui restent bénignes. Le diagnostic est posé sur les données cliniques (hypertrophie douloureuse des muscles temporaux, masseters, pterygoidiens), scanographiques ou IRM, histologiques (lésions dystrophiques non spécifiques). Elles peuvent bénéficier d'un traitement par toxine botulinique qui permet de réduire les douleurs et de diminuer l'hypertrophie souvent gênante. Nos observations permettent de penser, sur un suivi de deux ans que des injections répétées de toxine botulinique dans les muscles concernés ont un effet prolongé sur plusieurs mois. Les injections de toxine botulinique semblent être une alternative thérapeutique intéressante au traitement chirurgical. Par contre, la physiopathologie de ces affections, leur caractère limité à ce groupe musculaire, le mécanisme d'action de la toxine botulinique ne sont pas clarifiés. L'origine embryologique commune des muscles atteints plaiderait en faveur d'une embryopathie. Les données histologiques semblent évoquer un processus dystrophique. Une observation de la littérature associait myopathie branchiale et hyperthermie maligne. Nous ne connaissons pas de formes familiales. Existent-elles sous formes peu symptomatiques ou asymptomatiques ? Sont-elles méconnues ? Cette myopathie est surtout connue des stomatologues mais la quête de nouvelles observations et la discussion physiopathologique restent ouvertes...

314 >> Poster n°129**GÉNÉTIQUE CLINIQUE****CDG IA : IMPACT DES ISOLATS DE POPULATION, PRONOSTIC À L'ÂGE ADULTE, VARIABILITÉ INTRAFAMILIALE. ENSEIGNEMENTS DE L'OBSERVATION DE COUSINES GERMAINES ORIGINAIRES DE FRANCHE-COMTÉ**

P. Khau Van Kien (1), F. Fellmann (1), AM. Bertrand (2), N. Magy (3), JL. Bresson (1), N. Seta (4)

(1) Service de Génétique, CHU, Besançon

(2) Service de Pédiatrie, CHU, Besançon

(3) Service de Médecine Interne, CHU, Besançon

(4) Laboratoire de Biochimie A, CHU Bichat-Claude Bernard, Paris

Deux cousines issues de deux sœurs, sont atteintes de CDG Ia. Les familles, sont originaires du même petit village de Franche-Comté :

- Cas index : Adeline, née en 1998, RCIU, dysmorphie évocatrice, ataxie, strabisme, retard psychomoteur important. Le dosage de l'activité leucocytaire phosphomannomutase montre un déficit majeur, associé à une hétérozygotie composite : R141H (mat) / P113L (pat) du gène PMM2.

- Enquête familiale : plusieurs sujets présentent des difficultés intellectuelles dans la famille maternelle, sans consanguinité. Céline, fille de la tante maternelle d'Adeline, née en 1978 est connue pour : retard de croissance, aménorrhée primaire, retard intellectuel léger (vit seule avec un concubin, travaille, lit, écrit...), strabisme et ataxie. Il s'agit aussi d'un CDG Ia hétérozygote composite : R141H (mat)/ P113L(pat). Bien qu'il n'y ait pas de lien de famille avéré entre les pères de ces deux cousines, des homonymes communs sont retrouvés dans leur généalogie.

Nous retirons plusieurs enseignements de cette observation :

- La récurrence de cette maladie récessive autosomique est probablement expliquée par le petit effectif de la population dont cette famille est issue. Il semble important de poursuivre les enquêtes familiales dans nos régions où des isolats ont un impact dans notre pratique diagnostique et de conseil génétique.

- Alors que le pronostic notamment intellectuel des rares cas d'adultes CDG Ia rapportés dans la littérature est classiquement réservé, nous relatons la possibilité d'une autonomie avec un retard intellectuel léger

- Une variabilité intrafamiliale de la maladie contrastant avec les données de la littérature.

319 >> Poster n°130**GÉNÉTIQUE CLINIQUE****SYNDROME DE USHER : DE LA GÉNÉTIQUE À LA PHYSIOPATHOLOGIE**

S. Marlin (1), D. Feldmann (2), F. Denoyelle (3), EN. Garabédian (3), R. Couderc (2), C. Petit (4)

(1) Unité de Génétique médicale et INSERM U587, Hôpital Trousseau, Paris

(2) Service de Biochimie et INSERM U587, Hôpital Trousseau, Paris

(3) Service d'ORL pédiatrique et INSERM U587, Hôpital Trousseau, Paris

(4) Unité de Génétique des Déficits Sensoriels, INSERM U587, Institut Pasteur, Paris

Le syndrome de Usher associe une surdité neuro-sensorielle à une rétinite pigmentaire évolutive. On observe une

variabilité clinique avec l'existence de trois types différents : les syndromes de Usher de type 1, de type 2 et de type 3, qui se différencient par la sévérité des déficits sensoriels. Chaque sous-type comporte une hétérogénéité génétique et 12 loci ont actuellement été mis en évidence. Neuf gènes différents ont été clonés : 7 impliqués dans le syndrome de Usher de type 1, un dans le syndrome de Usher de type 2 et un dans le syndrome de Usher de type 3. Les mutations de ces gènes entraînent un déficit au niveau des cellules sensorielles de l'oreille interne et probablement de la rétine. Les gènes responsables du syndrome de Usher de type 1 sont impliqués dans un même processus de développement et de maintien des stéréocils des cellules ciliées cochléaires. Nous aborderons les rôles physiologiques de ces protéines qui permettent d'approcher la physiopathologie de syndrome de Usher.

331 >> Poster n°131**GÉNÉTIQUE CLINIQUE****VARIABILITÉ GÉNÉTIQUE ET PHÉNOTYPIQUE DU SYNDROME DE BRUGADA**

S. Pattier, M. Allouis, F. Airaud, E. Roy, JJ. Schott, V. Probst, P. Boisseau, H. Le Marec
INSERM U533, Nantes

Le syndrome de Brugada est caractérisé par (i) des anomalies de l'électrocardiogramme sous la forme d'un retard de la conduction intra-ventriculaire et d'une anomalie de la repolarisation caractérisée par un sus-décalage du segment ST dans les dérivations précordiales droites, (ii) de trouble du rythme ventriculaire sous la forme de tachycardies ventriculaires polymorphes ou de fibrillations ventriculaires responsables de syncopes ou de mort subite.

L'expérience récente de notre équipe nous conduit à penser que cette pathologie et plus généralement les pathologies liées au gène SCN5A sont complexes, tant sur le plan du phénotype que du génotype.

Une étude phénotype/génotype sur une cohorte de patients atteints du syndrome de Brugada porteurs ou non d'une mutation dans le gène SCN5A a été réalisée. Un total de 77 patients ont été inclus dans l'étude, 23 étaient porteurs d'une mutation SCN5A contre 54 patients non liés au gène SCN5A.

Les résultats démontrent que les troubles conductifs (intervalle PQ, HV, et QRS) des patients porteurs d'une mutation dans le canal SCN5A étaient significativement plus importants que chez les patients non liés au gène SCN5A. Un intervalle PQ supérieur à 210 ms et un intervalle HV supérieur à 60 ms semble corrélérer avec la présence d'une mutation dans le gène SCN5A.

L'identification des facteurs influençant la variabilité de l'expression de SCN5A ainsi que de nouveaux gènes morbides pour le syndrome de Brugada devrait avoir un impact majeur sur la prise en charge clinique de ces maladies rythmiques graves.

335 >> Poster n°132**GÉNÉTIQUE CLINIQUE****SYNDROME OTO-PALATO-DIGITAL CHEZ 2 GARÇONS NON APPARENTÉS**

D Héron(1), J Roume(2), D Geneviève(3), C Baumann(4), V Cormier(3)

(1) Département de Génétique, Hôpital de La Salpêtrière, Paris

(2) Centre Pluridisciplinaire de Diagnostic Prénatal, CHI Poissy, St Germain en Laye, Poissy

(3) Service de Génétique Médicale, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris

(4) UF de Génétique Clinique, Hôpital Robert Debré, Paris

Le syndrome oto-palato-digital (OPD) comprend 2 formes cliniques (OPD1 et OPD2) liées à des mutations d'un gène codant pour la Filamine A (Xq28). Nous présentons les observations de deux garçons non apparentés d'ethnie africaine présentant un tableau évocateur d'OPD associant :

En prénatal :

- une épaisseur de nuque anormale
- une discordance biométrique ayant fait discuter une achondroplasie.
- un omphalocele (patient 2)

En post natal :

- Une dysmorphie faciale : facies plat, hypertélorisme, hypoplasie de l'étage moyen, disjonction des sutures, hypertrophie des muqueuses, palais ogival, macroglossie.
- Un omphalocele (patient 2) et une anomalie de l'ombilic (patient 1)
- Une micromélie, des extrémités très courtes
- Une anomalie des organes génitaux externes
- Un thorax étroit
- Un reflux vésico-rénal (patient 1)

Les radiographies de squelette montrent une densification anormale (patient 1) et un défaut de modelage des phalanges (patients 1 et 2). Le bilan complémentaire permet d'éliminer une anomalie chromosomique ou une maladie de surcharge.

L'évolution est marquée par :

- des difficultés respiratoires importantes
- un retard psychomoteur
- une hypoacousie modérée (patient 1)

L'ensemble des signes permet d'évoquer le cadre diagnostique du syndrome oto-palato-digital dans une forme intermédiaire entre les types I et II. Une recherche de mutation dans le gène codant pour la filamine A est en cours. Ces observations illustrent la très grande variabilité de manifestations du syndrome Oto-Palato-Digital, dont le spectre phénotypique comprend également le syndrome de Melnick-Needles et la dysplasie Fronto-Métaphysaire.

348 >> Poster n°133

GÉNÉTIQUE CLINIQUE

LES HYPERINSULINISMES : MALADIES HÉTÉROGÈNES SUR LE PLAN GÉNÉTIQUE

P. de Lonlay (1), I. Giurgea (1), C. Bellanné (2), S. Clavin (2), F. Jaubert (1), J. Rahier (3), J.C. Fournet (1), F. Brunelle (1), C. Nihoul-Fékété (1), C. Junien (1), J.J. Robert (1), J.M. Saudubray (1)

(1) INSERM U393, Départements de Pédiatrie, Génétique, Pathologie, Radiologie et Chirurgie Hôpital Necker Enfants Malades, Paris

(2) Laboratoire de Biologie Moléculaire, Hôpital Saint-Antoine, Paris

(3) Department de Pathologie and Génétique, Université Catholique de Louvain, Bruxelles, Belgique

Les hyperinsulinismes représentent une des principales causes d'hypoglycémie du nourrisson. Nous avons démontré l'existence de deux formes histologiques de traitement radicalement différent: une forme diffuse dans laquelle les anomalies histologiques du pancréas sont uniquement fonctionnelles et une forme focale ou "hyperplasie adénomateuse" du pancréas. Jusqu'à présent, seul le

cathétérisme trans-hépatique avec dosages étagés d'insuline dans les différentes veines pancréatiques permet de distinguer les deux formes histologiques. La forme focale correspond à un double mécanisme génétique : la prolifération de cellules est due à une perte d'allèle maternel de la région 11p15 dans la lésion, conduisant à un déséquilibre d'expression entre plusieurs gènes soumis à empreinte en 11p15.5 : IGF2, facteur de croissance d'expression paternelle et P57 et H19, gènes suppresseurs de tumeur d'expression maternelle. L'hypoglycémie est due à une perte d'hétérozygotie des gènes SUR1 et Kir6.2 codant les sous-unités des canaux potassiques pancréatiques dans la région 11p15.1, avec une mutation héritée du père et une perte de l'allèle maternel dans la lésion. Les formes focales sont le plus souvent sporadiques. Les formes diffuses font intervenir de nombreux gènes et obéissent à plusieurs modes de transmission : transmission récessive pour les formes néonatales impliquant les gènes SUR1 ou Kir6.2, transmission dominante pour les formes du nourrisson impliquant les gènes SUR1, GLUD1 (codant la glutamate déshydrogénase), GK (glucokinase). Des mutations impliquant de nouveaux gènes sont en cours de validation : Foxa2 (facteur de transcription), UCP2 (codant une protéine découplante), GLUT2 (transporteur du glucose dans la cellule).

350 >> Poster n°134

GÉNÉTIQUE CLINIQUE

AMYOTROPHIE SPINALE DISTALE AUTOSOMIQUE RÉCESSIVE LIÉE AU 11Q13 (CHRONIC DSMA): MISE EN ÉVIDENCE D'UN DÉSÉQUILIBRE DE LIAISON DANS LA POPULATION EUROPÉENNE ET LOCALISATION FINE EN 11Q13.3

L. Viollet (1), M. Zarhrate (1), I. Maystadt (2), A. Munnich (1)

(1) INSERM U393 et Département de Génétique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris

(2) Département de Génétique Humaine, Université Catholique de Louvain, Bruxelles, Belgique

L'amyotrophie spinale distale autosomique récessive (Chronic DSMA, SMAR, dHMN types III et IV selon Harding), est une affection caractérisée par une dégénérescence des motoneurons de la corne antérieure de la moelle épinière responsable d'un déficit moteur prédominant à la partie distale des membres. Nous avons localisé le gène responsable en 11q13, dans un intervalle de 10,6 cM dans une famille libanaise. Nous rapportons ici les résultats d'une analyse de liaison réalisée sur 12 familles européennes non apparentées, présentant un phénotype Chronic DSMA. Tous les patients présentaient un déficit musculaire de même topographie, débutant entre 6 mois et 10 ans. Nous avons utilisé les marqueurs de la carte du Genethon et avons généré un marqueur supplémentaire, DSM4, situé dans la région 11q13.3. Nous avons obtenu un Lod score significatif à 6.66 ($q = 0.00$) pour le marqueur DSM4. Les événements de recombinaison nous ont permis de rétrécir l'intervalle à 2,6 cM en 11q13.3, entre les loci D11S1314 et D11S916. De plus, l'analyse des marqueurs aux loci D11S11369, DSM4 et D11S4184, a montré l'existence d'un haplotype commun (2-3-4) dans 8/12 familles. Ces données suggèrent qu'il existe, dans la population européenne, un effet fondateur partiel pour Chronic DSMA. En outre, l'affinement de la localisation génétique de Chronic DSMA nous a permis d'une part, d'exclure définitivement le gène IGHMBP2- responsable de la forme SMARD1 (amyotrophie spinale distale avec détresse respiratoire autosomique récessive)- et d'autre

part, de tester les gènes candidats de la région afin d'identifier les mutations du gène responsable de Chronic DSMA.

351

GÉNÉTIQUE CLINIQUE

MUTATIONS DU GÈNE MECP2 : UN SPECTRE PHÉNOTYPIQUE DE PLUS EN PLUS LARGE

J. Albuissou (1), D. Héron (1), T. Bienvenu (2), E. Raffo (3), O. Dulac (3)

(1) Service de génétique médicale, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris
(2) Laboratoire de Biochimie Génétique, Hôpital Cochin, Paris
(3) Service de Neuropédiatrie, Hôpital Saint-Vincent de Paul, Paris

Le syndrome de Rett (MIM 312750) est une maladie neurologique de transmission dominante liée à l'X qui touche exclusivement les filles.

Ce syndrome, connu depuis 1966, a longtemps été décrit comme cliniquement homogène et répondant à des critères précis. Depuis l'identification du gène causal, MECP2, des formes atypiques ou atténuées sont décrites. Nous présentons le cas d'une patiente qui présente une histoire clinique atypique.

P... est la première enfant d'un couple en bonne santé sans antécédents familiaux. La première décennie a été caractérisée par un retard modéré des acquisitions sans critères évoquant un syndrome de Rett. La marche, la propreté, et un certain degré de langage ont été acquis. Une épilepsie rebelle s'est installée à 12 ans, puis une régression, entraînant en quelques années une perte de la marche, de la préhension et du langage, puis son décès à 17 ans. L'étude du gène MECP2 a été réalisée en raison de la perte progressive des acquisitions. Une délétion (1126 del 11) a été mise en évidence, dont le caractère pathogène est affirmé par un décalage du cadre de lecture et sa survenue de novo. Cette observation illustre une nouvelle fois la variabilité phénotypique du spectre des mutations du gène MECP2, qui doit être évoqué largement chez une fille présentant une notion de régression, en raison des implications en terme de conseil génétique.

356 >> Poster n°135

GÉNÉTIQUE CLINIQUE

ETUDE MOLÉCULAIRE ET PHÉNOTYPIQUE DE 54 CAS DE NEUTROPÉNIES CONGÉNITALES SÉVÈRES DU REGISTRE FRANÇAIS DES NEUTROPÉNIES

C. Bellanné-Chantelot (1), S. Clauin (1), T. Leblanc (2), B. Cassinat (3), F. Rodrigues-Lima (4), S. Beaufrils (1), C. Vauray (1), C. Chomienne (3), J. Donadieu (5)

(1) Laboratoire de Biologie Moléculaire, Hôpital Saint Antoine, Paris
(2) Service d'Hématologie Pédiatrique, Hôpital Saint Louis, Paris
(3) Laboratoire de Biologie Cellulaire Hématopoïétique, Hôpital St Louis, Paris
(4) CNRS UMR 7000, Faculté de Médecine Pitié-Salpêtrière, Paris
(5) Service d'Hémo-Oncologie Pédiatrique, Hôpital Trousseau, Paris

Les neutropénies congénitales sévères sont un groupe hétérogène de maladies liées à un défaut de prolifération et de maturation des cellules hématopoïétiques. Des mutations hétérozygotes du gène de l'élastase (ELA2) codant pour l'élastase neutrophile ont été associées à cette pathologie. Afin de rechercher d'éventuelles relations génotype/phénotype, nous avons réalisé une étude moléculaire ainsi qu'une analyse des données cliniques et

hématologiques de 54 patients présentant une neutropénie congénitale sévère. Dix-sept mutations différentes du gène ELA2 dont 13, non décrites à ce jour, ont été identifiées chez 19 patients. L'analyse du spectre mutationnel, montre que l'ensemble de la séquence codant pour l'enzyme mature mais également pour les prodomaines et la région promotrice peut être le siège d'anomalies moléculaires. L'analyse phénotypique met en évidence une atteinte plus sévère de la neutropénie et un risque plus important de survenue de complications chez les patients porteurs d'une mutation de l'élastase: 1) un âge au diagnostic plus jeune (2.8 mois vs 15.6 mois) 2) une neutropénie plus profonde (129 PNN/mm³ vs 384 PNN/mm³) (3) un blocage de maturation au stade promyélocytaire 4) une prévalence augmentée des complications infectueuses 5) une augmentation du nombre de patients nécessitant un traitement par G-CSF et 6) l'observation de transformations leucémiques uniquement chez les patients porteurs d'une mutation. En conclusion, l'identification d'une mutation de l'élastase corrèle avec un phénotype plus sévère. Le criblage moléculaire du gène ELA2 permet ainsi d'identifier les patients neutropéniques à haut risque pour le développement de complications infectueuses sévères et d'hémopathies malignes.

358 >> Poster n°136

GÉNÉTIQUE CLINIQUE

UNIDISOMIE PARENTALE EN 11P15 EN MOSAÏQUE DU CÔTÉ D'UNE HÉMIHYPERTROPHIE CORPORELLE GAUCHE CHEZ UN GARÇON AYANT PRÉSENTÉ UN KYSTE SURRÉNALIEN DU MÊME CÔTÉ DANS LA PÉRIODE ANTÉNATALE

D. Molina-Gomes (1), I. Perrin (3), M.V. Senat (2), C. Gicquel (4), J. Roume(1)

(1) Unité de Génétique Médicale et de Cytogénétique, Laboratoire d'Histo-Embryologie, Cytogénétique, Biologie de la Reproduction et de Génétique Médicale, CHI Poissy St Germain en Laye
(2) Service de Gynécologie obstétrique, CHI Poissy St Germain en Laye
(3) Service de Pédiatrie, CHI Poissy St Germain en Laye
(4) Laboratoire d'Explorations Fonctionnelles Endocriniennes, Hôpital Enfants Armand Trousseau, Paris

L'hémihypertrophie (HH) est caractérisée par une croissance excessive asymétrique du crâne, de la face, du tronc, des membres et/ou des doigts sans atteinte viscérale. Elle est isolée ou survient dans un certain nombre de syndromes en particulier dans le spectre du syndrome de Wiedemann Beckwith (WBS).

Notre patient :

- « Kyste » surrénalien hémorragique régressif à début anténatal (33 SA)
- HH à début post natal (4mois)
- Caryotype normal
- Absence de macroglossie, d'omphalocèle, de gigantisme
- Evolution psycho-motrice parfaite

L'analyse de la méthylation des gènes H19 et KCNQ1OT a été réalisée au niveau de l'ADN leucocytaire et de l'ADN de fibroblastes cutanés prélevés du côté sain et du côté hypertrophié et a permis de mettre en évidence une unidisomie parentale de la région 11p15 n'existant qu'au niveau des fibroblastes cutanés prélevés du côté hypertrophié.

Ce patient a donc été considéré comme un équivalent de WBS à risque tumoral élevé (estimé à 5,9% dans la série d'HH de Hoyne). Il est surveillé tous les trois mois par

échographie abdominale et le sera jusqu'à l'âge de 6 - 7 ans. L'association d'un kyste surrénalien et d'un authentique WBS ou d'une HH d'apparition post natale est non fortuite : 8 cas répertoriés. Un dépistage anténatal a été réalisé 5 fois/8. Dans 2 cas, une tumeur de Wilms est survenue.

Le dépistage anténatal d'un kyste surrénalien doit entraîner une surveillance post natale à la recherche d'un WBS/HH.

Références :

- Cystic Adrenal Masses in the Neonate Associated With Hemihypertrophy and the Relation to the Beckwith - Wiedemann syndrome. GR Walton BCH Peng, WE Berdon, MH Collins TW Hensle. *The Journal of Urology* 146, 580 - 82 1991

- Benign Hemorrhagic Adrenocortical Macrocysts in Beckwith - Wiedemann Syndrome. RGH McCauley, JB Beckwith, ER Elias, EN Faerber, LH Prewitt, WE Berdon. *AJR* 157, 549 - 52 1991

- Isolated hemihyperplasia (hemihypertrophy) : report of a prospective multicenter study of the Incidence of Neoplasia and review HE Hoyme, LH Seaver, KL Jones, F Procopio, W Crooks, M Feingold. *Am J Med Genet* 79 : 274 - 278, 1998

360

GÉNÉTIQUE CLINIQUE

DENTINOGENÈSE IMPARFAITE : UN EXEMPLE DE PRISE EN CHARGE GÉNÉTIQUE D'UNE MALADIE DENTAIRE

P. Gorry (1), S. Lopez-Cazeaux (2), A. Bloch-Zupan (3), JM. Marteau (4), G. Chartier (1), D. Griffiths (1), G. Dorignac (4), J. Guicheux (2), D. Lacombe (1)

(1) Service de Génétique Médicale, CHU Pellegrin-Enfants, Bordeaux

(2) INSERM EMI 9903, Faculté d'Odontologie, Nantes

(3) Odontologie Pédiatrique, UFR Odontologie, Strasbourg

(4) Faculté d'odontologie, Université V. Ségalen, Bordeaux

On distingue plusieurs types de dentinogénèse imparfaite selon la classification de Shields, notamment la dentinogénèse imparfaite de type I (OMIM166240) associée à une ostéogénèse imparfaite, et la dentinogénèse imparfaite de type II ou maladie de Capdepon (OMIM 125490). Dans les 2 cas, ce sont des maladies génétiques à transmission autosomique dominante avec une fréquence estimée de 1/8000. Sur le plan clinique, elles se caractérisent par une anomalie de structure des dentures lactéale et définitive. La dystrophie dentaire est liée à une dentine anormale résultant d'un trouble de synthèse du collagène. Le locus a été assigné en 1982 sur le chromosome 4q13 à partir d'une ségrégation familiale d'une dentinogénèse imparfaite et d'un déficit en protéines Gc du complément. Puis, il a alors été co-localisé avec le gène codant pour une sialophosphoprotéine de la dentine (OMIM 125485). Ce gène DSPP code à la fois pour la sialoprotéine dentinaire (SPD), et la phosphoprotéine dentinaire (PPD). Le rôle de DSPP a alors été démontré avec la description de 3 mutations dans des familles de dentinogénèse imparfaite de type I, et une mutation décrite dans un cas de dentinogénèse imparfaite de type II.

Nous avons mis en place le diagnostic génétique de ces maladies héréditaires dentaires dans le cadre du Réseau Français d'OdontoGénétique. Données cliniques et résultats moléculaires seront présentés en fonction de nos connaissances de la dentinogénèse chez l'homme. L'intérêt thérapeutique de la prise en charge de ces patients sera discutée. En particulier le diagnostic différentiel avec l'ostéogénèse imparfaite sera évoqué.

362

GÉNÉTIQUE CLINIQUE

ABSENCE DE BRACHYMÉTAPHALANGIE DANS UN CAS DE TRANSLOCATION DÉSÉQUILBRÉE T(2 ;13)(Q37.3 ;Q12.11)

P. Aubourg (1), N. Philip (2), I. Boccaccio (1), R. Bernard (2), C. Navarro (1), M. Krahn (2), N. Levy (1, 2)

(1) INSERM U491, Marseille

(2) Laboratoire de Génétique Moléculaire, Hôpital de la Timone, Marseille

Les délétions sub-télomériques en 2q sont retrouvées chez des patients atteints du syndrome AHO-like (Albright hereditary osteodystrophy). Les symptômes communs de ce syndrome sont un retard mental, une petite taille, une dysmorphie faciale et une brachymétaphalangie. Ici, nous reportons un cas de translocation déséquilibrée t(2,13)(q37.3 ;q12.11) avec perte du chromosome dérivé 13 (caryotype : 45,XX,-2,-13,+der(2)t(2;13)(q37.3;q12.11)) sans brachymétaphalangie. Les seules anomalies des membres observées sont une syndactylie des 2^{ème} et 3^{ème} orteils. Des analyses par FISH ont été réalisées et précisent les points de cassure au niveau des chromosomes 2 et 13. Sur le chromosome 2, le BAC 107H21 chevauche le point de cassure. Peu des délétions sub-télomériques du 2q ont été décrites au niveau moléculaire. Dans le but de restreindre le nombre de gènes candidats pour la brachymétaphalangie associée aux délétions 2q37, nous avons cloné les fragments de jonction et précisé ainsi l'étendue de la délétion. Récemment une publication a rapporté un patient présentant un AHO-like typique avec une délétion plus réduite que celle que nous présentons ici. Ceci nous amène à penser que la brachymétaphalangie est un symptôme inconstant des délétions 2q37 et à préférer la notion plus large de malformations squelettiques. Cette étude augmente l'intérêt de rechercher l'existence d'une délétion cryptique de la région 2q37 chez des patients présentant un retard mental associé à d'autres signes phénotypiques du syndrome AHO-like même en absence de brachymétaphalangie.

366 >> Poster n°137

GÉNÉTIQUE CLINIQUE

ATTEINTE MULTI-VISCÉRALE DU DIABÈTE DE TYPE MODY5 ASSOCIÉ À DES MUTATIONS DU GÈNE CODANT POUR LE FACTEUR HNF-1BETA (HEPATOCYTE NUCLEAR FACTOR-1BETA).

C. Bellanné-Chantelot (1), D. Chauveau (2), JF. Gautier (3), D. Dubois-Laforque (4), S. Clauin (1), S. Beauvils (1), JM. Wilhelm (5), C. Boitard (4), LH. Noël (2), G. Velho (6), J. Timsit (4)

(1) Laboratoire de Biologie Moléculaire, Hôpital St Antoine, Paris

(2) Service de Néphrologie, Hôpital Necker, Paris

(3) Service de Diabétologie, Hôpital Saint-Louis, Paris

(4) Service d'Immuno-Diabétologie, Hôpital Cochin, Paris

(5) Service de Médecine Interne, Centre Hospitalier Saint-Morand, Altkirch

(6) INSERM U561, Hôpital Saint-Vincent-de-Paul, Paris

L'étude génétique du diabète de type MODY a montré l'implication de plusieurs facteurs de transcription. Des mutations rares, principalement tronquantes, du gène HNF-1 β , ont été rapportées dans le diabète type MODY5, initialement décrit comme un diabète de transmission autosomique dominante associé à des anomalies rénales. Une étude phénotypique et moléculaire effectuée chez 20

patients non obèses, présentant un diabète de survenue précoce (<40 ans) et un dysfonctionnement rénal, a mis en évidence chez 8 de ces patients: l'identification de huit nouvelles mutations d'HNF-1 β incluant cinq mutations faux-sens localisées dans le domaine de liaison à l'ADN, la survenue de novo de mutations HNF-1 β dans 50% des cas et un spectre phénotypique large. Chez ces patients, le diabète a été découvert entre 13 et 38 ans et était associé à des antécédents familiaux pour 4 d'entre eux. Une atrophie du pancréas a été observée chez 5/6 des patients et une insuffisance pancréatique externe chez 6/7. Tous les patients avaient une insuffisance rénale, associée à des anomalies morphologiques (kystes rénaux, dilatation pyélocalicielle, atrophie rénale). Des anomalies de l'appareil génital étaient présentes chez 6 patients (agénésie des canaux déférents, utérus bicorne, asthénospermie et kystes épидидymaires). Une anomalie du bilan hépatique a été observée chez 7/8 patients sans cause évidente. En conclusion, les mutations du gène HNF-1b sont associées à une atteinte multiviscérale. L'analyse moléculaire met en évidence une variabilité du spectre des mutations du gène HNF-1 β qui peuvent être identifiées en l'absence des caractéristiques habituelles des MODY (âge de survenue précoce et transmission autosomique dominante).

380 >> Poster n°138

GÉNÉTIQUE CLINIQUE

DYSTROPHIE MUSCULAIRE CONGÉNITALE AVEC RETARD MENTAL ET ANOMALIE DE LA GLYCOSYLATION DE L'ALPHA-DYSTROGLYCANE

S. Maugenre (1), P. Richard (2), S. Quijano (3), A. Urtizbera (1), N.B. Romero (1), A. Makri (4), A. Megarbane (5), V. Allamand (1), P. Guicheney (1)

(1) INSERM U582, Institut de Myologie, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris

(2) Service de Biochimie B, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris

(3) Service de Pédiatrie, Hôpital Raymond Poincaré, Garches

(4) Service de Neurologie, Hôpital Ait-Idir, Alger, Algérie

(5) Service de Génétique, Université Saint-Joseph, Beyrouth, Liban

Il a été récemment montré que certaines dystrophies musculaires congénitales (DMC) sont associées à un défaut de glycosylation de l'alpha dystroglycane dans le muscle squelettique et un taux élevé de créatine kinase sérique sans atteinte centrale. Certaines sont dues à des mutations dans la Fukutin related protein (FKRP, 19q13). Des anomalies comparables sont aussi présentes chez des patients DMC avec atteinte centrale et oculaire liée à une mutation d'autres glycosyltransférases (FCMD : fukutin, 9q13, MEB : POMGnT1, 1p33, WWS : POMT1, 9q34). Nous avons recherché la liaison à l'un de ces locus dans cinq familles consanguines atteintes de formes sévères avec retard mental, hypoplasie cérébelleuse et déficit en alpha dystroglycane. Une liaison à FKRP a été trouvée pour 4 familles et à MEB pour une famille. Des mutations homozygotes dans FKRP ont été identifiées par séquençage, R110P dans 2 familles algériennes (E150, E163) et A455D dans 2 familles tunisiennes (18744, DMC017). Par contre, tous les locus ont été exclus pour une famille libanaise (19335) avec deux enfants présentant retard moteur et intellectuel marqué, des mollets hypertrophiques et une béance buccale modérée. Les IRM cérébrales font apparaître des lésions de la substance blanche ainsi qu'une dilatation ventriculaire et une atrophie cérébelleuse.

Le spectre des phénotypes associées à des mutations de FKRP est très large. Néanmoins, près de la moitié des

patients DMC présentant une anomalie de glycosylation de l'alpha dystroglycane n'ont pas de mutation dans FKRP et la recherche de l'implication d'autres glycosyltransférases est en cours.

386

GÉNÉTIQUE CLINIQUE

LE SYNDROME DE KLINEFELTER AVEC UN ISOCHROMOSOME Xq EN MOSAÏQUE. A PROPOS D'UNE OBSERVATION

F. Maazoul (1), I. Chabchoub (1), A. Koubaa (2), R. Mrad (1), L. Ben Jemaa (1), H. Chaabouni (1)

(1) Service des Maladies congénitales et Héritaires, Hôpital Charles Nicolle, Tunis

(2) Service de gynécologie, Hôpital Charles Nicolle, Tunis

Le syndrome de Klinefelter regroupe un ensemble d'anomalies chromosomiques caractérisées classiquement par la présence d'un ou plusieurs chromosomes X supplémentaires dans un caryotype masculin. L'incidence est de 1/500 naissances masculines. Le tableau clinique associe chez l'adulte un aspect eunuchoïde, une gynécomastie, une hypotrophie testiculaire, un défaut de développement des caractères sexuels secondaires et une stérilité. Les anomalies de structure du chromosome X sont rares dans ce syndrome.

Nous rapportons l'observation d'un sujet de sexe masculin, âgé de 33 ans, qui consulte pour une azoospermie. L'examen clinique objective un organe pénien normal, une hypotrophie testiculaire, un défaut de développement des caractères sexuels secondaires et une petite taille (T : 156 cm). Le caryotype montre une mosaïque : 46,XY/47,XisoXq (50% / 50%).

La revue de la littérature montre que la prévalence de cette anomalie est de 0,3% à 0,9% chez les mâles avec polysomie X, que le tableau clinique est le même que celui du syndrome de Klinefelter classique, à part une taille normale ou petite et un intellect toujours normal chez le porteur d'un isochromosome Xq. Ces observations suggèrent que les manifestations cliniques du syndrome de Klinefelter sont dues essentiellement à l'excès de matériel Xq sans l'excès de Xp.

393 >> Poster n°139

GÉNÉTIQUE CLINIQUE

LE SYNDROME DE CORNELIA DE LANGE. A PROPOS DE CINQ OBSERVATIONS

F. Maazoul, M. Chaabouni, M. Ksantini, I. Chabchoub, L. Ben Jemaa, R. Mrad, H. Chaabouni

Service des Maladies congénitales et Héritaires, Hôpital Charles Nicolle, Tunis

Le syndrome de Cornelia de Lange est un syndrome malformatif, décrit pour la première fois par W. Brachmann en 1916, puis identifié par C. de Lange en 1933. Il associe un retard mental, un nanisme, des anomalies des extrémités et une dysmorphie faciale caractéristique. Son incidence est de 1/30000 à 1/60000 naissances. L'étiologie est inconnue, ce syndrome est probablement dû à une mutation au niveau d'un gène localisé sur le bras long du chromosome 3 en (3q26.3).

Nous rapportons l'étude d'une série de 5 enfants non

apparentés, atteints de ce syndrome. Il s'agit de 4 garçons et une fille, 3 des enfants sont issus de parents non apparentés. Tous les cas sont sporadiques. L'âge moyen à la 1^{ère} consultation est de 3 ans. Le motif de la consultation est le retard de croissance à début intra utérin (taille moyenne à -3,8 DS, poids moyen à -2,7 DS, périmètre crânien moyen à -3,5 DS), la dysmorphie faciale et le retard psychomoteur. L'étude cytogénétique est normale. Le bilan radiologique objective les anomalies des extrémités et le retard de l'âge osseux. Des malformations viscérales et sensorielles sont souvent observées. L'évolution est marquée par le retard mental et de la croissance. Le diagnostic différentiel se pose avec les anomalies du chromosome 3. Le conseil génétique doit être prudent, la majorité des observations sont sporadiques, les cas familiaux sont rares et suggèrent une transmission autosomique dominante. Le diagnostic prénatal repose sur l'échographie foetale par la mesure de la clarté nucale, l'appréciation de la croissance fœtale, la recherche d'anomalies des extrémités et de malformations viscérales.

405 >> Poster n°140

GÉNÉTIQUE CLINIQUE

ETUDE DE 30 CAS DE RETARDS MENTAUX INEXPLIQUÉS PAR LES SONDES SUBTÉLOMÉRIQUES

V. Duchamp (1), A. Schneider (1), B. Demeer (1), B. Leheup (3), M.J. Grégoire (3), B. Digeon (2), M. Mozelle (1), M. Khoury (5), N. Bednarek (2), P. Sabouraud (2), J. Motte (2), F. Carré-Pigeon (1), D. Gaillard (1), M. Goossens (4), M. Doco-Fenzy (1)

(1) Service de Génétique, CHU, Reims

(2) Service de Pédiatrie, CHU, Reims

(3) Service de Génétique, CHU, Nancy Brabois

(4) Service de Biochimie Génétique, CHU Henri Mondor, Créteil

(5) CAMPS, Laon

Les réarrangements cryptiques impliquant les régions télomériques représentent 0,4 à 29% des causes de retard mental. Nous avons analysé 30 enfants par une technique d'hybridation in situ en fluorescence avec les sondes télomériques commerciales (AOL 2001). Nous les avons sélectionnés sur les critères suivants : un retard global du développement inexplicé, une dysmorphie faciale, des antécédents familiaux évocateurs d'une anomalie autosomique, un caryotype en haute résolution normal. Nous avons trouvé 6 réarrangements télomériques (20%), dont une trisomie 14q, une trisomie 19q et quatre remaniements de novo du chromosome 2 soit : une délétion du 2p et trois remaniements du 2q. Pour ces derniers nous avons cartographié le télomère 2q à l'aide de BACs et nous avons comparé les marqueurs microsatellites de la région pour chaque famille, afin d'identifier un polymorphisme de longueur ou une délétion responsable d'un phénotype spécifique. Pour tous les autres remaniements nous avons également confirmé les résultats par la technique de FISH avec des BACs différents des sondes commerciales. Nous rapportons ici le premier cas de délétion 2p chez une enfant présentant une obésité et un syndrome autistique. L'enfant porteur de la trisomie 19qter par un der(12)t(12;19)(p13;qter), présente un syndrome osseux rare caractérisé par une densification de la base du crâne, des épiphyses en cône et une fusion des os du carpe. L'enfant porteur de la trisomie 14qter par un der(22)t(14;22)(q32;qter) manifeste un retard de langage important.

Nous détaillerons nos résultats et discuterons les conséquences pour le conseil génétique.

413 >> Poster n°141

GÉNÉTIQUE CLINIQUE

UNE NOUVELLE LEUCOENCEPHALOPATHIE VASCULAIRE HÉRÉDITAIRE DE TRANSMISSION DOMINANTE AUTOSOMIQUE CARACTÉRISÉE PAR L'ASSOCIATION LEUCOARAIÛSE, HÉMIPLÉGIE INFANTILE, ET MALFORMATION D'AXENFELD-RIEGER

I. Coupry (1), I. Sibon (2), I. Burgelin (1), G. Sole (1,2), P. Menegon (3), D. Lacombe (1), B. Arveiler (1), C. Goizet (1,2)

(1) Laboratoire de Génétique Humaine, Développement et Cancer, Université Victor Segalen Bordeaux 2, Bordeaux

(2) Service de Neurologie, CHU, Bordeaux

(3) Service de Neuroradiologie, CHU, Bordeaux

Objectif :

Décrire 7 sujets issus d'une grande famille et répartis sur 4 générations, présentant un tableau de leucoencéphalopathie vasculaire de début précoce associés à des malformations ophtalmologiques de type Axenfeld-Rieger.

Résultats :

7 sujets sur 8 à risque étaient symptomatiques tant sur le plan neurologique que sur le plan ophtalmologique. Le cas index, une dame de 38 ans, a présenté un infarctus cérébral avec hémiparésie droite partiellement régressive à l'âge de 35 ans. Sa fille est atteinte d'une hémiparésie droite infantile. Son oncle présente un syndrome cérébelleux cinétique gauche attribué à un infarctus cérébelleux ancien passé inaperçu. Tous les sujets symptomatiques ont des anomalies à l'examen clinique neurologique avec des réflexes vifs et diffusés. 3/7 ont un signe de Babinski uni-ou bilatéral. Une altération cognitive est retrouvée chez 5 d'entre eux. Une IRM cérébrale a été pratiquée chez 6 sujets, révélant à chaque fois des anomalies diffuses de la substance blanche, et pour 3 d'entre eux des séquelles d'infarctus cérébral. L'examen ophtalmologique a systématiquement retrouvé des anomalies de la chambre antérieure de sévérité variable et s'intégrant dans le spectre des malformations d'Axenfeld-Rieger.

Le bilan vasculaire complet est revenu normal.

Les analyses de génétique moléculaire ont exclu une liaison de cette famille avec 5 loci candidats : 19p13 (CADASIL), 3p21 (vasculopathie +/- tortuosité artériolaires), 11p13 (PAX 6), 4q25 (PITX2), 6p25 (FOXC1).

Conclusion : Cette famille unique dans la littérature représente une nouvelle forme de vasculopathie cérébrale. Elle démontre également l'existence d'un locus supplémentaire impliqué dans les malformations d'Axenfeld-Rieger.

416 >> Poster n°142

GÉNÉTIQUE CLINIQUE

MYASTHÉNIE CONGÉNITALE PAR MUTATION DU GÈNE CHRNE

C. Coubes (1), F. Rivier (2), B. Echenne (2), P. Richard (3), P. Sarda (1)

(1) Service de Génétique, CHU, Montpellier

(2) Service de neuropédiatrie, CHU, Montpellier

(3) Laboratoire de Biochimie B, Groupe Hospitalier de la Pitié Salpêtrière, Paris

Les syndromes myasthéniques congénitaux (CMG) sont des maladies rares liées à des défauts génétiques variés de la jonction neuromusculaire.

L'atteinte néonatale chez des enfants nés de mère non myasthénique, l'absence d'anticorps contre les récepteurs de l'acétylcholine permettent d'éliminer la myasthénie auto-immune : étiologie la plus fréquente de myasthénie.

Nous rapportons l'observation d'un enfant premier né de parents sains, non apparentés. Après une grossesse et un accouchement sans particularité, les parents signalent des difficultés précoces d'alimentation, une hypotonie centrale modérée et un ptosis bilatéral. La myasthénie auto-immune est éliminée ; les études histo-enzymologique et immunohistochimique musculaires sont normales ainsi que l'analyse des enzymes de la chaîne respiratoire de l'ADN mitochondrial.

Le screening du gène CHRNE (Dr P. Richard) a confirmé le diagnostic de myasthénie congénitale en retrouvant deux mutations du gène codant pour la sous-unité epsilon du récepteur acétylcholine.

Le traitement par pyridostigmine a permis, pour l'instant, de stabiliser la maladie chez cet enfant.

Les anomalies congénitales héréditaires de la plaque motrice peuvent être pré-synaptiques (8%) : mutations de la choline acétyl transférase, synaptiques (16%) : mutations du gène ColQ ou post-synaptiques (76%) : mutations dans les sous-unités des récepteurs à l'acétylcholine, plus rarement, mutations de la rapsyne ou plectine.

L'hérédité de ces syndromes myasthéniques congénitaux est variable ; le plus souvent autosomique récessive dans la forme la plus fréquente des CMG (réduction du nombre des récepteurs à l'acétylcholine avec mutations des sous-unités ϵ ou de la rapsyne) ; autosomique dominante dans certaines anomalies cinétiques des canaux ioniques des récepteurs de l'acétylcholine.

420 >> Poster n°143

GÉNÉTIQUE CLINIQUE

PROFIL NEURODÉVELOPPEMENTAL DU DÉFICIT EN SUCCINIQUE SEMIALDEHYDE DESHYDROGÉNASE

A. Philippe (1), J. Deron (1), D. Geneviève (1), P. de Lonlay (1), K.M. Gibson (2), D. Rabier (3), A. Munnich (1)
 (1) INSERM U393, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris
 (2) Biochemical Genetics Laboratory, Oregon Health Sciences University, Portland
 (3) Laboratoire de Biochimie Médicale B, Necker-Enfants Malades, Paris

La succinique semi-aldehyde déshydrogénase (SSADH MIM 271980) intervient dans la voie de dégradation de l'acide gamma-amino-butérique (GABA). Le déficit de cette enzyme entraîne une accumulation de GABA et d'acide gamma-hydroxybutérique (GHB). Environ 350 patients ont été identifiés et 60 d'entre eux dont seulement 3 adultes, ont été rapportés dans la littérature. La plupart des publications sont des études transversales qui répertorient les différents symptômes pour définir le spectre clinique. Les symptômes les plus fréquemment rapportés sont un retard de développement prédominant sur le langage, une hypotonie, un retard mental, des convulsions et des troubles du comportement (trouble de l'attention, hyperactivité, comportement agressif). La non-spécificité de ces symptômes, leur grande variabilité interindividuelle et les difficultés techniques de détection du GHB dans les urines expliquent que ce trouble neurométabolique soit sous-diagnostiqué.

Pour compléter la caractérisation clinique et donner un nouveau éclairage à ce trouble neurométabolique, nous avons réalisé une étude rétrospective de deux patients

adultes. Cette approche longitudinale permet de dégager l'histoire développementale des troubles en précisant les particularités du développement psychomoteur, la nature du trouble du langage (agnosie verbale) et attirant l'attention sur les troubles du sommeil et l'apparition d'hallucinations à partir de l'adolescence. Nous discutons également du lien entre la symptomatologie et le rôle physiopathologique du GHB.

422 >> Poster n°144

GÉNÉTIQUE CLINIQUE

LE GÈNE SPG3A EST FRÉQUEMMENT IMPLIQUÉ DANS LES PARAPARÉSIES SPASTIQUES AUTOSOMIQUES DOMINANTES

A. Camuzat (1), E. Colin (1), C. Tallaksen (1), D. Hannequin (2), P. Coutinho (3), B. Fontaine (4), A. Rossi (5), R. Gil (6), C. Rousselle (7), M. Ruberg (1), G. Stevanin (1), A. Brice (1,4,8), A. Dürr (1,8)
 (1) INSERM U289, Paris
 (2) Département de Neurologie et INSERM EMU9906, CHU, Rouen
 (3) Departamento de Neurologia, Hospital S. Sebastiao, Portugal
 (4) Fédération de Neurologie, CHU, Paris
 (5) Service de Génétique, CHU, Rouen
 (6) Clinique Neurologique, CHU, Poitiers
 (7) Service de Pédiatrie, CHU, Lyon
 (8) Département de Génétique, Cytogénétique et Embryologie, CHU, Paris

Les paraparésies spastiques héréditaires (PSH) sont génétiquement très hétérogènes avec 21 loci impliqués à ce jour. Le premier locus (SPG3A) des formes autosomique dominante a été localisé dans une famille française sur le chromosome 14q11-q21. Nous avons étudié la fréquence, le phénotype et le spectre des mutations de SPG3A et par le séquençage de l'atlastine dans 31 familles avec une PS pure et un début avant 20 ans dans lesquelles une mutation du gène SPG4 avait été exclue auparavant. Nous avons identifié 12 familles SPG3A, incluant 34 patients avec 9 mutations différentes, dont 7 nouvelles. Toutes les mutations sont de type faux sens et sont localisées dans les exons 7, 8, 12 et 13. La pénétrance était incomplète.

Le tableau clinique était une forme pure avec un syndrome pyramidal aux membres inférieurs et un âge de début moyen précoce (4.6 ± 3.9 ans) ainsi qu'une évolution très lente. Peu de signes additionnels étaient trouvés à l'examen ; amyotrophie distale, troubles sphinctériens et scoliose étaient présents chez une minorité des patients. En comparaison avec des patients non SPG3 (n=43) recrutés selon les mêmes critères et des patients SPG4 (n=126), les patients SPG3A débutaient leur maladie significativement plus précocement et l'atteinte des membres supérieurs était plus rare. Il était aussi noté une fréquence plus importante d'amyotrophie distale aux membres inférieurs et une scoliose.

En conclusion, le gène SPG3A est fréquemment impliqué dans les formes de PSH à début précoce et les PSH résultant de mutations de SPG3A constituent la forme la plus pure de PSH décrite à ce jour.

429 >> Poster n°145

GÉNÉTIQUE CLINIQUE

PREMIÈRE DESCRIPTION EN FRANCE D'UN PATIENT PRÉSENTANT UNE MALADIE DE CREUTZFELDT-JAKOB ASSOCIÉE À LA MUTATION V180I DE PRNP

K. Peoc'h (1), O. De Marco (2), C. Martin (1), A. Guillemot (2), M. Lenne (1), V. Sazdovitch (3), N. Delasnerie-Lauprêtre (4), J.L.

Laplanche (1)

(1) Service de Biochimie et Biologie Moléculaire, Hôpital Lariboisière, Paris

(2) Service de Neurologie, Centre hospitalier, La Roche-sur-Yon

Des mutations dans le gène PRNP codant la protéine prion sont impliquées dans l'apparition de formes familiales de maladies à prions, autosomiques dominantes. À ce jour, plus d'une vingtaine de mutations ponctuelles et d'insertions de motifs répétés ont été décrites dans ces formes rares (environ 1 cas /15 millions d'habitants /an en France).

Nous rapportons l'histoire d'un patient ayant développé une MCJ, présentant une mutation rare de PRNP. Cet homme de 66 ans sans antécédents familiaux connus de démence a présenté une détérioration des fonctions supérieures, associée à des myoclonies, un EEG altéré, mais sans signes pathognomoniques de MCJ. L'évolution a été lente sur 34 mois. La protéine 14-3-3, marqueur de neurodégénérescence, était positive dans le LCR et l'analyse par séquençage direct de la séquence codante de PRNP a révélé l'existence d'une mutation du codon 180 (V180I) portée à l'état hétérozygote. Le diagnostic de MCJ a été confirmé à l'autopsie.

Cette mutation n'avait jusqu'alors été rapportée que chez quatre patients japonais ; la seule description clinique publiée évoquait des troubles cognitifs, un mutisme akinétique, des signes pyramidaux, extra-pyramidaux et des myoclonies sans EEG caractéristique.

Cette description illustre l'intérêt de la recherche de mutations de PRNP en l'absence de contexte familial évident dans des formes apparemment sporadiques de MCJ.

430 >> Poster n°146

GÉNÉTIQUE CLINIQUE

UNE MUTATION NOUVELLE DU GÈNE DE LA PROTÉINE PRION (PRNP) DANS UNE MALADIE DE CREUTZFELDT-JAKOB FAMILIALE

C. Bouchet (1), M.M. Rodriguez (2), S. Chasseigneaux (1), K. Peoc'h (1), M. Lenne (1), J.L. Laplanche (1)

(1) Service de Biochimie et Biologie Moléculaire, Hôpital Lariboisière, Paris, France

(2) Service de Génétique, Faculté de Médecine, Montévidéo, Uruguay

Environ 15 % des maladies à prions humaines sont des formes familiales liées à des mutations ponctuelles et des insertions dans le gène PRNP codant la protéine prion (PrP).

La mutation G114V portée à l'état hétérozygote a été découverte par séquençage de PRNP chez quatre patients appartenant à une famille uruguayenne présentant une forme particulière de maladie de Creutzfeldt-Jakob (MCJ). La symptomatologie était marquée par la survenue précoce (<30 ans voire <20 ans) de troubles psychiatriques inauguraux suivis de troubles neurologiques d'évolution lente (2 à 4 ans).

L'examen neuropathologique réalisé sur biopsie cérébrale a confirmé le diagnostic de MCJ.

La mutation G114V a également été retrouvée chez deux apparentés asymptomatiques âgés d'environ 40 ans. La mutation n'était pas présente chez 100 individus témoins d'origine uruguayenne.

La mutation G114V est une nouvelle mutation du gène PRNP impliquée dans la survenue d'une forme atypique de MCJ familiale. Cette mutation est localisée dans la région du gène codant pour la région potentiellement amyloïdogène

de PrP (résidus 106-126) et est proche du site de clivage impliqué dans son catabolisme (entre les résidus 111 et 112). Cette localisation pourrait expliquer les particularités phénotypiques de la maladie.

437 >> Poster n°147

GÉNÉTIQUE CLINIQUE

LE SYNDROME DE LUJAN-FRYNS : DISCUSSION SUR LA VARIABILITÉ PHÉNOTYPIQUE ET LES CRITÈRES DE DIAGNOSTIC À PROPOS D'UNE FAMILLE DE SIX PATIENTS ET DE LA REVUE DE LA LITTÉRATURE.

A. Toutain (1), I. Mortemousque (1), M. Gomot (1), D. Martin (2)

(1) Service de Génétique, CHU Bretonneau, Tours

(2) Laboratoire de Cytogénétique, CH Le Mans

Le syndrome de retard mental (RM) lié à l'X avec habitus marfanoïde, encore appelé syndrome de Lujan-Fryns, est une forme syndromique de RM lié à l'X rare puisque seulement 29 cas (15 sporadiques et 14 familiaux) ont été décrits dans la littérature depuis les premières publications par Lujan et al. en 1984 et par Fryns et al. en 1987. Aucun marqueur biologique n'est disponible et le gène en cause n'est toujours pas identifié. De ce fait le diagnostic reste clinique et repose sur les critères de diagnostic établis par J-P. Fryns en 1991 : RM léger/modéré, habitus marfanoïde, hypotonie et voix nasonnée, testicules de taille normale, faciès caractéristique. Toutefois l'analyse de la littérature montre que le phénotype est très variable et que le diagnostic peut être difficile, en particulier dans les cas sporadiques.

A partir de l'observation d'une grande famille comprenant six sujets atteints et témoignant d'une grande variabilité intrafamiliale, ainsi que de la revue des cas publiés, nous discutons les critères de diagnostic. En particulier, l'observation de cette famille montre que le RM dans cette affection peut être sévère/profond. De plus elle montre que l'aspect marfanoïde et la dysmorphie ne sont pas des signes constants suggérant que l'appellation syndrome de Lujan-Fryns est préférable à celle de syndrome de retard mental lié à l'X avec habitus marfanoïde. Enfin, elle confirme que le phénotype comportemental caractéristique et que les problèmes psychiatriques fréquents à l'âge adulte doivent être pris en compte dans les critères diagnostiques.

463 >> Poster n°148

GÉNÉTIQUE CLINIQUE

SYNDROME D'EHLERS-DANLOS VASCULAIRE : CRITÈRES DIAGNOSTIQUES, COMPLICATIONS VISCÉRALES ET RATIONNEL POUR UN ESSAI THÉRAPEUTIQUE

DP. Germain (1), P. Boutouyrie (2), P. Collignon (3), X. Jeunemaitre (1), S. Laurent (2), M. Le Merrer (4), H. Plauchu (5)

(1) Service de Génétique, HEGP, Paris

(2) Service de Pharmacologie, HEGP, Paris

(3) Service de Génétique, CHU, Marseille

(4) Service de Génétique, CHU Necker, Paris

(5) Service de Génétique, CHU, Lyon

Le syndrome d'Ehlers-Danlos (SED) vasculaire est une maladie génétique rare, de transmission autosomique dominante, due à des mutations du gène COL3A1 codant pour le collagène de type III. Les patients sont prédisposés à la survenue de ruptures vasculaires, digestives et de l'utérus. Ces complications, rares dans l'enfance, touchent 25% des patients avant l'âge de 20 ans, et 80% avant 40 ans.

Les ruptures artérielles rendent compte de la majorité des décès, tandis que les perforations digestives, siégeant principalement sur le colon sigmoïde, sont moins souvent létales. Les grossesses doivent être considérées à haut risque chez les femmes atteintes du syndrome. Comme pour d'autres maladies orphelines, la méconnaissance de l'affection, en partie liée à sa rareté, peut conduire à une prise en charge inadéquate des patients. Le diagnostic est essentiellement clinique, basé sur un aspect caractéristique du visage, une peau fine, une tendance aux hématomes, et des complications vasculaires et digestives. Il est confirmé par la biochimie, objectivant un déficit quantitatif ou qualitatif de la sécrétion de collagène III, ou par la biologie moléculaire, identifiant la mutation du gène COL3A1. Il existe une importante hétérogénéité moléculaire, chaque mutation étant propre à une famille donnée, mais aucune corrélation entre le génotype et le phénotype clinique ou le type de complication n'a pu être établie. Il n'existe actuellement aucun traitement spécifique de cette affection mais sur la base de l'amincissement artériel et de l'augmentation des contraintes constatées par échotracking vasculaire, un essai thérapeutique contrôlé utilisant un beta-bloquant, le céliprolol, est en cours de réalisation.

467 >> Poster n°149

GÉNÉTIQUE CLINIQUE

UN PROGRAMME DE DÉPISTAGE DU DÉPARTEMENT DE GÉNÉTIQUE DE NECKER DANS UNE COHORTE D'ADOLESCENTS ET DE JEUNES ADULTES PORTEURS DE MALADIES PSYCHIATRIQUES

M. Assouline (1,3), S. Lapuyade (2,3)

(1) Psychiatre, médecin-directeur

(2) Psychiatre, psychanalyste

(3) Hôpital de jour Santos Dumont, Paris

Population : « Autisme, Troubles Apparentés » ou « Troubles Envahissants du Développement », ou « Psychoses Infantiles »

Lieux : établissements, enfants, adolescents, jeunes adultes (Hôpitaux de Jour, I.M.E., Foyers).

Nombre :

Début en 1998 : 25. En 2003 : cent. Deux cents au terme du programme en 2006.

« Rendement » génétique élevé

- Collaboration : généticiens autour du Pr. Munnich, équipes médico-psycho-éducatives et parents. Examens cliniques et para-cliniques poussés et réévalués régulièrement.

- 20% de diagnostics de maladies génétiques, méconnus soit par absence d'examens antérieurs, soit par carence des examens réalisés, soit parce que entités génétiques nouvellement découvertes.

- Sur chaque site, on suspecte 20% supplémentaires non décelables avec examens habituels même techniquement fiables.

- L'inclusion ultérieure des patients dans protocoles plus sophistiqués confirme : découverte de maladies rares et orphelines comme délétion interstitielle 19q ou délétion télomérique 1p36 de très petite taille.

Intérêt immédiat : préciser prise en charge, et, en révélant autre type de souffrance parentale (que celle vécue précédemment), cela remanie collaboration équipes-parents. Conseil génétique précieux pour fratries.

Clinique psychiatrique interpellée. Exemples :

- Contribution à refonte nosographique troubles mentaux dans pathologies infantiles : on peut décrire nouvelles formes syndromiques dans autisme, dans psychoses

précoces déficitaires et dans dysharmonies psychotiques, - Recherche clinique « psychiatrie et génétique » :
 · reconnaître indices d'organicité dans certaines évolutions psychiques complexes
 · valider symptômes spécifiques : ensembles mixtes (psychiques et physiques), comme par exemple une « gestuelle incoercible liée aux émotions », assez homogène dans sa présentation et relativement fréquente dans l'X Fragile.

470 >> Poster n°150

GÉNÉTIQUE CLINIQUE

ETUDE DU PHÉNOTYPE COMPORTEMENTAL, COGNITIF ET BIOLOGIQUE DANS LE SYNDROME DE WILLIAMS-BEUREN

E. Excoffier (1), JM. Launay (2), A. Verloes (3), D. Lacombe (4), M. Bouvard (5), MC. Mouren-Siméoni (1)

(1) Psychopathologie de l'enfant et de l'adolescent, CHU Robert Debré, Paris

(3) Génétique médicale, CHU Robert Debré, Paris

(2) Laboratoire de biologie et biochimie, CHU Lariboisière, Paris

(5) Psychiatrie de l'enfant et de l'adolescent, CHU Pellegrin, Bordeaux

(4) Génétique médicale, CHU Pellegrin, Bordeaux

Nous présentons une étude psychométrique et biologique axée sur le syndrome de Williams-Beuren et intégrée dans un protocole de recherche sur les troubles précoces du développement.

L'objectif de notre étude est d'une part de mieux connaître le syndrome de Williams-Beuren en étudiant son profil comportemental, cognitif et biologique, et d'autre part de procéder à des analyses comparatives.

La population se compose de deux groupes d'une dizaine d'enfants âgés de 6 à 16 ans : un groupe d'enfants Williams-Beuren et un groupe de retardés mentaux idiopathiques.

Des échelles et questionnaires explorent le phénotype comportemental et tempéramental.

L'étude du profil cognitif comporte des tests d'efficacité intellectuelle et une analyse sur ordinateur des fonctions exécutives et de l'attention.

Les dosages biologiques incluent : le calcium, la vitamine D, la sérotonine, les bêta-endorphines, le cortisol, la dopamine, la noradrénaline, l'adrénaline, l'ACTH et l'ocytocine.

A l'issue de l'étude, on retrouve dans le syndrome de Williams-Beuren un profil comportemental pour partie concordant avec celui décrit dans la littérature.

Au plan cognitif, on retient une efficacité intellectuelle supérieure à celle escomptée et un déficit attentionnel et des fonctions exécutives.

Enfin plusieurs dosages biologiques sont perturbés.

L'ensemble des résultats et la méthodologie sont discutés. Des hypothèses sur le syndrome de Williams-Beuren sont formulées et des perspectives de recherche abordées.

474 >> Poster n°151

GÉNÉTIQUE CLINIQUE

DÉMENCE FRONTO-TEMPORALE AUTOSOMIQUE DOMINANTE ASSOCIÉE À LA MUTATION PRO301LEU DU GÈNE TAU : DESCRIPTION D'UNE FAMILLE AVEC UN CAS ANATOMO-PATHOLOGIQUE

L. Guyant-Maréchal (1,2), C. Dumanchin (2), D. Campion (2), A. Laquerrière (3), A. Delacourte (4), D. Hannequin (1,2)

(1) Département de Neurologie, CHU Charles Nicolle, Rouen

(2) Inserm EMI 9906, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Rouen
 (3) Service d'anatomopathologie, CHU Charles Nicolle, Rouen
 (4) Inserm U422, Lille

Introduction : Dix pour cents des formes autosomiques dominantes de démence fronto-temporale (DFT) sont associés à des mutations du gène de Tau (17q21-22). Nous décrivons le phénotype clinique et anatomopathologique d'une famille de DFT, lié à la mutation P301L de Tau.

Méthodes : Les signes comportementaux étaient collectés et datés auprès de 2 membres de l'entourage avec un questionnaire tiré de l'échelle de dysfonctionnement frontal et des critères de Lund et Manchester. Les signes physiques étaient colligés directement (n=4) ou dans des observations (n=3). Une autopsie a été pratiquée dans un cas.

Résultats : Dans cette famille, l'âge de début était de $52 \pm 5,1$ ans. Les troubles du comportement et du langage apparaissaient dans les deux ans après le début. La durée de la maladie était de $8,6 \pm 4$ ans et l'âge de décès de $63,6 \pm 7,2$ ans. Le parkinsonisme apparaissait $7,1 \pm 2$ ans après le début, en dehors du cas II.2.

L'autopsie du cas II.6 mettait en évidence une gliose et une déperdition neuronale majeures, un marquage anti-tau positif de façon diffuse et la caractérisation des isoformes de tau révélait une tauopathie à doublets supérieurs, Tau 64 et 69.

Discussion : La mutation P301L est la mutation la plus fréquente dans les DFT autosomiques dominantes causés par une mutation de Tau. Il existe une grande hétérogénéité des formes cliniques liées à cette mutation, notamment dans la chronologie d'apparition des signes.

Conclusion : Cette famille illustre l'hétérogénéité clinique liée à la mutation P301L. L'étude clinique et anatomopathologique détaillée de ces familles permet d'établir des corrélations entre les mutations et le phénotype.

478 >> Poster n°152

GÉNÉTIQUE CLINIQUE

CORRECTION PHARMACOLOGIQUE D'UN DÉFICIT EN CPT2 DANS LES MYOBLASTES DE PATIENTS: EFFETS COMPARÉS DE DIFFÉRENTS AGONISTES DES PPAR

F. Djouadi, J. Bastin
 INSERM U393, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris

Le déficit en carnitine palmitoyl transférase de type 2 (CPT2) est l'un des déficits de beta-oxydation mitochondriale des acides gras (OAG) les plus fréquents. Il peut se présenter sous une forme infantile sévère (cardiomyopathie), ou sous une forme adulte modérée (rhabdomyolyse), et la gravité de ces manifestations apparaît corrélée à l'activité enzymatique résiduelle.

Dans un travail récent (Pediatr. Res 54: 446-451, 2003) nous avons démontré que l'exposition de fibroblastes de certains patients déficitaires au bézafibrate (agent hypolipidémiant) conduisait à une stimulation de l'activité CPT2 résiduelle et à une restauration de l'OAG cellulaire. Le bézafibrate est un agoniste peu spécifique des récepteurs nucléaires PPAR (peroxisome proliferator activated receptor) alpha, beta, et gamma. Nos recherches portent maintenant sur les effets d'agonistes plus spécifiques des différents PPAR dans des cellules musculaires humaines

Nous avons ainsi montré que les myoblastes de patients présentant un déficit modéré en CPT2, ont un flux d'OAG réduit d'environ 40% par rapport aux valeurs témoin (respectivement $2,9 \pm 0,3$ et $4,8 \pm 0,1$ nmol AG/h/mg prot,

$p < 0,001$). De plus, une stimulation de l'OAG est obtenue après exposition de ces myoblastes à 1 microM GW 7647 (+20% $p < 0,01$, agoniste de PPAR alpha,) ou à 1 microM GW 0742 (+40% $p < 0,01$, agoniste de PPAR beta,), alors que l'agoniste gamma est sans effet.

Il s'agit des premiers résultats indiquant qu'une stimulation pharmacologique des isoformes alpha ou beta de PPAR peut induire une correction de l'OAG dans les cellules musculaires de patients atteints d'un déficit modéré en CPT2.

490

GÉNÉTIQUE CLINIQUE

LES ENFANTS TRISOMIQUES 21 NÉS VIVANTS EN BRETAGNE ENTRE 1997 ET 2001. DISCUSSION À PROPOS DU DÉPISTAGE ANTÉNATAL.

H. Journel (1), N. Prat-Robillard (1), B. Le Fiblec (2), P. Parent (3), L. Pasquier (4), B. Le Marec (4), S. Odent (4)

(1) Consultation de Génétique Médicale, CHBA, Vannes

(2) ADEPAFIN CH Saint Briec

(3) Consultation de Génétique Médicale, CHU, Brest

(4) Consultation de Génétique Médicale, CHU, Rennes

56 enfants trisomiques 21 sont nés entre 1997 et 2001 en Bretagne (19 filles et 37 garçons). Nous avons recherché parmi les paramètres de surveillance de grossesse et les caractéristiques des enfants à la naissance ce qui pouvait modifier le dépistage anténatal. Deux populations témoins sont définies à partir des enfants nés vivants vus aux consultations de Rennes et de Vannes.

Le caryotype montre un excès de mosaïque (46 T21 libres : 86,8 %, 4 T21 par translocation : 7,5 %, 3 mosaïques : 5,7 % contre 1.1% chez les témoins). La moyenne de âge maternel est de 32,1 ans (ET = 5,6 ns). La moitié des femmes n'a pas eu de triple test, 6 n'ont pas souhaité en bénéficier et 4 montrant un risque $> 1/250$ n'ont pas été suivis d'amniocentèse (refus). Les Echographies anténatales ont révélées 12 anomalies « mineures » (7 fois avec triple test négatif). Les malformations observées à la naissance : 21 cardiopathies dont 12 shunts et 9 malformations complexes (4 Fallots et 5 CAV), et aucune autre malformation sévère ou dépistable. On note 3 grossesses gémellaires (autre jumeaux indemne dans les 3 cas). Enfin les mensurations de naissance sont plus proche de la normale pour les garçons et les filles, que dans les populations témoins. Les Grossesses multiples et les mosaïques sont donc les seuls paramètres significatifs dans cette population de non dépistés.

491 >> Poster n°153

GÉNÉTIQUE CLINIQUE

ETUDE CLINIQUE ET GÉNÉTIQUE DU SYNDROME DE SOTOS DANS UNE SÉRIE DE 25 PATIENTS

V. Malan (1,2), MF. Portnoi (1), D. Feldmann (2,3), JL. Taillemite (1), MP. Vazquez (2,4), L. Burglen (2,5)

(1) Laboratoire de cytogénétique, Hôpital St-Antoine

(2) UPRES 3497 Paris VI

(3) Laboratoire de biochimie, Hôpital Trousseau

(4) Service de chirurgie maxillofaciale, Hôpital Trousseau

(5) Unité de génétique clinique et Unité de génétique moléculaire, Hôpital Trousseau, Paris

Le syndrome de Sotos associe une avance staturale et d'âge osseux, une dysmorphie faciale avec macrocéphalie et un retard mental. Il existe chez 75% des patients des

microdélétions de la région 5q35 ou des mutations du gène NSD1, les microdélétions étant significativement plus fréquentes dans la population japonaise. Nous avons étudié 25 patients et recherché des microdélétions de la région 5q35 par des techniques de FISH (Hybridation in situ en fluorescence) à l'aide de BACs puis des mutations par séquençage direct du gène NSD1. 17 patients présentaient un syndrome de Sotos typique (avance staturale avec avance d'âge osseux, macrocéphalie, dysmorphie, retard mental : groupe 1), 7 patients un syndrome de Sotos atypique (3 critères cliniques dont dysmorphie ou macrocéphalie : groupe 2), 1 patient un syndrome de Weaver (groupe 3). Six mutations et une microdélétion ont été identifiées dans le groupe 1, une mutation et une microdélétion dans le groupe 2, une mutation dans le groupe 3 (Weaver). Ces résultats confirment que les mutations du gène NSD1 sont la cause principale du syndrome de Sotos et peuvent être responsable aussi du syndrome de Weaver. Nous avons observé une plus grande fréquence de malformations chez les patients présentant une microdélétion. Malgré l'effectif réduit de notre série, cette observation suggère le rôle d'autres gènes inclus dans la délétion dans la survenue de ces malformations, bien que le rôle du gène NSD1 lui-même ne puisse être exclu. La cartographie des microdélétions permettra d'identifier les gènes candidats susceptibles d'aggraver le phénotype par leur haploinsuffisance.

494 >> Poster n°154

GÉNÉTIQUE CLINIQUE

UNE MYOTONIE AUTOSOMIQUE DOMINANTE AVEC DÉMENCE FRONTO-TEMPORALE NON DM1, NON DM2 : PHÉNOTYPE ET IMPLICATION DU LOCUS DM3 SUR LE CHROMOSOME 15Q21-24.

I. Le Ber (1,3), M. Martinez (2), L. Guyant-Maréchal (1,3), D. Campion (3), A. Laquerrière (4), C. Bétard (5), G. Bassez (6), C. Girard (1), P. Saugier-Verber (3), G. Raux (3), N. Sergeant (7), T. Maisonobe (8), B. Eymard (9), C. Duyckaerts (10), A. Delacourte (7), T. Frebourg (3), D. Hannequin (1,3)

(1) Département de Neurologie, CHU Charles Nicolle, Rouen

(2) INSERM EPI 0006, Evry

(3) INSERM EMI 9906 IRFMP, Rouen

(4) Département de Neuropathologie, CHU, Rouen

(5) Centre National de Génotypage, Evry

(6) Service d'Histologie, Hôpital Henri Mondor, Créteil

(7) INSERM U422, Groupe VCDN, Lille

(8) Service d'Explorations Neurophysiologiques, Hôpital de la Salpêtrière, Paris

(9) Institut de Myologie, Hôpital de la Salpêtrière, Paris

(10) Laboratoire de Neuropathologie Escourolle et INSERM U106, Hôpital de la Salpêtrière, Paris

Introduction : La majorité des syndromes de myopathie myotonique proximale (PROMM) est due à une expansion de triplets (CTG)_n dans le gène ZNF9. Nous décrivons une famille française avec ses caractéristiques phénotypiques, histopathologiques musculaires et cérébrales, atteinte par une PROMM non DM1, non DM2, associée à une démence fronto-temporale (DFT).

Méthodes : Trente trois individus de trois générations ont subi un examen détaillé neuropsychologique, neurologique, électrophysiologique, une imagerie cérébrale et une analyse moléculaire.

Résultats : Dix individus avaient une faiblesse musculaire proximale, une myotonie clinique et électrique et une cataracte de type DM1, avec un âge de début à 46,7±12,6 ans (32-69). Une démence précoce apparaissait au cours de

l'évolution de la maladie. La biopsie musculaire chez 5 patients montrait des petites fibres anguleuses de types 1 et 2, de rares sacs nucléaires et vacuoles bordées au début, puis une involution fibro-adipeuse majeure au stade évolué de l'affection. L'IRM cérébrale mettait en évidence une atrophie corticale sans lésion de la substance blanche et le SPECT cérébral révélait une hypoperfusion frontotemporale marquée. Une autopsie a mis en évidence une spongieuse fronto-temporale avec perte neuronale, confirmant la DFT. L'étude biochimique a retrouvé un triplet de Tau (bandes électrophorétiques de 60,64 et 69 kDa) dans les aires néocorticales et un doublet (Tau 64 et 69) dans les aires sous-corticales. Les analyses moléculaires ont exclu les gènes DMPK et ZNF9. Une étude de liaison de l'ensemble du génome a mis en évidence un nouveau locus en 15q21-24.

Conclusion : Ce nouveau syndrome associant des éléments phénotypiques de DM1 et DM2 et une DFT augmente l'hétérogénéité génétique des dystrophies myotoniques

504 >> Poster n°155

GÉNÉTIQUE CLINIQUE

MUTATIONS DES GÈNES NPHP1 ET NPHP4 A DANS LA NÉPHRONOPHTISE JUVÉNILE

R. Salomon, G. Mollet, F. Legendre, O. Gribouval, C. Antignac, S. Saunier

Inserm U574, Service de Néphrologie Pédiatrique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris

La néphronophtise est une maladie autosomique récessive responsable d'insuffisance rénale chez l'enfant, caractérisée par un épaississement des membranes basales tubulaires, une fibrose interstitielle et des kystes cotico-médullaires. Quatre loci ont été identifiés, deux sur les chromosomes 2q13 (NPHP1) et 1p36 (NPHP4) pour la forme juvénile la plus répandue, et deux sur les chromosomes 9q22 (NPHP2) et 3q21 (NPHP3) pour les formes infantile et de l'adolescent respectivement. NPHP1 et NPHP4 codent pour des protéines (néphrocystine, néphrocystine4) impliquées dans les processus d'adhésion cellulaire. Nous rapportons les mutations des gènes NPHP1 et NPHP4 retrouvées chez 276 patients non apparentés. Une biopsie rénale a été pratiquée dans 91 cas, le diagnostic était suspecté sur des données cliniques et radiologiques (polyurie, absence de protéinurie, échographique rénale) dans les autres cas.

Une délétion homozygote de NPHP1 ou une délétion hétérozygote associée à une mutation ponctuelle a été identifiée dans 94 familles (34%) alors qu'une mutation de NPHP4 a été retrouvée chez 7 des 23 patients étudiés. Des symptômes extra-rénaux étaient notés dans 75 cas : 32 rétinite pigmentaire (RP), 23 ataxie cérébelleuse ou retard mental, 6 apraxie oculomotrice, 17 malformations complexes (fibrose hépatique, dysplasie osseuse). Une délétion homozygote de NPHP1 a été retrouvée chez 5 patients avec une RP modérée. Chez les patients avec apraxie oculomotrice, une délétion de NPHP1 a été retrouvée dans 5 cas et une mutation de NPHP4 dans 1 cas. Aucun des patients ayant une fibrose hépatique, des anomalies osseuses ou un syndrome complexe n'avait de mutation de ces deux gènes.

511 >> Poster n°156**GÉNÉTIQUE CLINIQUE****UN NOUVEAU CAS DE SYNDROME DE MALPUECH DANS UNE FAMILLE CONSANGUINE**

A. Goldenberg (1), B. Bachy (2), I. Amstutz-Montadert (3), MF. Thuillier-Obstoy (3), G. Joly-Hélas (4), P. Saugier-Weber (1), V. Drouin-Garraud (1)

(1) Service de Génétique, CHU, Rouen

(2) Clinique Chirurgicale Infantile, CHU, Rouen

(3) Service d'ORL, CHU, Rouen

(4) Laboratoire d'Histologie, Cytogénétique et Biologie de la Reproduction, CHU, Rouen

Le syndrome de Malpuech associe une dysmorphie caractéristique, une fente labiale, un retard de croissance, un retard psychomoteur et des anomalies urogénitales et son mode de transmission n'est pas établi avec certitude. Une dizaine d'observations ont été rapportées et enrichi le spectre clinique en incluant une surdité de perception, des anomalies caudales, des hernies, des malformations cardiaques et des anomalies dentaires. Le retard psychomoteur est variable. Nous rapportons ici un nouveau cas chez une enfant de 5 ans issue de parents cousins germains. L'enfant est née à terme eutrophe avec une fente labiale unilatérale et une dent néonatale. Un reflux vésico-urétéral sévère fut opéré les premiers mois de vie. A l'âge de 2 ans, une surdité de perception bilatérale sévère fut diagnostiquée. Le frère du cas index était suivi pour une surdité congénitale prélinguale sévère non syndromique sans cause retrouvée. A l'âge de cinq ans, le cas index présente une dysmorphie caractéristique avec un hypertélorisme franc, une pointe du nez large et bifide, sourcils arqués, une hernie paraombilicale, une fossette sacrée profonde et une hypoplasie des organes génitaux externes. Le développement psychomoteur est modérément retardé. L'examen du caryotype en haute résolution est normal. L'analyse par CGH et l'étude des régions télomériques sont en cours. Cette nouvelle observation dans une famille consanguine conforte l'hypothèse d'une transmission autosomique récessive du syndrome de Malpuech.

514 >> Poster n°157**GÉNÉTIQUE CLINIQUE****TÉTASOMIE 15Q1 : A PROPOS D'UNE OBSERVATION MAROCAINE.**

K. Ouldin (1), H. Natiq (1), A. Belkhatat (1), A. Sbiti (1), A. Arazam (1), S. Cherkaoui (1), M.J. Gregoire (2), P. Jonveaux (2), A. Sefiani (1)

(1) Département de Génétique Médicale, Institut National d'Hygiène, Rabat, Maroc

(2) Département de Génétique Médicale, CHU de Nancy, France

Nous rapportons l'observation d'un patient présentant une anomalie cytogénétique rare responsable d'un retard mental avec trouble du comportement de type autistique, crises convulsives et sans dysmorphie.

Il s'agit d'un enfant âgé de 8 ans issu de parents non consanguins, dernier d'une fratrie de six, ayant un frère aîné présentant un retard mental isolé. L'enfant présente un retard mental sans dysmorphie faciale, une agitation avec trouble de comportement de type autistique et des crises épileptiques, l'examen ne montre pas de malformations. L'examen tomodynamométrique cérébrale est normal.

L'étude cytogénétique met en évidence la présence d'un marqueur chromosomique dans toutes les mitoses observées. Le caryotype des parents ainsi que de son frère aîné présentant un retard mental isolé est sans anomalies. L'aspect cytogénétique du marqueur nous oriente vers le chromosome 15. En effet la sonde totale du chromosome 15, et la sonde Prader-Willi/Angelman s'hybrident sur notre marqueur chromosomique confirmant ainsi notre hypothèse. Les résultats de la cytogénétique classique et moléculaire nous montrent que ce remaniement réalise en fait une tétrasomie 15q1 de novo.

Nous rapportons dans cette observation le premier cas marocain d'une tétrasomie 15q1. Nous confirmons à travers cette description les corrélations entre notre cas clinique et les rares cas rapportés de la tétrasomie 15q1. Nous insisterons ainsi sur le rôle de l'exploration cytogénétique classique et moléculaire devant les troubles du comportement de type autistique, crises convulsives et en l'absence de dysmorphie.

517**GÉNÉTIQUE CLINIQUE****DÉPISTAGE NÉONATAL DE LA MUCOVISCIDOSE ET PRISE EN CHARGE PRÉCOCE DES ENFANTS ATTEINTS**

V. Marchac, M. Le Bourgeois, I. Sermet, G. Lenoir, J. de Blic, P. Scheinmann

CRCM Necker Enfants Malades, Paris

Le dépistage néonatal de la mucoviscidose a débuté en septembre 2002 en Ile de France. Dans le CRCM de Necker Enfants-Malades en un an, 73 enfants ont été convoqués pour un test de la sueur. Chez 3 autres enfants, le diagnostic était évoqué en anté-natal (anomalies des voies biliaires=1) ou à la naissance (iléus méconiaux =2) et confirmé dès la naissance. Le diagnostic de mucoviscidose par dépistage a été porté pour 7 enfants. 4 sont deltaF508 homozygotes, 2 sont deltaF508 hétérozygotes (recherche de 2^{ème} mutation en cours), 1 n'a pas de mutations parmi les 20 testées initialement. A 1 mois de vie sur 7 enfants, 2 étaient dénutris, 5 avaient une insuffisance pancréatique externe, 3 un bilan hépatique est perturbé : cytolysé hépatique (2), augmentation des gamma GT (1). Dès le diagnostic, la kinésithérapie respiratoire est prescrite préventivement, associée à un apport supplémentaire de NaCl et de vitamines, et d'enzymes pancréatiques si nécessaire. L'examen cyto bactériologique des crachats et le prélèvement pharyngé sont faits à chaque consultation (1 par mois les 3 premiers mois, puis tous les 3 mois au moins). Tous sauf un enfant ont eu au moins une infection respiratoire avant l'âge de un an: Staphylococcus aureus (5), Pseudomonas aeruginosa (2), Escherichia coli (1), Klebsiella oxytoca (1), Serratia marcescens (1), Haemophilus Influenzae (2), Moraxella Catarrhalis (1). Toutes les infections ont pu être traitées précocement, per os ou par voie intraveineuse (5 fois). Tous sont eutrophiques à un an. Le dépistage a permis une prise en charge nutritionnelle et infectieuse précoce.

524

GÉNÉTIQUE CLINIQUE

BILAN D'UN AN DE DÉPISTAGE NÉONATAL DE LA MUCOVISCIDOSE À L'HÔPITAL NECKER-ENFANTS MALADES, PARIS

MN. Feuillet-Fieux (1), T. Nguyen-Khoa (1), JL. Pérignon (2), B. Lacour (1), A. Munnich (3), P. Scheinmann (4), G. Lenoir (5) et le CRCM (6) de l'Hôpital Necker-Enfants Malades

(1) Laboratoire de Biochimie A

(2) Laboratoire de Biochimie B

(3) Service de Génétique Médicale

(4) Service de Pneumo-Allergologie

(5) Service de Pédiatrie Générale

(6) CRCM

Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris

But : Le dépistage néonatal de la mucoviscidose (CF) a débuté en Ile de France en Septembre 2002 dans le but d'une prise en charge précoce du nouveau-né (NN) CF.

Méthodologie : Le marqueur retenu est la trypsine immunoréactive (TIR) à J3 complétée par une analyse moléculaire (BM) si supérieure ou égale à 65 microg /l. Dans les cas de BM(-), la TIR à J21 est effectuée. En cas de TIR supérieure ou égale à 40 microg /l, un dosage de chlore sudoral est pratiqué, permettant de confirmer une CF. En cas de BM(+), le test de la sueur permet de distinguer les porteurs sains des sujets atteints.

Résultats : Sur 87054 NN, 66 ont eu un test de la sueur dont 1) 8 NN CF ont été dépistés (1 refus de BM). 2) 19 NN sont hétérozygotes simples probables dont n=9 delF508 et n=10 non delF508. 3) 39 sont sains.

Conclusions : 1) La fréquence de CF observée 1/10000 (64% de mutations identifiées) est très inférieure à celle attendue (1/4000), les causes en sont vraisemblablement le mélange ethnique en région parisienne, la fausse négativité de la TIR (15 à 20%), la négativité du test de la sueur (a) qui peut se positiver avec l'âge (b). 2) Aucune différence en TIR et en test de la sueur, n'est observée entre les homozygotes delF508 et les hétérozygotes composites ainsi qu'entre les NN non CF et les hétérozygotes. 3) Le défaut de spécificité de la TIR, (59% des NN testés non CF et 29% de porteurs hétérozygotes), pose le problème des conséquences psychologiques parentales d'une convocation de l'enfant pour un contrôle de TIR à J21 et un test de la sueur à J30.

(a) Stewart B. et al. Am J Respir Crit Care Med 1995;151:899

(b) Doughty M. Et al. JR Soc Med 1995;88:417P-418P

CRCM-Cliniciens : G. Lenoir (5), P. Scheinmann (4), I. Sermet (5), M. Le Bourgeois (4), V. Marchac (4), P. de Villartay (5), M. Sorin (5).

CRCM-Biochimie : JL. Pérignon (2), MN. Feuillet-Fieux (1), T. Nguyen-Khoa (1), B. Lacour (1).

CRCM-Génétique : A. Munnich (3), P. Sinet (3), JP. Bonnefont (3).

CRCM-AFDPHE : R. Mbiribindi (6), J. Haouat (6), C. Sahler (6), V. Gauthereau (6), S. de Rothschild (6)

527 >> Poster n°158

GÉNÉTIQUE CLINIQUE

UN CAS DE MULTI-DÉFICIT EN FACTEURS VITAMINE K-DÉPENDANTS HÉTÉROZYGOTE COMPOSITE POUR LE GÈNE DE LA GAMMA-GLUTAMYL CARBOXYLASE

D. Darghouth-Jaziri (1), R. Kastally (2), JP. Rosa (1)

(1) U348 INSERM, Hôpital Lariboisière, Paris

(2) Service des Laboratoires, Hôpital HabibThameur, Tunis, Tunisie

Les déficits en gamma-glutamyl carboxylase (gamma-GC) sont rares, et caractérisés par un syndrome hémorragique congénital parfois associé à une dystrophie osseuse. La gamma-GC est une enzyme membranaire du réticulum endoplasmique qui gamma-carboxyle les acides glutamiques (glu) en acides gamma-carboxyglutamiques (gla), essentiels pour les facteurs procoagulants II, VII, IX et X, les facteurs anticoagulants, protéines C et S, ainsi que les protéines osseuses : ostéocalcine, matrix gla protein et Gas 6.

Nous avons caractérisé le déficit d'une patiente tunisienne présentant un syndrome hémorragique dès l'enfance et un retard de croissance. Le déficit en gamma-GC a été suggéré par le multi-déficit en facteurs II, VII, IX, X, protéines C et S. Les parents et une sœur du propositus sont cliniquement indemnes, mais un frère est atteint, compatible avec une transmission récessive.

La propositus s'avère hétérozygote composite pour 3 substitutions : 2 codantes, D31:N du domaine N-terminal et T591:K du domaine catalytique C-terminal endoluminal, et 1 non-codante, G7408:T de l'intron-6-7. L'étude familiale montre que le trait ségrège avec l'association des allèles maternel [N31, K591, G7408], et paternel [D31, T591, T7408], chez la propositus et son frère atteint. Les individus porteurs d'un allèle normal au moins [D31, T591, G7408] ne sont pas atteints.

L'impact exact de chaque substitution reste à déterminer, mais nous postulons que N31 et/ou K591 affectent la fonction de la gamma-GC, alors que G7408:T de l'intron 6-7 interfère avec l'expression de l'allèle correspondant (épissage anormal, déstabilisation de l'ARNm ?).

GÉNÉTIQUE ÉPIDÉMIOLOGIQUE

80 >> Poster n°159

GÉNÉTIQUE ÉPIDÉMIOLOGIQUE

SCREENING MOLÉCULAIRE SYSTÉMATIQUE DU GÈNE MECP2 DANS UNE COHORTE DE 612 PATIENTS ATTEINTS DE RETARD MENTAL SANS EXPANSION TRINUCLÉOTIDIQUE AU LOCUS FRAXA

G. Lesca (1), V. Bernard (1), M. Bozon (2), J. Van Ceslt (1), R. Touraine (3), P. Ederly (2), A. Calender (1)

(1) Laboratoire de Génétique, Hôpital E. Herriot, Lyon

(2) Laboratoire de Génétique, Domaine universitaire de la Doua, Villeurbanne

(3) Laboratoire de Génétique, Hôpital Nord, Saint-Etienne

Les mutations du gène MECP2 sont essentiellement responsables du syndrome de Rett et de formes variantes. La découverte de mutations de MECP2 chez un petit nombre de patients présentant un retard mental isolé ou syndromique pose la question de l'intérêt d'un criblage moléculaire large ou restreint à certaines présentations cliniques.

Nous avons réalisé un criblage moléculaire par SSCP ou hétéroduplex chez 614 patients (171 filles et 443 garçons) négatifs pour l'X fragile, sans aucun tri préalable. Nous avons identifié 11 polymorphismes et 3 variants potentiellement pathogènes. P176A est présent chez un patient mâle et transmis par sa mère. Q227E, situé dans le domaine TRD, est présent chez 1 fille sans élément évocateurs d'un syndrome de Rett, Q227E. P388X est le produit d'une double substitution survenue de novo produisant un codon stop et retrouvée chez une jeune fille présentant des troubles cognitifs modérés. L'étude de l'inactivation de l'X n'a retrouvé de biais prononcé dans aucun de ces cas. Sous réserve de la sensibilité incomplète de la technique de criblage utilisée, le taux de mutation potentiellement pathogène que nous avons identifié dans notre échantillon est de 0.5% et de 1.2% si on ne considère que les filles.

Ces résultats confirment la possibilité de mutation de MECP2 en dehors du syndrome de Rett et donc la difficulté d'un tri clinique a priori des patients à tester. Il est également important de dresser l'inventaire des mutations du gène MECP2 et d'étudier le rôle de l'inactivation de l'X dans le phénotype.

101 >> Poster n°160

GÉNÉTIQUE ÉPIDÉMIOLOGIQUE

L'ALLÈLE E148Q DU GÈNE MEFV N'EST PAS IMPLIQUÉ DANS LA FIÈVRE MÉDITERRANÉENNE FAMILIALE

M. Legendre (1), D. Tchernitchko (1), C. Cazeneuve (1), A. Delahaye (1), F. Niel (1), S. Amselem (1,2)

(1) Laboratoire de Biochimie et Génétique moléculaire, Hôpital Henri Mondor, Créteil

(2) INSEM U468, Créteil

La fièvre méditerranéenne familiale (FMF) est une maladie autosomique récessive commune dans les populations d'origine arménienne, juive sépharade, turque et arabe, se manifestant par des accès fébriles et des sérites. Un diagnostic précoce est crucial pour l'instauration d'un traitement par colchicine, qui prévient la survenue des crises et le développement d'une amylose rénale. En l'absence de test fonctionnel, le diagnostic demeure

clinique, et est confirmé par l'analyse moléculaire du gène MEFV.

Plus de 40 mutations ont été rapportées, la plupart d'entre elles étant situées dans l'exon 10 de MEFV. La mutation la plus fréquente, M694V (c.2080A>G), est le plus souvent associée à un phénotype sévère. La variation de séquence E148Q (c.442G>C), située dans l'exon 2, est également très fréquente, mais son implication dans la maladie reste controversée.

Afin d'évaluer l'implication du variant E148Q dans la FMF, nous avons étudié 233 patients et 213 apparentés asymptomatiques d'origine juive sépharade vivant en France. Nos résultats montrent que la fréquence de l'allèle E148Q est semblable dans les deux groupes (3,62% et 3,75%, respectivement, $p=0,93$). Celle des hétérozygotes composites M694V/E148Q est également comparable entre le groupe des patients (3,9%) et celui des apparentés (4,2%, $p=0,85$).

Ces résultats ne sont donc pas en faveur du caractère pathogène de l'allèle E148Q. Le fait de considérer l'allèle E148Q comme pathogène peut conduire à poser des diagnostics faussement positifs et à négliger l'existence probable d'une hétérogénéité génétique dans la FMF (Cazeneuve et al., 2003, Arthritis Rheum).

112 >> Poster n°161

GÉNÉTIQUE ÉPIDÉMIOLOGIQUE

NOUVELLES DONNÉES ÉPIDÉMIOLOGIQUES DE L'HÉMOCHROMATOSE HÉRÉDITAIRE

V. Scotet (1), M.C. Mérour (2), A.Y. Mercier (2), B. Chanu (2), T. Le Faou (3), O. Raquénes (1), G. Le Gac (2), C. Mura (1), J.B. Noubbaum (4), C. Férec (1,2)

(1) INSERM EMI 01-15, Laboratoire de Génétique Moléculaire, Brest

(2) EFS-Bretagne, Site de Brest

(3) EFS-Bretagne, Site de Quimper

(4) Service d'Hépatogastroentérologie, Centre Hospitalier Universitaire La Cavale Blanche, Brest

Caractérisée par une surcharge en fer, l'hémochromatose héréditaire est une maladie génétique fréquente dans les populations d'Europe du Nord. La découverte d'un gène candidat en 1996 (HFE) et de sa mutation majoritaire (C282Y), a radicalement modifié le mode de diagnostic de cette maladie. Ceci a permis d'inclure l'analyse moléculaire dans la stratégie diagnostique, et de poser plus précocement le diagnostic.

Le but de cette étude était d'évaluer l'impact de la découverte du gène HFE sur l'épidémiologie de la maladie, à partir d'une cohorte de 417 patients homozygotes pour la mutation C282Y inclus dans un protocole de saignées au sein de l'établissement de transfusion sanguine de Brest.

Depuis la disponibilité du test génétique, une diminution significative du sex-ratio a été observée (de 3,9 (86/22) à 1,1 (159/150, $p<10^{-6}$)), signifiant que la proportion de femmes diagnostiquées a considérablement augmenté. De plus, le profil des patients a évolué. La maladie est détectée plus précocement, ce qui se traduit par des paramètres sériques plus faibles et des signes cliniques moins fréquents au moment du diagnostic, comme la mélanodermie (19,8% vs. 40,0%, $p<0,0001$) et l'hépatomégalie (11,8% vs. 23,1%, $p=0,0067$). Enfin, le diagnostic est plus fréquemment posé face à des signes de fatigue (67,9% versus 49,5%, $p=0,0009$). Cette étude illustre l'importance de la découverte du gène HFE, qui conduit à une modification de l'épidémiologie de l'hémochromatose, grâce au diagnostic plus précoce des patients. Cette étude mesure précisément ce changement.

Cette détection en phase présymptomatique est cruciale pour préserver une espérance de vie normale.

133

GÉNÉTIQUE ÉPIDÉMIOLOGIQUE

ETUDE DES FACTEURS DE LA REPRODUCTION SUR LE RISQUE DE CANCER COLORECTAL A PARTIR D'UNE ETUDE FAMILIALE DE POPULATION (ETUDE CCREF).

MG. Dondon (1), G. Launoy (2), R. Guillois (3), C. Ory-Paoletti (4), N. Andrieu (1,3)

(1) Inserm & Service de Biostatistiques, Institut Curie, Paris

(2) Registre des tumeurs digestives du Calvados, Faculté de Médecine, CHU, Caen

(3) Inserm EMI00-06, Evry

(4) Inserm xu-521n Institut Gustave-Roussy, Villejuif

Les études du rôle des facteurs de la reproduction sur le risque de cancer colorectal (CCR) ont souvent abouti à des résultats divergents. Ces divergences peuvent être dues au choix des témoins dans les études cas-témoins. En effet, l'utilisation de témoins indépendants peut biaiser une association s'il existe des susceptibilités génétiques différentes entre individus (Khoury et al., 1993). Pour contrôler l'effet des facteurs génétiques non mesurés, nous proposons d'étudier l'apport de témoins apparentés dans l'étude du rôle des facteurs de la reproduction sur le risque de CCR.

Nous avons réalisé une étude sur 331 femmes atteintes de CCR appariées sur l'âge à 174 témoins apparentés et 606 témoins indépendants extraits de l'étude familiale CCREF (Calvados ColoRectal Family). Les cas ont été diagnostiqués entre 1993 et 1998.

Aucune association entre l'âge aux premières règles, la fréquence des règles ou la prise de contraceptifs oraux et le risque de CCR n'a été mise en évidence quel que soit le type de témoins. Un risque diminué de CCR a été trouvé parmi les femmes ayant eu au moins une grossesse menée à terme comparé aux femmes nullipares avec les témoins indépendants seulement. De même, un risque augmenté de CCR a été trouvé parmi les femmes ménopausées comparé aux femmes non ménopausées avec les témoins indépendants seulement. Ces résultats doivent être interprétés avec précaution compte-tenu des différences de puissance entre les deux analyses. Cependant les différences dans les estimations ponctuelles pourraient suggérer l'existence d'interaction entre des facteurs génétiques/familiaux sous jacents et certains facteurs de la reproduction.

144 >> Poster n°162

GÉNÉTIQUE ÉPIDÉMIOLOGIQUE

ANOMALIES HÉRÉDITAIRES DU GLOBULE ROUGE DANS LA POPULATION TUNISIENNE: HÉTÉROGÉNÉITÉ MOLÉCULAIRES ET DIVERCITÉ DES ORIGINES.

B. Ben Daoud, I. Chouk, A. Zorai, S. Abbes, K. Dellaqi

(1) Laboratoire d'hématologie, Groupe d'étude des hémoglobines Institut Pasteur, Tunis, Tunisie

Les Hémoglobinopathies et le déficit en G6PD sont les anomalies héréditaires du globule rouge les plus fréquentes dans la population Tunisienne. L'étude des bases génétiques de ces anomalies sur un grand nombre de malades tunisiens a permis de mettre en évidence une grande diversité

moléculaires. Les béta thalassémies sont dues à 18 mutations différentes, les alpha thalassémies à 6 alors que 4 défauts moléculaires conduisent au déficit en G6PD. La dépanocytose semble être liée à deux haplotypes différents. La comparaison de nos résultats avec ceux rapportés dans d'autres populations montre une diversité d'origine essentiellement méditerranéenne avec un apport africain moins important. D'autres mutations plus rares posent encore le problème de leurs origines. Ces résultats moléculaires ne sont pas toujours en accord avec les données anthropologiques. Cela pose la question : comment des gènes s'expriment dans la même cellule et subissant la même pression de sélection peuvent ils avoir des origines différentes.

148 >> Poster n°163

GÉNÉTIQUE ÉPIDÉMIOLOGIQUE

PORPHYRIES HÉPATIQUES AIGÜES ET MÉTABOLISME LIPIDIQUE

C. Colas (1), I. Beucler (2), X. Paoletti (3), A. Carrié (4), G. Siest (5), B. Grandchamp (1), H. Puy (1), J.C. Deybach (1)

(1) INSERM U409, Centre Français des Porphyrines, Colombes

(2) Laboratoire des lipides, Groupe Hospitalier Pitié Salpêtrière, Paris

(3) INSERM E357, Paris

(4) INSERM U551, Paris

(5) Centre de médecine préventive, Vandoeuvre-lès-Nancy

Les Porphyrines Hépatiques Aiguës (PHA) sont des maladies touchant la chaîne de biosynthèse de l'hème, autosomiques dominantes, à pénétrance incomplète tant sur le plan clinique que biochimique. Des études préliminaires suggéraient l'existence d'anomalies lipidiques chez les sujets porteurs de PHA. Nous avons réalisé une étude prospective portant sur le statut lipidique de 714 sujets PHA comparés à 2137 témoins (cohorte Stanislas) et un phénotypage lipidique plus précis de 46 sujets franchement hyperHDLémiques. Les sujets PHA ont une hypocholestérolémie relative (-0.26mM, $p < 0.0001$) particulièrement nette chez les hommes de plus de 50 ans (-1.15mM, $p < 0.0001$) et une hyperHDLémie, relative chez les hommes et franche chez les femmes (+0.2mM, $p < 0.0001$). Ces variations sont modulées par la pénétrance de la porphyrie (hypocholestérolémie chez les asymptomatiques et hyperHDLémie chez les symptomatiques) et par le type de PHA. On observe également une agrégation d'hyperHDLémies dans certaines familles de PHA ce qui suggère l'intervention de phénomènes épistatiques. Le phénotypage lipidique montre une augmentation de l'ApoA1 et cinq profils de répartition des sous-populations de HDL : un majoritaire avec une augmentation des HDL2b et trois profils jamais observés ayant en commun une augmentation des HDL2a (33% des sujets). Les polymorphismes de l'enzyme de transfert des esters de cholestérol susceptible d'expliquer ces profils sont en cours d'exploration. Ce travail met en évidence une relation entre deux métabolismes hépatiques majeurs celui de l'hème et celui des lipides et démontre l'utilité des maladies orphelines pour la compréhension de maladies et de métabolismes plus généraux chez l'homme.

163 >> Poster n°164

GÉNÉTIQUE ÉPIDÉMIOLOGIQUE

VARIATION DU RISQUE DE CANCER DU SEIN EN FONCTION DE LA NATURE DE LA MUTATION DU GÈNE

ATM : ÉTUDE FAMILIALE RÉTROSPECTIVE

E. Cavaciuti (1,2), A. Laugé (3), K. Ossian (4), N. Janin (4), D. Stoppa-Lyonnet (3), N. Andrieu (1,2)

(1) INSERM EMI00-06, Evry

(2) Institut Curie, Service de Biostatistiques, Paris

(3) Institut Curie, Service de Génétique Oncologique, Laboratoire de pathologie moléculaire des cancers, Paris

(4) Institut Gustave Roussy, Villejuif

E Cavaciuti(1,2), A Laugé(3), K Ossian(4), N Janin(4), D Stoppa-Lyonnet(3), N Andrieu(1,2)

(1):Inserm EMI00-06,Tour Evry 2, 523 Place des Terrasses de l'Agora, 91034 Evry, France

(2):Institut Curie, Service de Biostatistiques, 26 rue d'Ulm, 75248 Paris Cedex 05, France

(3):Institut Curie, Service de Génétique Oncologique, Laboratoire de pathologie moléculaire des cancers, 26 rue d'Ulm, 75248 Paris Cedex 05, France

(4):Institut Gustave Roussy, 39 rue Camille Desmoulins, 94805 Villejuif Cedex, France;

L'Ataxie-Télangiectasie (AT) est une maladie récessive de l'enfant caractérisée par une ataxie cérébelleuse dégénérative, des télangiectasies cutanées ou muqueuses, un déficit immunitaire et un risque augmenté de cancer. Des études sur les familles AT ont montré que les femmes hétérozygotes AT (HetAT) ont un risque de cancer du sein (CS) multiplié par ~ 3 par rapport à la population générale. Nous proposons d'estimer le risque de CS en fonction de la nature de la mutation ATM et de la taille attendue de la protéine pour les mutations tronquantes.

Entre 1994 et 1997, 34 familles (1423 apparentés) ont été recensées à partir d'un enfant AT. Les données démographiques, la survenue de cancer et les prélèvements sanguins ont été recueillis auprès des apparentés du 1^{er}, 2^{ème} et 3^{ème} degré de l'enfant AT. Une mutation a été identifiée pour 82% des branches parentales explorées. Le nombre observé de cancers a été comparé au nombre attendu calculé à partir des données d'incidence estimées France entière.

Le risque de CS parmi les HetAT est multiplié par 3.96 par rapport à la population générale. Nous n'avons pas mis en évidence de différence de risque en fonction de la nature de la mutation (faux-sens, tronquantes). Cependant, parmi les mutations tronquantes, il apparaît que les femmes de <45 ans ont un risque de CS associé à une longue protéine (>1800 aa) 2,5 fois plus élevé que celui associé à une protéine courte. Notre étude suggère que la longueur de la protéine mutée pourrait être un important facteur de risque de CS chez les HetAT.

169 >> Poster n°165**GÉNÉTIQUE ÉPIDÉMIOLOGIQUE****ABSENCE DU RÔLE DU TRIPLET CAG DU GÈNE POLG DANS L'INFERTILITÉ MASCULINE : RÉSULTATS D'UNE ÉTUDE COLLABORATIVE**

RL. Touraine (1), I. Aknin-Seifer (2), A. Combes (1), H. Lejeune (3), C. Jimenez (4), J. Chouteau (5), JP. Siffroi (6), T. Bienvenu (7), C. Patrat (8), K. McElreavey (9), B. Laurus (1), R. Levy (2)

(1) Service de Génétique, Hôpital Nord, Saint Etienne

(2) Laboratoire de Biologie de la Reproduction, Hôpital Nord, Saint Etienne

(3) Département de Médecine de la Reproduction, Hôpital E Herriot, Lyon

(4) Maternité, Hôpital du Bocage, Dijon

(5) Clinilab, Saint Martin d'Hères

(6) Service d'Histologie, Biologie de la Reproduction et Cytogénétique, Hôpital Tenon, Paris

(7) Laboratoire de Biochimie et Génétique Moléculaire, Hôpital Cochin, Paris

(8) Laboratoire de Biologie de la Reproduction, Hôpital Cochin, Paris

(9) Reproduction Fertility and Populations, Institut Pasteur, Paris

La polymérase de l'ADN mitochondrial chez l'homme est codée par le gène POLG dont la séquence codante contient une répétition polymorphique de triplets CAG. L'allèle principal correspond à 10 CAG. Rovio et al. ont publié que cette répétition de CAG était impliquée dans l'infertilité masculine : aucun homme fertile n'avait le génotype non10/non10 à l'inverse de 9% des hommes infertiles sans azoospermie ni oligospermie extrême (Nat Genet, 2001, 29: 261-2).

Nous avons donc étudié la fréquence des allèles de cette répétition chez 503 hommes infertiles (dont 84 avec une microdélétion du chromosome Y) et 90 hommes normospermiques et fertiles, provenant de 7 laboratoires Français.

Nous avons constaté : 1) Un homme normospermique fertile avait le génotype non10/non10, 2) Un homme infertile au moment de l'étude, non10/non10 avait eu spontanément 2 enfants. 3) Un homme infertile non10/non10 est devenu normospermique après cure de varicocèle. 4) 7 patients non10/non10 étaient soit azoospermiques soit oligozoospermiques extrêmes. 5) Il n'y avait pas de différence significative dans la répartition des génotypes (10/10, non10/10 et non10/non10) entre les hommes normospermiques et fertiles, les hommes infertiles sans cause identifiée et les hommes infertiles porteurs d'une microdélétion du chromosome Y, soit pour le génotype non10/non10, respectivement 1%, 3% et 3%.

Ces résultats n'ont été possibles que par l'étude d'un grand nombre de patients afin d'éviter le probable biais d'échantillon de Rovio et al.

En conclusion, il ne paraît pas que le triplet CAG du gène POLG ait un rôle significatif dans l'infertilité masculine.

336 >> Poster n°166**GÉNÉTIQUE ÉPIDÉMIOLOGIQUE****ÉPIDÉMIOLOGIE MOLÉCULAIRE DU GÈNE RHD EN BRETAGNE : IMPLICATIONS TRANSFUSIONNELLES**

C. Le Maréchal, C. Benech, C. Guerry, M. Delamaire, C. Férec
Etablissement Français du Sang, Bretagne

Depuis le clonage du gène RHD en 1997, plus de 90 variants moléculaires ont été décrits. Des mutations ponctuelles ou des réarrangements entre les gènes homologues RHD et RHCE conduisent à des phénotypes RH1 (antigène D) négatifs, partiels (protéines hybrides D/CE) ou D faible (expression réduite). L'immunophénotypage n'est pas suffisamment performant pour caractériser les différents types RH1 faibles, suspectés lors du groupage RH1, en présence d'une discordance entre deux sérum tests. Nous avons souhaité poursuivre le typage de 65 échantillons à sérologie ambiguë par l'étude du gène RHD par PCR spécifique et séquençage. Dans ce travail préliminaire, nous rapportons l'épidémiologie moléculaire RH1 faible dans la région Bretagne et évaluons les applications transfusionnelles.

Comme attendu, les D faibles type 1 (mutation V270G) sont fréquents (31%), ainsi que les type 2 (mutation G385A) (20%). Une particularité de notre étude, est l'identification

fréquente du variant D category Vtype VII (18%) qui n'avait été décrit que chez quelques individus en Europe centrale. Parmi seulement 65 échantillons analysés, deux nouveaux variants ont été identifiés (IVS3+5G>A et A226D).

L'épidémiologie moléculaire du gène RHD en Bretagne est différente de celle décrite dans quelques populations d'Europe centrale. Cette information devrait permettre de choisir avec précision les sérums tests utilisés pour chaque population de donneurs ou receveur de sang. La place du génotypage RHD dans le conseil transfusionnel doit être diffusé, en effet les Dcategory Vtype VII ainsi que deux variants RH1 faibles retrouvés dans notre étude (type 15 et 4) sont susceptibles de s'immuniser en cas de transfusion par du sang RH1.

418

GÉNÉTIQUE ÉPIDÉMIOLOGIQUE

RECHERCHE DE MICRODELETIONS DU CHROMOSOME Y CHEZ DES PATIENTS TUNISIENS INFERTILES

R. M'rad (1), I. Rejeb (1), L. Ben Jemaa (1), E. Chabchoub (1), F. Maazoul (1), M. Chaabouni (1), K. Terras (2), F. Zhioua (3), H. Chaabouni (1)

(1) Service des maladies congénitales et héréditaires, EPS Charles Nicolle, Tunis, Tunisie

(2) Service de Gynéco-obstétrique, EPS Charles Nicolle, Tunis, Tunisie

(3) Service de Gynéco-obstétrique, EPS Aziza Othmana, Tunis, Tunisie

Trois différents loci impliqués dans la spermatogenèse, appelés AZFa, b et c ont été localisés sur le chromosome Y.

Le but de ce travail est l'estimation de la prévalence des microdeletions de ces régions chez des patients infertiles

Matériel et méthodes :

- 146 patients infertiles ayant une anomalie du spermogramme et un caryotype normal.

- Recherche des microdeletions selon les recommandations de la société française de génétique humaine, en utilisant dans un premier temps les STS : sY84 et sY86 (AZFa), sY127, sY134 (AZFb) et sY254, sY255

(AZFc). Si une microdéletion est retrouvée, des STS additionnels sont utilisés pour délimiter ses frontières; ce sont sY82, sY83, sY87, sY88 (AZFa), sY135, sY114, sY142, sY152 (AZFb), sY157, sY158 (AZFc)

Résultats :

Une délétion du chromosome Y a été retrouvée chez 10 de nos patients ayant tous une azoospermie soit une fréquence de 6,84%.

3 de nos patients avaient une délétion large touchant les 3 régions AZFa, AZFb et AZFc. 3 patients avaient une délétion des régions AZFa, AZFb, 3 cas de délétion de la région AZFc et un cas de délétion de la région AZFb. Aucun cas de délétion de la région AZFa uniquement n'a été retrouvé. Parmi ces patients 2 avaient une délétion en dehors de la région du gène DAZ.

Conclusions : La prévalence des microdeletions du chromosome Y dans un échantillon de patients tunisiens est de 6,84%. Nous ne retrouvons pas de corrélation entre l'étendue de la région délétée et l'anomalie du spermogramme.

419 >> Poster n°167

GÉNÉTIQUE ÉPIDÉMIOLOGIQUE

EFFETS MODIFICATEURS DU GÈNE MC1R, DES NÆVUS ATYPIQUES ET DES COUPS DE SOLEIL SUR LA PÉNÉTRANCE DU GÈNE CDKN2A DANS DES FAMILLES FRANÇAISES À CAS MULTIPLES DE MÉLANOME.

V. Chaudru (1), A. Chompret (2), A. Minière (2), K. Laud (2), MF. Avril (2), B. Bressac de Paillerets (2), le Groupe Français d'Etude sur le Mélanome, F. Demenais (1)

(1) INSERM EMI 0006, Evry

(2) IGR, Villejuif

Les mutations du gène CDKN2A prédisposant au mélanome malin cutané (MMC) ont une pénétrance incomplète suggérant les effets d'autres facteurs de risque. Notre analyse de ces facteurs, incluant les caractéristiques cutanées et pigmentaires, l'exposition au soleil et les réactions au soleil, a montré que la pénétrance de CDKN2A est modulée par les naevus atypiques et les coups de soleil (Chaudru et al, 2001). Récemment, il a été suggéré que le gène du récepteur à la mélanocortine (MC1R), impliqué dans la pigmentation, pourrait aussi contribuer au risque de MMC. L'objectif de cette étude est de tester et d'estimer les effets conjoints de MC1R et des autres facteurs de risque sur la pénétrance du gène CDKN2A. Les analyses des co-transmissions du mélanome et des mutations de CDKN2A dans 20 généalogies françaises à cas multiples de MMC ont été effectuées à l'aide des modèles régressifs logistiques qui permettent de prendre en compte un âge de début variable de la maladie et les effets de co-facteurs. Lorsque le gène MC1R est le seul co-facteur considéré, l'un ou l'autre des 4 variants fréquents (R151C, R160W, V60L et V92M) augmente significativement le risque de MMC chez les porteurs et les non-porteurs de mutations de CDKN2A ($p < 0,0001$). Lorsque les autres facteurs de risque sont pris en compte, la pénétrance du gène CDKN2A est significativement modulée par les effets des naevus atypiques (OR=4,0), des coups de soleil (OR=4,5) et par R151C (OR=2,5) ou R160W (OR=2,8). Ces résultats montrent que différents mécanismes contribuent au développement du mélanome.

461

GÉNÉTIQUE ÉPIDÉMIOLOGIQUE

ETUDE GÉNÉTIQUE ET ÉPIDÉMIOLOGIQUE DES MALFORMATIONS OCULAIRES DANS LE DÉPARTEMENT DU BAS-RHIN

C. Stoll, B. Dott, Y. Alembik

Service de Génétique Médicale, CHU, Strasbourg

Les malformations oculaires congénitales ont été étudiées dans une région géographique bien délimitée sur un échantillon de 293 923 naissances consécutives. Pour chacun des 203 nouveaux cas étudiés pendant la période 1979-2000, plus de 50 facteurs ont été comparés chez les patients et chez les témoins. La prévalence des malformations oculaires est de 6,8 pour 10 000, avec une prévalence respective pour 10 000 de 1,7 pour la microphthalmie, 0,23 pour l'anophtalmie, 2,7 pour la cataracte et 1,4 pour le colobome. Le sex ratio est de 0,79. Le diagnostic prénatal a été fait dans 27 cas et 12 interruptions de grossesse ont été pratiquées. Les malformations associées les plus communes dans les 108 cas (53,2%) avec au moins une malformation non oculaire

sont le pied-bot, la microcéphalie, l'hydrocéphalie, la fente labiale et/ou palatine et la dysmorphie faciale. A la naissance, les enfants avec malformations oculaires accompagnées d'autres malformations sont plus petits, pèsent moins, ont un périmètre crânien inférieur à celui des témoins. Les grossesses des enfants avec malformations oculaires sont compliquées de métrorragies, d'oligoamnios et d'hydramnios. Les mères d'enfants avec malformations oculaires ont pris des médicaments pendant la grossesse plus souvent que les mères de témoins. Il existe une association significative entre malformations oculaires et consanguinité des parents. Le risque de récurrence pour les apparentés du premier degré est de 8,7%. Les apparentés au premier degré ont plus de trois fois plus de malformations non oculaires que les témoins. Ces résultats sont à prendre en considération pour le conseil génétique.

492 >> Poster n°168

GÉNÉTIQUE ÉPIDÉMIOLOGIQUE

UTILISATION DE PHYLOGÉNIES D'HAPLOTYPES POUR LA DÉTECTION DE FACTEURS GÉNÉTIQUES DE RISQUE

C. Bardel (1), V. Danjean (2), P. Darlu (1), E. Génin (1)

(1) INSERM U535, Villejuif

(2) LaBRI, UMR5800, Bordeaux

Le développement des techniques de biologie moléculaire permet actuellement de disposer de données concernant de nombreux marqueurs, et en particulier des SNPs. De nombreuses méthodes haplotypiques ont été développées pour intégrer l'information conjointe des différents marqueurs. L'une d'entre elles est la méthode cladistique, proposée en 1987 par Templeton. Elle consiste à construire une phylogénie des haplotypes et à l'utiliser pour définir des groupes d'haplotypes qui vont être comparés dans le cadre d'une analyse cas/contrôle. Les groupes d'haplotypes contenant un excès de malade peuvent ainsi être identifiés, et les mutations qui les définissent sont des sites de susceptibilité potentiels pour la maladie.

Dans ce travail, nous avons étudié par simulations la puissance et l'efficacité de la méthode cladistique pour différents modèles génétiques et nous l'avons comparée à une méthode où chaque SNP est analysé séparément. Si la méthode cladistique ne semble pas apporter plus d'informations dans le cas où un seul site de susceptibilité est simulé, en revanche, elle semble très prometteuse dans le cas de modèles purements épistatiques (2 sites simulés).

526 >> Poster n°169

GÉNÉTIQUE ÉPIDÉMIOLOGIQUE

FRÉQUENCES ET EFFETS FONDATEURS DE MUTATIONS DANS LES GÈNES LMNA ET GDAP1 IMPLIQUÉS DANS LES FORMES AXONALES AUTOSOMIQUES RÉCESSIVES DE LA MALADIE CHARCOT-MARIE-TOOTH (CMT-AR) DANS LE BASSIN MÉDITERRANÉEN.

H. Azzedine (1), G. Durosier (2), A. Bouhouche (3), M. Tazir (4), N. Birouk (3), D. Ante (1), M. Chrabieh (1), N. Ravisé (1), G. Stevain (1), F. Palau (5), D. Grid (6), A. Brice (1), E. Leguern (1)

(1) Laboratoire de Neurologie et Thérapeutique expérimentale, INSERM U289, Paris

(2) Hôpital de Port au Prince, service de pédiatrie, Port au Prince, Haïti

(3) Service de Neurologie, Hôpital des Spécialités, Rabat, Maroc

(4) Service de Neurologie, CHU Mustapha, Alger, Algérie

(5) Laboratory of Genetics and Molecular Medicine, Instituto de

Biomedicina, Valencia, Spain

(6) BTR, AFM-Généthon, Hôpital de la Salpêtrière, Paris

La maladie de Charcot Marie Tooth (CMT) est une neuropathie périphérique hétérogène sur les plans clinique et génétique. L'examen électrophysiologique permet d'en distinguer 2 types majeurs : démyélinisant et axonal. Seulement 3 loci (1q21, 8q13 and 19q13) ont été décrits pour la forme axonale Autosomique Récessive (AR) de la maladie. Des mutations dans les gènes LMNA (1q21) et GDAP1 (8q13) ont été identifiées. A l'aide de 15 microsatellites couvrant les 3 loci, nous avons génotypé 60 familles présentant un CMT-AR axonal. Le séquençage des gènes LMNA et GDAP1 a été réalisé chez les familles avec liaison putative aux loci 1q21 et 8q13 respectivement. La mutation R298C a été retrouvée dans 74 % des familles avec liaison au locus 1q21, suggérant un effet fondateur en Afrique du nord. En effet, un haplotype commun ségrège avec la maladie dans les familles porteuses de la mutation. Concernant le gène GDAP1, la même mutation (S194X) a été retrouvée chez des familles marocaines et espagnoles avec liaison au 8q13. La ségrégation d'un haplotype commun à toutes ses familles est en faveur d'un effet fondateur au Maroc. Les mutations R298C et S194X identifiées dans les gènes LMNA et GDAP1 respectivement sont vraisemblablement le résultat d'un effet fondateur en Afrique du nord. En raison de leurs fréquences élevées dans ces populations, ces deux mutations doivent être recherchées en priorité dans les familles avec liaison putative à l'un de ces deux loci. La datation de ces mutations est en cours et les résultats seront présentés au congrès.

GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE

11

GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE

DE L'INTÉRÊT DU DÉPISTAGE SYSTÉMATIQUE DE LA MUTATION F508DEL. DIAGNOSTIC D'UNE MUCOVISCIDOSE CHEZ UNE APPARENTÉE À UNE PERSONNE ATTEINTE DE MUCOVISCIDOSE NON F508DEL.

A. Kitzis (1), M. Maréchaud (2), J. Quinton (3), J.C. Meurice (4), J. Feingold (5), B. Gilbert (3)

(1) Laboratoire de Génétique Cellulaire et Moléculaire, UPRES EA 2622, CHU de Poitiers

(2) Gynécologie Obstétrique et Médecine de la Reproduction, CHU de Poitiers

(3) Génétique Médicale, CHU de Poitiers

(4) Pneumologie, CHU de Poitiers

(5) Laboratoire d'Anthropologie Biologique, Université Paris VII, Paris

Le cas index, âgé de 22 ans, atteint d'une forme modérée de mucoviscidose, porte les mutations 2966C>T (S945L) dans l'exon 15 et 3272-26 A>G dans l'intron 17a du gène CFTR. La recherche de ces 2 mutations chez sa cousine germaine, âgée de 29 ans, enceinte, est négative. Par contre, la recherche systématique de F508del chez cette dernière montre qu'elle est hétérozygote F508del. L'analyse du gène CFTR de son conjoint par DGGE ou DHPLC ne retrouve pas de mutation.

La technologie utilisée au laboratoire nécessitant de nombreux témoins, nous avons analysé la femme hétérozygote F508del par DHPLC et DGGE. Une seconde mutation est trouvée chez cette dernière : 2305G>A (E725K) dans l'exon 13. Cette patiente a été examinée en pneumologie. Elle présente une insuffisance respiratoire modérée avec 2 tests à la sueur à 48 et 55 mmol/L, valeurs intermédiaires.

Ce diagnostic a pu être réalisé car nous avons étudié de façon systématique F508.

Cette observation suggère 3 réflexions : (i) chez les apparentés du 2^{ème} ou du 3^{ème} degré, on peut trouver des mutations non présentes chez le cas index; (ii) la recherche d'une mutation « mild » est préconisée chaque fois qu'un sujet présente des signes mineurs de la maladie, d'autant plus qu'il est hétérozygote pour une mutation délétère; (iii) le dépistage de F508del devrait être proposé en début de grossesse, mais ceci est à intégrer dans les problèmes soulevés par le dépistage systématique des hétérozygotes.

14 >> Poster n°170

GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE

HOLOPROSENCÉPHALIE : BILAN DE L'ÉTUDE MOLÉCULAIRE EFFECTUÉE AU CHU DE RENNES

C. Dubourg (1,2), L. Pasquier (3), L. Lazaro (3), M. Blayau (1), M.R. Durou (1), S. Odent (3), V. David (1,2)

(1) Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHU, Rennes

(2) UMR 6061, Faculté de Médecine, Rennes

(3) Service de Génétique Médicale, CHU, Rennes

L'holoprosencéphalie (HPE ; 1/16000 naissances vivantes ; 1/250 produits d'avortement) est une malformation cérébrale complexe résultant d'un défaut de clivage du prosencéphale, touchant à la fois le cerveau et la face. Le spectre clinique est très variable, allant d'un ventricule cérébral unique avec cyclopie à un phénotype normal chez

des porteurs obligatoires d'une mutation. Cette affection est génétiquement hétérogène mais des interactions gène-environnement sont maintenant clairement établies.

Si au moins douze loci ont été impliqués dans cette pathologie à ce jour, seuls 8 gènes ont été formellement identifiés et 4 d'entre eux sont majoritaires : Sonic hedgehog (SHH), ZIC2, SIX3, TGIF. L'analyse de ces 4 gènes nous a permis d'identifier 34 mutations hétérozygotes (17%) dans notre cohorte de 200 patients atteints d'holoprosencéphalie typique ou atypique : 17 dans SHH, 7 dans ZIC2, 8 dans SIX3 et 2 dans TGIF. Des phénotypes originaux, associés à une mutation, sont observés : anomalies de l'hypophyse et du corps calleux, microphthalmie colobomateuse, sténose choanale familiale et fente labiale isolée. Par ailleurs, nous avons mis en place un test fonctionnel visant à valider le caractère pathogène des mutations faux-sens du gène SHH. Ce test est basé sur la capacité de la protéine SHH à induire la transformation de cellules mésenchymateuses murines totipotentes en ostéoblastes, le critère de différenciation étant la production de phosphatase alcaline.

Cette étude confirme l'hétérogénéité génétique de la maladie, l'extrême variabilité des phénotypes ainsi qu'un début de corrélations génotype-phénotype.

15 >> Poster n°171

GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE

LE MINI-SÉQUENÇAGE : VERS UNE AUTRE APPROCHE DU DIAGNOSTIC PRÉIMPLANTATOIRE DES MALADIES MONOGÉNIQUES

C. Moutou (1), N. Gardes (1), C. Gubbels (1), S. Viville (1,2)

(1) Service de Biologie de la Reproduction, CHU, Strasbourg

(2) Institut de Génétique et de Biologie Moléculaire et Cellulaire, Illkirch

Le diagnostic pré-implantatoire (DPI) des maladies monogéniques fait appels aux techniques de PCR sur cellule unique. La difficulté de ces techniques impose une mise au point lourde afin d'obtenir un test combinant une reproductibilité et une fiabilité maximales dans un délai d'analyse limité. Dans le cas des maladies à mutations privées, la mise au point d'un diagnostic par famille est inenvisageable.

Le mini-séquençage, développé pour la détection de SNP, est une solution élégante et fiable pour disposer d'un diagnostic direct pour les pathologies à mutations rares ou privées. Il consiste à réaliser, à partir d'un fragment de PCR contenant la mutation, une mini-séquence à l'aide d'une amorce jouxtant le nucléotide muté et de didéoxynucléotides (ddNTP) fluorescents. Seul le ddNTP situé en 3' de l'amorce est incorporé. Après migration sur séquenceur automatique, chaque ddNTP étant marqué avec un fluorochrome différent, la couleur du signal correspond à la base incorporée. Il est ainsi possible de différencier les homozygotes sains d'hétérozygotes ou d'homozygotes mutés.

Cette stratégie est particulièrement intéressante lorsque le gène en cause est petit. En effet, il suffit alors de mettre au point une PCR sur cellule unique pour un nombre limité de fragments couvrant tout le spectre de mutations possibles. Ceci permet donc de développer un DPI, non pas pour une mutation, mais pour l'ensemble des mutations. Nous avons ainsi développé deux tests, pour la bêta-thalassémie et pour la maladie de Von Hippel-Lindau, nous permettant de prendre en charge l'ensemble des couples demandeurs, quelles que soient les mutations en cause.

20 >> Poster n°172**GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE****MALADIE DE COWDEN À TYPE DE SYNDROME DE PROTÉE. SECOND ÉVÉNEMENT SOUS FORME DE PERTE D'ALLÈLE EN MOSAÏQUE AU LOCUS PTEN.**

F. Caux (1), M. Gérard (2), O. Fain (3), M.T. Zabet (4), T. Frébourg (5), L. Laroche (1), H. Plauchu (6), M. Longy (7)

(1) Dermatologie, Hôpital Avicenne, Bobigny

(2) Génétique médicale, CHIC, Créteil

(3) Médecine interne, Hôpital Jean Verdier, Bondy

(4) Biotechnologie cellulaire, Hôpital Debrousse, Lyon

(5) Génétique, Hôpital Charles-Nicolle, Rouen

(6) Génétique, Hôtel Dieu, Lyon

(7) Génétique moléculaire, Institut Bergonié, Bordeaux

Deux familles sont rapportées, caractérisées par la transmission d'une maladie de Cowden liée à une mutation du gène PTEN avec expression phénotypique atypique pour une des personnes atteintes qui présente des manifestations évocatrices de syndrome de Protée.

Dans la première famille, comportant 6 sujets atteints sur 3 générations, une mutation de PTEN nomenclaturée 403A>G - 1135V a été identifiée. Cinq personnes présentent des manifestations habituelles de maladie de Cowden. Une autre âgée de 29 ans présente une dysmorphie congénitale avec lipomatose et angiomasose segmentaire, hypertrophie d'un membre inférieur, augmentation du périmètre crânien à +2DS, cystadénome muqueux de l'ovaire opéré, hamartomes épidermiques à distribution blaschkoiïde.

La deuxième famille comporte 5 personnes atteintes sur 3 générations. Une mutation de PTEN nomenclaturée 487delA - fs166X a été identifiée. Deux personnes présentent des manifestations habituelles de maladie de Cowden. Une troisième, âgée de 37 ans présente: une scoliose marquée (135°), une hypertrophie unilatérale d'un membre inférieur, une main déformée avec macrodactylie et peau épaisse d'aspect capitonée, une lipomatose et une angiomasose segmentaire, une macrocéphalie à 61 cm, un naevus en plaque.

Une recherche de second événement génétique au locus PTEN a été réalisée au niveau de cultures fibroblastiques cutanées pour les 2 patientes, et au niveau de 8 prélèvements biopsiques pour la première. Aucune mutation ponctuelle supplémentaire n'a été mise en évidence ; par contre 2 biopsies cutanées en zone lésionnelle montrent l'existence d'une perte partielle de l'allèle sauvage au locus PTEN, suggérant l'existence d'une délétion 10q en mosaïque associée à la mutation constitutionnelle de PTEN.

22 >> Poster n°173**GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE****MISE EN PLACE D'UNE NOUVELLE TECHNIQUE DE CRIBLAGE DU GÈNE DYSTROPHINE : LE "SCAIP SEQUENCING"**

S. Chambert, C. Saquet, M. Claustres, S. Tuffery-Giraud
Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHU, Montpellier

Les myopathies de Duchenne et de Becker (D/BMD) résultent de mutations survenant dans le gène dystrophine (2,4 Mb) : délétions (60% ; en majorité réparties dans deux points chauds délétionnels), duplications (5%), et mutations ponctuelles (35% ; disséminées le long du gène, majoritairement "privées").

Notre laboratoire s'est spécialisé dans la recherche des

mutations ponctuelles depuis 1992, en choisissant la stratégie d'analyse des transcrits dystrophine par la technique RT-PCR / test de troncation des protéines qui permet d'explorer la totalité de la séquence codante, soit 11 kb. La combinaison de cette technique à la technique classique de PCR multiplex (recherche de délétions) nous permet de détecter 92% des mutations.

Afin d'améliorer ce taux de détection, nous avons récemment mis en place une nouvelle technique basée sur l'étude de l'ADN génomique : "SCAIP (single condition amplification/internal primer) sequencing" (Flanigan et al. 2003). Elle consiste en l'amplification des 7 exons et de 7 promoteurs tissus-spécifiques du gène dystrophine, à une même température d'annealing (une électrophorèse en gel d'agarose permet de détecter d'éventuelles délétions), suivi du séquençage de tous les amplicons. Cette technique permet d'explorer 110 kb de séquence du gène. Elle est simple d'application et rapide, mais nécessite toutefois une automatisation des tâches pour être rentable.

Dans un premier temps, nous envisageons d'appliquer cette technique aux patients myopathes pour lesquels l'analyse des transcrits dystrophine est négative (recherche de mutations faux-sens) ou bien n'a pas pu aboutir pour différentes raisons (biopsie non disponible ...), et aux apparentées de cas index décédés non analysés.

25 >> Poster n°174**GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE****HOMOGENÉITÉ CLINIQUE ET HÉTÉROGENÉITÉ GÉNÉTIQUE DU SYNDROME DE WEILL-MARCHESANI.**

L. Faivre (1,2), A. Mégarbané (3), R.J. Gorlin (4), M.K. Wirtz (5), N. Dagoneau (2), A. Alswaid (6), H. Dollfus (7), S. Lyonnet (2), Y. Alembik (7), M. Le Merrer (2), G. Colod-Beroud (8), C. Boileau (8), A. Munnich (2), V. Cormier-Daire (2)

(1) Centre de Génétique, Hôpital d'Enfants, Dijon

(2) Département de Génétique et INSERM U393, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris

(3) Génétique Médicale, Université Saint Joseph, Beyrouth, Liban

(4) Department of Oral Science, University of Minnesota Health Sciences Center, Minneapolis, Minnesota, USA

(5) Department of Ophthalmology, Casey Eye Institute, Oregon Health Sciences University, Portland, Oregon, USA

(6) Clinical Genetics, Riyadh Armed Forces Hospital, Riyadh, Saudi Arabi

(7) Service de Génétique Médicale, Hôpital de Hautepierre, Strasbourg

(8) Unité INSERM 383, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris

Le syndrome de Weill-Marchesani est caractérisé par une insuffisance staturale micromélique modérée de début postnatal, une brachydactylie, une limitation articulaire et des anomalies oculaires caractéristiques comprenant une microsphérophakie, une luxation du cristallin, une myopie sévère et un glaucome. Deux modes d'hérédité, autosomique dominant et autosomique récessif, ont été rapportés. En mettant à profit la méthode de cartographie par homozygotie, nous avons pu localiser un gène responsable de la forme récessive sur le chromosome 19p13.3-p13.2 (lod score à 5.99 à teta=0 pour D19S906) à partir de 2 grandes familles originaires du Liban et d'Arabie Saoudite. L'intervalle génétique de 12.4 cM, défini entre les marqueurs D19S905 et D19S840, comprenait le gène de la fibrilline 3 (FBN3) qui a pu être exclu par séquençage direct sur cDNA. Nous avons par ailleurs exclu cette région dans deux grandes familles autosomiques dominantes. Dans ces dernières, le séquençage direct du gène de la fibrilline 1 (FBN1) a révélé une délétion de 24 nucléotides au sein de

l'exon 41, au niveau d'un motif TGF- β 1 dans l'une de ces familles, la deuxième restant compatible avec une liaison au locus FBN1. Ces résultats permettent d'inclure le syndrome de Weill-Marchesani dans sa forme dominante dans le groupe des fibrillinopathies de type I. Enfin, une revue de la littérature à partir de 128 patients porteurs d'un syndrome de Weill-Marchesani (57 observations récessives, 50 dominantes, 21 cas sporadiques) nous permet de démontrer l'homogénéité clinique de la maladie contrastant avec une hétérogénéité génétique.

26 >> Poster n°175

GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE

HÉTÉROGÉNÉITÉ CLINIQUE ET GÉNÉTIQUE DU SYNDROME DE DESBUQUOIS.

L. Faivre (1,2), M. Le Merrer (2), Ll. al-Gazali (3), M. GEM Auses (4), P. Bitoun (5), N. Dagoneau (2), I. Young (6), K. Zerres (7), M. Ben Hariz (8), P. Maroteaux (2), A. Munnich (2), V. Cormier-Daire (2).

(1) Centre de Génétique, Hôpital d'Enfants, Dijon

(2) Département de Génétique et INSERM U393, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris

(3) Département de Pédiatrie, United Arab Emirates University, Al Ain, United Arab Emirates

(4) Département de Génétique Médicale, University Medical Center Utrecht, Utrecht, The Netherlands

(5) Hôpital Jean Verdier, Bondy

(6) Département de Génétique Clinique, Leicester Royal Infirmary, Leicester, Royaume-Uni

(7) Université de Aachen, Allemagne

(8) Département de Génétique Clinique, Hôpital Mongi Slim, Tunis

Le syndrome de Desbuquois est une ostéochondrodysplasie autosomique récessive caractérisée par l'association d'un nanisme micromélique sévère à début prénatal, une hyperlaxité articulaire, une dysmorphie faciale, un aspect en clef anglaise de la tête fémorale et une avance d'âge osseux au niveau du carpe et du tarse. Des anomalies très caractéristiques des mains comprenant un centre d'ossification surnuméraire à la base de la première phalange de l'index et des luxations phalangiennes sont également observées, mais de façon inconstante. Une étude clinique et radiologique de 35 dossiers a permis de définir des critères radiologiques d'aide au diagnostic et de définir deux sous-groupes en fonction de la présence ou de l'absence d'anomalies caractéristiques des extrémités. En mettant à profit la méthode de cartographie par homozygotie, nous avons localisé, en 17q25.3 (lod score à 4.61 à teta=0 au locus D17S1806), un gène responsable du syndrome de Desbuquois dans 4 familles consanguines présentant toutes des anomalies caractéristiques des extrémités. L'intervalle génétique de 9.5 cM est défini par les loci D17S802 and D17S1822 et comprend 10 gènes, dont les gènes TIMP2 et C1QTNF1, exclus par séquençage direct. L'étude de microsatellites de la région 17q25.3 a permis d'exclure cette localisation dans 4 familles consanguines sans anomalies caractéristiques des extrémités. Ces résultats plaident en faveur d'une hétérogénéité génétique corrélée à une hétérogénéité radiologique et sont une première étape en vue de l'identification des gènes responsables du syndrome de Desbuquois.

28

GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE

IDENTIFICATION D'UNE MUTATION DANS L'EXON 2 DU GÈNE APC

M. Blayau (1), P. Parent (2), C. Dubourg (1)

(1) Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHU, Rennes

(2) Département de Pédiatrie et Génétique Médicale, CHU, Brest

Des mutations germinales du gène APC sont identifiées chez plus de 80% des sujets atteints de polypose rectocolique familiale. L'expression phénotypique de cette maladie à transmission dominante présente une grande variabilité bien corrélée avec la position de la mutation sur le gène. Dans les polyposes dites atténuées (apparition plus tardive, nombre de polypes inférieur à 100, absence de manifestations extra coliques), les mutations sont principalement trouvées dans la partie 5' du gène mais à notre connaissance aucune anomalie n'a à ce jour été décrite dans les 2 premiers exons. Le séquençage du gène APC chez une patiente de 48 ans atteinte de polypose rectocolique familiale nous a permis de mettre en évidence une délétion de 4 bases dans l'exon 2. L'absence des nucléotides GTCT en position 214 à 217 entraîne un décalage du cadre de lecture avec création d'un codon stop au début de l'exon 3. L'examen anatomopathologique de la pièce opératoire a confirmé la présence d'une vingtaine de polypes présentant des degrés divers de dysplasie mais sans foyer de transformation maligne. La localisation de cette mutation germinale est en accord avec les corrélations phénotype-génotype connues à ce jour. Cette étude montre la nécessité d'inclure l'analyse des 2 premiers exons lors du criblage du gène APC dans les formes atténuées de polypose rectocolique.

31 >> Poster n°176

GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE

IDENTIFICATION D'UN NOUVEAU LOCUS RESPONSABLE D'ATAXIE SPINOCÉRÉBELLEUSE HÉRÉDITAIRE (SCA21): APPROCHE GÈNE-CANDIDAT

I. Vuillaume (1), D. Devos (2), S. Schraen (1,3), B. Sablonnière (1,3)

(1) Département de Biochimie et Biologie Moléculaire, Hôpital R. Salengro, CHRU de Lille, Lille

(2) Département de Neurologie, Hôpital R. Salengro, CHRU de Lille

(3) INSERM U422, Faculté de Médecine, Lille

Les ataxies spinocérébelleuses autosomales dominantes sont des affections neurodégénératives héréditaires, caractérisées par une atteinte du cervelet et du tronc cérébral, avec une prévalence de 1/100000. Le phénotype clinique est marqué par un syndrome cérébelleux associé à d'autres signes neurologiques. La classification de ces pathologies est actuellement basée exclusivement sur les études génétiques. Depuis 1990, 22 loci et gènes ont été identifiés. SCA1,2,3 6,7,8 et SCA17 sont liés à une expansion d'un triplet CAG, alors que SCA10 est liée à une expansion d'un pentanucléotide ATTCT. Récemment deux autres ataxies ont été rattachées à des mutations ponctuelles. Nous avons étudié une famille du Nord Pas de Calais présentant sur 4 générations une ataxie spinocérébelleuse héréditaire de transmission autosomale dominante. Le phénotype clinique est celui d'une ataxie progressive, peu évolutive, associée de manière variable à des signes parkinsoniens, une hyporéflexie et des troubles cognitifs modérés. L'âge de début plus précoce d'une

génération à l'autre suggère une anticipation. Cette ataxie n'a pu être rattachée, à aucun gène ni locus SCA connu. Une analyse de liaison étendue à l'ensemble du génome nous a permis de mettre en évidence une liaison significative sur le chromosome 7 en 7p21.3-p15.1. L'analyse des recombinants et la construction des haplotypes a permis de localiser ce nouveau locus dans une région de 24 cM flanquée par les marqueurs D7S2464 et D7S516. Ce locus a été dénommé SCA21 par le comité HUGO. La première démarche pour se rapprocher du gène est de restreindre la taille du locus en testant de nouveaux membres de la famille et par l'étude d'autres familles présentant un phénotype analogue. Une autre voie de l'identification du gène est le développement d'une approche instabilité candidate et gène-candidat. La recherche d'une expansion CAG est justifiée par la fréquence de la responsabilité de cette mutation dans les ataxies. Cette hypothèse est infirmée par l'analyse de détection des expansions (RED assay), et par le screening systématique par PCR de chacun des clones de la région candidate, contenant des répétitions CAG. Par ailleurs, 5 gènes candidats ont retenu notre attention en raison de leur fonction et/ou de leur profil d'expression et sont en cours de séquençage.

32

GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE

EXPRESSION DE L'ISOFORME 2 DU TRANSPORTEUR MITOCHONDRIAL DE L'ATP ET MÉTABOLISME DE LA CELLULE CANCÉREUSE

A. Chevrollier (1), D. Loiseau (2), B. Chabi (3), Y. Malthiery (2), G. Stepien (1)

(1) INSERM UMR484, Clermont-Ferrand

(2) INSERM EMI0018, Angers

(3) INRA UMR1019, Clermont-Ferrand

La translocase des nucléotides adényliques (ANT) réalise l'échange entre ATP et ADP entre la matrice mitochondriale et le cytoplasme. Chez l'homme, trois isoformes sont exprimées. Les isoformes ANT1 (muscle, cœur, cerveau) et l'ANT3 (ubiquitaire) exportent l'ATP produit par les phosphorylations oxydatives (OXPHOS) mitochondriales. L'ANT2 est l'isoforme spécifiquement exprimée dans les cellules en prolifération : leur métabolisme énergétique devient principalement glycolytique et le rôle de l'ANT2 serait d'importer dans la mitochondrie l'ATP produit par la glycolyse, énergie indispensable aux fonctions mitochondriales et ainsi à la survie cellulaire.

Dans cette étude, nous avons pu corrélérer l'expression de l'ANT2 avec le métabolisme glycolytique de différentes lignées cellulaires. Au cours du cycle cellulaire de lignées tumorales et de fibroblastes stimulés par du sérum, ANT2 est surexprimée au cours de la transition G1/S. Cette induction d'expression est associée à celle d'autres enzymes glycolytiques. Dans des conditions d'hypoxie, l'expression de l'ANT2 est maintenue comme c'est le cas pour d'autres enzymes glycolytiques tel que l'hexokinase II. L'hypoxie, qui induit généralement un arrêt de croissance des cellules par stress énergétique, ne peut ainsi empêcher la progression du cycle des cellules tumorales.

L'ANT2 est ainsi associée à un métabolisme principalement glycolytique, à la différenciation cellulaire et à l'agressivité de la cellule cancéreuse. Son expression spécifique permet non seulement d'importer l'ATP indispensable à la maintenance du gradient de potentiel mitochondrial et aux voies métaboliques intramitochondriales, mais participerait également à une

répression des OXPHOS, contribuant ainsi à la cancérogenèse. Une stratégie anti-cancéreuse basée sur des siARN ANT2 est à l'étude.

39 >> Poster n°177

GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE

IDENTIFICATION DU PREMIER GÈNE RESPONSABLE DE RETARD MENTAL ISOLÉ AUTOSOMIQUE RÉCESSIF: LA NEUROTRYPSINE, UNE PROTÉINE DE LA FAMILLE DES PROTÉASES À SÉRINE

F. Molinari (1), M. Rio (1), V. Meskenaite (2), M. Vekemans (1), A. Munnich (1), T. Attie-Bitach (1), P. Sonderegger (2), L. Colleaux (1)
(1) INSERM U393 et Département de Génétique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris

(2) Institute of Biochemistry, Université de Zurich, Suisse

Le Retard Mental (RM) est un handicap très fréquent qui concerne près de 2 % de la population générale. Cependant, dans 40 % des cas, l'origine du RM demeure encore inexpliquée. Il reste donc de nombreux gènes à identifier, en particulier dans le cadre des RM non syndromiques (RMNS). Jusqu'à récemment, seuls onze gènes de RMNS liés au chromosome X étaient connus. Nous présentons aujourd'hui l'identification du premier gène impliqué dans un RMNS autosomique récessif.

L'étude par homozygotie par filiation d'une famille consanguine multiplex nous a permis de localiser un gène de RMNS en 4q24-q25, puis d'identifier, grâce à une approche gène candidat, une délétion homozygote de 4 paires-de-base dans le gène PRSS12. Ce gène code pour la neurotrypsine, une protéine de la famille des sérine protéases très fortement exprimée dans le cerveau. Cette délétion, identifiée ensuite dans une seconde famille consanguine, entraîne l'apparition d'un codon STOP prématuré engendrant une protéine tronquée de son domaine catalytique.

Nos résultats montrent que, chez l'homme, la neurotrypsine est fortement exprimée dans le cerveau fœtal, plus particulièrement dans l'hippocampe et le cortex, structures liées à la mémorisation et l'apprentissage. Dans le cerveau adulte humain, la neurotrypsine s'accumule dans des vésicules synaptiques localisées à proximité de la membrane pré-synaptique.

Outre l'identification du premier gène responsable de RMNS récessif autosomique, ces résultats mettent en évidence un nouveau mécanisme physiopathologique de RM et apportent la première démonstration du rôle essentiel de la protéolyse synaptique pour le développement normal du cerveau et des fonctions cognitives.

40 >> Poster n°178

GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE

ANALYSE MUTATIONNELLE DU GÈNE DYSF ET SPECTRE PHÉNOTYPIQUE DES DYSFERLINOPATHIES

K. Nguyen (1), G. Bassez (2), B. Eymard (2), F. Leturcq (3), D. Figarella-Branger (4), J. Pouget (5), N. Lévy (1)

(1) Département de Génétique Médicale, CHU Timone, Marseille

(2) Institut de Myologie, CHU Pitié-Salpêtrière, Paris

(3) Laboratoire de Biochimie et Biologie moléculaire, Hôpital Cochin, Paris

(4) Laboratoire de Neuropathologie, CHU Timone, Marseille

(5) Service de Neurologie et maladies neuromusculaires, CHU Timone, Marseille

Les dysferlinopathies sont des dystrophies musculaires

autosomiques récessives causées par des mutations du gène DYSF. Deux phénotypes distincts sont connus : la myopathie distale de Miyoshi et la dystrophie musculaire des ceintures (LGMD2B).

Peu de mutations dans le gène DYSF ont été rapportées jusqu'à présent.

OBJECTIFS ET METHODES : Afin d'identifier les mutations du gène DYSF chez des patients ayant un déficit musculaire en dysferline, nous avons conduit une analyse mutationnelle comprenant une détection de mutations en SSCP (Single Strand Conformation Polymorphism) suivie du séquençage des fragments anormaux. De plus, nous avons étudié les caractéristiques cliniques et biopsiques de 55 patients français ayant un déficit en dysferline.

RESULTATS : Nous avons identifié 33 mutations chez 26 patients. 31 mutations étaient nouvelles et en majorité des mutations "frameshifts" et non-sens. 4 mutations étaient récurrentes. Nous n'avons pas mis en évidence de hot-spot mutationnel.

36% des patients étaient d'origine Maghrébine. 26% des patients avaient d'emblée une atteinte proximale et distale aux membres inférieurs. Une minorité de patients avait une myopathie d'évolution particulièrement rapide et sévère. L'errance diagnostique avait conduit au diagnostic de polymyosite chez 28% des patients. La présence de signes inflammatoires sur la biopsie musculaire était faiblement mais significativement corrélée à la sévérité de la maladie ($p=0,045$). Enfin, nous avons créé une base de données des dysferlinopathies, permettant de collecter les données moléculaires et phénotypiques et d'étudier les corrélations génotype/phénotype.

CONCLUSIONS : notre stratégie d'analyse mutationnelle comportant SSCP et séquençage est efficace. Il existe des phénotypes atypiques de dysferlinopathies.

44 >> Poster n°179

GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE

UN MODÈLE PRÉDICTIF DE LA SÉVÉRITÉ DES MUTATIONS DU GÈNE DE LA PHOSPHATASE ALCALINE NON TISSU-SPÉCIFIQUE DANS L'HYPHOPHOSPHATASIE

F. Huselstein (1), G. Lecellier (2), F. Muller (3), M.H. Le Du (1), E. Mornet (4)

(1) Département d'Ingénierie et d'Etudes des Protéines (DIEP), CEA, Saclay

(2) Laboratoire de Génétique et Biologie Cellulaire, Université de Versailles-Saint-Quentin en Yvelines, Versailles

(3) Laboratoire de Biochimie, Hôpital Robert Debré, Paris

(4) Laboratoire de Cytogénétique et Génétique Moléculaire Humaine, Université de Versailles-Saint-Quentin en Yvelines, Versailles

L'hypophosphatasie est une maladie héréditaire due aux mutations du gène de la phosphatase alcaline non tissu-spécifique (TNSALP) et affectant la minéralisation osseuse. Sa grande variabilité clinique résulte de l'hétérogénéité génétique du gène de la TNSALP sur lequel plus de 128 mutations sont aujourd'hui répertoriées.

A l'aide de six paramètres reflétant l'importance structurale ou fonctionnelle des acides aminés de la TNSALP, nous avons construit un modèle statistique permettant de prédire le degré de sévérité d'une mutation ou d'un génotype. Les paramètres étudiés pour chaque résidu de la protéine sont son accessibilité vis à vis des solvants, sa stabilité au cours de l'évolution, son appartenance à une région fonctionnelle connue, son rang évolutif construit selon la même approche que la trace évolutive (Litcharge et

al. 2002, *Curr Opin Struct Biol.* 12:21-7), son coefficient de perturbation des structures secondaires établi d'après Chou et Fasman, et enfin le rang évolutif de la région de 5 angstroms autour du résidu. Un score résultant de l'ensemble de ces paramètres a été calculé.

Le modèle a été testé en analysant la distribution des scores de 112 mutations faux-sens et de 88 génotypes responsables d'hypophosphatasie dans les différentes classes phénotypiques. Il permet de construire un test statistique pour prédire la sévérité du phénotype.

Ce modèle peut aider à évaluer le pronostic d'une hypophosphatasie découverte chez un enfant ou dans un contexte prénatal et permet au biologiste moléculaire de distinguer polymorphismes rares et mutations causales.

46 >> Poster n°180

GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE

DIAGNOSTIC PRÉIMPLANTATOIRE DE L'HÉMOPHILIE A, DE L'ADRÉNOLEUCODYSTROPHIE LIÉE À L'X, DE L'HYDROCÉPHALIE LIÉE À L'X ET DE L'INCONTINENTIA PIGMENTI PAR ANALYSE DE SÉGRÉGATION DE MARQUEURS POLYMORPHES EN XQ28.

N. Gigarel (1), P. Burllet (1), J. Steffann (1), N. Frydman (2), V. Kerbrat (2), R. Frydman (2), A. Munnich (1), P.F. Ray (1,3)

(1) Département de Génétique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris

(2) Service de gynécologie obstétrique, Hôpital Antoine Bécère, Clamart

(3) UF de biologie de la reproduction, CHU de Grenoble

Pour les diagnostics préimplantatoires de maladies géniques, le développement d'un test spécifique de chaque mutation d'un gène est long, délicat et parfois impossible sur une seule cellule. Par conséquent pour toutes les maladies génétiques alléliquement hétérogènes, nous essayons de développer des diagnostics indirects par analyse de liaison de marqueurs polymorphes, applicables à une majorité de couples, et ce, quelque soit la mutation familiale.

Nous avons développé 5 PCR triplex sur cellule unique en combinant 6 marqueurs microsatellites localisés en Xq28 (DXS1073, BGN, G6PD, DXS1108, DXS8087, F8C-IVS13) permettant de proposer un DPI pour 4 pathologies : l'hémophilie A, l'adrénoleucodystrophie liée à l'X, l'hydrocéphalie liée à l'X et l'incontinentia pigmenti (IP). Ce test est plus satisfaisant qu'un diagnostic de sexe suivi d'un transfert sélectif d'embryons féminins couramment pratiqué par de nombreux centres pour les pathologies récessives liées à l'X, car il permet le transfert des embryons masculins sains. Il permet également le diagnostic de pathologies dominantes comme l'IP.

En pratique, deux à trois marqueurs informatifs encadrant le gène d'intérêt sont co-amplifiés et un maximum de trois embryons présentant un haplotype sain est transféré. Le choix des marqueurs dépend de l'informativité de la famille considérée et du risque de recombinaison. A ce jour, onze familles ont été étudiées et toutes sont informatives par au moins trois de nos marqueurs, 3 DPI ont été réalisés selon cette nouvelle procédure et une grossesse est en cours.

48

GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE**EXCLUSION DU GÈNE CACNA1B COMME GÈNE RESPONSABLE DE L'ATAXIE CÉRÉBELLEUSE CONGÉNITALE NON PROGRESSIVE DE TYPE NORMAN LIÉE AU CHROMOSOME 9Q34-9QTER**

V. Delague, S. Harfouche, A. Megarbane

Unité de Génétique Médicale, Université Saint-Joseph, Faculté de Médecine, Beyrouth, LIBAN

Introduction et objectifs : Les ataxies héréditaires constituent un groupe hétérogène de maladies, incluant tous les modes de transmission, avec plus de 50 locus, et environ 15 gènes identifiés.

Une étude de localisation, dans une famille consanguine libanaise, comprenant 12 individus atteints, nous avait permis de localiser un nouveau gène responsable d'une forme non-progressive d'ataxie cérébelleuse congénitale, en 9q34-9qter (Delague et al., Ann Neurol. 2001. 50:250-253). Dans ce travail, nous poursuivons le clonage du gène par une stratégie de gènes candidats et présentons les résultats de l'étude du gène CACNA1B, codant pour la sous-unité alpha 1B d'un canal calcique voltage-dépendant, et situé dans l'intervalle candidat.

Matériel et Méthodes : Les 46 exons composant la séquence codante du gène ont été amplifiés par PCR, à partir d'ADN génomique, chez l'un des patients. Les amplicons obtenus ont été étudiés par dHPLC (Denaturing High Performance Liquid Chromatography) et séquençage fluorescent.

Résultats : Aucune variation de séquence pathologique n'a pu être mise en évidence dans la séquence codante du gène CACNA1B. Néanmoins, plusieurs polymorphismes introniques et exoniques ont été identifiés, dont certains à l'état hétérozygote.

Conclusion: La stratégie de clonage du gène dans cette famille étant basée sur une homozygotie par descendance, la présence de polymorphismes à l'état hétérozygote dans la séquence codante du gène CACNA1B permet de l'exclure de l'intervalle candidat, et de l'éliminer définitivement comme gène responsable de la maladie. D'autre part, les polymorphismes, utilisés comme marqueurs bi-alléliques, permettent de redéfinir la borne télomérique de l'intervalle.

49 >> Poster n°181**GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE****RECHERCHE DE MUTATIONS MITOCHONRIALES CHEZ DES FAMILLES TUNISIENNES ATTEINTES DE SURDITÉ : MISE EN ÉVIDENCE D'UNE MUTATION DANS LE GÈNE ND1 CHEZ UNE FAMILLE**

E. Mkaouar, A. Tlili, N. Louhichi, S. Masmoudi, H. Ayadi, F. Fakhfakh

Laboratoire de Génétique Moléculaire Humaine, Faculté de Médecine de Sfax, Tunisie

Les maladies mitochondriales regroupent une grande variété de pathologies dont le dénominateur commun est un déficit de la chaîne respiratoire résultant d'anomalies touchant l'ADN mitochondrial. Dans ce cadre, plusieurs mutations touchant les gènes des ARNr ou des ARNt ont été associées à des surdités syndromiques et isolées.

Nous nous sommes intéressés lors de ce travail à la recherche des mutations A1555G et T7511G, associées à une surdité isolée et touchant respectivement les gènes de

l'ARNr 12S et de l'ARNtSer(UCN). Nous avons aussi recherché la mutation A3243G dans l'ARNtLeu(UUA) qui a été décrite dans une surdité syndromique, accompagnée le plus souvent d'un diabète.

L'étude a porté sur 90 patients atteints de surdité appartenant à 90 familles non apparentées originaires du sud Tunisien pour lesquelles aucune mutation nucléaire responsable de surdité n'a été retrouvée. Cent témoins de la même population (30 normaux + 70 diabétiques) ont été testés comme contrôle.

La recherche de mutations a été réalisée par les techniques de PCR-RFLP et de séquençage automatique.

Les résultats ont montré l'absence des mutations A1555G, T7511C et A3243G chez les patients et les témoins testés. Cependant, nous avons mis en évidence la présence de la mutation T3369C chez une des familles testées. Cette mutation touche le gène ND1 (NADH déshydrogénase 1) qui côtoie celui de l'ARNtLeu(UUA). Elle est présente et transmise suivant une hérédité maternelle chez les membres de cette famille et absente chez les autres patients et chez les 100 témoins testés.

50 >> Poster n°182**GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE****APPORT PRÉPONDÉRANT DE LA GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE AU DIAGNOSTIC PÉRI-NATAL DE L'ACRODERMATITE ENTÉROPATHIQUE : CAS D'UN NOURRISSON TUNISIEN ÂGÉ DE 4 MOIS.**

S. Kürü (1, 2), M. Kharfi (3), R. Kamoun (3), S. Bézieau (1,2)

(1) Laboratoire d'Etude du Polymorphisme de l'ADN, Faculté de Médecine, Nantes

(2) Service de Génétique Médicale, Hôtel-Dieu, Centre Hospitalier Universitaire, Nantes

(3) Service de Dermatologie, Hôpital Charles Nicolle, Tunis, Tunisie

L'acrodermatite entéropathique (AE) est un syndrome héréditaire rare de déficience généralisée en zinc. Transmis de façon autosomique récessive, il apparaît à la naissance ou au sevrage et devient léthal s'il n'est pas traité. En théorie, l'AE se reconnaît cliniquement par la triade symptomatique pathognomonique : dermatite acrale et péri-orificielle, alopecie et diarrhées. Pourtant, en pratique le diagnostic n'est pas si évident à poser à partir des seuls éléments cliniques. Le cas du nourrisson que nous rapportons ici montre que la génétique moléculaire pourrait devenir un outil diagnostique péri-natal déterminant qui, dans la majorité des cas, devrait permettre de trancher lorsque les critères cliniques d'AE ne sont pas tous réunis. Dans le cas présent, le tableau clinique très incomplet du patient rendait le diagnostic d'AE incertain et les traitements prescrits depuis trois mois étaient tous inefficaces, car inappropriés. Nous avons donc entrepris chez ce patient l'analyse mutationnelle du gène de transport de zinc SLC39A4 - que nous avons jusqu'ici trouvé associé à plus de 90% des cas d'AE testés -. Cette analyse nous a révélé la présence d'une mutation délétère homozygote, déjà identifiée dans d'autres familles, qui nous a permis de confirmer le diagnostic d'AE. Nous avons dès lors pu mettre en place un traitement oral à base de sulfate de zinc qui a conduit à la disparition spectaculaire de tous les symptômes en quinze jours.

52 >> Poster n°183**GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE****UMD ET UMD-CENTRAL : LES OUTILS POUR CRÉER ET ANALYSER DES BANQUES DE DONNÉES DE MUTATIONS**

C. Bérout (1), G. Colod-Bérout (1), D. Hamroun (1), C. Boileau (2), M. Claustres (1)

(1) Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHU de Montpellier

(2) INSERM U383, Hôpital Necker, Paris

Les banques de données spécifiques d'un locus (LSDB) ont démontré leur grande utilité tant pour le clinicien (analyse des corrélations génotype-phénotype...) que pour le généticien (distribution et nature des mutations...) et le chercheur (domaines structuraux...). Nous avons créé le logiciel générique UMD® (Universal Mutation Database) pour faciliter la création de ces LSDBs. Cet outil est maintenant reconnu comme une référence au niveau international (HUGO et HGVS) grâce à ses nombreuses possibilités d'analyse. Les nouvelles fonctionnalités intègrent : a) la gestion complète des séquences non codantes (introniques et régulatrices) du locus avec notamment des outils dédiés à l'analyse des mutations introniques; b) l'intégration des informations de SNPs et d'épitopes ; c) la gestion d'images (immunohistochimie, Western Blot...) et d'arbres généalogiques ; d) de nouveaux outils d'analyse des corrélations génotype-phénotype et e) des outils d'alignement de domaines. Ces différents outils d'analyse sont directement paramétrables via Internet (<http://www.umd.be>). La limite des LSDBs en général est leur trop grande spécificité (une LSDB par gène). Il n'existe ainsi pas d'outil permettant d'aborder les problèmes de l'hétérognéité génétique (une maladie – plusieurs gènes). Afin de résoudre ce problème, nous avons créé l'outil UMD-central qui est capable d'interroger simultanément toutes les UMD-LSDBs et d'afficher une synthèse de leurs données. Le logiciel UMD est disponible gratuitement et peut être utilisé localement (PC et Mac). Nous proposons également d'héberger ces LSDBs sur notre site Internet afin de les rendre accessibles à la communauté scientifique. Enfin, des serveurs locaux peuvent également être utilisés pour cet hébergement.

53 >> Poster n°184**GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE****LA MÊME MUTATION DU GÈNE CODANT POUR LE RÉCEPTEUR À LA RYANODINE (RYR2) ENTRAÎNE DIFFÉRENTS TYPES DE TROUBLES DU RYTHME VENTRICULAIRES**

JJ. Schott, M. Allouis, V. Probst, H. Le Marec
INSERM U533, Nantes

Les mutations dans le gène codant pour le récepteur à la ryanodine cardiaque (RYR 2) ont été impliquées dans différentes pathologies rythmiques (dysplasie arythmogène du ventricule droit, tachycardies ventriculaires catécholergiques, tachycardies bidirectionnelles et fibrillations ventriculaires idiopathiques). Nous avons récemment identifié une famille atteinte de mort subite chez les enfants et les jeunes adultes. Pour l'ensemble des membres de la famille, nous avons réalisé un examen clinique complet, un ECG, une épreuve d'effort et un holter ECG. Un prélèvement sanguin était

systématiquement prélevé afin de pouvoir réaliser des analyses génétiques.

La famille se compose d'environ 70 membres parmi lesquels 6 patients ont présenté une mort subite. Dix autres patients sont atteints de troubles du rythme ventriculaire. Chez certains patients, les malaises surviennent pendant l'effort et les épreuves d'effort ont montré la survenue de tachycardies ventriculaires bidirectionnelles. Chez d'autres patients, les malaises et les morts subites surviennent lors d'un stress émotionnel et les épreuves d'effort ne déclenchent pas de trouble du rythme mais les holter ECG permettent d'enregistrer des troubles du rythme ventriculaires monomorphes. Nous avons testé en première intention l'implication du gène RYR 2 par génotypage de marqueurs flanquants et avons monté un haplotype ségréguant chez tous les individus atteints. Dans un second temps, le séquençage du gène RyR 2 a effectivement permis d'identifier une nouvelle mutation G14876A (exon 105) entraînant un changement R4959Q.

L'analyse phénotypique et génétique de cette famille montre qu'une même mutation du gène RyR 2 peut entraîner des types de troubles du rythme différents.

54 >> Poster n°185**GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE****ETUDE DE GÈNES CANDIDATS DANS LE SYNDROME CAMOS (CEREBELLAR ATAXIA WITH MENTAL RETARDATION, OPTIC ATROPHY AND SKIN ABNORMALITIES)**

V. Delague, E. Salman, A. Megarbane

Unité de Génétique Médicale, Université Saint-Joseph, Faculté de Médecine, Beyrouth, Liban

Objectifs : Les ataxies cérébelleuses héréditaires forment un groupe complexe de maladies, incluant tous les modes de transmission, plus de 50 locus, dont environ 15 gènes identifiés. Le syndrome CAMOS (Megarbané et al. *Am J Med Genet* (2001) 101 :135-141) est une forme d'ataxie cérébelleuse congénitale non-progressive, à transmission autosomique récessive, localisée sur le bras long du chromosome 15 dans une famille consanguine libanaise (Delague et al. *Neurogenetics* (2002) 4 :23-27).

Matériel et Méthodes : Dans l'intervalle candidat situé en 15q24-q26, entre les marqueurs AFM299yf9 (D15S206) et AFM107xg7 (D15S199), l'exploration des banques de données a permis d'identifier deux gènes candidats: SHGL3 et AP3B2, codant pour des protéines impliquées dans des interactions avec le gène responsable de la maladie de Huntington, et avec la protéine ATM respectivement.

Pour chaque gène, des variations dans la séquence codante du gène ont été recherchées par dHPLC et séquençage fluorescent, après amplification des exons à partir d'ADN génomique. L'étude du cDNA a également été réalisée pour AP3B2.

Résultats : Aucune variation de séquence pathologique n'a pu être mise en évidence dans SH3GL3 et AP3B2. Cependant un épissage alternatif de l'exon 18 a été observé dans le transcrit AP3B2.

Conclusion : Les gènes SH3GL3 et AP3B2 ne semblent pas être responsables du syndrome CAMOS identifié dans cette famille libanaise. La recherche de mutations dans d'autres gènes présents dans l'intervalle candidat est en cours afin d'identifier le défaut moléculaire à l'origine de cette pathologie.

63 >> Poster n°186**GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE****SLC11A3 : UN GÈNE MAJEUR DES SURCHARGES EN FER DOMINANTES**

AM. Jouanolle (1), A. Mosser (1), Y. Deugnier (2), P. Brissot (2), JY. Le Gall (3), V. David (1)

(1) Service de Génétique Moléculaire et Hormonologie, CHU, Rennes

(2) Service des Maladies du Foie, CHU, Rennes

(3) UMR 6061, Faculté de Médecine, Rennes

L'hémochromatose est classiquement décrite comme une surcharge en fer, à transmission autosomique récessive, associée le plus souvent à l'homozygotie pour la mutation C282Y du gène HFE1. A côté de cette entité, d'autres types de surcharges en fer héréditaires ont été décrits et notamment une forme dominante liée au gène SLC11A3 codant la ferroportine, protéine transmembranaire responsable de la sortie du fer des entérocytes et des macrophages. Sur le plan biologique, cette pathologie est caractérisée par une hyperferritinémie majeure contrastant avec un coefficient de saturation de la transferrine peu élevé voire normal. Sur le plan histologique, elle est marquée par une sidérose hépatique massive le plus souvent sans signe de fibrose; la localisation du fer est caractéristique puisqu'elle intéresse non seulement les hépatocytes mais également les cellules de Kupffer.

Une étude rétrospective menée chez des patients non homozygotes pour la mutation C282Y et présentant une hyperferritinémie majeure nous a permis d'identifier 7 cas familiaux de surcharge en fer impliquant SLC11A3. A côté de la mutation V162del déjà décrite, nous rapportons 4 nouvelles mutations faux-sens du gène de la ferroportine. Conclusion : Devant une hyperferritinémie non corrélée à la valeur du coefficient de saturation de la transferrine, il est important d'évoquer l'implication de SLC11A3, qui serait ainsi le deuxième gène responsable de surcharge en fer après HFE1.

81 >> Poster n°187**GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE****ETUDE MOLÉCULAIRE APPROFONDIE DE LA MALADIE DE RENDU-OSLER CHEZ LES PATIENTS SANS MUTATION DE LA SÉQUENCE CODANTE DES GÈNES ALK1 ET ENG**

G. Lesca (1), H. Plauchu (2), C. Blachier (1), N. Burnichon (1), S. Pinson (1), A. Calender (1), S. Giraud (1) et le réseau de recherche sur la maladie de Rendu-Osler-Weber

(1) Laboratoire de Génétique, Hôpital E. Herriot, Lyon

(2) Service de Génétique, Hôtel-Dieu, Lyon

La maladie de Rendu-Osler-Weber est une affection autosomique dominante fréquente (1/10 000) qui s'exprime par des malformations artérioveineuses à l'origine d'épistaxis fréquents et abondants, de télangiectasies cutanéomuqueuses et d'atteintes de divers organes. Les mutations des gènes ENG et ALK1, tous deux impliqués dans la voie du TGFbeta peuvent causer la maladie. L'identification des mutations permet la confirmation du diagnostic et la surveillance clinique des apparentés porteurs.

Nous avons analysé la séquence codante des deux gènes chez 150 cas index non apparentés rassemblant les critères diagnostiques. Une mutation germinale a été retrouvée chez 93 d'entre-eux (62%). Pour le gène ENG, 35 mutations

dont 34 différentes et 26 mutations nouvelles ont été retrouvées. Pour le gène ALK1, 58 mutations dont 36 différentes et 23 nouvelles ont été retrouvées. ALK1 présente plusieurs points chauds de mutation et un effet fondateur lié à la région Rhône-Alpes. Quatre patients sont porteurs d'une mutation à la fois sur ALK1 et ENG. Une étude de ségrégation chez les apparentés malades et sains est en cours afin de préciser si elles sont toutes les deux pathogènes.

Nous entreprenons maintenant une étude approfondie des gènes ALK1 et ENG chez les patients sans mutation de la séquence codante, de 3 façons : 1) séquençage du cDNA afin de rechercher des anomalies d'épissage et de d'éventuelles mutations non détectées par la technique initiale (hétéroduplex), 2) recherche de réarrangements impliquant un ou plusieurs exons par PCR multiplex, 3) recherche de mutations dans les régions promotrices du gène ENG qui ont été caractérisées.

91 >> Poster n°188**GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE****RETARD STATAL ET GÈNE SHOX : VARIABILITÉ GÉNOTYPIQUE DANS UNE COHORTE DE 50 PATIENTS**

C. Huber, A. Munnich, V. Cormier-Daire

Hôpital Necker-Enfants malades, Service de génétique, INSERM U393, Paris

La Dyschondrostéose (DCS) est une forme autosomique dominante de dysplasie mésomélique, caractérisée par un retard statural modéré, associée à une déformation de Madelung. La DCS est causée par une haploinsuffisance du gène SHOX, situé dans la région pseudoautosomale des chromosomes X et Y.

Le but de notre étude a été l'analyse moléculaire du gène SHOX dans une série de 50 patients présentant un retard statural modéré (entre -2 et -3DS). Parmi eux, 60% avaient une déformation de Madelung et 40% étaient considérés comme des retards staturaux idiopathiques.

L'analyse moléculaire du gène SHOX a comporté d'une part une analyse microsatellite de la région incluant 3 marqueurs extragéniques proches CASHOX, DXYS233, DXYS234 et 2 marqueurs intragéniques GASHOX, CTSHOX, puis le séquençage direct du gène.

Nous avons identifié 58% d'anomalies comprenant 44% de délétions et 14% de mutations ponctuelles. La caractérisation des délétions montre qu'elles sont de taille variable :

6% d'entre elles ne concernent que le marqueur DXYS233, suggérant un effet positionnel et 4% le GASHOX et/ou le CTSHOX intragéniques.

Le rendement moléculaire est de 70% dans le groupe DCS et de 20% dans le groupe "retard statural". La recherche de mutation dans le promoteur et de délétions partielles du gène SHOX est en cours par QMPSF.

Enfin, l'étude microsatellite exclue la région PAR pour 6.7% des patients DCS, suggérant une hétérogénéité génétique de la maladie. L'analyse du gène FGFR3 est en cours dans ces familles.

94 >> Poster n°189**GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE****ANALYSE DE WFS1 SUR UNE SÉRIE DE 15 PATIENTS SUSPECTS D'UN SYNDROME DE WOLFRAM**

F. Giuliano (1), S. Monnot (1), B. Chabrol (2), B. Vialettes (3), B. Delobel (4), D. Bonneau (5), P. Sarda (6), J.C. Lambert (1), C. Turc-Carel(1), V. Paquis-Flucklinger(1)

(1) Service de Génétique Médicale, CHU, Nice

(2) Service de Pédiatrie, CHU, Marseille

(3) Service d'Endocrinologie et de Nutrition, CHU, Marseille

(4) Centre de Génétique Chromosomique, Hôpital Saint Vincent de Paul, Lille

(5) Service de Génétique Médicale, CHU, Angers

(6) Service de Génétique Médicale, CHU, Montpellier

Le syndrome de Wolfram ou DIDMOAD (Diabetes Insipidus, Diabetes Mellitus, Optic Atrophy and Deafness) est une affection autosomique récessive. Le diagnostic doit être évoqué devant l'apparition d'un diabète de type I et d'une atrophie optique avant l'âge adulte. Un des gènes impliqués, WFS1, a été identifié en 1998. Il se compose de 8 exons ; les 7 derniers sont codants et l'exon 8 comporte 2600 pb.

Dans le laboratoire, nous avons analysé la région codante et les jonctions exons/introns du gène WFS1 sur une série de 15 patients. Onze d'entre eux avaient développé un diabète de type 1 et une atrophie optique avant l'âge de 23 ans. Les mutations responsables ont été identifiées chez 10 patients. Elles étaient localisées majoritairement dans l'exon 8 (8 cas/10). Un patient était porteur de 2 mutations dans l'exon 4. Le dernier présentait une mutation homozygote dans un site d'épissage (IVS7+1G>A). Dans le cas du onzième patient, seule une mutation non sens, à l'état hétérozygote, a été identifiée dans l'exon 8 et le séquençage de l'exon 1 est en cours. Parmi les 4 patients chez lesquels nous n'avons pas retrouvé de mutation, le tableau clinique était incomplet (2 cas/4) ou l'association diabète/atrophie optique était observée seulement après l'âge de 40 ans (2 cas/4).

Ce travail illustre l'intérêt d'étudier le gène WFS1 en routine dans le but de proposer un diagnostic prénatal dans certains cas. Par ailleurs, l'étude de ce gène présente un intérêt dans certaines surdités progressives non syndromiques et vraisemblablement dans des associations diabète/surdité.

100**GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE****ATTEINTE HÉPATIQUE DANS LA MALADIE DE RENU-OSLER : ASPECTS HISTOLOGIQUES ET ÉTUDE FONCTIONNELLE DES CELLULES ENDOTHÉLIALES HÉPATIQUES**

G. Lesca (1,2), H. Plauchu (3), B. Bancel (4), O. Boillot (5), C. Trepo (1), M.J. Marion (1)

(1) INSERM U271, Lyon

(2) Laboratoire de Génétique, Hôpital E. Herriot, Lyon

(3) Service de Génétique, Hôtel-Dieu, Lyon

(4) Laboratoire d'anatomopathologie, Hôpital de la Croix-Rousse, Lyon

(5) Fédération des spécialités digestives, Hôpital Herriot, Lyon

La maladie de Renu-Osler se caractérise par des malformations artério-veineuses de siège et d'aspect variés. Les deux gènes causant la maladie, ALK1 et ENG, codent pour des co-récepteurs du TGF- β impliqué dans de nombreux mécanismes physiologiques et pathologiques. Les lésions hépatiques sont particulières pour plusieurs raisons

: i) elles ne se compliquent pas d'hémorragie (ni d'insuffisance hépatocellulaire) mais produisent une cardiopathie de shunt corrigée par la transplantation hépatique, ii) elles ne sont pas focalisées mais diffuses à l'ensemble du foie et sont associées à une fibrose, iii) elles sont essentiellement associées au gène ALK1.

Dans les cellules endothéliales le TGF- β agirait via deux voies alternes impliquant les récepteurs de type I ALK1 et ALK5. ALK1 favorise la voie activant les protéines Smad1,5,8 et ALK5 la voie activant les Smad2,3. Le fonctionnement de ces voies demeure obscure et les études récentes sur des cellules de modèles animaux ou des HUVECS ont abouti à des résultats contradictoires. Nous avons entrepris l'étude fonctionnelle des voies de signalisation de facteurs de croissance de la famille du TGF- β dans les cellules endothéliales hépatiques en culture provenant de 7 patients transplantés. L'immunomarquage confirme que les cellules obtenues présentent un phénotype endothélial. Les tests de prolifération en présence de TGF- β ne montrent pas de différence significative entre les cellules des 2 patients et celles du témoin. Des tests de migration cellulaire et une étude de l'expression des différents gènes de la voie du TGF- β en fonction des concentrations du ligand sont en cours. Leur résultats seront exposés.

102 >> Poster n°190**GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE****DES ÉTUDES IN VITRO DÉMONTRENT LA SPÉCIFICITÉ TISSULAIRE DE LA RÉGULATION DE L'ÉPISSAGE ALTERNATIF DE L'EXON 9 DU GÈNE CFTR.**

A. Disset (1), C. Michot (1), C. Guittard (1), M. Des Georges (1), M.C. Romey (1), M. Claustres (1), S. Tuffery-Giraud (1), A. Harris (2)

(1) Laboratoire de Génétique Moléculaire, IURC et CHU, Montpellier

(2) Weatherall Institute of Molecular Medicine, John Radcliffe Hospital, Oxford (UK)

Nous décrivons un patient ABCD porteur d'un allèle rare TG12T3 au locus polymorphe de l'intron 8 du gène CFTR : [TG12T3(F508) / TG11T7(508C)].

Nous avons étudié la spécificité de l'épissage alternatif de l'exon 9 dans 7 lignées cellulaires dérivées de différents tissus impliqués dans la mucoviscidose. Les transcrits exon9+ ont été quantifiés après transfections transitoires de 4 minigènes (TG12T3, TG12T5, TG12T7, TG11T7).

Le taux de transcrits exon 9+ :

(1) est variable (66%-92%) et statistiquement différent entre les lignées pour l'allèle TG11T7 (allèle le plus fréquent),

(2) varie en fonction de la longueur du (TG)_m en présence de l'allèle T7 (TG12T7<TG11T7),

(3) est significativement différent entre les lignées du tractus génital (26%-37%) et les lignées pulmonaires (45%-55%) avec l'allèle TG12T5,

(4) est très faible (12%-37%) en présence de l'allèle TG12T3 dans toutes les lignées testées, suggérant que cet allèle doit être considéré comme une mutation CF sévère.

Les premières expériences d'UV cross-linking et d'immunoprécipitation réalisées n'ont pas mis en évidence de différence de fixation des facteurs d'épissage sur les différentes sondes TG_mT_n testées entre les lignées qui aurait pu expliquer la variabilité tissulaire de l'épissage. Cependant, nous montrons pour la première fois que la diminution du tract (TG)_m en présence de la variation T7

entraîne une perte de fixation de la protéine TDP-43, et par conséquent une quantité de transcrit exon 9+ plus importante (TG11T7>TG12T7).

Nos résultats démontrent l'existence d'une spécificité tissulaire de l'épissage de l'exon 9 du gène CFTR expliquant l'apparition des formes monosymptomatiques telle l'ABCD.

105 >> Poster n°191

GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE

DIAGNOSTIC MOLÉCULAIRE DE LA DYSTROPHIE MYOTONIQUE DE TYPE 2 (PROMM).

F. Morice, C. Rooryck, C. Roudaut, C. Goizet, X. Ferrer, D. Lacombe, B. Arveiler

La dystrophie myotonique de type 1 (DM1) ou maladie de Steinert est la forme la plus commune des dystrophies musculaires de l'adulte. La myopathie myotonique proximale ou dystrophie myotonique de type 2 (DM2) présente de nombreuses similitudes cliniques et moléculaires avec DM1. L'anomalie génique en cause est située dans l'intron 1 du gène ZNF9 et consiste en une amplification d'un quadruplet CCTG.

Nous avons mis en place la détection de l'amplification du (CCTG)_n par un ensemble de trois techniques complémentaires : 1) PCR à l'aide d'amorces (dont une porte un fluorochrome) flanquant le (CCTG)_n pour la détection et la mesure des allèles de petite taille; 2) QP-PCR (quadruplet primed-PCR) à l'aide d'une amorce localisée à l'extérieur du (CCTG)_n (marquée par un fluorochrome), l'autre permettant l'amplification à partir de sites multiples dans le (CCTG)_n; cette technique permet de déterminer rapidement si une amplification du (CCTG)_n est présente; 3) analyse par Southern Blot pour mesurer la taille de l'amplification. Nous avons recherché l'amplification du (CCTG)_n du gène Znf9 chez 21 patients adultes présentant une myotonie (distale ou proximale), pour lesquels une mutation de DM1 avait été préalablement exclue au niveau moléculaire. Une amplification a été détectée chez 8 patients. La technique de QP-PCR s'est révélée fiable, ne donnant lieu ni à des résultats faussement négatifs, ni à des résultats faussement positifs. L'étude moléculaire du gène ZNF9 permettra de mieux évaluer la fréquence de DM2 et d'améliorer le conseil génétique des myotonies dystrophiques.

110 >> Poster n°192

GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE

ANALYSE DU MÉCANISME MUTATIONNEL DE DÉLÉTIONS INTRONNIQUES DU GÈNE WNK1, RESPONSABLES D'UNE FORME MENDÉLIENNE D'HYPERTENSION ARTÉRIELLE

C. Delaloy, C. Niro-Gentile, AM. Houot, X. Jeunemaitre
INSERM U36, Collège de France, Paris

Deux membres d'une nouvelle famille de sérine-thréonine kinases, WNK1 et WNK4, sont impliqués dans une forme rare autosomique dominante d'hypertension artérielle avec hyperkaliémie. Les 2 familles uniques porteuses de mutations du gène WNK1 présentent des délétions chevauchantes de 22 et 41Kb localisées dans l'intron 1. La surexpression d'une ou plusieurs isoformes de WNK1 a été suggérée comme à l'origine de la pathologie. Notre objectif était d'établir les éléments de régulation de l'expression du gène humain WNK1 et de tester in vitro l'hypothèse d'un élément répresseur situé dans l'intron 1.

Les différents transcrits WNK1 ont été caractérisés et leur tissu spécificité analysée. Des expériences d'extension d'amorces et de 5'RACE-PCR montrent l'existence de trois promoteurs situés en amont et dans l'exon 1, ainsi que dans l'intron 4. Le promoteur rénal contrôle l'expression d'une isoforme dépourvue d'activité kinase et spécifique du cortex rénal (Delaloy et al. Mol Cell Biol, sous presse). Une séquence enhancer est identifiée, responsable de son expression rénale. L'analyse systématique in vitro de constructions incluses dans la délétion intronique minimale de 22 Kb, montre la présence d'un élément répresseur dans une région de 2.5kb dont la caractérisation plus fine est en cours.

En conclusion, les délétions de l'intron 1 observées dans la pathologie suppriment vraisemblablement un élément répresseur jouant un rôle critique dans la régulation de l'expression du gène WNK1, ayant pour conséquence un effet dominant négatif par surexpression d'une protéine sans activité kinase.

111 >> Poster n°193

GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE

VARIATIONS DU TRANSCRIPTOME DES CELLULES CACO-2 : UN MODÈLE POUR LA DIFFÉRENCIATION ENTÉROCYTAIRE ET L'ABSORPTION DU FER

H. Bédrine-Ferran (1), N. Le Meur (2), I. Gicquel (1), M. Le Cunff (2), N. Soriano (1), I. Guisle (2), S. Mottier (1), A. Monnier (1), R. Teusan (2), P. Fergelot (1), JY. Le Gall (1), J. Léger (2), J. Mosser (1)
(1) UMR 6061-CNRS / Faculté de Médecine, Rennes
(2) INSERM U533, Nantes

L'hémochromatose HFE1 est caractérisée par une pénétrance incomplète de la mutation C282Y. D'autres gènes inconnus et probablement liés à l'absorption intestinale du fer modèleraient donc son expression clinique. L'absorption du fer se mettant en place au cours de la différenciation entérocytaire, nous nous sommes intéressés aux variations du transcriptome au cours de cette différenciation en utilisant les cellules Caco-2 comme modèle dans une étude reposant sur la technologie des puces à ADN. Les gènes d'expression significativement différentielle ont été identifiés par les méthodes SAM et SOM2D. L'annotation fonctionnelle de ces gènes a été réalisée grâce à la base de données Pubgene et à l'outil Madsense.

Des 720 gènes représentés sur les puces, 130 ont montré une variation significative de leur expression au cours de la différenciation (diminution pour 80 et augmentation pour 50) et 56 ont montré une expression constante. Concernant le métabolisme du fer, les gènes codant l'héphaestine, Nramp2, Ireg-1 et la transferrine voient leur expression augmenter au cours de la différenciation, tandis que celle des gènes ATP7B, ZIRT1 (et SFT) diminue, et celle de ACO1, dCYTb, FECH et FTH1 est constante. L'annotation fonctionnelle des résultats témoigne d'une diminution de l'expression de gènes du cycle cellulaire et du métabolisme de l'ADN, de la transcription, du métabolisme des protéines, de la transduction du signal et du transport nucleocytoplasmique. En revanche, l'expression de gènes associés à l'adhésion cellulaire, au métabolisme des lipides et des xénobiotiques, au transport du fer, ainsi qu'à la réponse immunitaire, augmente au cours de la différenciation.

113 >> Poster n°194**GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE****GÈNES NUCLÉAIRES IMPLIQUÉS DANS LA STABILITÉ DE L'ADNMT : À PROPOS DE CAS SPORADIQUES ET FAMILIAUX.**

M. Naïmi (1), J. Pouget (2), J.F. Pelissier (3), C. Desnuelles (4), C. Richelme (5), J.C. Lambert (1), C. Turc-Carel (1), V. Paquis (1)

(1) Laboratoire de Génétique, CHU Archet II, Nice

(2) Service Neurologie et Maladies Neuromusculaires, CHU Timone Adultes, Marseille

(3) Laboratoire d'Anatomie Pathologique et Neuropathologie, CHU Timone Adultes, Marseille

(4) Service de Rééducation fonctionnelle, CHU Archet II, Nice

(5) Département de Pédiatrie, CHU Archet II, Nice

Des mutations dans des gènes nucléaires, impliqués dans la stabilité du génome nucléaire (ADNmt), entraînent l'apparition de délétions multiples de l'ADNmt dans les tissus post-mitotiques, habituellement le muscle squelettique. A ce jour, quatre gènes ont pu être identifiés dans ces pathologies. Parmi eux, ANT1 (Adenine Nucleotide Translocator 1), Twinkle et POLG (Polymerase Gamma) sont impliqués dans des tableaux cliniques variés, mais incluant généralement une ophtalmoplégie externe (CPEO). Ces atteintes peuvent être sporadiques ou de transmission autosomique dominante (adPEO) ou récessive (arPEO).

Dans le laboratoire, nous avons mis en place l'étude de ces trois gènes en routine. Nous avons étudié une série de 11 patients présentant des délétions multiples de l'ADNmt dans le muscle. Les modes de transmission et les tableaux cliniques sont extrêmement variés. Dans quatre familles, on ne retrouve pas de CPEO mais l'atteinte est dominée par une atrophie optique, une myopathie des ceintures ou une dysarthrie avec troubles de la déglutition et ataxie. Dans une famille adPEO, nous avons mis en évidence une mutation dans Twinkle qui ségrège avec l'affection. Pour l'instant, aucune mutation dans ANT1 n'a pu être identifiée et l'étude de POLG (23 exons) se poursuit. L'étude de ces gènes est particulièrement importante pour certaines familles, dans lesquelles le tableau est dominé par une atteinte neurologique grave et de début précoce. C'est, en effet, le seul moyen de pouvoir proposer un diagnostic prénatal. Par ailleurs, l'étude de ces gènes devrait permettre de mieux comprendre les mécanismes impliqués dans le maintien et la stabilité de l'ADNmt.

114 >> Poster n°195**GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE****ANOMALIES DES VOIES DE SIGNALISATION DANS LES RETARDS DE CROISSANCE OSSEUSE LIÉES AU GÈNE FGFR3**

L. Legeai-Mallet, C. Benoist-Lasselin, J. Martinovic, A. Munnich, J. Bonaventure

Unité de Recherches sur les Handicaps Génétiques de l'Enfant, INSERM U393, Hôpital des Enfants Malades, Paris.

L'achondroplasie (ACH), l'hypochondroplasie (HCH) et le nanisme thanatophore (TDI & TDII) sont trois chondrodysplasies associées à des mutations récurrentes du gène FGFR3 (Fibroblast Growth Factor Receptor 3). Les mutations "gain de fonction" de ce récepteur entraînent son activation constitutive en l'absence de ligand. Afin de comprendre les voies de signalisation impliquées dans les phénotypes humains nous avons étudié des foetus atteints

de chondrodysplasie. L'étude histologique du cartilage chez des fœtus âgés de 17 à 35 semaines, montre une désorganisation importante de la plaque de croissance qui s'accroît au cours de la vie fœtale, corrélée avec la sévérité du phénotype. Nous avons observé une diminution importante de l'expression du collagène de type X dans les chondrocytes hypertrophiques et une forte augmentation des protéines Stat1, Stat5 (Signal Transducers and Activators of transcription) et p21Cip1 (Cyclin-dependent kinase inhibitor) dans les chondrocytes pré-hypertrophiques. La co-expression des protéines FGFR3 et Stat1 dans les chondrocytes pré-hypertrophiques, révélée par immuno-marquage, suggère que la surexpression de Stat1 est liée à l'activation constitutive de FGFR3.

Nos résultats indiquent que pendant la période prénatale les mutations FGFR3 entraînent une surexpression des protéines Stat/p21Cip, ce qui induit un arrêt prématuré du cycle cellulaire et une différenciation terminale perturbée des cellules pré-hypertrophiques. La maturation accélérée et défectueuse des chondrocytes semble être la principale cause du retard de croissance des os longs dans cette famille de chondrodysplasies.

116**GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE****ANALYSE IN VITRO DE LA PLASTICITÉ SYNAPTIQUE CHEZ UN MODEL MURIN DE LA MALADIE DE HUNTINGTON - IMPLICATIONS POUR LES PROCESSUS DE COGNITION ET DE MÉMORISATION**

D. Cumming, A. Milner, G. Dallérac, S. Vatsavayaj, K. Murphy
Department of Biological Sciences, The Open University, Milton Keynes

La maladie de Huntington est une maladie génétique neurodégénérative autosomique dominante, progressive et fatale. Elle est due à une expansion de la répétition du codon CAG dans l'exon 1 du gène codant pour la protéine huntingtine. Les patients pré-symptomatiques présentent fréquemment des déficiences cognitives qui précèdent la déclaration de la maladie, ses symptômes classiques et la mort cellulaire. En outre, le déclin cognitif est associé à une plasticité synaptique anormale, suggérant que ce déclin cognitif précoce serait attribuable à un dysfonctionnement synaptique.

Les fonctions synaptiques au niveau de l'hippocampe ont été examinées dans plusieurs lignées murines transgéniques pour le gène de la maladie de Huntington. La caractéristique la plus remarquable de la plasticité synaptique étudiée dans la lignée R6/2 fut l'induction du phénomène de dépression à long terme (LTD) totalement absent dans les souris contrôles du même âge.

Nous avons maintenant étendu nos recherches pour y inclure la lignée R6/1, laquelle présente une progression phénotypique plus lente. Nous avons confirmé que les souris R6/1 exhibent également une forme de LTD inhabituelle, évidente à l'âge de 9 mois.

Part ailleurs, le cortex est impliqué dans de nombreux aspects de la cognition et subit une atrophie marquée au cours de la maladie. Nous avons donc décidé d'étudier le phénomène de LTD dans une aire corticale où il est la forme prédominante de plasticité ; le cortex périrhinale.

Ces études devraient apporter des indices concernant le rôle de la LTD dans la pathogenèse et les syndromes neurologiques associés à la maladie de Huntington.

117

GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE

LA FIÈVRE MÉDITERRANÉENNE FAMILIALE: ETUDE DES GÉNOTYPES ET DES HAPLOTYPES CORRESPONDANTS DANS UNE GRANDE FAMILLE DU SUD LIBAN

M. Medlej-Hashim (1), E. Chouery (1), N. Salem (1), J. Loiselet (1), V. Delaue (1), G. Lefranc (2), A. Mégarbané (1)

(1) Unité de Génétique Médicale, Faculté de Médecine, Université Saint Joseph, Beyrouth, Liban

(2) Laboratoire d'Immunogénétique Moléculaire, Institut de Génétique

Humaine, CNRS UPR 1142 et Université Montpellier II

Introduction: La fièvre Méditerranéenne familiale (FMF) est une maladie autosomale récessive caractérisée par des crises récurrentes et inexplicables de fièvre, accompagnée d'une inflammation des séreuses. Le gène MEFV, qui en est responsable, a été identifié en 1997 sur le chromosome 16. Objectif: Cette étude porte sur l'analyse des génotypes et des haplotypes de 31 patients FMF et de 32 individus sains originaires d'un village du Sud Liban nommé Houla, où la consanguinité est importante et la prévalence de la maladie est de 1:7.

Résultats et discussion: L'étude moléculaire a montré la présence de 5 mutations différentes du gène MEFV dans cet «isolat génétique». Trois de ces mutations, M694I, M694V et V726A, ont été fréquemment retrouvées, alors que les 2 autres, E148Q et R761H, ont été détectées chez 2 malades chacune.

L'étude d'haplotypes a été entreprise, grâce à 4 marqueurs proches du gène, D16S3370, D16S2617, D16S3373 et D16S3275. L'allèle porteur de la mutation M694I, retrouvé dans toutes les branches de la famille, est bien conservé, et semble être ancestral, alors que les mutations M694V, V726A et E148Q ont été associées à différents haplotypes. Le marqueur D16S3275, le plus centromérique, semble avoir subi des recombinaisons à plusieurs reprises. Par contre, le marqueur D16S3373 n'est pas très informatif: seulement 2 allèles de ce marqueur ont été identifiés dans la famille.

Conclusion: L'étude du village de Houla a permis de caractériser les haplotypes des différentes mutations identifiées, d'en suivre la transmission, et d'observer l'effet fondateur de la mutation M694I, rencontrée surtout chez les Arabes.

122 >> Poster n°196

GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE

INFEVERS: UNE BASE DE DONNÉE ÉVOLUTIVE POUR LES SYNDROMES AUTOINFLAMMATOIRES

I. Toutou (1), S. Lesage (2), M. McDermott (3), L. Cuisset (4), H. Hoffman (5), C. Dodé (4), N. Shoham (6), E. Aganna (3), J.P. Hugot (2), C. Wise (7), H. Waterham (8), D. Pugnère (9), J. Demaille (1), C. Sarrauste de Menthière (9)

(1) Laboratoire de génétique moléculaire et chromosomique, Hôpital A de Villeneuve, Montpellier

(2) Fondation Jean Dausset/CEPH, Paris

(3) Barts and London, Queen Mary's School of Medicine and Dentistry, London, UK

(4) Department of Biochemical Genetics, Cochin Hospital, Paris

(5) Allergy-immunology Section, Department of Pediatrics, Medical College of Georgia, Augusta, Georgia, USA

(6) National Institute of Arthritis and Musculoskeletal and Skin Diseases, National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA

(7) Sarah M. and Charles E. Seay Center for Musculoskeletal Research, Texas Scottish Rite Hospital for Children, Dallas, TX,

USA

(8) Laboratory Genetic Metabolic Diseases, Department of Pediatrics, Emma Children's Hospital, and Academic Medical Center, University of Amsterdam, Amsterdam, The Netherlands

(9) Institut de génétique humaine, CNRS-UPR1142, Montpellier

La base de données INFEVERS (<http://fmf.igh.cnrs.fr/infevers/>) a été établie en 2002 dans le but d'offrir aux investigateurs un accès à une source centralisée d'informations sur les variants de séquence associés aux fièvres périodiques: FMF: Fièvre méditerranéenne familiale, TRAPS: TNF Receptor Associated Periodic Syndrome, HIDS: Hyper IgD Syndrome, FCAS/MWS/CINCA: Familial Cold Autoinflammatory Syndrome/Muckle-Wells Syndrome/Chronic Infantile Neurological Cutaneous and Articular Syndrome). Le prototype de ce groupe d'affections est la FMF, une maladie récessive caractérisée par des accès récurrents d'inflammation inexplicables. La fonction de la protéine causale est en cours d'élucidation. Il est apparu récemment que les fièvres périodiques font partie d'une famille grandissante de désordres autoinflammatoires, terme récemment créé pour définir des maladies dues à une défaillance de l'immunité innée. Nous avons donc décidé d'étendre notre base de données aux gènes impliqués dans l'autoinflammation. Nous présentons l'ouverture de deux nouvelles entrées: Crohn/Blau et PAPA: Pyogenic sterile arthritis, pyoderma gangrenosum and acne. Infevers est interrogeable de multiples façons et contient actuellement environ 270 variants de séquence. Le rassemblement en un même site de toutes les données publiées et d'une série intéressante de communications personnelles a révélé ou précisé les sites préférentiels de mutations pour chaque gène. Nous espérons faire évoluer constamment cette base de données dans son contenu et sa présentation.

124 >> Poster n°197

GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE

HÉMOPHILIES ET DÉLÉTIONS : DIAGNOSTIC DES CONDUCTRICES PAR PCR QUANTITATIVE EN TEMPS RÉEL

C. Costa (1,5), J.M. Jouannic (2), N. Stieltjes (3), J.M. Costa (4), A. Delahaye (1), E. Girodon (1,5), M. Goossens (1,5)

(1) Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHU Henri Mondor AP-HP

(2) Service de médecine Fœtale, Institut de Puériculture de Paris, Paris

(3) Centre de Traitement des hémophiles, Groupe Hospitalier Cochin,

Saint Vincent de Paul, Paris

(4) Centre de diagnostic prénatal, Hôpital Américain de Paris Neuilly/Seine

(5) INSERM U468 CHU Henri Mondor Créteil

Les délétions complètes ou partielles des gènes F8 et F9 représentent environ 5% des anomalies responsables des hémophilies. Le diagnostic moléculaire direct des conductrices constitue alors un problème délicat. Le dosage génique par PCR en temps réel permet de surmonter cet obstacle. Nous présentons ici une méthode simple utilisant le LightCycler, fondée sur l'utilisation du Sybrgreen comme système de détection. Cette méthode a été appliquée avec succès dans une famille d'hémophilie B sévère dont la mutation délétère est une délétion partielle du gène du facteur IX de la coagulation, s'étendant de l'exon 5 jusqu'au delà du site de polyadénylation. La quantification relative du nombre de copies du gène F9 (exon 8) par rapport à un

gène de référence autosomique (beta-globine) a été étudiée chez deux patientes de cette famille ainsi que chez des sujets contrôles féminins et masculins. Le ratio gène F9 / gène beta-globine a été calculé à partir d'une gamme d'ADN témoin féminin. Comme attendu, le ratio observé dans le groupe contrôle féminin (0,99+/-0,15 ; n=5) est le double de celui obtenu dans le groupe contrôle masculin (0,41+/-0,03 ; n=4). L'analyse réalisée chez une patiente conductrice obligatoire (ratio=0,46) a confirmé l'efficacité de la méthode et nous a permis d'exclure le statut de vectrice chez une autre (ratio=0,99).

La méthode décrite, est simple, rapide, peu coûteuse, efficace et de développement peu complexe. Elle peut être appliquée à l'étude d'autres gènes de maladies où des délétions peuvent être en cause.

146 >> Poster n°198

GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE

DIAGNOSTIC DES HÉMOPHILIES A ET B PAR DHPLC ET SÉQUENÇAGE

P. Boisseau (1), O. Herbert (1), M. Trossaert (2), E. Fressinaud (2), JP. Moisan (1), F. Gerçon (1), S. Bezieau (1)

(1) Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHU de Nantes

(2) Centre de Traitement de l'Hémophilie, CHU de Nantes

L'avènement de nouvelles techniques de recherche de mutations ont permis aux laboratoires de faire évoluer considérablement leurs stratégies diagnostiques et de fournir ainsi aux cliniciens une information de plus en plus précise sur la pathologie de leurs patients. Ainsi, il y a peu, la grande majorité des hémophiles était diagnostiquée sur l'inversion de l'intron 22 du gène du facteur VIII, si cette anomalie n'était pas présente une étude indirecte était mise en œuvre. Maintenant les analyses directes sont réalisables plus facilement et à un coût qui diminue d'année en année. C'est ainsi que les patients sont systématiquement génotypés. Nous avons ainsi développé une stratégie de criblage DHPLC des séquences codantes des facteurs VIII et IX ainsi que des jonctions intron-exon et séquençage des profils variants. Cette option nous permet de déterminer rapidement : un mois pour le facteur VIII et une semaine pour le facteur IX la mutation responsable. De plus l'utilisation de deux techniques différentes permet une couverture plus importante de détermination des mutations, nous pouvons estimer ce taux supérieur à 95%. A ce jour nous avons testé 170 hémophiles A et 30 hémophiles B et nos taux de réussite sont de 100% de mise en évidence de mutation sur les gènes des facteurs VIII et IX, responsables des hémophilies A (sévères hors inversions des introns 1 et 22) et B respectivement. Pour les hémophiles A atténués, ce taux descend à 98% (nous n'avons pas trouvé de mutation chez deux de nos patients).

147

GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE

NÉCESSITÉ DE COMPARER TISSU TUMORAL TISSU SAIN POUR LA DÉTERMINATION DU STATUT RER DANS LE CANCER DU COLON

C. Delnatte (1), I. Maury (1), B. Buecher (2), S. Bézieau (1)

(1) Service de Génétique Moléculaire, CHRU Hôtel-Dieu, Nantes

(2) Service de Gastroentérologie, CHRU Hôtel-Dieu, Nantes

Dans le cadre de notre activité diagnostique de détermination du statut RER, nous avons mis en évidence une patiente

présentant deux allèles au niveau de BAT25 (un allèle à 25 répétitions, un autre à 19). Ce profil a été retrouvé à partir de l'ADN extrait de tissu tumoral mais également de tissu sain. Nous avons étudié le marqueur BAT25 au niveau de l'ADN extrait d'un prélèvement sanguin afin de confirmer que ce profil se trouvait bien au niveau germlinal.

BAT25 est décrit comme quasiment monomorphique dans différentes populations témoins étudiées, avec des variations alléliques qui ne dépassent pas deux nucléotides.

Seule une étude sur des populations Africaines a remis en cause le caractère monomorphique de BAT25 dans deux populations témoins : l'une Noir Américaine, l'autre Nigériane atteinte de cancers colorectaux sporadiques. Il ressort de cette étude que 18,4 % de la population de Noirs Américains est polymorphique pour BAT25.

Le profil obtenu pour notre patiente confirme l'existence de deux allèles au niveau germlinal pour le marqueur BAT25. Cette patiente étant d'origine vendéenne, nous avons testé BAT25 au niveau germlinal dans une population d'origine vendéenne atteinte de cancers colorectaux sporadiques (n = 98).

En conclusion, notre étude montre l'importance de réaliser le test RER en comparant les profils obtenus à partir de l'ADN tumoral par rapport au tissu sain. Dans notre cas, l'absence d'ADN sain aurait pu conduire au statut MSI, et à une mauvaise classification du phénotype tumoral de notre patiente.

150 >> Poster n°199

GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE

ANOMALIE DE DISTRIBUTION DES PROTÉINES DE LA MYÉLINE PÉRIPHÉRIQUE LIÉE À L'INSERTION D'UNE PROTÉINE PLP/DM20 MUTÉE

C. Vours-Barrière (1), K. Wong (2), TD. Weibel (3), M. Abu-Asab (4), MD. Weiss (3), CR. Kaneski (3), TH. Mixon (2), S. Bonavita (5), I. Creveaux (1), JD. Heiss (3), M. Tsokos (4), E. Goldin (3), RH. Quarles (3), O. Boespflug-Tanguy (1), R. Schiffmann (3)

(1) INSERM U384, Clermont-Ferrand

(2) Department of neuropathology, Armed Forces Institute of Pathology,

Washington, D.C., USA

(3) National Institutes of Neurological Disorders and Stroke, National

Institutes of Health, Bethesda, MD, USA

(4) Laboratory of pathology, National Cancer Institute, National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA

(5) Second division of Neurology, University of Naples, Naples, Italy

L'association d'une SPG de survenue précoce chez deux garçons avec atteinte des conductions nerveuses centrales et périphériques et aspect d'hypomyélinisation de la substance blanche à l'IRM nous a fait rechercher une implication du gène PLP.

Le séquençage de PLP a révélé une mutation ponctuelle dans le site donneur d'épissage de l'intron 4 (IVS4+1G>A). L'analyse des ARNm PLP/DM20 à partir d'une biopsie de nerf a montré deux types de transcrits : un avec une délétion de l'exon4 et l'autre qui comprend l'exon4 + 10pb de l'intron4. Les protéines codées par ces différents transcrits sont toutes tronquées à leur extrémité C-terminale.

L'analyse du nerf sural au niveau protéique a montré une :

- absence de protéine PLP/DM20 sauvage
- insertion des protéines PLP/DM20 mutées dans les feuillettes myéliniques
- réduction significative du niveau d'expression des protéines MAG, MBP, P0
- anomalie de distribution de ces protéines dans la myéline.

L'absence de protéine PLP ou la présence de protéine tronquée dans les PMD et SPG2 a déjà été associée à une atteinte neurogène périphérique. Les observations décrites ici pour la première fois chez l'homme suggèrent :

- que la présence de protéine PLP/DM20 mutée semble induire une distribution anormale des autres protéines de la myéline dans le SNP
- un rôle fonctionnel important pour l'extrémité C-terminale.

Il est toutefois difficile d'évaluer dans quelle mesure la protéine PLP mutée est responsable de l'hypomyélinisation et de la désorganisation de la myéline. Cependant, ces résultats rejoignent ceux rapportés chez les souris mutées pour mbp ou p0.

152

GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE

ADENOVIRUS MEDIATED A NOVEL APOPTOSIS INDUCING GENE ASY FOR ONCOLYTIC EFFECT

L. Boublenza (1), Y. Qi (2)

(1) Institut de biologie, université de Tlemcen, Tlemcen, Algérie

(2) Institute of Virology, Wuhan University, Wuhan, China

Gene therapy designed to initiate tumor cell death provides a potentially effective method to treat cancer. The asy gene is a novel isolated gene inducing cell apoptosis strongly. To test the possibility that asy gene can be used in cancer gene therapy, we try to generate a recombinant adenovirus engineered to express asy gene and tested in vitro the effects of viral infection on the growth and tumorigenicity of tumor cells, and compare its effect in normal cell. The result showed that the cell apoptotic effect of the recombinant adenovirus (rAdasy) was strong in cancer cells, which induced apoptosis in HeLa cells and A549 cells 12 hrs-post infection. In normal cell (MRC-5) the apoptosis can be observed at low level 51 hrs-post infection. In summary, adenovirus mediated asy gene expression might be an available project for cancer gene therapy. Key words: Adenovirus vector, asy gene, cell apoptosis, cancer gene therapy.

153 >> Poster n°200

GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE

CORRÉLATION ENTRE LE PHÉNOTYPE CLINIQUE, LES DONNÉES MÉTABOLIQUES ET LE GÉNOTYPE DANS LES DÉFICITS EN CARNITINE PALMITOYLTRANSFÉRASE 2

L. Thuillier (1), V. Droin (1), M. Brivet (2), N. Kadhom (3), C. Prip-Buus (4), S. Gobin (4,5), F. Djouadi (5), J. Bastin (5), JM. Saudubray (6), JP. Bonnefont (1,5).

(1) Biochimie B, Hôpital Necker, Paris

(2) Biochimie, Hôpital Bicêtre, Le Kremlin Bicêtre

(3) Génétique Médicale, Hôpital Necker, Paris

(4) INSERM U567 et CNRS UMR810, Institut Cochin, Paris

(5) INSERM U393, Hôpital Necker, Paris

(6) Département de Pédiatrie, Hôpital Necker, Paris

Le déficit en carnitine palmitoyltransférase 2 (CPT2) est

l'une des plus fréquentes anomalies héréditaires de l'oxydation mitochondriale des acides gras. La forme "bénigne" de l'adulte se limite à une atteinte musculaire alors que la forme infantile comporte une atteinte hépatocardiomyosculaire létale. Nous avons comparé les données moléculaires, les flux d'oxydation des acides gras, et les activités enzymatiques résiduelles dans une cohorte de 20 patients présentant l'une ou l'autre des présentations cliniques du déficit. Il apparaît que la nature et la localisation des mutations ainsi qu'un ou plusieurs facteurs génétiques associés modulent le flux résiduel d'oxydation des acides gras et corrélativement la sévérité de l'affection.

154

GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE

IMPLICATION DES GÈNES HOX-A7 À -A13 ET DE LEURS PARTENAIRES DANS PLUSIEURS FORMES D'APLASIE UTÉRO-VAGINALE CONGÉNITALE

A. Burel (1), T. Mouchel (2), I. Pellerin (1), D. Guerrier (1)

(1) UMR 6061 - CNRS, Faculté de Médecine, Rennes

(2) Service de Gynécologie-Obstétrique, CHU-Hôpital Sud, Rennes

Parmi les malformations congénitales du tractus génital féminin, le syndrome de Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser (MRKH) est la deuxième cause d'aménorrhée primaire (incidence ~ 1/5000 naissances). Il est diagnostiqué chez des patientes présentant un caryotype normal 46,XX ainsi que des ovaires normaux et fonctionnels. Il se caractérise par l'absence totale ou partielle de trompes, utérus et partie interne du vagin, imputable à l'arrêt ou à la non-différenciation des canaux de Müller, ébauches embryonnaires de ce tractus. L'aplasie Müllérienne est très souvent associée à d'autres malformations, le plus souvent rénales (30-50%) et osseuses (10-20%). Dans ce dernier cas, la dénomination de MURCS (Mullerian aplasia-Renal aplasia-Cervicothoracic-Somite) est employée. L'étiologie du MRKH reste indéterminée.

Parmi le peu de gènes dont l'implication dans la différenciation des canaux de Müller est établie, figurent les gènes Hox-A7, -A9, -A10, -A11 et -A13. Ils appartiennent à une famille de 39 membres, les gènes homéotiques HOM/HOX, impliqués dans de nombreux mécanismes du développement. Afin d'identifier les événements génétiques responsables de ce syndrome, notre première approche a consisté à rechercher des mutations dans les régions codantes des gènes Hox-A7 à -A13 ainsi que dans celles de leurs partenaires connus (Pbx1b et vHNF1). Dans le cas de 3 patientes non apparentées présentant un MURCS et d'une famille dont 3 sœurs sur 4 ainsi que 2 tantes paternelles sont atteintes d'aplasie Müllérienne isolée, aucune mutation n'a pu être mise en évidence. Notre travail s'oriente maintenant vers l'étude de certaines régions régulatrices des Hox d'une part, et la recherche d'autre gènes candidats.

156 >> Poster n°201**GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE****LE GÈNE OMGP DANS LE SYNDROME AUTISTIQUE: DE LA CELLULE AUX PATIENTS**

I. Martin (1), P. Vourc'h (1), S. Marouillat-Vedrine (1), AM. Persico (2), C. Andres (1)

(1) INSERM U316 Équipe 4 « Génétique de l'autisme et de la déficience mentale » Faculté de médecine 2b, Tours

(2) Laboratory of Molecular Psychiatry & Neurogenetics University, Rome, Italy

L'autisme est un syndrome touchant environ 20 enfants pour 10,000. Plusieurs études ont rapporté un risque accru de neurofibromatose de type 1 chez les patients souffrant d'autisme. Nous avons mis en évidence la présence d'un nouvel allèle du marqueur microsatellite GxAlu chez 4 patients autistes. Cet allèle est absent dans une population contrôle. GxAlu est situé dans l'intron 27b du gène NF1, muté dans la neurofibromatose. L'intron 27b contient le gène OMGP, le plus proche du marqueur GxAlu. Ce gène présente un polymorphisme (G62A) exprimé au niveau du peptide signal de la protéine, sous forme d'une glycine ou d'un aspartate respectivement. La surexpression des deux formes d'OMGP dans des cellules Cos7 en culture a permis de montrer une différence de prolifération entre les cellules exprimant soit l'une ou l'autre forme de la protéine. Un défaut d'adressage de la protéine a également été mis en évidence. Nous avons analysé la distribution du polymorphisme d'un seul nucléotide codant OMGP62 dans une population contrôle et chez des patients autistes, et nous avons observé une association entre l'allèle A de ce polymorphisme et le groupe de patients autistes présentant un quotient de développement supérieur ou égal à 30 ($p=0.015$). Nous effectuons actuellement un test de déséquilibre de transmission de ce polymorphisme dans des familles italiennes, américaines et françaises, afin de vérifier que l'association entre OMGP et l'autisme est bien due à une liaison entre ce marqueur et la maladie. Ce test permettra en outre de vérifier si ce locus est soumis à l'empreinte parentale.

158 >> Poster n°202**GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE****LOCALISATION D'UN LOCUS RESPONSABLE DE MYOPIE FORTE AUTOSOMIQUE DOMINANTE SUR LE CHROMOSOME 7Q36.3**

S. Julia (1), S. Paget (2), F. Malecaze (3), P. Calvas (1)

(1) Service de Génétique Médicale et INSERM U563 Hôpital Purpan, CHU de Toulouse

(2) INSERM U563, Toulouse

(3) Service d'Ophtalmologie et INSERM U563, Hôpital Purpan, CHU de Toulouse

La myopie forte familiale est une affection fréquente atteignant environ 1,5 % de la population mondiale. L'implication de facteurs génétique a été longuement débattue jusqu'aux démonstrations récentes menées à propos d'études familiales modélisant la ségrégation du trait comme un caractère autosomique et dominant et la liaison à des locus de susceptibilité sur le chromosome 18p11.31a, 12q21b, 17q21-22c. Nous avons antérieurement rapporté la forte suggestion d'une liaison au locus 7q36d. 28 familles informatives ont été retenues parmi un pool de 90 familles multiplex incluant 250 sujets et 90 myopes forts.

La fréquence du trait a été estimée à 0,013 dans la population française et sa pénétrance à 0,59. Les analyses de liaisons paramétrique et non paramétriques ont été conduites à l'aide des programmes LINKAGE et Genehunter. Un lod-score bi-point de 3,5 à $\Theta=0$ est retrouvée pour le marqueur D7S2464 et multipoint de 5,50 dans un intervalle de 8,8 cM sur le chromosome 7q36.3. L'analyse de nouvelles familles françaises permet de confirmer la liaison au locus 7q36.3 et de révéler une hétérogénéité génétique portant à au moins cinq le nombre de locus autosomiques contenant un gène de susceptibilité à la myopie forte familiale. Aucun gène candidat n'a encore fait la preuve de son implication. (a) (b) Young TL et al. Am J Med Genet, 1998. (c) Paluru P et al. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2003. (d) Nainlin et al. J Med Genet, 2002.

160**GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE****DÉTERMINATION DU NOMBRE DE COPIES SMN : INTÉRÊTS ET LIMITES À PROPOS DE L'ÉTUDE D'UNE GRANDE FAMILLE**

S. Monnot (1), F. Giuliano (1), C. Missirian (2), JC. Lambert (1), C. Turc-Carel (1), V. Paquis (1)

(1) Service de Génétique, CHU de Nice

(2) Département de Génétique Médicale, CHU La Timone, Marseille

Lorsqu'il existe un antécédent familial d'amyotrophie spinale, la détermination du nombre de copies du gène SMN1 permet de dépister les hétérozygotes et d'améliorer le conseil génétique. Par ailleurs, en cas de délétion homozygote du gène SMN1, le nombre de copies SMN2 pourrait être un élément modulateur du phénotype. Les patients atteints de formes II et III présenteraient, en effet, un nombre de copies SMN2 plus élevé que ceux atteints de forme I. Il est donc important de pouvoir déterminer, en routine, le nombre de copies SMN dans un laboratoire de diagnostic hospitalier. Différentes techniques ont été décrites. Dans le laboratoire, nous utilisons la technique de PCR multiplex fluorescente semiquantitative décrite par Saugier et coll. Les copies SMN sont amplifiées simultanément à l'exon 11 de BRCA1 et à l'exon 18 de MLH1 (qui sert de témoin de digestion). Une digestion DraI permet ensuite de différencier les copies SMN1 et SMN2 avant passage sur un analyseur d'ADN. Nous avons étudié une grande famille dans laquelle le cas index était un garçon atteint d'une amyotrophie spinale de type I. Sur une fratrie de 8 individus étudiés, 6 étaient porteurs d'une seule copie SMN1. Cette étude illustre l'intérêt mais également les difficultés liées à cette technique. Dans le but d'améliorer la reproductibilité des résultats, il faut souligner (i) l'intérêt du calcul systématique des rapports SMN1/MLH1 et SMN1/BRCA1, (ii) la nécessité d'utiliser toujours la même technique d'extraction d'ADN, (iii) la nécessité de réaliser chaque analyse au moins 2 fois et (iiii) une interprétation plus délicate pour la quantification SMN2.

162 >> Poster n°203**GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE****DYSPLASIES ECTODERMiques HÉRÉDITAIRES : UNE IMPLICATION SIGNIFICATIVE DU GÈNE EDAR**

S. Bourthoumieu (1), MC. Vincent (2), C. Colombiès (1), N. Janisse (1), N. Chassaing (2), L. Burglen (3), A. Hovnanian (2), P. Calvas (2)

(1) Service de Génétique Médicale, Hôpital Purpan, CHU de Toulouse

(2) Service de Génétique Médicale et INSERM U563, Hôpital

Purpan, CHU de Toulouse
(3) Service de Génétique Médicale, Hôpital Trousseau, Paris

Les dysplasies ectodermiques anhydrotiques (HED) sont un groupe de maladies cliniquement et génétiquement hétérogènes qui résultent d'un développement embryonnaire anormal des dérivés ectodermiques. Cinq gènes sont actuellement incriminés :

- ED1 (Xq12) lors de transmission liée à l'X (> 200 sujets mutés non apparentés),
- XEDAR (Xq28) lors d'une transmission à l'X (1 famille),
- EDAR (2q11-13) dans des formes autosomiques dominantes ou récessives (7 familles),
- EDARADD (1p42.2-43) (1 famille consanguine),
- NEMO (Xq28) dans les formes de XLHED associées à un déficit immunitaire (12 familles).

Les produits de ces gènes participent à la voie de signalisation TNF/TNFR qui intervient par activation du facteur NF-κB dans le développement des cheveux, des dents et des glandes sudoripares.

Dans notre expérience, une mutation de ED1 est identifiée dans environ 70 % des HED. Nous avons recherché l'implication du gène EDAR sur un échantillon de 10 cas d'HED typiques, sporadiques ou familiales. Le séquençage direct des régions codantes du gène EDAR a permis d'identifier 1 mutation connue (R240Q) et 2 originales (I418T, C377F) dans des formes « sporadiques ».

Ces trois mutations concernent des résidus hautement conservés. Ils sont situés dans l'exon 12 du gène qui code pour le domaine death de la protéine. La responsabilité de l'exon 12 du gène est donc démontrée dans 5 des 9 mutations retrouvées à ce jour. Cette série permet d'évaluer l'importance relative de l'implication du gène EDAR dans la genèse des HED et de déterminer une région fonctionnellement importante à fort potentiel de mutation.

166 >> Poster n°204

GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE

UN PHÉNOTYPE VARIABLE LIÉ À UNE NOUVELLE MUTATION DU GÈNE PAX 6 (IVS4+5G>C) DANS UNE FAMILLE DE NYSTAGMUS CONGÉNITAL ET D'HYPOLASIE FOVÉALE.

MC. Vincent (1), R. Gallai (2), D. Olivier (1), C. Speeg-Schatz (3), J. Flament (3), P. Calvas (1), H. Dollfus (2)

(1) Service de Génétique Médicale & INSERM U563, Hôpital Purpan, CHU de Toulouse

(2) Service de Génétique Médicale, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg

(3) Service d'Ophthalmologie, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg

Le spectre phénotypique des mutations du gène PAX6 est variable. Afin d'évaluer son implication dans des phénotypes oculaires inhabituels nous avons étudié une famille présentant un nystagmus congénital, une hypoplasie fovéale associée à une hypoplasie irienne ou un colobome irien atypique.

L'intégralité des régions codantes du gène PAX6 a été analysée à la recherche de mutation (ADN et ARN) chez les cinq membres atteints de la famille et 200 chromosomes témoins.

Une mutation hétérozygote originale d'épissage (IVS4+5G>C) a été identifiée. Elle est située dans l'intron 4 au niveau du site consensus donneur d'épissage. Elle conduit à la synthèse d'un ARNm mutant privé de l'exon 4. La séquence protéique devrait contenir un codon ATG

cryptique localisé dans l'exon 3, qui permettrait la synthèse d'un domaine paired légèrement modifié et de domaines, homéo et de transactivation fonctionnels au sein d'une protéine allongée (435-442 amino-acides contre 422-435 dans la forme sauvage).

Cette altération, une des plus discrètes décrites, de la protéine PAX6 est responsable de l'association d'anomalies modérées du segment antérieur avec une hypoplasie fovéale sévère, responsable d'une malvoyance congénitale. Cet effet d'un allèle hypomorphe de PAX6, suggère fortement l'existence de cascades différentes impliquant le gène dans le développement et la maintenance des segments antérieur et postérieur de l'œil.

167

GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE

NOUVELLES MUTATIONS DE FOXC1 DANS LES DYSGÉNÉSIES DU SEGMENT ANTÉRIEUR DE L'OEIL

MC. Vincent (1), S. Ibos (2), J. Kaplan (3), P. Calvas (1)

(1) Service de Génétique Médicale et INSERM U563, Hôpital Purpan, CHU de Toulouse

(2) Service de Génétique Médicale, Hôpital Purpan, CHU de Toulouse

(3) Département de Génétique Médicale et INSERM U393, Hôpital des Enfants Malades, Paris

L'embryogenèse de l'œil est un phénomène complexe et ses contraintes génétiques multiples. La pathologie malformative est riche, en particulier au niveau du segment antérieur. La plupart des gènes impliqués dans la différenciation de la chambre antérieure sont responsables de dysgénésies dont les caractères morphologiques définissent un spectre continu. L'identification d'un gène candidat d'après un phénotype est donc imprécise. Nous tentons d'estimer l'implication de différents gènes générateurs de dysgénésies du segment antérieur de l'œil. La responsabilité des gènes PITX2 et FOXC1 a été évaluée chez 38 cas exempts de mutation des gènes PAX6 et CHX10. Les régions codantes ont été analysées par séquençage. La découverte d'une mutation reste minoritaire au sein de la population étudiée (2/38) de même que la responsabilité du gène PITX2 (aucun cas). Une anomalie de FOXC1 était présente dans trois cas, incluant deux nouveaux variants :

- une mutation faux sens A90P chez un sujet présentant un syndrome de Rieger typique, sans antécédent familial.

- une mutation faux sens A33V dans une forme familiale dominante de colobome oculaire atypique isolé ou associé. La faible fréquence de telles malformations et de leurs formes familiales, leur hétérogénéité génétique complexifient le diagnostic et le conseil génétique tout autant que l'identification des gènes responsables.

168 >> Poster n°205**GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE****HYBRIDATION GÉNOMIQUE COMPARATIVE SUR MICROARRAYS. ETUDE DE LA RÉGION 17P PAR PUCE À ADN CHEZ 25 PATIENTS ATTEINTS D'UN SYNDROME DE SMITH-MAGENIS.**

C. Roumier (1,2), J. Andrieux (1,3), H. de Leersnyder (4), S. Quief (1), C. Villenet (1), B. Delobel (5), J.P. Kerckaert(1)

(1) INSERM U524, Lille

(2) Laboratoire d'Hématologie, Hôpital Calmette, CHU, Lille

(3) Laboratoire de Génétique Médicale, Hôpital Jeanne de Flandre, CHU, Lille

(4) Département de Génétique, Hôpital Necker, Paris

(5) Laboratoire de Cytogénétique, Hôpital St-Vincent de Paul, Lille

Le syndrome de Smith-Magenis associe retard mental, dysmorphie, et phénotype comportemental particulier. Le diagnostic repose sur l'examen clinique et la mise en évidence de la micro-délétion 17p11.2. La majorité des patients présente une délétion qui recouvre toujours une région critique entre les marqueurs D17S959 et D17S1857. Nous avons étudié par une technique de CGH à haute résolution, sur une micro-array comprenant 60 loci, les variations du nombre de copies des gènes situés dans la région critique et dans les régions flanquantes.

Notre méthode utilise un set de sondes, après un design bio-informatique dans les régions codantes, spottées sur lame de verre. L'utilisation de sondes de petite taille (250 à 300bp) a évité les phénomènes de cross-hybridation mais a conduit à un signal de faible intensité. Afin d'obtenir une bonne sensibilité dans la détection des gains ou pertes de matériel chromosomique nous avons utilisé une stratégie de PCR multiplex pour marquer les DNA de patient et de témoin.

Chez 22 des 25 patients étudiés la micro-délétion s'étend sur 4,5 Mb à partir de 16.700.000 bp. Nous avons mis en évidence 2 cas de délétion plus étendue, et un cas de délétion plus courte.

Cette technique permet, à partir de 100ng d'ADN et en une seule manipulation d'étudier gène par gène des micro-délétions ou micro-amplifications. L'avantage de cette approche sur la puce BAC/PAC est le niveau de résolution, qui peut nous permettre d'établir une corrélation génotype-phénotype, pouvant être à l'origine de l'imputabilité de gènes délétés à tel ou tel élément du phénotype.

170 >> Poster n°206**GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE****APPLICATION DE LA QMPSF POUR LA DÉTECTION DE GRANDS RÉARRANGEMENTS TOUCHANT LE GÈNE MECP2 CHEZ DES PATIENTES PRÉSENTANT UN SYNDROME DE RETT**

A. Quenard (1), P. Weinbreck (1), M.J. Perrin (1), V. Bourdon (2), G. Raux (3), T. Frébourg (3), M. Tosí (3), P. Jonveaux (1), C. Philippe (1)

(1) Laboratoire de Génétique, CHU Brabois, Vandoeuvre-lès-Nancy

(2) Institut Paoli-Calmettes, Marseille

(3) INSERM EMI 9906, Faculté de Médecine, Rouen

Le syndrome de Rett (RTT) est une encéphalopathie progressive sévère touchant quasi exclusivement les filles avec une prévalence de 1 cas sur 15 000 naissances féminines. Le gène MECP2 a été impliqué dans la pathogénèse de cette encéphalopathie en 1999 et depuis

lors toutes les séries publiées montrent qu'environ 80% des patientes RTT typiques présentent une mutation à l'état hétérozygote au sein du gène MECP2.

Classiquement, la stratégie de recherche de mutations touchant ce gène comprend deux étapes successives : 1) pré-criblage par analyse d'hétéroduplex (DHPLC le plus souvent) et 2) caractérisation du caractère polymorphe/délétère des variants par séquençage. Cette méthode basée sur la PCR est très sensible mais elle présente le gros désavantage de ne pas détecter les grands réarrangements tels que des délétions ou des duplications touchant par exemple la totalité d'un exon. Dans ce sens, nous utilisons une approche complémentaire longue et fastidieuse basée sur le Southern blot.

Nous avons mis au point une PCR multiplex dans des conditions quantitatives, la QMPSF (Quantitative Multiplex PCR of Short Fluorescent Fragments), permettant la détection de délétions et de duplications dans la totalité de la séquence codante, le promoteur et la région 3' UTR du gène MECP2.

Nous avons validé cette QMPSF sur une série de 10 remaniements précédemment détectés par Southern blot et caractérisés par PCR/séquençage. L'analyse par QMPSF du gène MECP2 chez 83 patientes présentant un RTT typique ou atypique nous a permis de détecter 2 nouveaux réarrangements (2,4 %) non détectables par DHPLC et/ou séquençage.

La majorité des réarrangements caractérisés par Southern blot et/ou QMPSF chez des patientes présentant un RTT typique touche une portion plus ou moins importante de l'exon 4 du gène MECP2.

La QMPSF est une méthode complémentaire aux techniques de détection de mutations par analyse d'hétéroduplex et/ou séquençage qui est beaucoup plus rapide que le Southern blot. De plus, elle permet de préciser les bornes du remaniement, facilitant ainsi sa caractérisation précise au niveau génomique par PCR/séquençage. Cependant, la sensibilité de cette QMPSF pour la détection de grands réarrangements dans le gène MECP2 n'est pas de 100%, une insertion de 300 pb détectée par Southern n'a pas été mise en évidence par cette méthode car la couverture de l'exon 4 n'est que partielle. La QMPSF appliquée au syndrome de Rett a certes permis de détecter quelques nouvelles mutations au sein du gène MECP2 mais cela ne permet toujours pas d'expliquer les 20% de RTT typiques ne présentant apparemment pas d'anomalie au niveau du locus MECP2.

171 >> Poster n°207**GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE****GENATLAS, UNE BASE POUR L'INTÉGRATION DES DONNÉES DE LA BIOLOGIE ET DE LA MÉDECINE À LA CARTOGRAPHIE.**

C. Mugnier (1), M.L. Chauvet (2), P. Kamoun (3), A. Munnich (2), J. Frézal (2), M. Le Merrer (2)

(1) DSI et Service informatique

(2) Inserm U393 et département de Génétique

(3) Service de Biochimie

Hôpital Necker Enfants-Malades, Paris

GENATLAS a pour objet d'enregistrer et d'intégrer les résultats des travaux sur la localisation et l'identification des gènes et des maladies. Cet outil créé en 1986 met à la disposition de la communauté scientifique et médicale internationale les informations incluant la structure, l'expression, la fonction des gènes et les interactions de

leurs produits, mais également les mutations et leurs conséquences pour les maladies. Il est utile aux chercheurs biologistes et généticiens engagés dans la recherche d'un gène et de sa fonction et aux médecins pour l'aide à l'identification des maladies, le conseil génétique et le diagnostic prénatal. GENATLAS repose sur une architecture informatique, conçue à partir du système Oracle et du langage PHP. Elle permet une interrogation facile de trois bases intriquées : gene database (plus de 15 000 entrées), phenotype database (3000 entrées dont 1200 clonées) et une base de référence (+ de 50000 références). Le système de consultation autorise des interrogations sur critères uniques ou multiples, ouvrant des possibilités nouvelles jusqu'alors non offertes sur les autres bases. Genatlas est actuellement interrogée au plan international sur la base de 50.000 interrogations par mois.

De nouveaux développements de cette banque tels que la description des mécanismes physiopathologiques à l'origine des maladies génétiques, à la lumière des données sur la fonction des produits des gènes, des localisations cellulaires et sub-cellulaires des produits des gènes, des interactions entre ces produits. Cette intégration des données est originale et n'existe pas dans les autres banques.

173 >> Poster n°208

GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE

RECHERCHE DE REMANIEMENT GÉNOMIQUE DE LA RÉGION DU GÈNE MBP DANS LES LEUCODYSTROPHIES DE CAUSE INDÉTERMINÉE

MN. Bonnet-Dupeyron (1), C. Vauvrière (1), P. Combes (1), F. Gauthier (1), P. Vago (2), O. Boespflug-Tanguy (1)
(1) INSERM U384, Faculté de Médecine, Clermont-Ferrand
(2) Service de cytogénétique, Faculté de Médecine, Clermont-Ferrand

Parmi les troubles héréditaires de formation de la myéline du système nerveux central, les anomalies de synthèse sont responsables d'un phénotype de leucodystrophie sévère et précoce de type maladie de Pelizaeus Merzbacher (PMD), celles de la compaction d'un phénotype plus modéré de paraplégie spastique (SPG2).

Le gène PLP codant pour les protéolipoprotéines est impliqué dans ces deux phénotypes. La plupart des mutations retrouvées sont essentiellement des duplications du gène.

Nous avons recherché, chez une cohorte de patients présentant une leucodystrophie dysmyélinisante sans mutation identifiable du gène PLP, des remaniements du gène MBP codant pour la protéine basique de la myéline, deuxième protéine constitutive majeure de la myéline.

Pour cela nous avons mis au point deux méthodes de quantification génique, la MAPH (Multiplex Amplifiable Probe Hybridization) et la QMPSF (Quantitative Multiplex PCR of Short Fluorescent Fragment) et comparé les résultats obtenus à la technique de FISH (Hybridation In Situ Fluorescente) réalisée pour dix patients.

Aucun remaniement n'a pu être mis en évidence en MAPH et QMPSF alors que trois patients sur les dix étudiés se sont avérés positifs en FISH, présentant des taux de métaphases avec une duplication du gène MBP de 33%, 43% et 77%. Ce résultat suggère la présence de duplication du gène MBP à l'état de mosaïque.

La discordance entre les méthodes de quantification génique et la technique de FISH sera discutée.

176

GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE

PHYSICAL AND TRANSCRIPT MAP OF THE AUTOSOMAL DOMINANT COLOBOMATOUS MICROPHthalmIA LOCUS ON CHROMOSOME 15Q12-Q15 AND REFINEMENT TO A 3.4 MB REGION

L. Michon (1), L. Morle (1), M. Bozon (1), L. Duret (2), J.C. Zech (3), J. Godet (1), H. Plauchu (4), P. Ederly (4)
(1) Center for Molecular and Cellular Biology, CNRS, Lyon
(2) Biometry and Evolutionary Biology, CNRS, Lyon
(3) Ophthalmology Service, CHU, Lyon
(4) Genetics Service, CHU, Lyon

Congenital microphthalmia is a developmental disorder characterized by shortened axial length of the eye. We have previously mapped the gene responsible for autosomal dominant colobomatous microphthalmia in a 5 generation family to chromosome 15q12-q15. Here, we set up a physical and transcript map of the 13.8 cM critical region, bounded by loci D15S1002 and D15S1040. This region includes 5 contigs containing 17 novel polymorphic markers and at least 84 genes and 38 retinal ESTs. Physical mapping and genetic linkage analysis in this microphthalmia family allowed the refinement of the disease locus to two intervals in close vicinity, namely a centromeric interval, bounded by microsatellite DNA markers m3 and m17, and a telomeric interval, D15S165-m25, encompassing respectively 0.7 and 2.7 Mb. Thereafter, we excluded three candidate gene, CKTSF1B1, KLF13 and CX36. In addition, as a phenomenon of anticipation was suggested by phenotypic and pedigree data, we analyzed 3 trinucleotide repeats located within the telomeric candidate interval and found no abnormal expansion in affected individuals compared to controls. We are now carefully checking new information on chromosome 15 DNA sequence annotation in order to identify the disease-causing gene.

177

GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE

DÉTECTION DES RÉARRANGEMENTS DU LOCUS B-GLOBIN PAR LA MÉTHODE QMFP-PCR

S. Pissard (1), J.P. Tabut (1), Le Thi Hao (2), M. Goossens (1), T. Frebourg (3), M. Tosi (3)
(1) Biochimie et génétique, AP-HP et INSERM U468, Hop Henri-Mondor, Créteil
(2) INSERM EMI 9906, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Université de Rouen
(3) Department of Human Genetics, University of Medicine and Pharmacy, Ho Chi Minh City, Vietnam

Les mutations ponctuelles sont les anomalies les plus fréquemment retrouvées dans les thalassémies. Cependant, un certain nombre de délétions de grandes tailles ont été caractérisées dont la survenue est due à la présence de 50% de séquences répétées dans la séquence génomique du locus β . L'analyse moléculaire des β -thalassémies fait appel à des techniques basées sur l'amplification par PCR de fragment du gène β -globine et donc entraîne fréquemment la méconnaissance ces accidents. Pour rendre la détection de ces accidents aussi simple et sûre que la détection des mutations ponctuelles, nous avons mis au point un test diagnostique utilisant une PCR semi quantitative multiplexe fluorescente (QMFP-PCR). Sont testées 5 des 6 gènes du locus : epsilon, Ag, delta, bêta et pseudo bêta

(pseudo gène) ainsi que 3 séquences non exprimées : LCR HS 2, interdb et 3^b soit 8 régions du locus avec un contrôle situé hors du chromosome 11. Nous avons testé des échantillons contenant des délétions déjà connues (délétion chinoise : Aqdb thal, délétion sicilienne : db thal, délétion indienne : - 619 bp β -globine) ou des recombinaisons créant des gènes hybrides (Lépre : gène db, anti Lépre : gène bd). Des résultats concordant ont été obtenus avec les délétions démontrant l'efficacité du test. Un résultat inattendu a été observé avec les échantillons portant un gène antiLépre alors que le gène Lépre donne les résultats attendus. La QMPCR adaptée au locus β -globine fournit un outil simple pour la détection et l'étude des remaniements du locus.

180 >> Poster n°209

GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE

VARIABILITÉ DES PHÉNOTYPES LIÉS À DES MUTATIONS DU FACTEUR D'INITIATION DE LA TRADUCTION EIF2B ET CORRÉLATION SÉVÉRITÉ / BAISSSE DE L'ACTIVITÉ GEF DE EIF2B

A. Fogli (1), D. Rodriguez (2), E. Bertini (3), P. Combes (1), E. Pierre (1), R. Schiffmann (4), S. Kimball (5), O. Boespflug-Tanguy (1)
 (1) INSERM U384, Clermont-Ferrand
 (2) INSERM U546, Paris
 (3) Unit of Molecular Medicine, and Division of Metabolic Disorders, Bambino Gesù Children's Hospital, Rome, Italy
 (4) National Institute of Neurological Disorders and Stroke, National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA
 (5) Department of Cellular and Molecular Physiology, Pennsylvania State University College of Medicine, Hershey, PA, USA

Des mutations des 5 sous-unités du facteur d'initiation de la traduction eIF2B (alpha à epsilon) ont été impliquées dans une leucodystrophie d'évolution progressive: le syndrome CACH/VWM (Childhood ataxia with central hypomyelination/Leukoencephalopathy with vanishing white matter).

Nous avons sélectionné 90 patients provenant de 75 familles atteintes de leucodystrophie de cause indéterminée (LCI) présentant à l'IRM les caractéristiques de VWM avec un âge de début variant de 4 mois à 30 ans. Chez 90% des familles, la recherche de mutations dans un des 5 gènes EIF2B1 à 5 s'est avérée positive. L'analyse des courbes de survie a permis de mettre en évidence une corrélation entre l'âge de début et la sévérité de la maladie et ont permis une répartition en 3 groupes de sévérités différentes: début avant 2 ans et d'évolution rapide (groupe 1, 24%), entre 2 et 5 ans (groupe 2, syndrome CACH/VWM, 51%) et après 5 ans (groupe 3, 25%). Deux mutations récurrentes R113H (EIF2B5) et E213G (EIF2B2) sont préférentiellement associées aux formes moins sévères (début >2 ans).

L'activité Guanine Exchange Factor (GEF) de eIF2B a été mesurée et pour tous les patients atteints, une baisse significative a été relevée comparée aux patients contrôles ou hétérozygotes. Une corrélation ($p < 0.05$) a été observée entre l'âge de début (sévérité de la maladie) et la baisse de l'activité GEF.

La mesure de l'activité GEF de eIF2B constitue un marqueur biochimique diagnostique pour détecter parmi les patients atteints de LCI avec une image IRM évocatrice de VWM, ceux pouvant bénéficier d'une analyse des 5 gènes EIF2B.

184 >> Poster n°210

GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE

ABSENCE DE LA PROTÉINE ALSIN CHEZ LES PATIENTS PRÉSENTANT UNE PARALYSIE SPASTIQUE PROGRESSIVE ASCENDANTE DE DÉBUT INFANTILE (IAHSP)

E. Eymard-Pierre (1), K. Yamanaka (2), D.W. Cleveland (2), E. Bertini (3), O. Boespflug-Tanguy (1)
 (1) INSERM U384 et Fédération de génétique médicale, CHU, Clermont-Ferrand
 (2) Ludwig Institute for Cancer Research and Departments of Medicine and Neuroscience, San Diego, USA
 (3) Bambino Gesù Children's Hospital, Rome, Italy

Nous avons individualisé un nouveau phénotype caractérisé par une paralysie progressive ascendante de début infantile (avant 2 ans), de transmission autosomique récessive, liée à une dégénérescence pure du motoneurone primaire. Dans 4 de nos 10 familles nous avons trouvé des anomalies sur le gène ALS2/Alsin, donnant toutes des protéines tronquées. Dans les 6 autres familles, l'absence de mutations sur les régions codantes du gène ALS2/Alsin suggère l'existence de mutations dans les régions régulatrices ou une hétérogénéité génétique démontrée par une nouvelle famille récemment analysée, excluant le locus SLA2.

L'analyse en western blot des protéines extraites à partir de culot de lymphoblastes et de fibroblastes de nos patients, avec un anticorps spécifique de la protéine Alsin, nous a permis de démontrer l'absence de la protéine chez les 4 patients mutés et chez 1 patient ne présentant pas de mutation. Chez ce dernier une analyse du promoteur et des régions régulatrices est en cours.

Ce type d'analyse en western blot semble donc intéressant pour la détection des mutations du gène ALS2 chez les enfants présentant un phénotype de dégénérescence pure du motoneurone primaire.

186 >> Poster n°211

GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE

RÔLE DE LA PROTÉINE BLM AU COURS DE LA RECOMBINAISON MÉIOTIQUE À TRAVERS L'IDENTIFICATION DE NOUVEAUX PARTENAIRES

S. Santucci-Darmanin (1), F. Lespinasse (1), S. Neyton (1), P. Moens (2), V. Paquis-Flucklinger (1)
 (1) UMR CNRS 6549, Faculté de Médecine, CHU Nice
 (2) Department of Biology, York University, Toronto

BLM est une hélicase de type RecQ codée par un gène muté chez les patients atteints du syndrome de Bloom. Ce syndrome est caractérisé par un nanisme, une immunodéficiência, une photosensibilité et une prédisposition à des cancers. Au niveau moléculaire, on trouve une très forte instabilité génétique : cassures chromosomiques, hyper-recombinaison, échanges réciproques importants entre chromatides sœurs. Des travaux récents suggèrent que, dans les cellules somatiques, BLM possède une activité « anti-recombinase » qui catalyse la migration « reverse » des jonctions de Holliday (jonctions à quatre brins d'ADN formées au cours du processus de recombinaison). D'autre part, cette protéine est localisée sur les chromosomes méiotiques. Ce résultat suggère que BLM joue également un rôle au cours de la recombinaison méiotique. De plus, les hommes atteints du syndrome de Bloom sont stériles alors que les femmes présentent une

hypofertilité. Néanmoins, la fonction de BLM au cours de la méiose reste à déterminer.

Dans le cadre de la caractérisation fonctionnelle de BLM, nous avons initié une recherche de partenaires. Des expériences de co-immunoprécipitation suggèrent que, dans des cellules méiotiques de souris, BLM est associée aux protéines RP-A (Replication Protein A) et MSH4 (MutS Homolog 4). On observe également une co-localisation de ces protéines sur chromosomes méiotiques. D'autre part, nos données *in vitro* sont en faveur d'une interaction directe entre BLM et MSH4. Nous discutons ici la possibilité que BLM, MSH4 et RP-A, fonctionnent ensemble pour contrôler la fidélité du processus de recombinaison méiotique et éviter des recombinaisons entre régions non-homologues.

189 >> Poster n°212

GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE

LOCALISATION, IDENTIFICATION ET EXPRESSION DU GÈNE RESPONSABLE DU SYNDROME DE DYGGVE-MELCHIOR-CLAUSEN

V. El Ghouzzi, N. Dagoneau, C. Thauvin-Robinet, V. Paupe, T. Attié-Bitach, M. Le Merrer, M. Vekemans, A. Munnich, V. Cormier-Daire

Unité de Recherches sur les Handicaps Génétiques de l'Enfant, INSERM U 393, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris

Le syndrome de Dyggve-Melchior-Clausen est une affection autosomique récessive rare caractérisée par une dysplasie spondylo-épi-métaphysaire progressive et un retard mental sévère. Des analyses de liaison menées initialement dans 9 familles originaires du pourtour méditerranéen nous ont permis de localiser le gène causal en 18q21.1 dans un intervalle génétique de 1.8 cM ($Z_{max}=9.65$ à $t=0$). Après exclusion par séquençage direct de plusieurs gènes candidats situés dans cet intervalle, nous avons identifié 6 mutations homozygotes tronquantes dans la séquence codante d'un transcrite prédit *in silico*, de fonction inconnue. L'analyse informatique de ce transcrite (*dym*) validée par RT-PCR a permis d'établir une séquence codante de 17 exons. Au total, nous avons identifié 10 mutations différentes dans 16 familles non apparentées. Il s'agit de mutations non-sens, de délétions avec décalage du cadre de lecture ou de mutations d'épissage mais aucune mutation faux-sens n'a été identifiée dans notre cohorte.

L'expression de *dym* analysée par RT-PCR, Northern blot et dot blot semble relativement ubiquitaire mais la distribution du transcrite, révélée par hybridation *in situ* au cours du développement fœtal (7-22SA), indique une expression plus marquée dans les bourgeons de membres, les épithéliums digestifs et pulmonaires, les structures orofaciales et les zones germinatives du cerveau. En revanche, aucune expression du transcrite n'a été mise en évidence dans les chondrocytes ou les ostéoblastes à ces stades suggérant que *dym* pourrait y être exprimé plus tardivement. Les études en cours visent à définir le rôle de ce nouveau gène dans le développement de la plaque de croissance.

199 >> Poster n°213

GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE

DÉVELOPPEMENT D'UN MODÈLE DE TAUOPATHIES DANS LA DROSOPHILE

O. Blard, D. Campion, T. Frebourg, M. Lecourtois
Inserm EMI 9906-IFRMP, Faculté de Médecine et Pharmacie,

Rouen

La maladie d'Alzheimer (MA) est une tauopathie secondaire caractérisée par des anomalies de phosphorylation de la protéine Tau. La principale kinase assurant la phosphorylation de Tau est la GSK-3 β mais la finalité biologique de cette phosphorylation reste inconnue. Par analogie avec l'effet de GSK-3 β sur la β -catéline, nous avons émis l'hypothèse que la phosphorylation de Tau par cette kinase avait pour effet physiologique de cibler la protéine Tau vers le système de dégradation ubiquitine-protéasome (UPS). La construction, via le système d'expression Gal4/UAS, de lignées transgéniques de drosophile surexprimant la protéine Tau dans les photorécepteurs nous a permis de confirmer que la surexpression de Tau induisait un phénotype d'oeil rugueux signant la neurodégénérescence. Nous avons alors montré que la coexpression de Tau et de GSK-3 β exacerbait ce phénotype. Les analyses par western blot des protéines Tau, extraites à partir de ces têtes de drosophiles, et l'utilisation d'un mutant dominant négatif du protéasome ont révélé que la phosphorylation de Tau par GSK-3 β entraînait *in vivo* une dégradation de la protéine Tau et que le protéasome intervenait dans la dégradation de la protéine Tau. Pour finaliser ce modèle, il nous reste à démontrer que la phosphorylation de Tau par GSK-3 β est nécessaire à sa dégradation par le protéasome et que cette cascade est dépendante de l'ubiquitination. Ce modèle permettrait de considérer que les anomalies de phosphorylation de la protéine Tau, associée à la MA, conduisent à une altération de sa dégradation par le système UPS.

205

GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE

ALTÉRATIONS DE LA STRUCTURE NUCLÉAIRE CHEZ DES PATIENTS ATTEINTS DE SYNDROME DE HUTCHINSON-GILFORD OU DE SYNDROMES "PROGERIA-LIKE"

C. Navarro (1), R. Bernard (2), I. Boccaccio (1), A. Boyer (2), P. Negre (2), M. Le Merrer (3), J. Bridger (4), P. Cau (1), A. De Sandre-Giovannoli (1), N. Levy (1,2)

(1) INSERM U491, Marseille

(2) Laboratoire de génétique moléculaire, Hôpital de la Timone, Marseille

(3) Département de Génétique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris

(4) Department of Biology and Biochemistry, The University of Brunel, Middlesex, UK

Nous et d'autres avons récemment identifié des mutations du gène LMNA, codant les lamines A/C, chez des patients atteints de syndrome de Hutchinson-Gilford (HGPS). HGPS est une maladie génétique très rare et sévère, caractérisée par un vieillissement prématuré. Le phénotype comprend un retard de croissance, différentes altérations du système squelettique, une lipodystrophie généralisée, ainsi que une athérosclérose diffuse, souvent à l'origine d'accidents cardiovasculaires mortels. Parallèlement au séquençage du gène, des analyses de microscopie électronique et d'immunocytochimie ont été effectuées sur des cellules lymphoblastoïdes ou des fibroblastes de dix patients atteints d'HGPS. Les anticorps étaient dirigés contre différentes protéines de l'enveloppe nucléaire : les Lamines A/C, A, B1 et l'Emerine. La mutation de LMNA la plus fréquente, c.1824C>T, a été identifiée chez six patients. Quatre patients ne présentaient aucune mutation dans la région codante du gène, étant donc atteints de syndromes

“progeria-like”. Cependant, tous les individus montraient d’importantes anomalies nucléaires. Les noyaux montraient une très grande hétérogénéité de taille et de morphologie, avec des protrusions et des interruptions des enveloppes nucléaires associées à extrusion de chromatine. Seulement 25% des cellules étaient marquées. De plus, l’observation au microscope confocal a permis d’observer une réduction quantitative non homogène des Lames et de l’Emerine au niveau des enveloppes et/ou une délocalisation des mêmes protéines au niveau d’agrégats nucléoplasmiques. L’approfondissement des analyses fonctionnelles permettra de mettre en évidence les interactions protéiques et les fonctions cellulaires altérées dans l’HGPS, possiblement en permettant d’identifier les gènes impliqués dans les syndromes “Progeria-Like”.

207 >> Poster n°214

GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE

ANALYSE DU GÈNE CHST6 DANS LES DYSTROPHIES MACULAIRES DE LA CORNÉE

F. Niel (1), P. Ellies (2), P. Dighiero (3), J. Soria (4), C. Sabbagh (4), C. San (1), G. Renard (2), M. Delpech (1), S. Valleix (1)

(1) Laboratoire de Biochimie et Génétique Moléculaire, Hôpital Cochin, Paris

(2) Département d’Ophtalmologie, Hôpital Hôtel-Dieu, Paris

(3) Département d’Ophtalmologie, CHU, Poitiers

(4) Laboratoire de Biochimie, Hôpital Hôtel-Dieu, Paris

Les dystrophies maculaires de la cornée (DCM) sont des affections génétiques autosomiques récessives très rares dont le diagnostic est porté à l’adolescence devant l’apparition, de façon bilatérale et symétrique, d’opacités gris-blanchâtres de petite taille dans le stroma de la cornée. Ces dépôts s’accompagnent d’une opacification diffuse du stroma entraînant rapidement une forte baisse de l’acuité visuelle. Les DCM sont classées en trois immunophénotypes (DCM types I, IA et II) et résultent d’une absence ou d’une diminution de l’activité de la N-acétylglucosamine-6-O-sulfotransférase, enzyme qui initie la sulfatation des chaînes de kératanes-sulfates, et qui est codée par le gène CHST6.

Le séquençage des exons du gène CHST6 chez 11 familles présentant une DCM a permis d’identifier 14 mutations distinctes dont 12 sont nouvelles avec pour la première fois la description de mutation non-sens à l’état homozygote. Cette analyse moléculaire montre en accord avec la littérature, la présence d’une grande hétérogénéité allélique des mutations dans le gène CHST6 dont la majorité aboutissent à une inactivation fonctionnelle de l’enzyme. L’inactivation de cette sulfotransférase spécifique a plusieurs conséquences pathologiques : un défaut de sulfatation sur plusieurs résidus des kératanes-sulfates, une diminution très nette de la longueur des chaînes de glycoaminoglycannes (GAG), et l’accumulation anormale de certains GAG interférant avec l’agencement des fibrilles de collagène comme dans certaines affections dégénératives de la cornée. Cette anomalie génétique illustre donc le rôle fondamental des processus de sulfatation dans l’acquisition et le maintien de l’intégrité structurale et la fonction de la matrice extracellulaire de la cornée.

211 >> Poster n°215

GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE

IMPLICATION DU RÉCEPTEUR DE LA RYANODINE DANS LES MYOPATHIES CONGÉNITALES

J. Lunardi (1), N. Monnier (1), J. Lérale (1), P. Therrier (1), I. Marty (2), A. Ferreira (3), N. Romero (3), M. Fardeau (3)

(1) Biochimie de l’ADN & EMI 99-31, CHU, Grenoble

(2) INSERM EMI 99-31, Grenoble

(3) INSERM U586, Institut de Myologie, Paris

L’homéostasie calcique du myoplasme est un élément essentiel de la physiologie musculaire. Le complexe de mobilisation calcique de la triade joue un rôle majeur pour la mise en jeu des stocks calciques intra et extra cellulaires dans la régulation du calcium myoplasmique.

Plusieurs pathologies, hyperthermie maligne peranesthésique, paralysies périodiques, myopathies congénitales ont été associées à un dysfonctionnement de ce complexe de mobilisation. En association avec plusieurs protéines périphériques qui modulent leur fonction (triadine, calséquestrine, calmoduline, FKBP12 ...), le récepteur à la ryanodine (RYR1) et le récepteur aux dihydropyridines (DHPR) sont deux composants majeurs du processus de couplage excitation-contraction dans le muscle squelettique.

Les myopathies congénitales, central core disease (CCD) ou multi-mini core disease (MmD), sont de sévérité variable et présentent des caractéristiques histologiques spécifiques quoique hétérogènes : les cores. Ces maladies sont caractérisées par une hétérogénéité génétique tant au plan du mode de transmission, autosomique dominant ou récessif, qu’à celui des gènes en cause.

L’analyse génétique d’un panel de 85 familles CCD ou MmD a montré que les mutations du gène RYR1 se concentrent dans la partie C-terminale formant la partie canal transmembranaire de RYR1 (1). Les études fonctionnelles de ces différentes mutations ont montré que certaines mutations seraient spécifiquement associées à des altérations de l’homéostasie calcique en réponse à des agents pharmacologiques tandis que d’autres seraient responsables d’une fuite permanente de calcium du réticulum sarcoplasmique ou d’une altération du mécanisme de couplage excitation-contraction.

1- Monnier et al (2003) Hum Mol Genet, 12 :1-8

213 >> Poster n°216

GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE

DÉTECTION MOLÉCULAIRE DES DÉLÉTIONS DU GÈNE CFTR PAR PCR MULTIPLEX SEMI-QUANTITATIVE FLUORESCENTE

F. Niel (1), J. Martin (1), S. Llense (2), B. Costes (1), V. Delattre (1), M. Goossens (1), E. Girodon-Boulandet (1)

(1) Laboratoire de Biochimie et Génétique Moléculaire, Hôpital Henri-Mondor, Créteil

(2) Laboratoire de Biochimie-Génétique, Hôpital Cochin, Paris

La mucoviscidose est une maladie héréditaire grave se transmettant selon un mode autosomique récessif, touchant un nouveau-né sur 1800 à 3500 dans la population caucasienne. Depuis la découverte du gène CFTR, plus de 1000 mutations responsables de mucoviscidose ou de formes monosymptomatiques de l’adulte ont été identifiées. La majorité sont des mutations ponctuelles avec

42% de mutations faux-sens, 24% de microinsertions et microdélétions responsables d'un décalage du cadre de lecture, 16% de mutations non-sens, 16% de mutations d'épissage et 2% de délétions d'un acide aminé. Après exploration des 27 exons du gène par les techniques de balayage, environ 5% des anomalies moléculaires restent non caractérisées. Quelques grandes délétions ont été rapportées, mais de tels remaniements géniques ne sont mis en évidence que dans des cas restreints : en particulier, échec de PCR chez un patient homozygote, ou anomalie de ségrégation d'une mutation ou de marqueurs polymorphes au sein d'une famille.

Nous rapportons ici une méthode utilisant un séquenceur à capillaires et qui, fondée sur la PCR multiplex semi-quantitative fluorescente, permet de détecter les délétions à l'état homozygote ou hétérozygote. La quantification est obtenue en comparant les intensités de fluorescence des produits d'amplification entre patients et contrôles (Yau SC et al., 1996). L'ensemble des régions codantes du gène CFTR est analysé en cinq multiplex. Cette stratégie, validée sur des témoins de délétions connues, a ainsi permis d'identifier de nouvelles délétions dans notre cohorte de patients.

214 >> Poster n°217

GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE

GÉNÉTIQUE DE L'HYPERTHERMIE MALIGNÉ

J. Lunardi (1), N. Monnier (1), R. Krivosic-Horber (2), G. Kozak-Ribbens (3), Y. Nivoche (4), J.F. Payen (5)

(1) Biochimie de l'ADN, CHU, Grenoble

(2) Département d'Anesthésie-Réanimation, CHU, Lille

(3) CRMBM, Faculté de Médecine La Timone, Marseille

(4) Département d'Anesthésie-Réanimation, Hôpital R. Debré, Paris

(5) Département d'Anesthésie-Réanimation, CHU, Grenoble

L'hyperthermie maligne peranesthésique (MHS) est une maladie pharmacogénétique autosomique dominante. Les individus prédisposés développent une crise fulminante d'hyperthermie conduisant à des dommages tissulaires irréversibles à la suite d'une exposition aux anesthésiques halogénés.

Le syndrome MHS est associé à un dysfonctionnement des canaux calciques impliqués dans le relâchement du calcium stocké dans le reticulum sarcoplasmique du muscle squelettique. Cette pathologie est hétérogène au plan génétique. 6 locus MHS ont été rapportés mais seuls deux gènes ont été identifiés. Des mutations dans le gène RYR1 du récepteur à la ryanodine ont été décrites depuis 1992. Plus récemment notre laboratoire a identifié une mutation dans le gène CACNL1A3 du récepteur aux dihydropyridines (1).

L'analyse génétique de 135 familles MHS nous a permis de ré-évaluer la fréquence du trait génétique à une valeur de ??? 1/3000. A ce jour, plus de 40% des familles MHS ont été génotypées. 95 % des mutations sont concentrées au niveau de deux domaines situés dans la première moitié de RYR1. Une autre forme d'hyperthermie maligne, l'hyperthermie d'effort (HE) ou « coup de chaleur » dont les crises sont déclenchées par l'exercice est également associée chez certains patients au gène RYR1. L'exploration de patients HE nous a permis d'identifier de nouvelles mutations du gène RYR1. La validation fonctionnelle des mutations permet de proposer un diagnostic génétique comme alternative au diagnostic pharmacologique nécessitant une biopsie.

1-Monnier et al (1997) Am J Hum Genet, 60 :1316-1325

2-Monnier et al (2002) Anesthesiology, 95 1067-1075

222 >> Poster n°218

GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE

CARACTÉRISATION DE DÉLÉTIONS DU GÈNE CBP PAR PCR QUANTITATIVE EN TEMPS RÉEL ET CGH-ARRAY

I. Coupry (1), M. Stef (1), L. Monnet (1), B. Mardirossian (1), A. Abd El Moneim Attia (2), I. Burgelin (1), D. Lacombe (1,2), B. Arveiler (1,2)

(1) Laboratoire de Génétique Humaine, Développement et Cancer, Université Bordeaux 2

(2) Service de Génétique Médicale, CHU Pellegrin-Enfants, Bordeaux

Le Syndrome de Rubinstein-Taybi (SRT) est un syndrome dysmorphique caractérisé par des anomalies de la face, des pouces et des gros orteils larges ainsi qu'un retard de croissance et un retard mental. Le SRT est associé à un dysfonctionnement du gène CREB-Binding Protein (CBP) consécutif à des réarrangements chromosomiques ou des mutations ponctuelles. La recherche de délétions est classiquement effectuée par FISH et analyse de marqueurs microsatellites. Nous présentons ici deux nouvelles approches complémentaires visant à caractériser, de manière efficace et rapide, des délétions responsables du SRT. 1. Le dosage génique par PCR quantitative en temps réel, ciblée sur 3 exons du gène CBP localisés respectivement à l'extrémité 5' (exon 2), au milieu (exon 12) et à l'extrémité 3' du gène (exon 30). Cette technique s'est montrée robuste et sera appliquée à d'autres exons du gène. 2. La 'CGH-array', à l'aide de réseaux portant des clones génomiques de type BACs et cosmides couvrant l'ensemble du gène, mais aussi des fragments de cDNA et des clones exoniques du gène CBP de taille comprise entre 200 et 1000 pb. Les premiers résultats montrent que les clones génomiques doivent être de taille supérieure ou égale à 1 kb, pour assurer des résultats reproductibles. Un prochain objectif sera d'élargir le réseau à une région d'environ 2 Mb centrée sur CBP. Ce travail présente un intérêt pour le diagnostic du SRT et pour une tentative de corrélation génotype/phénotype, particulièrement dans le cas des délétions les plus grandes, qui pourraient emporter des gènes adjacents à CBP.

224 >> Poster n°219

GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE

L'HÉMOCHROMATOSE : UNE MALADIE POLYGÉNÉTIQUE ?

M. Bensaïd (1), S. Fruchon (1), C. Mazères (1), S. Bahram (2), H. Coppin (1), M.P. Roth (1)

(1) INSERM U563, CHU Purpan, Toulouse

(2) Centre de Recherche d'Immunologie et d'Hématologie, Strasbourg

L'hémochromatose est une affection autosomique récessive caractérisée par une absorption excessive de fer au niveau intestinal et une accumulation progressive de ce fer dans les organes parenchymateux, ce qui conduit à l'apparition vers l'âge de 40 ans de complications cliniques sévères, parfois fatales comme une cirrhose ou un hépatocarcinome. Plus de 80% des patients sont homozygotes pour la mutation C282Y qui rend la protéine HFE non fonctionnelle. Cette mutation est extrêmement fréquente dans les populations originaires du Nord de l'Europe mais les individus

homozygotes mutés ne développent pas tous de symptomatologie clinique et la pénétrance associée à ce génotype est par conséquent incomplète. Les études épidémiologiques ont montré que l'expression clinique de la maladie était sous le contrôle à la fois de facteurs de milieu et de gènes modificateurs. Pour identifier ces derniers, nous avons utilisé des souris invalidées pour l'homologue murin du gène HFE qui, selon leur fond génétique C57BL/6 ou DBA/2, développent une surcharge en fer intrahépatique plus ou moins prononcée. Un criblage du génome de la génération F2 nous a permis d'identifier quatre régions chromosomiques contribuant de façon très significative à la modulation de la surcharge en fer de l'organisme sur les chromosomes 7, 8, 11 et 12. L'identification des gènes modificateurs contenus dans ces régions et l'investigation des gènes homologues dans la pathologie humaine permettront à terme de prédire ceux qui, parmi les homozygotes C282Y, sont susceptibles de développer les complications les plus sévères et doivent être pris en charge précocement.

225 >> Poster n°220

GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE

RECHERCHE DU GÈNE RESPONSABLE DE RETINITE PIGMENTAIRE DANS 6 FAMILLES

C. Maubaret (1), G. Humbert (1), B. Arnaud (2), O. Rebollo (2), W. Kharrat (2), D. Hillaire (1), CP. Hamel (1,2)

(1) Inserm U583, Montpellier

(2) Service d'Ophthalmologie, CHU Gui de Chauliac, Montpellier

Avec une prévalence d'environ 1/4000, la Rétinite Pigmentaire non syndromique (RP) représente la cause la plus commune de handicap visuel héréditaire. Bien que 38 gènes aient été répertoriés pour cette pathologie monogénique, le déficit moléculaire responsable de la maladie est inconnu dans 1/2 à 2/3 des cas indiquant que d'autres gènes restent à découvrir. Le but de notre étude est la cartographie des gènes responsables de RP dans 6 familles dont 2 à transmission autosomique dominante (AD) et 4 consanguines à transmission récessive (AR). Pour les 2 familles AD et 3 familles AR, les gènes candidats décrits ont été exclus par analyse de liaison à l'aide de marqueurs microsatellites. Une analyse du génome total à la résolution de 10 cM a été réalisée en collaboration avec le Centre National de Génotypage (Evry, France) et les LOD scores bi-point calculés avec MLINK, linkage version 5.2., Infobiogen. Un ou plusieurs loci présentant des LOD scores suggestifs de liaison ont été trouvés pour chacune des familles. Une cartographie fine de ces loci est en cours pour confirmer la localisation du gène responsable. Enfin, pour la 4^{ème} famille AR, la localisation du gène en 6q décrite par Ruiz et al. a été retrouvée ($Z = 5.44$ à $\theta = 0$). Les recombinaisons observées dans notre famille ont permis de réduire l'intervalle de localisation de 2 cM du côté centromérique. Notre objectif est maintenant de réduire cet intervalle à l'aide de marqueurs SNP puis de chercher des mutations dans les gènes candidats de cet intervalle.

226 >> Poster n°221

GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE

UNE NOUVELLE MUTATION NON SENSE DU GÈNE TFR2, IMPLIQUE DANS L'HÉMOCHROMATOSE HÉRÉDITAIRE DE TYPE III, À L'ORIGINE D'UNE SURCHARGE EN FER PRÉCOCE

G. Le Gac (1,2), S. Jacolot (2,3), I. Gourlaouen (1), C. Ferec (1,2), T. Frebourg (4)

(1) Laboratoire de Virologie et de Biologie Moléculaire, Etablissement

Français du Sang - site de Brest.

(2) INSERM EMI 0115, Brest

(3) Université de Bretagne Occidentale, Brest

(4) INSERM EMI 9966, Rouen

Les hémochromatoses héréditaires (HH), ou surcharges en fer primaires, désignent des maladies innées du métabolisme du fer. En plus de la forme historique et principale, qui est majoritairement associée aux mutations C282Y et H63D du gène HFE, on distingue aujourd'hui cinq formes rares qui se différencient par leur mode de transmission et par la précocité de la surcharge en fer observée. Dans ce contexte, l'hémochromatose héréditaire liée au gène TFR2, ou hémochromatose héréditaire de type III, est transmise selon le mode autosomique récessif et est classiquement associée à des formes tardives de surcharges en fer. Nous avons étudié un frère et une sœur, issus d'un mariage consanguin, qui présentaient une surcharge en fer non liée au gène HFE et dont la sévérité était, notamment, attestée par un coefficient de saturation de la transferrine de 100% au moment du diagnostic (16 ans chez la fille et 15 ans chez le garçon). Après avoir successivement exclu la présence d'une mutation au niveau des gènes qui sont habituellement associés à des hémochromatoses héréditaires juvéniles, nous avons détecté, par DHPLC, la transition g.313 C>T dans l'exon 2 du gène TFR2. Cette nouvelle mutation, qui a été détectée à l'état homozygote chez les deux enfants et à l'état hétérozygote chez les deux parents, conduit au remplacement du codon Arg 105 par un codon stop (p.R105X). Notre étude montre que l'analyse du gène TFR2 doit être intégrée au bilan étiologique d'une surcharge en fer non seulement chez l'adulte mais également chez l'enfant.

227 >> Poster n°222

GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE

UNE MUTATION FAUX-SENS DANS LA NEUROLOGIN 4 (NLGN4) EST ASSOCIÉE AVEC UNE DÉFICIENCE MENTALE LIÉE AU CHROMOSOME X AVEC OU SANS AUTISME

F. Laumonnier (1), F. Bonnet-Brilhault (1), N. Ronce (1), MP. Moizard (1), M. Gomot (1), M. Raynaud (1), H. Yntema (2), JP Fryns (3), V. Kalscheuer (4), J. Chelly (5), BCJ. Hamel (2), C. Moraine (1), S. Briault (1)

(1) INSERM U316, CHU Bretonneau, Tours

(2) Département de Génétique, University Hospital, Nijmegen, Pays-Bas

(3) Centre de Génétique Humaine, Leuven, Belgique

(4) Max Planck Institute, Berlin, Allemagne

(5) INSERM U129, CHU Cochin, Paris

Le retard mental lié au sexe (DMX) touche 1/600 garçons et présente une très grande hétérogénéité. Il est classé en formes spécifiques, dans lesquelles la déficience mentale est associée à des signes cliniques distincts, et en formes non spécifiques (MRX) où le retard mental est isolé. A ce jour, 14 gènes impliqués dans les MRX ont été identifiés.

L'étude d'une famille multiplex de DMX dans laquelle les garçons atteints présentent un MRX avec ou sans autisme a montré une forte association en Xp avec un Lodscore maximum ($\theta = 0$) de 3,61 pour DXS996 (Xp22.3) et DXS989 (Xp21.2).

L'analyse de gènes candidats dans l'intervalle de liaison a révélé la présence d'une délétion de 2 paires de bases dans le gène de la neurologin 4 (NLGN4) aboutissant à la création

d'un codon stop au milieu de la séquence de la protéine normale [1717delAG (Asp418fs)].

Les neuroligins sont des protéines membranaires localisées au niveau de la face post-synaptique et interagissent avec les beta-neurexins pré-synaptiques pour permettre la formation d'une structure synaptique. Ainsi, l'absence ou la production de protéines tronquées pourrait aboutir à la formation de synapses non fonctionnelles.

L'identification récente d'une mutation faux-sens dans NLGN4 chez 2 frères atteints d'autisme et du syndrome d'Asperger respectivement mais sans déficience mentale suggère une grande hétérogénéité phénotypique allant du MRX sans troubles comportementaux au syndrome autistique avec une intelligence normale.

Nos résultats suggèrent que certaines formes de déficience mentale et d'autisme peuvent avoir une base génétique commune.

233 >> Poster n°223

GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE

ANALYSE GÉNÉTIQUE ET FONCTIONNELLE DES MUTATIONS DU GÈNE OCRL1

V. Satre (1), N. Monnier (1), A. Faucherre (2), O. Dorseuil (2), G. Gacon (2), J. Lunardi (1)

(1) Laboratoire de Biochimie de l'ADN, CHU, Grenoble

(2) Institut Cochin de Génétique, INSERM U257, Paris

Le syndrome oculo-cérébro-rénal de Lowe (OCRL) est une pathologie rare de transmission récessive liée à l'X. Il est caractérisé par une cataracte congénitale bilatérale, un retard psychomoteur et un syndrome de Fanconi rénal. Le gène OCRL1 code pour une phosphatidyl inositol-(4,5)-diphosphate-5-phosphatase de 105 kDa associée au Golgi. La recherche de mutations par SSCA-dHPLC/séquençage a été réalisée chez 101 familles. 78 mutations dont 60 nouvelles ont été caractérisées. Parmi les mutations identifiées, 61 sont responsables de la production d'une protéine anormale (mutations non sens, d'épissage, larges délétions génomiques, micro-insertion ou délétion entraînant un décalage du cadre de lecture), 15 sont des mutations faux sens et 2 des délétions en phase. L'haplotypage de 18 familles par 5 marqueurs fortement liés à OCRL1 a mis en évidence 2 cas de mosaïcisme germlinal et somatique.

La mise au point de la mesure de l'activité PIP2-5-phosphatase dans les fibroblastes de 9 patients atteints du syndrome de Lowe a permis de montrer l'effondrement de cette activité par rapport à des fibroblastes normaux. L'expression et la purification d'un peptide N terminal de la protéine OCRL1 ont été réalisées afin de permettre la production d'anticorps. Ces anticorps dirigés contre l'extrémité N terminale de la protéine OCRL1 confirment lors de l'analyse par Western blot l'absence ou la présence en très faible quantité de cette protéine chez les malades. L'analyse quantitative de la production des ARN messagers est en cours. Par ailleurs, les anticorps ont permis de confirmer la localisation de la protéine dans le trans-Golgi network.

241

GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE

RECHERCHE DE GRANDES DÉLÉTIONS PAR LA DHPLC À DÉTECTION FLUORESCENTE : ÉTUDE PRÉLIMINAIRE

C. Dehainault (1), A. Laugé (1), V. Caux-Moncoutier (1), S. Pagès-

Berhouet (1), F. Doz (2), L. Desjardins (3), J. Couturier (1), M. Gauthier-Villars (1), D. Stoppa-Lyonnet(1), C. Houdayer (1)

(1) Service de Génétique Oncologique, Institut Curie, Paris

(2) Service de Pédiatrie, Institut Curie, Paris

(3) Service d'Ophthalmologie, Institut Curie, Paris

L'étude des réarrangements de grande taille (délétions ou duplications) a une place importante dans le diagnostic moléculaire de maladies génétiques, tel que le rétinoblastome. La prédisposition au rétinoblastome est liée aux mutations constitutionnelles du gène RB1, dont environ 20% sont de larges délétions. Ces réarrangements sont étudiés en routine par QMPSF (Quantitative Multiplex PCR of short fluorescent fragments). Cependant, il est important de les confirmer par une autre technique. Nous avons donc évalué l'intérêt de la DHPLC (Denaturing High Performance Liquid Chromatography) couplée à un module de détection en fluorescence.

Les ADN de 5 témoins normaux et de 8 patients portant une large délétion du gène RB1 (de 1 exon à la totalité du gène) ont été extraits à partir de sang total et ajustés à 50 nanogrammes par microlitre. Seize exons, soit la moitié de la séquence codante, ont été amplifiés en 2 PCR multiplexes en conditions standard excepté le nombre de cycles fixé à 23. Les produits PCR ont été séparés sur un WAVE 3500 (Transgenomic) en conditions non-dénaturantes avec un gradient d'éluion défini par le logiciel WaveNavigator puis détectés par un module HSD (High Sensitivity Detector).

Les exons emportés ont été visualisés par une diminution de moitié de l'intensité fluorescente des pics correspondants. Les échantillons ont été amplifiés et analysés deux fois avec les mêmes résultats.

La DHPLC à détection en fluorescence semble pouvoir être appliquée à la recherche des larges délétions. Ces résultats préliminaires doivent cependant être confirmés puis validés sur de grandes séries.

242 >> Poster n°224

GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE

TRANSMISSION PSEUDO-DOMINANTE DANS LES SYNDROMES MYASTHÉNIQUES CONGÉNITAUX

P. Richard (1,2), M. Mayer (3), C. Ios (4), K. Gaudon (1,2), S. Bauché (2), JP. Leroy (2,5), B. Hainque (1,2), J. Koenig (2), B. Eymard (2,6), D. Hantai (2).

(1) Unité Fonctionnelle de Cardiogénétique et Myogénétique, Service de Biochimie B, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris

(2) INSERM U.582, Institut de Myologie, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris,

(3) Service de Neuropédiatrie, Hôpital Saint Vincent de Paul, Paris, France

(4) Service de Neuropédiatrie, Hôpital Raymond Poincaré, Garches, France

(5) Centre Hospitalier Universitaire, Brest, France

Les syndromes myasthéniques congénitaux (SMC) sont des maladies hétérogènes de transmission autosomique récessive ou dominante dues à des anomalies de la jonction neuromusculaire. Des mutations dans le gène RAPSN codant la rapsyne sont responsables de formes postsynaptiques de transmission autosomique récessive. Deux familles montrant un mode de transmission autosomique dominant et dont les enfants atteints sont hétéroalléliques pour des mutations du gène RAPSN ont été génétiquement analysées. Dans la famille 1, l'enfant atteinte est hétéroallélique pour la mutation N88K d'origine paternelle associée à la mutation V165M d'origine maternelle. Ses parents sont phénotypiquement non atteints mais trois oncles maternels sont décédés de SMC.

L'analyse des grands parents maternels montre que la grand-mère transmet la V165M et que le grand père est hétérozygote N88K. Dans la famille 2, la patiente porte la mutation N88K transmise par sa mère et la mutation Y86X transmise par son père. Sa mère étant phénotypiquement atteinte, l'analyse du gène RAPSN montre qu'elle est porteuse du variant N88K associé à un second allèle muté F81L. L'analyse des grands parents maternels confirme la transmission de ces deux mutations.

Les patients présentant un SMC dû à des mutations dans la rapsyne sont porteurs de la mutation N88K à l'état homozygote ou hétéroallélique. Ce variant étant retrouvé dans la population avec une fréquence allélique ~ 1%, un mode de transmission autosomique dominant apparent ne doit pas exclure l'analyse de ce gène. De plus, dans le cadre d'un conseil génétique à visée prénatale, l'analyse d'un conjoint même non apparenté semble légitime

243 >> Poster n°225

GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE

SÉLÉNOPATHIE: UNE NOUVELLE ENTITÉ DANS LES MYOPATHIES

P. Richard (1), A. Ferreira (2), N. Petit (2), S. Quijano-Roy (3), C. Ledeuil (1), B. Hainque (1), P. Guicheney (2)

(1) UF de Cardiogénétique et Myogénétique, Service de Biochimie B, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris

(2) INSERM U582, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris

(3) Service de Neuropédiatrie et Réanimation Infantile, Hôpital Raymond Poincaré, Garches

Nous avons montré récemment que des mutations du gène SEPN1, codant la nouvelle sélénoprotéine N dont la fonction est encore inconnue, sont à l'origine de trois myopathies autosomiques récessives à début précoce.

La première de ces entités, initialement appelée Rigid Spine Muscular Dystrophy (RSMD1), est caractérisée par une raideur précoce du rachis et a été considérée classiquement comme une forme de Dystrophie Musculaire Congénitale (DMC). La deuxième correspond aux cas les plus sévères de la forme "classique" de Multi-minicore Disease (MmD), qui est une myopathie congénitale définie par de petites lésions morphologiques de type core. La troisième est la desminopathie avec des inclusions de type Mallory body. Une réévaluation phénotypique détaillée a montré que ces trois maladies représentent en réalité une seule entité nosologique, désormais appelée sélénopathie ("SEPN-related myopathy" [SEPN-RM, MIM 602771]). Le tableau clinique chez tous les patients présentant des mutations dans SEPN1 est très homogène; par contre, le spectre morphologique de la maladie est très large.

Nous présentons une mise à jour des résultats des analyses moléculaires réalisées sur une série de 59 familles avec des mutations dans SEPN1. Nous présentons également la caractérisation et la localisation subcellulaire de la sélénoprotéine N, récemment établies. Ces études moléculaires ont permis de réévaluer la classification nosologique de ces myopathies à début précoce. Elles permettent désormais de mettre en place un suivi adapté et une prévention précoce des complications orthopédiques et respiratoires, et de proposer un conseil génétique et un diagnostic anténatal aux familles concernées.

245 >> Poster n°226

GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE

REGULATION OF THE PLP GENE EXPRESSION BY THE TRANSCRIPTION FACTOR SOX10

M. Girard (1), N. Bondurand (1), N. Lemort (1), V. Pingault (1,2), M. Goossens (1,2)

(1) INSERM U468, Créteil

(2) Laboratoire de Biochimie et Génétique Moléculaire, AP-HP, Hôpital Henri Mondor, Créteil

SOX10 is an essential factor in the enteric nervous system (ENS), melanocytes and glial cells development. Mutations in the SOX10 gene were described in several cases of Shah-Waardenburg syndrome, a neurocristopathy characterized by the association of Hirschsprung disease (intestinal aganglionosis) and Waardenburg syndrome (pigmentation defects and sensorineural deafness). In accordance, it was shown that SOX10 controls expression of MITF and RET, which play important roles during melanocytes and ENS development, respectively. Some patients also present with myelination defects of the peripheral nervous system (PNS), which is in agreement with the demonstration that P0 and Cx32, two major proteins of the PNS, are controlled by SOX10. Nevertheless, these findings cannot explain the defects of the central nervous system (CNS), consistent with Pelizaeus-Merzbacher disease (PMD), observed in one patient. This suggests that SOX10 may regulate other genes involved in the myelination process of the CNS.

To test this hypothesis, we sought the possible involvement of SOX10 in the regulation of expression of PLP and its alternative transcript DM20. Both proteins are major components of myelin in the CNS, and mutations of the PLP gene are associated with PMD. Here we show that SOX10 activates expression of the PLP gene in transfection assays, while SOX10 mutant proteins fail to transactivate this promoter, and that EGR2 is also able to regulate the PLP promoter. These results confirm the importance of SOX10 during the myelination process. Our study may also improve our understanding of molecular mechanisms involved in the phenotypic features of some peripheral neuropathies.

249 >> Poster n°227

GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE

C/EBPBETA-DEPENDENT ACTIVATION OF THE TNFALPHA-INDUCIBLE EXPRESSION OF MEFV, THE GENE INVOLVED IN FMF

C. Cazeneuve (1), S. Papin (1), I. Jéru (1), P. Duquesnoy (1), D. Sahali (2), S. Amselem (1)

(1) INSERM U468, Créteil

(2) INSERM U581, Créteil

Familial Mediterranean fever (FMF) is a recessively inherited inflammatory disorder, characterized by recurrent attacks of fever and serositis and due to mutations in MEFV, a gene encoding a protein named marenostrin or pyrin (M/P). Although the function of M/P remains unknown, several lines of evidence —including those deduced from the disease phenotype of FMF patients, the tissue-specific expression of MEFV, as well as the TNFalpha-inducibility of MEFV gene expression — strongly suggest that this protein is implicated in the regulation of inflammatory processes.

The purpose of this study was to determine the mechanisms by which TNFalpha regulates MEFV gene expression. To test this hypothesis, HeLa cells were transfected with a 1kb-

fragment of the 5'-flanking region of the human MEFV gene linked to a luciferase coding sequence, and grown in the presence or in the absence of TNFalpha. We showed that MEFV promoter activity was increased by TNFalpha (5 to 10-fold).

By performing deletion and mutation analyses of the MEFV promoter together with electrophoretic mobility shift assays, we have demonstrated that TNFalpha-induced expression of MEFV is dependent on both NFkappaB p65 and C/EBPbeta. These two transcription factors, however, act differently on the TNFalpha-dependent transcription of MEFV: C/EBPbeta represents the key regulatory factor that is required to confer cell responsiveness to TNFalpha, whereas NFkappaB p65 increases this response by means of a cooperative interaction with C/EBPbeta, thereby providing an unusual example of a cross-talk between C/EBP and NFkappaB pathways in TNFalpha signaling.

252 >> Poster n°228

GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE

CARACTÉRISATION FONCTIONNELLE DE LA MUTATION P.Q283P DU GÈNE DE L'HÉMOCHROMATOSE HÉRÉDITAIRE DE TYPE I (HFE) : CONFIRMATIONS EXPÉRIMENTALES DES PRÉDICTIONS D'UNE ÉTUDE STRUCTURALE IN SILICO

G. Le Gac (1,2), C. Ka (1,2), F.Y. Dupradeau (3), J. Rochette (3), C. Ferec (1,2)

(1) Laboratoire de Virologie et de Biologie Moléculaire, Etablissement Français du Sang - site de Brest

(2) INSERM EMI 0115, Brest

(3) Université Jules Verne, Amiens

Introduction : L'hémochromatose héréditaire de type I est une maladie innée du métabolisme du fer, qui est transmise selon le mode autosomique récessif et qui est majoritairement associée à la mutation p.C282Y du gène HFE. Cette mutation principale à des conséquences fonctionnelles très importantes puisqu'elle provoque la rupture du pont disulfure entre les cystéines 225 et 282 du domaine extra-membranaire alpha 3 de la protéine HFE et qu'elle inhibe, alors, l'interaction entre HFE et la beta2 microglobuline, qui est nécessaire à l'adressage membranaire de HFE, et l'interaction entre HFE et le récepteur de la transferrine, qui est impliquée dans un mécanisme de contrôle négatif de la quantité intracellulaire de fer. Dans une étude précédente, nous avons réalisé une modélisation tridimensionnelle du domaine alpha 3 de la protéine HFE qui nous a permis de prédire que les conséquences fonctionnelles de la mutation p.Q283P, que nous avons identifiée chez un malade également porteur de la mutation p.C282Y, doivent être proches de celles de la mutation p.C282Y. Matériel et Méthode : Pour vérifier cette prédiction, nous avons mis en place une série d'expériences permettant de comparer les propriétés de la protéine HFE 283P avec celles de la protéine HFE 282Y. Ces expériences comprennent des immunoprécipitations, l'immunohistochimie et des tests d'absorption de transferrine marquée avec du ⁵⁵Fer. Résultats - Conclusion : Nos premiers résultats confirment les similarités fonctionnelles attendues. A terme, notre objectif n'est pas d'inciter à une recherche systématique de la mutation p.Q283P, qui reste rare, mais de témoigner de l'intérêt des études structurales in silico.

253 >> Poster n°229

GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE

EXPRESSION AND SUBCELLULAR LOCALISATION OF PYRIN PROTEINS CARRYING THE MOST COMMON MUTATIONS INVOLVED IN FAMILIAL MEDITERRANEAN FEVER

C. Cazeneuve, S. Papin, I. Jéru, P. Duquesnoy, S. Amselem
INSERM U468, Créteil

Mutations in MEFV, a gene encoding the pyrin, are associated with familial Mediterranean fever, a genetic condition characterised by febrile episodes of serosal inflammation. The function of pyrin is still unclear, although recently, the ASC (Apoptosis Speck protein containing a CARD) protein has been shown to interact with the pyrin domain of pyrin, both proteins being colocalized in specks, suggesting that pyrin may play a role in regulation of apoptosis. To study the influence of MEFV mutations on the subcellular localisation of pyrin, we transiently expressed in HeLa cells wild type pyrin-GFP (pyrin fused to GFP protein) or pyrin-GFP harbouring either the M694V, M694I, V726A, M680I or E148Q mutation; we also co-expressed the different forms of pyrin-GFP (wild type and mutated forms) together with ASC (fused to a V5 tag and revealed by a Cy3-conjugate secondary antibody). In cells transfected with pyrin, we found that all the mutated pyrin-GFP proteins localised exclusively in the cytoplasm, with a pattern similar to the one observed with the wild type pyrin-GFP. In cells co-expressing ASC and pyrin-GFP, the green fluorescence due to pyrin-GFP and the red fluorescence corresponding to ASC were concentrated in specks, whatever the pyrin-GFP construct (wild type or mutated forms). These results suggest that these MEFV mutations do not affect the subcellular localisation of pyrin. In addition, whatever the consequences of the mutant pyrin protein in the regulation of apoptosis, it is tempting to speculate that these consequences do not result from an absence of ASC/pyrin colocalisation.

257 >> Poster n°230

GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE

CARTOGRAPHIE DU LOCUS MYAS1 LIÉ AU COMPLEXE HLA DANS LA MYASTHÉNIE ACQUISE AUTO-IMMUNE AVEC UNE HYPERPLASIE DU THYMUS.

C. Vandiedonck (1), G. Beaurain (1), B. Eymard (2), C. Tranchant (3), P. Gajdos (4), H.J. Garchon (1)

(1) INSERM U580, Hôpital Necker, Paris

(2) Service de Neurologie, Institut de Myologie, Hôpital de la Salpêtrière, Paris

(3) Service de Neurologie, Hôpital Civil, CHRU Strasbourg

(4) Service de Réanimation, Hôpital Raymond Poincaré, Garches

La myasthénie acquise est une maladie auto-immune de la jonction neuromusculaire, dirigée contre le récepteur musculaire de l'acétylcholine (RACH). Elle constitue un modèle d'étude remarquable de l'auto-immunité humorale chez l'homme. Récemment, l'haplotype étendu HLA-DR3 a été lié à la forme de myasthénie avec une hyperplasie du thymus, définissant le locus MYAS1. Cependant, en raison du fort déséquilibre de liaison le long du complexe HLA, le gène morbide n'a pas encore été identifié. Dans cette étude, nous avons redéfini la localisation du locus MYAS1 en combinant (i) une analyse familiale des allèles et des

haplotypes associés à la myasthénie avec hyperplasie thymique et (ii) une analyse quantitative des titres sériques d'auto-anticorps anti-RACH. Une série de 27 locus couvrant le complexe HLA a été typé chez 136 patients myasthéniques avec une hyperplasie thymique, et chez leurs apparentés pour 73 d'entre eux.

Les données mettent en évidence une association forte ($p=8 \times 10^{-6}$) d'un haplotype "core" dans la région HLA centrale (entre le cluster des gènes du TNF et HLA-B,C), avec l'hyperplasie thymique. Les régions de classe II (DR) et de classe I distale (HLA-A) sont exclues de l'intervalle de susceptibilité. Cette région HLA centrale influence également le titre des auto-anticorps ($P=0.02$).

Une seconde région, entre HLA-B,C et HLA-A, est très fortement associée à une augmentation des titres d'auto-anticorps anti-RACH ($P=6 \times 10^{-5}$).

Ainsi, les données mettent en évidence deux locus au sein du complexe HLA, impliqués dans le phénotype des patients myasthéniques avec une hyperplasie du thymus.

259 >> Poster n°231

GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE

EXTENSION DU PHÉNOTYPE ASSOCIÉ AUX MUTATIONS DU GÈNE CODANT LES LAMINES A/C DANS LES CARDIOMYOPATHIES DILATÉES

P. Charron (1,2), P. Sébillon (2), C. Bouchier (2), L. Duboscq-Bidot (2), G. Bonne (4), V. Drouin-Garraud (5), A. Millaire (6), J.C. Charniot (7), E. Villard (2), M. Komajda (2,3).

(1) Département de Génétique, Cytogénétique et Embryologie, CHU Pitié-Salpêtrière, Paris

(2) Laboratoire de Génétique, Université Paris VI, CHU Pitié-Salpêtrière, Paris

(3) Département de Cardiologie, CHU Pitié-Salpêtrière, Paris

(4) INSERM U582, Paris

(5) Service de Génétique, CHU Rouen

(6) Service de Cardiologie, CHU Lille

(7) Service de Cardiologie, CHU Avicenne, Bobigny

Contexte. Le gène LMNA codant les lamines A/C est impliqué dans des cardiomyopathies dilatées (CMD) associées à des troubles de conduction cardiaque et/ou une myopathie squelettique (Emery-Dreifuss, dystrophie des ceintures). L'implication du gène dans des formes plus communes de CMD est moins bien connue.

Méthodes. La séquence codante du gène LMNA a été analysée par SSCP puis séquençage dans une population de 66 cas index atteints de CMD isolées ($n=59$) ou associées à d'autres anomalies ($n=7$).

Résultats. Trois mutations (dont deux nouvelles) ont été identifiées: deux mutations faux sens (E161K, R277H) et une mutation (28insA) conduisant à un codon stop prématuré. Le gène LMNA est ainsi impliqué dans les CMD associées à des troubles de conduction auriculo-ventriculaires et une myopathie squelettique atypique (2/2) ; il est aussi impliqué dans une famille avec fibrillation auriculaire précoce, préexistant à ou coexistant avec la CMD (1/1) ; il n'est pas impliqué dans les CMD isolées (0/59) ; ni dans les CMD avec élévation isolées des CPK (0/4).

Conclusion. Un phénotype particulier caractérisé par une fibrillation auriculaire familiale précoce est rapportée pour la première fois comme associée à une mutation du gène LMNA. Par contre aucune mutation n'a été retrouvée dans les formes communes et isolées de CMD. Ces résultats ont des implications potentielles dans la stratégie de diagnostic moléculaire.

262

GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE

MUTATION DE NOVO OU MOSAÏQUE GERMINALE DANS UN CAS DE GALACTOSÉMIE PAR DÉFICIT EN GALACTOSE 1 PHOSPHATE URIDYL TRANSFÉRASE

C. Dorche, D. Cheillan, R. Froissart

Laboratoire de Biochimie Pédiatrique, Hôpital Debrousse Lyon

La galactosémie est due à un déficit en galactose 1 phosphate uridyl transférase. La transmission se fait sur le mode récessif autosomique. La fréquence est rare inférieure à 1/50 000.

Le diagnostic repose sur la mise en évidence du déficit enzymatique dans les érythrocytes sur orientation clinique, suivie de la recherche des mutations. L'étude familiale est souvent abordée par la mesure de l'activité enzymatique car dans la grande majorité des cas les hétérozygotes ont une activité proche de 50 %.

Récemment, cependant, nous avons étudié une famille non classique.

TA, né le 02/10/2000, a présenté rapidement une symptomatologie classique permettant de suspecter le diagnostic. La mesure de la galactotransférase réalisée à 21 jours objective un déficit total. L'étude familiale montre chez sa mère, une activité à 37 % de la normale mais, chez le père une activité à 90% de la normale de manière répétitive.

Le séquençage du gène GALT montre que TA est porteur de la mutation classique Q188R et d'une autre mutation IVS6+1g>a. L'étude de microsatellites a permis de vérifier la filiation. La mutation Q188R est retrouvée chez la mère mais la mutation IVS6+1g>a n'est présente chez aucun des parents. S'agit-il d'une mosaïque germinale chez le père ou d'une mutation de novo ? Ces situations sont considérées comme exceptionnelles en dehors des maladies liées au chromosome X. Cependant, la réalisation de plus en plus fréquente des études familiales nous amènera peut-être à retrouver des cas similaires dans d'autres type de maladies.

265 >> Poster n°232

GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE

L'ATROPHIE OPTIQUE AUTOSOMIQUE DOMINANTE ASSOCIÉE À UNE CATARACTE (MIM 165300) EST DUE À UNE MUTATION DU GÈNE OPA3

P. Amati-Bonneau (1,2), P. Reynier (1,2), C. Verny (3), G. Simard (1,2), A. Olichon (4), Y. Malhiéry (1,2), G. Lenaers (4), D. Bonneau (1,5)

(1) INSERM E0018, Angers

(2) Laboratoire de Biochimie et Biologie Moléculaire, CHU, Angers

(3) Département de Neurologie, CHU Angers

(4) UMR CNRS 5088, Toulouse

(5) Service de Génétique Médicale, CHU Angers

Les atrophies optiques héréditaires forment un groupe hétérogène de maladies et actuellement, seul le gène OPA1, codant pour la dynamine/GTPase mitochondriale, est impliqué dans les atrophies optiques autosomiques dominantes. Nous rapportons ici que le gène OPA3, codant pour une protéine de la membrane interne de la mitochondrie, est responsable de l'atrophie optique dominante associée à une cataracte capsulaire (MIM 165300). Nous avons étudié 10 malades issus d'une même famille. Chez chacun d'eux la mutation 277G>A (G93S) du gène OPA3 a été mise en évidence. Cette mutation est

absente chez 7 sujets sains apparentés et chez 200 témoins. L'étude des fibroblastes d'une patiente ne montre aucune altération de la chaîne respiratoire, du potentiel de membrane ou du réseau mitochondrial. En revanche, les fibroblastes montrent une forte susceptibilité à l'apoptose induite par la staurosporine (35% de cellules apoptotiques chez la malade contre <5% chez les témoins). Jusqu'à maintenant le gène OPA3 était seulement impliqué dans une forme rare d'atrophie optique récessive: l'acidurie méthyl glutaconique de type III ou syndrome de Costeff (MIM 258501). Nos résultats montrent qu'OPA3 est à la fois responsable de formes dominantes et récessives d'atrophie optique. OPA3 comme OPA1, code pour une protéine mitochondriale. Ainsi, trois formes d'atrophie optique pour lesquelles les mécanismes génétiques ont été identifiés impliquent soit l'ADN mitochondrial (neuropathie optique héréditaire de Leber) soit des gènes nucléaires codant pour des protéines mitochondriales (OPA1 et OPA3). Un processus d'apoptose impliquant un dysfonctionnement de la membrane interne mitochondriale pourrait être un mécanisme pathogénique commun pour ces trois maladies.

268 >> Poster n°233

GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE

DÉTECTION RAPIDE DE GRANDS RÉARRANGEMENTS GÉNOMIQUES DANS LE GÈNE CFTR : APPROCHE MÉTHODOLOGIQUE ET FRÉQUENCE.

MP. Audrézet, JM. Chen, O. Raguènes, K. Giteau, I. Quéré, C. Le Maréchal, C. Férec
Laboratoire de Génétique Moléculaire, EMI 0115, Brest

La mucoviscidose est la maladie génétique grave de l'enfant la plus fréquente dans les populations d'origine caucasienne. Le gène responsable, appelé CFTR (Cystic Fibrosis Transmembrane conductance Regulator) a été cloné en 1989. A coté de la mutation majoritaire, F508del, plus de 1000 mutations ont, à ce jour, été décrites auprès du Consortium international d'étude des mutations du gène CFTR. Cependant, en fonction de l'origine géographique et ethnique des patients, 1 à 30% des anomalies restent toujours non identifiées.

Bien qu'il ait été suggéré que des réarrangements génomiques pourraient être responsables de ces allèles non identifiés, seules de rares grandes délétions ont été jusqu'à maintenant rapportées, la plupart d'entre elles n'étant pas totalement caractérisées.

Nous rapportons dans ce travail les résultats de la recherche de grands réarrangements génomiques au niveau des 27 exons du gène CFTR grâce à une technique simple et rapide d'amplification multiplexe quantitative de petits fragments fluorescents (QMPSF). Nous avons analysé une cohorte de 39 patients pour lesquels, malgré une analyse systématique de la totalité de la séquence codante par DGGE ou DHPLC, une mutation restait non identifiée.

Cette stratégie nous a permis d'identifier 5 nouvelles grosses délétions et de mettre en évidence chez 2 patients des délétions précédemment décrites. Une analyse plus fine de la zone de cassure par DHPLC semi quantitative nous a permis d'aboutir à la caractérisation complète de ces réarrangements.

274 >> Poster n°234

GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE

ETUDE MOLÉCULAIRE DES MUTATIONS GERMINALES DU GÈNE MEN1 DANS LES SÉQUENCES CONSENSUS D'ÉPISSAGE ET EN ZONES INTRONNIQUES CHEZ 18 PATIENTS ATTEINTS DE NÉOPLASIE ENDOCRINIENNE MULTIPLE DE TYPE 1.

C. Vercherat (1,2), B. Chambe (1), S. Dupasquier (1), G. Lesca (1), S. Giraud (1), S. Pinson (1), A. Calender (1,2)
(1) Laboratoire de Génétique, Hôpital Edouard Herriot, Lyon
(2) INSERM U45, Lyon

La Néoplasie Endocrinienne Multiple de type 1 (NEM1) est une pathologie autosomique dominante qui se caractérise par l'apparition de tumeurs des glandes parathyroïdes, du secteur duodéno-pancréatique endocrine, de l'antéhypophyse ainsi que d'autres atteintes moins fréquentes. Plus de 260 mutations germinales du gène MEN1 ont été décrites chez des patients atteints de NEM1 cependant, aucune corrélation génotype-phénotype n'a, à ce jour, été mise en évidence. Ces mutations sont de tous types : non-sens, faux-sens, délétions, insertions mais également des mutations des sites consensus d'épissage.

Nous avons mis en évidence 18 mutations touchant ces sites d'épissage introniques ou exoniques mais également des régions introniques plus distantes des sites consensus. 4 de ces anomalies touchent un site accepteur d'épissage, 6 un site donneur, 2 des sites consensus exoniques et 6 sont retrouvées dans des régions introniques à priori non impliquées dans l'épissage. On observe 16 substitutions et 2 délétions respectivement de 2 et 36 nucléotides.

Afin de déterminer leurs conséquences fonctionnelles, nous avons analysé l'ADNc de ces patients par RT-PCR puis séquençage automatique de l'ADNc. Nous constatons, selon les mutations, des anomalies d'épissage diverses : excision d'exon, rétention d'intron ou encore utilisation d'un site cryptique d'épissage. Certaines mutations n'entraînent pas la production d'ARN messager anormal. Nous avons également étudié la protéine Ménine issue du gène MEN1 par Western-Blot afin de déterminer si les ARN messagers mutés permettent la synthèse de protéines anormales. Ces résultats confirment l'importance des mutations entraînant des anomalies d'épissage dans les pathologies génétiques telles que la NEM1.

277

GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE

CARACTÉRISATION FONCTIONNELLE DE LA RÉGION PROMOTRICE DU GÈNE MEN1 DE PRÉDISPOSITION À LA NÉOPLASIE ENDOCRINIENNE MULTIPLE DE TYPE 1 (NEM1)

M. Fromaget, C. Vercherat, CX. Zhang, B. Zablewska, P. Gaudray, JA. Chayvialle, A. Calender, M. Cordier-Bussat
Unité de Génétique et Unité INSERM U45, Hôpital E. Herriot, Lyon

La néoplasie endocrinienne multiple de type 1 (NEM1) est un syndrome à transmission autosomique dominante qui associe des lésions parathyroïdiennes, pancréatiques et hypophysaires. Le gène MEN1, défini comme oncosuppresseur, dont les mutations prédisposent à développer le syndrome NEM1, est localisé en 11q13. Il est constitué de 10 exons et il est transcrit sous la forme d'un ARNm de 2,8 kb qui code pour la ménine (67 kDa). La

caractérisation des régions promotrices du gène est primordiale afin de connaître les mécanismes de la régulation du gène, dans les cellules endocrines en particulier.

Nous avons identifié de multiples transcrits alternatifs de 2,8 kb, qui diffèrent uniquement par leur extrémité 5'UTR. Nous avons caractérisé la région promotrice permettant leur synthèse. Cette séquence fonctionne in vitro comme un promoteur fort, malgré l'absence de boîte TATA. En revanche, elle possède de nombreux sites Inr (initiateur). Certains d'entre eux servent de sites d'initiation de la transcription (TSS) pour les transcrits préalablement décrits et leur utilisation pourrait dépendre du contexte cellulaire. Nous avons identifié la séquence promotrice minimale (100 pb) et, également, localisé des régions cis-régulatrices. Enfin, nous avons démontré l'existence d'une autorégulation négative du promoteur MEN1 par la protéine 'ménine' elle-même et localisé les séquences promotrices impliquées dans ce phénomène. La recherche de mutations dans cette région pourrait s'avérer indispensable pour les 5% de patients NEM1 chez lesquels aucune mutation n'a été identifiée dans la séquence codante du gène.

283 >> Poster n°235

GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE

STRATÉGIES DE MISE EN PLACE DU DIAGNOSTIC MOLÉCULAIRE DU SYNDROME DE USHER

V. Faugère, A. Vielle, M. Claustres, AF. Roux
Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHU, Montpellier

Le syndrome de Usher se définit par une surdité neurosensorielle sévère à profonde associée à une rétinite pigmentaire évoluant en cécité. Sa prévalence est de 1/25 000 et son caractère héréditaire de type autosomique récessif a été bien établi. L'hétérogénéité clinique du syndrome de Usher a nécessité l'élaboration d'une classification selon 3 types prenant en compte l'âge d'apparition de la surdité et de la rétinite pigmentaire ainsi que la présence éventuelle de problèmes vestibulaires. À cette hétérogénéité clinique se rajoute une hétérogénéité génétique puisque 13 loci ont été identifiés. Sept gènes sont actuellement connus, 5 pour le type 1, et un pour chacun des types 2 et 3. L'identification de mutations au sein des différents gènes montre d'ores et déjà que la classification clinique ne permet pas de cibler la recherche de mutations sur un seul gène. La mise en place d'un diagnostic moléculaire doit prendre en compte ces différentes données et passe par une évaluation de sa faisabilité. Nous travaillons en collaboration avec une vingtaine d'équipes de génétique clinique, d'ORLs et d'ophtalmologistes, avec 3 objectifs : 1) étudier la prévalence des différents types de Usher en France, 2) rechercher des mutations dans les différents gènes déjà identifiés, 3) rendre un diagnostic moléculaire aux familles concernées. Étant donné le nombre de gènes à étudier, nous avons défini les gènes à cribler en priorité ; nous effectuons, lorsque c'est possible, une étude indirecte préalable permettant de cibler le gène qui est alors étudié par DHPLC et/ou séquençage.

295 >> Poster n°236

GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE

DIAGNOSTIC GÉNÉTIQUE DES CALPAÏNOPATHIES : STRATÉGIE MOLÉCULAIRE ET ANALYSE D'UNE SÉRIE DE 15 CAS

R. Bernard (1), L. Stuhl (1), C. Pécheux (1), H. El Hadi (2), A. Urtizberea (3), D. Figarella-Branger (4), B. Eymard (3), F. Leturcq (5), N. Lévy (1,6)

(1) Département de Génétique Médicale, Hôpital d'enfants La Timone, Marseille

(2) Généthon III, Evry

(3) Institut de Myologie, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris

(4) Laboratoire de biopathologie nerveuse et musculaire, Faculté de Médecine La Timone, Marseille

(5) Laboratoire de Biochimie génétique, Hôpital Cochin, Paris

(6) INSERM U491, Faculté de Médecine la Timone, Marseille

Les Myopathies des ceintures ou LGMD (Limb Girdle Muscular Dystrophies) représentent un groupe hétérogène d'affections héréditaires. Cliniquement, il s'agit d'une atteinte des muscles proximaux des membres, symétrique et progressive. Il existe des formes autosomiques dominantes (LGMD1) et récessives (LGMD2). Parmi les formes récessives, 10 gènes ont été identifiés à ce jour, ayant permis de définir autant d'entités distinctes (LGMD2A à LGMD2J). La LGMD2A est liée à des mutations dans le gène CAPN3, localisé en 15q15.1-15.3. CAPN3 code pour une protéine majoritairement exprimée dans le muscle squelettique, la calpaïne 3, appartenant à une famille de cystéine protéases intracellulaires non lysosomales. Sa fonction dans la fibre musculaire reste putative ; son importance dans le catabolisme, ses interactions avec d'autres protéines du complexe myofibrillaire (Titine), son rôle possible dans l'apoptose ont été proposés. Nous avons mis en place à Marseille le diagnostic génétique des Calpaïnopathies, basé sur une stratégie de criblage par SSCP suivi du séquençage des fragments à profil de migration anormal. L'analyse des 24 exons du gène et de leurs bornes introniques a été réalisée chez une série de 15 patients sélectionnés cliniquement et en fonction des résultats du Western Blot et ou de l'immunohistochimie à la biopsie musculaire. Nous avons ainsi pu mettre en évidence 16 variations de séquence, dont 69% correspondent à des mutations ou des polymorphismes connus. Nous discutons les résultats obtenus dans la perspective des données phénotypiques dont nous disposons. Sur la base de ces résultats préliminaires, nous discutons également les stratégies moléculaires de diagnostic.

297 >> Poster n°237

GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE

TRANSFERT DE GÈNE DANS LE MODÈLE MURIN DE LA MALADIE DE SANDHOFF À L'AIDE DE VECTEURS LENTIVIRAUX

A. Arfi (1), C. Bourgoïn (1), C. Emiliani (2), A. Gelot (3), L. Poenaru (1), C. Caillaud (1)

(1) Laboratoire de Génétique, Département GDPM, Institut Cochin (Université Paris V, INSERM, CNRS), Paris

(2) Département de Biologie Moléculaire et Cellulaire, Perugia, Italie

(3) Unité de Neuropathologie, Hôpital Trousseau, Paris

La maladie de Sandhoff, maladie de surcharge lysosomale, appartient à la famille des gangliosidoses à GM2. Cette neuropilipidose, due à un défaut du gène HEXB codant la

sous-unité bêta des hexosaminidases, est caractérisée par un double déficit en hexosaminidases A et B. Elle atteint principalement le système nerveux central (SNC), ainsi que des organes périphériques, tels que le foie et la rate. Cette maladie a une évolution sévère et ne dispose à ce jour d'aucun traitement efficace.

Afin de tester la faisabilité d'un transfert de gène dans cette affection, des vecteurs lentiviraux mono et bicistroniques ont été construits. Ils contiennent l'ADNc HEXA et/ou HEXB codant respectivement les chaînes alpha et bêta des hexosaminidases, sous le contrôle du promoteur CMV. Ces constructions ont été testées ex vivo sur fibroblastes de patients Sandhoff, afin de d'évaluer la capacité des enzymes recombinantes Hex A et Hex B à corriger le déficit des cellules, et l'efficacité du mécanisme de sécrétion-recapture (voie du récepteur mannose-6-phosphate). Nous déterminerons également quel vecteur bicistronique permet d'obtenir le meilleur ratio entre les chaînes alpha et bêta. Les vecteurs recombinants seront ensuite testés in vivo dans le modèle murin Hexb^{-/-}. Nous ciblerons essentiellement le SNC, par injections intracérébrales de vecteurs lentiviraux à l'aide de méthodes stéréotaxiques, et d'autres organes périphériques comme le foie par injections intraveineuses à différents temps (période néonatale ou adulte). L'expression de Hex A et B et la dégradation du ganglioside GM2 seront étudiées sur le plan biochimique et histopathologique.

301 >> Poster n°238

GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE

LMNA, MTMR2 ET GDAP1 : IMPLICATIONS DANS LES FORMES AUTOSOMIQUES RÉCESSIVES DE MALADIE DE CHARCOT-MARIE-TOOTH

R. Bernard (1), A. De Sandre-Giovannoli (2), T. Hamadouche (2), M. Tazir (3), M. Chaouch (3), I. Boccaccio (2), V. Delague (2)(6), M. Soulier (1), J.M. Vallat (4), C. Desnuelle (5), A. Megarbane (6), D. Grid (7), N. Lévy (1)(2)

(1) Département de Génétique Médicale, Hôpital d'enfants la Timone, Marseille

(2) INSERM U491, Faculté de Médecine la Timone, Marseille

(3) Service de Neurologie, Centre Hospitalier Universitaire Ben-Aknoun, Alger, Algérie

(4) Service de Neuropathologie, Centre Hospitalier Universitaire Dupuytren, Limoges

(5) Service de Neurologie, Hôpital de l'Archet, Nice

(6) Faculté de Médecine / Université S. Joseph, Beyrouth, Liban

(7) Généthon III, Evry

Les neuropathies périphériques de type Charcot-Marie-Tooth (CMT) constituent un groupe hétérogène d'affections génétiques fréquentes. Sur des critères électromyographiques sont distinguées les formes démyélinisantes, axonales et intermédiaires. Nous rapportons les résultats de l'exploration moléculaire des gènes LMNA, MTMR2 et GDAP1 dans des familles consanguines de CMT autosomique récessif. Nous avons identifié une mutation fondatrice (c.892C>T) dans LMNA chez 11 familles algériennes. Nous avons mis en évidence deux mutations distinctes dans MTMR2 dans deux familles algériennes de CMT démyélinisant. Enfin, l'analyse de GDAP1 a permis d'identifier une mutation d'épissage et une mutation non-sens responsables de formes sévères de CMT intermédiaire dans deux familles, libanaise et algérienne. Nos résultats confirment que des mutations homozygotes de LMNA, MTMR2 et GDAP1 sont responsables respectivement de CMT axonal (CMT2B1), démyélinisant (CMT4B1), et mixte (CMT4A). LMNA code pour les Lames

A/C, protéines structurales majeures de la lamina nucléaire chez les vertébrés. MTMR2 code pour une protéine de la famille des myotubularines phosphatases, avec une activité spécifique vis-à-vis du phosphatidylinositol 3-phosphate. Par ailleurs, la structure et le profil d'expression de GDAP1 indiquent que les fonctions de la protéine seraient liées à la fois aux gangliosides et aux Glutathione S-Transferases. GDAP1 est majoritairement exprimé dans les tissus nerveux, tandis que LMNA et MTMR2 ont une expression ubiquitaire. De plus, différentes mutations de LMNA sont responsables de plusieurs affections héréditaires qui ne présentent que des liens partiels. L'exploration fonctionnelle de la physiopathologie des différentes formes de CMT est désormais indispensable, afin de préciser les relations structure-fonction-phénotype.

303 >> Poster n°239

GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE

APLASIA OF THE ANTERIOR PITUITARY AND OPTIC NERVE COLOBOMA DUE TO AN ALU-ELEMENT INSERTION IN THE HOMEODOMAIN OF HESX1

ML. Sobrier (1), N. Thibaud (1), C. Heinrich (2), G. Van Vliet (2), I.

Netchine (1), S. Amselem (1)

(1) INSERM U468, Créteil

(2) CHU des Enfants, Bruxelles

The homeobox *Hesx1* transcription factor has been shown to be essential for normal forebrain development in mice. None of the known genes encoding transcription factors necessary for pituitary development has so far been involved in pituitary aplasia in humans. We have investigated a consanguineous family in which two siblings displayed a complete absence of the anterior pituitary, with a normally positioned posterior pituitary and a normal stalk. None of the anterior pituitary hormones was detectable at baseline or under stimulation. The younger patient died within the first days of life. The older patient, who has an optic nerve coloboma, carries a homozygous Alu insertion within exon 3 of *HESX1*. Analysis of the *HESX1* transcripts generated from the mutant allele led to the identification of two isoforms: a major transcript carrying a deletion of exon 3 and a minor isoform in which exons 2 and 3 are skipped. If translated, these transcripts would result in severely truncated proteins lacking a part or the entire homeodomain. The current observation, which describes the first molecular defect identified thus far in human pituitary aplasia, illustrates the heterogeneity of phenotypes associated with *HESX1* abnormalities. Anterior pituitary aplasia is a new example of a human disease caused by the insertion of an Alu sequence.

304

GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE

EXCLUSION DU GÈNE GAB1 DANS LES SYNDROMES DE NOONAN, CFC ET COSTELLO

J. Nectoux (1), B. Parfait (1), J. Amiel (2), S. Lyonnet (2), M. Vidaud (1)

(1) Laboratoire de Génétique Moléculaire, Faculté de Pharmacie, Paris

(2) INSERM U393, Paris

Le gène en cause dans près de 50% des cas de syndrome de Noonan (MIM#163950) est le gène *PTPN11* localisé en 12q24. Il code une protéine à activité tyrosine phosphatase,

SHP-2 (SH2 domain-containing protein tyrosine phosphatase 2), impliquée dans de nombreuses voies de transduction du signal. La connaissance de ce gène ouvre la possibilité d'identifier les autres gènes impliqués dans le syndrome de Noonan par une approche de type gène candidat.

Le gène GAB1 (Grb2-associated binding protein 1), localisé en 4q31.1, présente des caractéristiques intéressantes. Il code la protéine d'ancrage Gab1, partenaire direct de SHP-2 dans certaines voies de transduction du signal et conduisant à l'activation de la voie des MAP Kinases. Son inactivation par invalidation chez la souris conduit à un phénotype présentant des similitudes avec SHP-2.

Nous avons recherché des mutations au sein de la séquence codante de GAB1 d'une part chez 7 patients atteints de syndrome de Noonan pour lesquels aucune mutation de PTPN11 n'avait été mise en évidence et d'autre part chez des patients présentant des syndromes apparentés au syndrome de Noonan : 2 patients atteints de syndrome cardio-facio-cutané (CFC, MIM115150) et 2 patients présentant un syndrome de Costello (MIM218040) pour lesquels l'exploration de PTPN11 s'était révélée négative. Aucune mutation de la séquence codante du gène GAB1 n'a été identifiée. Les résultats obtenus sur un nombre réduit de patients ne sont pas en faveur d'une implication du gène GAB1 dans les syndromes de Noonan, CFC et Costello.

309 >> Poster n°240

GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE

DÉLÉTION AU SEIN DE LA RÉGION CODANTE DE PTPN11 CHEZ UN SUJET PRÉSENTANT UN SYNDROME DE NOONAN

B. Parfait (1), M. Miteva (2), G. Bolasco (1), A. Raas-Rotschild (3), W.H. Lee (2), B. Villoutreix (2), M. Vidaud (1)

(1) Laboratoire de Génétique Moléculaire, Faculté de Pharmacie, Paris

(2) INSERM U428, Paris

(3) Department of Human Genetics, Hadassah University Medical Center, Jerusalem, Israel

Le syndrome de Noonan (MIM#163950) est un syndrome polymalformatif héréditaire fréquent, sporadique ou familial et transmis sur un mode autosomique dominant. Les manifestations cliniques sont hétérogènes associant chez l'enfant une petite taille, un morphotype particulier et des anomalies cardiaques (essentiellement sténose valvulaire pulmonaire et/ou hypertrophie myocardique). L'un des gènes en cause localisé en 12p24 a été récemment identifié. Il code une protéine à activité tyrosine phosphatase, SHP-2 (SH2 domain-containing protein tyrosine phosphatase 2), impliquée dans de nombreuses voies de transduction du signal. Les mutations rapportées à ce jour sont systématiquement des substitutions nucléotidiques responsables de mutations faux sens et qui conduisent vraisemblablement à un gain de fonction de la protéine.

L'étude de la séquence nucléotidique du gène PTPN11 chez un patient atteint de syndrome de Noonan sans antécédents familiaux nous a permis de mettre en évidence une délétion de 3 nucléotides responsable de la perte du résidu aspartique en position 61 de la protéine conservé entre les différentes espèces et au sein de la famille des protéines à activité tyrosine phosphatase. Les données cristallographiques suggèrent un rôle clé de cet acide aminé dans les interactions intramoléculaires responsables de la régulation de l'activité enzymatique de SHP-2. Les résultats de la modélisation moléculaire que nous avons

obtenus confortent l'hypothèse d'un gain de fonction de la protéine mutée.

312 >> Poster n°241

GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE

DIAGNOSTIC PRÉ-IMPLANTATOIRE DE LA MUCOVISCIDOSE : PLUS DE 90% DES COUPLES PEUVENT ÊTRE PRIS EN CHARGE.

C. Guittard, M. Des Georges, C. Fernandez, M. Claustres, A. Girardet

Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHU, Montpellier

Le diagnostic pré-implantatoire (DPI) est destiné aux couples susceptibles de transmettre une maladie génétique particulièrement grave à leur descendance. Le DPI est basé sur l'analyse d'une ou de deux cellules prélevée(s) sur des embryons conçus in vitro, au 3^{ème} jour de leur développement. Seuls les embryons indemnes de la pathologie familiale sont ensuite transférés dans l'utérus maternel.

En raison de son incidence élevée, la mucoviscidose fait partie des diagnostics les plus fréquemment demandés en DPI. Il est impossible d'envisager la mise au point de tests diagnostiques à l'échelle unicellulaire pour les 1000 mutations pathogènes jusqu'ici répertoriées. Nous avons donc développé une stratégie combinant :

- la détection directe des deux mutations du gène CFTR les plus fréquentes : la délétion Δ F508 (qui concerne environ 85% des patients atteints de mucoviscidose en France, incluant les homozygotes et les hétérozygotes composites) et G542X (dont la fréquence est de plus de 5% dans le Sud de la France)

- à l'analyse indirecte par haplotypage de deux marqueurs microsatellites intragéniques, IVS1CA et IVS8CA, situés respectivement dans les exons 1 et 8 du gène CFTR.

Cette stratégie est applicable à toutes les familles souhaitant recourir au DPI pour risque de transmission de la mucoviscidose, dès lors qu'au moins l'un des parents est hétérozygote pour l'une ou l'autre de ces deux mutations, et que le couple est informatif pour au moins l'un des deux microsatellites. Plus de 90% des couples demandeurs d'un DPI peuvent être désormais pris en charge grâce à cette technique fiable et reproductible.

313 >> Poster n°242

GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE

ETUDE MOLÉCULAIRE DES GÈNES ALPHA- ET GAMMA-SARCOGLYCANE, ET DU GÈNE DE LA CAVÉOLINE 3 DANS UNE SÉRIE DE PATIENTS ATTEINTS DE MYOPATHIE DES CEINTURES

M. Krahn (1), R. Bernard (1), K. Nguyen (1), J. Pouget (2), V. Labelle (1), D. Figarella-Branger (3), N. Levy (1)(4)

(1) Département de Génétique Médicale, Hôpital d'enfants La Timone, Marseille

(2) Clinique des maladies neuromusculaires, Hôpital d'adultes La Timone, Marseille

(3) Laboratoire de biopathologie nerveuse et musculaire, Faculté de Médecine La Timone, Marseille

(4) INSERM U491, Faculté de Médecine la Timone, Marseille

Les dystrophies musculaires des ceintures (Limb-girdle muscular dystrophies, LGMD) constituent un groupe hétérogène de pathologies autosomiques dominantes (LGMD1) ou récessives (LGMD2).

Parmi les LGMD2, les sarcoglycanopathies (LGMD2C-F) sont

causées par des mutations des gènes gamma-, alpha-, beta-, et delta-sarcoglycane, respectivement

Parmi les LGMD1, la forme LGMD1C est liée à des mutations dans le gène de la Cavéoline 3 (CAV3).

Nous avons mis en place à Marseille la recherche de mutations dans les gènes alpha- et gamma-sarcoglycane (précriblage en SSCP et séquençage des variants électrophorétiques) et de la Cavéoline 3 (séquençage direct).

L'analyse moléculaire des gènes alpha- et gamma-sarcoglycane réalisée chez 11 patients nous a permis d'identifier des mutations chez 6 individus ayant un phénotype caractéristique de LGMD, selon les critères diagnostiques établis, et de transmission compatible avec un mode autosomique récessif.

Dans le groupe de 20 patients atteints de LGMD de transmission potentiellement autosomique dominante, une seule mutation a été identifiée dans le gène de la Cavéoline 3. Cette patiente âgée de 71 ans représente probablement le premier cas de LGMD1C à début tardif. La mutation impliquée (R27Q) avait auparavant été identifiée chez des patients atteints de myopathies de type "rippling muscle disease", d'hyperCKémie isolée et de myopathie distale (dans un cas). Ce cas illustre l'implication de cette mutation dans un quatrième phénotype et l'expression phénotypique hautement variable associée aux mutations de CAV3, y compris pour une même mutation. Des études ultérieures devraient permettre d'impliquer des facteurs génétiques ou extra-génétiques dans la modulation phénotypique associée à ces mutations.

315 >> Poster n°243

GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE

PATHOPHYSIOLOGY OF SYNDROMIC COMBINED PITUITARY HORMONE DEFICIENCY DUE TO A LHX3 DEFECT

ML. Sobrier (1), T. Attié-Bitach (2), I. Netchine (1), F. Encha-Razavi (2), K. Machinis, M. Vekemans (2), S. Amselem (1)
(1)INSERM U468 Créteil
(2)INSERM U393 Paris

Human combined pituitary hormone deficiency, a disorder that can be associated with extrapituitary abnormalities, has been shown to result from mutations within a few genes, including LHX3 and LHX4, two sequences encoding LIM-homeodomain transcription factors that are believed to share redundant biological properties. The patients so far identified with a LHX3 mutation display hormone deficiencies combined with cervical spine rigidity and anteverted shoulders. These unique extrapituitary features, not reported in Lhx3 and Lhx4 knock-out mice, nor in patients with a LHX4 molecular defect prompted us to analyze the molecular consequences of a 23-bp deletion in LHX3 involving a splice donor site identified in one family, and to examine, by in situ hybridization, the normal LHX3 and LHX4 expression patterns during early human development. This deletion results in an exon skipping that leads to a protein -lacking the second LIM domain and the homeodomain- with dramatically reduced transcriptional capability. At all developmental stages studied, LHX3 and LHX4 transcripts were not detected in tissues forming muscles and the axial skeleton; however these transcripts were found to be expressed in the developing anterior pituitary and, most importantly, in the ventral part of the spinal cord from which motoneurons and interneurons develop, thereby strongly suggesting that the

extrapituitary anomalies result from a LHX3-dependent neurological defect and that this defect is not rescued by the closely related protein LHX4.

316 >> Poster n°244

GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE

DIAGNOSTIC GÉNÉTIQUE DE LA MALADIE DE VON HIPPEL LINDAU PAR QMPSF (QUANTITATIVE MULTIPLEX PCR OF SHORT FLUORESCENT FRAGMENTS)

S. Giraud (1), C. Blachier (1), G. Raux (2), S. Pinson (1), G. Lesca (1), D. Lacombe (3), A. Penfornis (4), M. Tosi (2), T. Frebourg (2), S. Richard (5), A. Calender (1)

(1) Laboratoire de Génétique, Hôpital Edouard Herriot, Lyon

(2) INSERM EMI 9906, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Rouen

(3) Service de Génétique Médicale, CHU Pellegrin Enfants, Bordeaux

(4) Service d'Endocrinologie, CHU Jean Minjot, Besançon

(5) Laboratoire d'Oncogénétique EPHE, Faculté de Médecine Paris-Sud, le Kremlin-Bicêtre

La maladie de von Hippel Lindau (VHL), transmise sur le mode autosomique dominant, prédispose au développement d'hémangioblastomes du système nerveux central et de la rétine, de kystes et tumeurs des reins et du pancréas, et de phéochromocytomes. Le séquençage direct des trois exons du gène VHL identifie les mutations chez 70% des patients mais ne détecte pas les grands remaniements qui concernent 30% des malades.

Nous avons mis au point une technique de détection de ces grandes délétions grâce à une PCR multiplex quantitative (QMPSF) : amplification simultanée des trois exons du gène VHL et d'un exon témoin avec une amorce marquée par un fluorochrome pour chaque amplicon, électrophorèse et analyse comparative des pics de fluorescence sur un séquenceur automatique. La fiabilité de la méthode a été vérifiée par l'analyse de sujets dont les délétions étaient déjà connues.

Nous avons analysé par cette technique 100 patients, chez qui le diagnostic de VHL était certain ou suspecté, et sans anomalie de séquence. Nous avons mis en évidence 27 délétions partielles ou totales du gène. Dans trois familles la QMPSF a permis de détecter la délétion familiale chez deux apparentés indemnes et d'éliminer la maladie chez 19 autres.

La QMPSF nécessite rigueur et précision pour être reproductible mais c'est une méthode rapide et efficace pour la détection des grandes délétions du gène VHL. Elle complète donc parfaitement le séquençage direct. Elle définit les exons délétés et permettra peut-être d'affiner les corrélations génotype-phénotype notamment chez les patients porteurs de délétions partielles.

321 >> Poster n°245

GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE

SYNDROME DE PENDRED : ANALYSE DU GÈNE PDS ET PHÉNOTYPE.

H. Blons (1), D. Feldmann (1,18), V. Duval (1), O. Messaz (1), F. Denoyelle (2,18), N. Loundon (2), A. Sergout-Allaoui (3), M. Houang (4), F. Duriez (5), D. Lacombe (6), B. Delobel (7), J. Leman (8), H. Catros (9), H. Journel (10), V. Drouin-Garraud (11), MF. Obstoy (12), A. Toutain (13), S. Odent (14), JE. Toublanc (15), R. Couderc (1,18), C. Petit (16), EN. Garabédian (2,18), S. Marlin (17,18)

(1) Service de biochimie et de biologie moléculaire, Hôpital d'Enfants Armand-Trousseau, Paris

(2) Service d'ORL et de chirurgie cervico-faciale, Hôpital d'Enfants

Armand-Trousseau, Paris

(3) Service de médecine nucléaire, Hôpital d'Enfants Armand-Trousseau, AP-HP, Paris

(4) Service d'endocrinologie, Hôpital d'Enfants Armand-Trousseau, AP-HP, Paris

(5) Service d'ORL, Hôpital Pellegrin, Bordeaux

(6) Service de génétique, Hôpital Pellegrin, Bordeaux

(7) Centre de génétique, Hôpital St Antoine, Lille

(8) Centre Rochin, Lille

(9) Centre G Deshayes, Auray

(10) Unité de génétique médicale, CHR, Vannes

(11) Service de génétique, Hôpital Charles Nicolle, Rouen

(12) Service d'ORL, Hôpital Charles Nicolle, Rouen

(13) Service de génétique, Hôpital Bretonneau, Tours

(14) Service de génétique, Hôpital Pontchaillou, Rennes

(15) Service des consultations, Hôpital Saint Vincent de Paul, Paris

(16) Unité de Génétique des Déficits Sensoriels, INSERM U587, Institut

Pasteur, Paris

(17) Unité de génétique médicale et 18 INSERM U587, Hôpital d'Enfants

Armand-Trousseau, AP-HP, Paris

Le syndrome de Pendred est une affection héréditaire de transmission autosomique récessive, caractérisée par une surdité précoce avec malformations de l'oreille interne, associée à une atteinte thyroïdienne. Le gène PDS (SLC26A4) codant la protéine Pendrine est impliqué dans le syndrome de Pendred et dans une forme de surdité isolée DFNB4.

Nous rapportons les résultats de l'analyse moléculaire du gène PDS dans 30 familles de patients atteints de syndrome de Pendred. La surdité est prélinguale ou précoce dans la majorité des cas, moyenne à profonde, souvent fluctuante et la présence de malformations de l'oreille interne est toujours retrouvée. Une atteinte thyroïdienne attestée par un goitre et/ou un test au perchlorate et/ou une hypothyroïdie est documentée dans tous les cas.

Le criblage des exons 2 à 20 du gène PDS a été effectué par électrophorèse en gradient dénaturant et séquençage. 47 variants représentant 28 mutations différentes dont 11 nouvelles mutations ont été identifiés. Seules 8 mutations sont retrouvées dans plus d'une famille V138F, G209V, IVS8+1G>A, T410M, T416P, L445W, Y530H et IVS14+1G>A. Dans 21 familles une mutation a été identifiée sur les deux allèles permettant d'affirmer le diagnostic de syndrome de Pendred, dans 5 familles un allèle a été identifié et dans 4 cas aucune mutation n'a pu être trouvée. Ces résultats montrent l'existence d'une grande diversité de mutations du gène PDS dans la population étudiée et d'une variabilité phénotypique confirmant l'intérêt du diagnostic moléculaire dans la prise en charge des malades avec syndrome de Pendred.

324 >> Poster n°246

GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE

RECHERCHE DE MUTATION DU GÈNE GPC3 DANS LE SYNDROME DE SIMPSON GOLABI BEHMEL

MP. Moizard (1), I. Mortemousque (1), B. Laudier (1), N. Ronce (1), C. Gendrot (2), M. Raynaud (1), C. Moraine (1)

(1) Service de Génétique, CHU, Tours

(2) Service de Biochimie, CHU, Tours

Le syndrome de Simpson Golabi Behmel (SGB), de transmission récessive liée à l'X, se caractérise par une avance de croissance globale, pré et postnatale et par une dysmorphie faciale qui peuvent s'accompagner de malformations congénitales telles que la présence d'une polydactylie ou de mamelons surnuméraires. Le retard

mental, inconstant, est souvent modéré. Des mutations du gène glypican 3 (GPC3), localisé en Xq26, et codant pour une protéoglycane membranaire liant des facteurs de croissance ont été mises en évidence dans un certain nombre de cas.

Le criblage mutationnel du gène GPC3 a été réalisé chez 48 patients qui présentaient un tableau clinique évocateur de SGB soient 41 examens postnatals, 4 examens prénatals et 3 examens après IMG. La totalité de la région codante du gène ainsi que les bornes exon-intron ont été analysées par PCR et SSCP (utilisation de l'appareil Genephor (Pharmacia Biotech) ; technique réalisée à 3 températures). Tout fragment présentant un profil de migration anormal a été séquencé. Une mutation a pu être identifiée dans 4 cas : délétion des exons 7 et 8, délétion de 8 bases dans l'exon 3, délétion totale du gène et mutation non sens dans l'exon 2. La faible fréquence des mutations décelées laisse évoquer plusieurs hypothèses et réflexion : existence de mutations non décelées par les techniques utilisées, responsabilité d'un ou plusieurs autres gènes, nécessité de préciser le phénotype de ce syndrome afin de pouvoir, au mieux, orienter la recherche de mutation devant un syndrome avec avance staturo-pondérale (voir le poster d'I. Mortemousque, résumé n°200).

332 >> Poster n°247

GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE

DIAGNOSTIC MOLÉCULAIRE ET DÉPISTAGE NÉONATAL DE LA MUCOVISCIDOSE DANS LE SUD DE LA FRANCE:

1) EXTREME HÉTÉROGÉNÉITÉ ALLÉLIQUE

2) TRÈS FAIBLE INCIDENCE

J.P. Altiéri (1), C. Templin (1), C. Guittard (1), P. Sarda (2), J. Sarles, M. Claustres (2), M. des Georges (1)

(1) Laboratoire de Génétique Moléculaire, IURC, Montpellier

(2) Service de Pédiatrie, CHU, Montpellier

(3) Association Régionale d'Etude et de Dépistage des Encéphalopathies MALformations Génétiques (AREDEMG), CHU La Timone, Marseille

Sur un total de 800 familles analysées, nous rapportons ici les résultats de la recherche des mutations chez les 208 patients originaires du Sud de la France. Après avoir recherché les mutations les plus fréquentes, un balayage complet est réalisé par DGGE, DHPLC suivi d'une identification par séquençage.

Nous rapportons aussi les premières données concernant l'incidence de la mucoviscidose suite à la mise en place récente du dépistage néonatal en France. 119 810 nouveau-nés ont été testés : dosage systématique de la TIR complété, si le taux est supérieur à 65 ng/ml, par la recherche de 20 mutations les plus fréquentes.

Les résultats issus de ces études sont essentiels pour le conseil génétique particulièrement pour le calcul de risque résiduel de mucoviscidose pour les couples où l'un des membres est porteur d'une mutation ou lorsqu'une hyperéchogénicité intestinale est détectée chez un fœtus.

Cette étude révèle deux résultats inattendus :

1) La plus forte hétérogénéité allélique décrite jusqu'ici en France et en Europe : 71 mutations différentes chez 208 patients (F508del = 59,81% seulement).

2) L'incidence très faible de la mucoviscidose dans le sud de la France : 1/9984 (12 enfants atteints).

Le risque résiduel pour une personne de la population générale d'être hétérozygote après recherche négative des

mutations les plus fréquentes (Elucigène CF20) est de 1/153 en France ($q=1/30$ et $S=81\%$) et 1/214 dans les régions méditerranéennes françaises ($q=1/50$ et $S=77\%$).

Une meilleure connaissance de la répartition des mutations selon l'origine ethnique des individus est indispensable pour affiner le calcul.

337 >> Poster n°248

GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE

14 NOUVELLES MUTATIONS DU GÈNE OPA1 DANS LES ATROPHIES OPTIQUES DOMINANTES

P. Amati-Bonneau (1), C. Delettre (2), M.O. Surget (2), M. Ferré (1), J.F. Charlin (3), H. Dollfus (4), P. Jonveaux (5), D. Bonneau (6), Y. Malhiéry (1), C. Hamel (2), P. Reynier (1).

(1) INSERM E0018, Angers

(2) INSERM U254, Montpellier

(3) Service d'Ophthalmologie, CHU, Rennes

(4) Service de Génétique Médicale, CHU, Strasbourg

(5) Service de Génétique Médicale, CHU, Nancy

(6) Service de Génétique Médicale, CHU, Angers

L'Atrophie Optique Dominante (AOD, MIM 165500) se caractérise cliniquement par une baisse progressive de l'acuité visuelle, une atrophie du nerf optique, un scotome centro-cæcal et une dyschromatopsie dans l'axe bleu-jaune. L'AOD, souvent diagnostiquée dans l'enfance, a une pénétrance incomplète et une expressivité intra et inter-familiale variable.

Sur le plan histopathologique, l'AOD entraîne une dégénérescence de cellules ganglionnaires de la rétine, une perte de la myéline et du tissu nerveux au niveau du nerf optique, comme celle que l'on observe dans l'atrophie optique de Leber. Cette dernière affection constitue le principal diagnostic différentiel de l'AOD.

Le gène OPA1, responsable d'environ 40% des AOD, code pour une dynamine/GTPase impliquée dans la maintenance des mitochondries.

Nous avons séquencé le gène OPA1 chez 64 patients atteints d'atrophie optique. Dans 44 cas il s'agissait de formes familiales et dans 20 cas de formes sporadiques d'atrophie optique. Nous avons détecté des mutations dans 27/44 patients avec AOD familiale (61%) et dans 2/20 (10%) des cas d'AO sporadique. Nous avons mis en évidence 14 nouvelles mutations dont une non sens, 3 faux-sens, 6 délétions dont 2 de novo, une insertion et 3 mutations d'épissage. Nous avons aussi retrouvé une mutation d'OPA1 dans une forme congénitale sévère de la maladie. Un site internet a été mis en place pour répertorier les mutations et les polymorphismes du gène OPA1 (<http://lbbma.univ-angers.fr/eOPA>).

Nous résultats montrent l'intérêt d'analyser le gène OPA1 dans les formes d'AO sporadiques et dans les présentations cliniques atypiques comme les atrophies optiques congénitales.

339

GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE

LA MUTATION R445H DU GÈNE OPA1 EST RESPONSABLE D'UNE ATROPHIE OPTIQUE ASSOCIÉE À UNE SURDITÉ

P. Amati-Bonneau (1), S. Odent (2), C. Derrien (3), L. Pasquier (2), Y. Malhiéry (1), D. Bonneau (4), P. Reynier (1)

(1) INSERM E0018, Angers

(2) Service de Génétique Médicale, CHU, Rennes

(3) Service de Diabétologie, CHU, Rennes

(4) Service de Génétique Médicale, CHU, Angers

L'Atrophie Optique Dominante (AOD) est la forme la plus fréquente d'atrophie optique héréditaire avec une prévalence de 1:50000. Elle se caractérise cliniquement par une baisse progressive de l'acuité visuelle, une atrophie du nerf optique, un scotome central et une dyschromatopsie bleu-jaune. Le gène OPA1 est responsable de 40% de cas d'AOD ; il s'agit habituellement de formes non syndromiques.

Nous rapportons ici 2 patients non apparentés atteints d'AOD et de surdité neurosensorielle pour lesquels une mutation identique (R445H) a été mise en évidence dans le gène OPA1. Le premier cas est une femme de 38 ans ayant une atrophie optique bilatérale depuis l'âge de 6 ans et une surdité bilatérale progressive de 70 dB détectée à 16 ans. Le second cas est une femme de 20 ans ayant une atrophie optique et une surdité progressive depuis l'âge de 16 ans. Ces deux patientes sont porteuses de la même mutation hétérozygote (1334G>A; R445H) du gène OPA1.

De façon intéressante, cette mutation R445H a été retrouvée par une équipe japonaise chez un patient ayant la même association AOD + surdité.

La mutation R445H semble donc spécifiquement associée au phénotype AOD+surdité car aucune autre mutation du gène OPA1 n'a été associée, dans notre laboratoire, à une surdité. Le gène OPA1 code pour une dynamine/GTPase mitochondriale impliquée dans la maintenance des mitochondries suggérant que la surdité causée par la mutation R445H soit d'origine mitochondriale.

Ces résultats soulignent également l'importance d'effectuer un audiogramme chez les sujets atteints d'AOD.

349

GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE

EVALUATION DE LA DHPLC POUR LE CRIBLAGE DES GÈNES IMPLIQUÉS DANS LE SYNDROME DE USHER

A. Vielle, V. Faugère, M. Claustres, A.F. Roux

Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHU, Montpellier

Le syndrome de USHER se caractérise par l'association d'une surdité de perception et d'une rétinopathie pigmentaire pouvant évoluer jusqu'à la cécité. Ce syndrome, transmis selon le mode autosomique récessif, touche 1/25000 personnes et représente 3-6 % des surdités de l'enfant ainsi que 18 % des rétinites pigmentaires. Il est la cause la plus fréquente des surdités associées à une cécité. On distingue trois types de USHER définis selon le degré de surdité et l'âge d'apparition de la rétinopathie pigmentaire. A ce jour, l'hétérogénéité génétique de ce syndrome a été démontrée puisque 13 loci sont associés et 7 gènes ont été identifiés. Aujourd'hui, une meilleure compréhension physiopathologique de ce syndrome ne peut se faire sans une approche moléculaire et génétique : l'identification des gènes impliqués et la caractérisation des mutations de chacun de ces gènes. Le diagnostic moléculaire de Usher, mis en place dans le laboratoire, repose sur la recherche de mutations dans les principaux gènes impliqués dans les deux formes les plus sévères : les gènes MYO7A et USH2A. La grande taille de ces gènes, respectivement de 48 et 21 exons, nous a conduit à choisir une technique rapide et sensible : la DHPLC (Denaturing High Performance Liquid Chromatography). Cette technique est basée sur le principe de la chromatographie liquide en phase inverse et permet la détection de variations de séquences sous des conditions de dénaturation partielle. Son utilisation se révèle être un outil efficace dans notre approche de diagnostic.

357

GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE

DESCRIPTION DE QUATRE POLYMORPHISMES DANS LES GÈNES MPDU1, ALG12 ET ALG2 IMPLIQUÉS DANS LES CDG-I

C. Le Bizec, L. Leniaud, S. Vuillaumier-Barrot, G. Durand, N. Seta
Biochimie, Hôpital Bichat, AP-HP, Paris ; Réseau de recherche sur
les CDG INSERM/AFM 4MR29F

Les Congenital disorder of Glycosylation (CDG) sont des maladies autosomiques récessives caractérisées par une dysfonction du système nerveux central et une atteinte multiviscérale liée à un défaut de la N-glycosylation. Les CDG-I comprennent dix entités, notées de CDG-I-a à CDG-I-j. Dans le but de diagnostiquer les CDG non Ia, Ib et Ic, pour lesquels un dosage enzymatique n'est pas disponible en routine, nous avons analysé par séquençage tous les gènes impliqués dans les CDG-I déjà décrits chez nos patients français en attente de typage (n=6). Nous avons trouvé quatre substitutions: G685A (A229T) sur MPDU1 (CDG-I-f), A1177G (I393V) sur ALG12, (CDG-I-g), T31C (S11P) et C1100T (V367A) sur ALG2 (CDG-I-i) à l'état hétérozygote chez trois patients, un patient avait les deux substitutions sur le gène ALG2. A229 sur MPDU1 et I393 sur ALG12, sont des acides aminés conservés entre les espèces mais S11 et V367 sur ALG2 ne sont pas conservés. Nous avons recherché par RFLP les quatre substitutions chez environ 50 contrôles sains. Les quatre substitutions se sont révélées être des polymorphismes fréquents avec une fréquence de 16%, 8,2%, 10% et 7,5% pour G685A (A229T), A1177G (I393V), T31C (S11P) and C1100T (V367A) respectivement. Ces polymorphismes peuvent interférer avec certaines méthodes de détection de mutations et doivent donc être pris en compte. De plus, comme un polymorphisme fréquent F304S sur le gène ALG6 (CDG-Ic) a été associé à une sévérité clinique exacerbée chez les CDG-Ia, il pourrait en être de même avec certains de ces polymorphismes.

359 >> Poster n°249

GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE

CARACTÉRISATION DE LA FIBROSE CONGÉNITALE DES MUSCLES EXTRA-OCULAIRES DE TYPE 4 (CFEOM4) ET LOCALISATION DU LOCUS FEOM4 PAR L'ÉTUDE D'UNE TRANSLOCATION ÉQUILIBRÉE(2;13)(Q37.3;Q12.11)

P. Aubourg (1), M. Krahn (2), K. Nguyen (2), I. Boccaccio (1), J. Pouget (3), D. Depetris (1), MG.Mattei (1), N. Philip (2), N. Lévy (1, 2)

(1) INSERM U491, Marseille

(2) Laboratoire de Génétique Moléculaire, Hôpital de la Timone, Marseille

(3) Service des Maladies Neuromusculaires, Hôpital de la Timone, Marseille

La fibrose congénitale des muscles extra-oculaires (CFEOM) est une maladie rare de transmission autosomique dominante (CFEOM1 et CFEOM3) ou récessive (CFEOM2) caractérisée par un ptosis congénital non progressif et une ophtalmoplégie externe. Cette pathologie est génétiquement et cliniquement hétérogène avec 3 phénotypes (CFEOM1 à 3) liés à différents loci (FEOM1 à 3). Ici, nous présentons quatre membres d'une famille de trois générations présentant un ptosis et une ophtalmoplégie, hérités de façon autosomique dominante, et correspondant aux critères de CFEOM. Dans cette famille, la CFEOM

ségrége avec une translocation entre les chromosomes 2q et 13q. A la dernière génération, une patiente possède la translocation de façon déséquilibrée et présente des symptômes supplémentaires associés à la délétion 2q37, tels qu'un retard mental et une dysmorphie faciale. Des études de génétiques et cytogénétiques moléculaires ont permis de préciser les points de cassure sur le chromosome 2 en 2q37.3 avec 2 BACs chevauchants :105A7 et 449H21, et sur le chromosome 13 en 13q12.11, les BACs 431O5 et 273F15 passant le point de cassure. Après clonage, les fragments de jonctions ont été séquencés et montrent une délétion de trois paires de bases sur le chromosome 2. Des études sont en cours afin d'identifier et de caractériser le(s) gène(s) impliqué(s) dans cette forme de CFEOM, soit par interruption, soit par effet de position. Nous proposons le nom CFEOM4 pour ce phénotype clinique ; FEOM4 étant le locus qui lui sera associé. Par ailleurs, ce travail met en évidence l'hétérogénéité génétique et clinique observée dans la CFEOM.

365 >> Poster n°250

GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE

ASPECTS CLINIQUES, BIOCHIMIQUES ET MOLÉCULAIRES CHEZ CINQ PATIENTS PRÉSENTANT UN SYNDROME D'HYPERINSULINISME-HYPERAMMONIÉMIE

F. Escande (1), S. Flammarion (2), B. Chadeaux (3), F. Vargas (4),
MP. Buisine (1), M. Balduyck (1), N. Porchet (1), D. Dobbelaere (2)
(1) Laboratoire de Biochimie et Biologie Moléculaire, Hôpital C.
Huriez, CHRU Lille

(2) Clinique de Pédiatrie, Unité de Maladies Métaboliques, Hôpital
J. de Flandre, CHRU Lille

(3) Laboratoire de Biochimie B, Hôpital Necker, Paris

(4) Service d'Endocrinologie Pédiatrique, Hôpital de Elche,
Alicante, Espagne

Le syndrome d'Hyperinsulinisme-Hyperammoniémie est une maladie métabolique à transmission autosomique dominante qui se caractérise par une hypoglycémie hyperinsulinique associée à une hyperammoniémie modérée.

Le gène GLUD1 responsable de ce syndrome est localisé sur le chromosome 10 et code un enzyme mitochondrial, la Glutamate Deshydrogenase qui catalyse la désamination oxydative du glutamate en cetoglutarate en utilisant comme cofacteur le NAD/NADP.

Nous décrivons ici les aspects cliniques, biochimiques et moléculaires observés chez cinq patients présentant un syndrome d'Hyperinsulinisme-Hyperammoniémie. Ces patients montrent un phénotype hétérogène avec une hypoglycémie d'apparition plus ou moins précoce et une réponse variable au traitement (Diazoxyde ou restriction en Leucine). L'analyse moléculaire par PCR-séquence des 13 exons du gène GLUD1 a permis d'identifier chez trois patients des mutations faux-sens (R322H, S270C, R274C) responsables d'une diminution de la sensibilité de la Glutamate Deshydrogenase à l'inhibition allostérique par le GTP. Aucune mutation du gène GLUD1 n'a été détectée chez les deux autres patients. La comparaison de l'ensemble de ces données associées aux réponses thérapeutiques observées chez les cinq patients montre une grande hétérogénéité avec une absence de corrélation génotype-phénotype.

367 >> Poster n°251**GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE****ETUDE DU GÈNE KLF8 (ZNF741) DANS LES RETARDS MENTAUX LIÉS À L'X**

M. Raynaud (1), N. Ronce (1), L. Villard (2), MP. Moizard (1), F. Laumonnier (1), JP. Fryns (3), H. Yntema (4), V. Kalscheuer (5), J. Chelly (6), C. Moraine (1), S. Briault (1)

(1) Inserm U316 et Service de Génétique, Tours

(2) Inserm U491, Marseille

(3) Center for Human Genetics, Leuven, Belgium

(4) Department of Human Genetics 417, Nijmegen, The Netherland

(5) Max Planck Institut für Molecular Genetik, Berlin, Deutschland

(6) INSERM U129-CGM, Paris

L'étude d'une translocation t(X;21)(p11.2;q22.3) de novo, associée à un retard mental chez une femme a été rapportée par Lossi (2002). Le point de cassure Xp11.21 correspondait en FISH à un fragment d'ADN de 21 kb en amont du premier exon du gène KLF8. Le transcrit KLF8, présent chez les contrôles normaux, était absent dans les lymphoblastes de la patiente, suggérant la responsabilité de l'anomalie de ce gène dans le retard mental de la patiente. Pour vérifier cette hypothèse, le séquençage direct des 6 exons du gène KLF8 a été réalisé sur ADN génomique dans 20 familles de retard mental liées à la région Xp11.2. Aucune mutation n'a été identifiée.

Pour tester l'hypothèse que les mutations de KLF8 pourraient être une cause rare de retard mental, nous avons testé 20 familles supplémentaires liées à la région Xp11.2 et 9 patients issus de duos et trios de garçons retardés mentaux du consortium Européen sur les retards mentaux liés à l'X. Le séquençage direct des 6 exons et d'un 7^{ème} exon alternatif n'a mis en évidence aucune mutation. L'exploration de l'expression du gène par RT-PCR semi-quantitative sur les ARN extraits des lignées lymphoblastoïdes, disponibles chez 20 patients, a permis d'observer un défaut quantitatif du transcrit KLF8 chez 4 d'entre eux, par rapport à un transcrit de référence. Cette particularité, jamais observée dans un groupe de contrôles normaux, n'étant probablement pas liée à un polymorphisme, la recherche de mutations dans les régions pouvant être impliquées dans la régulation du gène est en cours.

373 >> Poster n°252**GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE****DÉVELOPPEMENT D'UN NOUVEAU TEST POUR LE DIAGNOSTIC PRÉNATAL DE L'INCONTINENTIA PIGMENTI**

J. Steffann (1), V. Raclin (1), S. Hady-Rabia (1), A. Smahi (2), H. Woffendin (3), A. Munnich (1,2), S.J. Kenwrick (3), JP. Bonnefont (1,2)

(1) Service de génétique médicale, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France

(2) Unité INSERM U393, Institut Necker-Enfants Malades, Paris, France

(3) Wellcome Trust Centre for Molecular Mechanisms of Disease and University of Cambridge Department of Medicine, Addenbrooke's Hospital Hill Road, Cambridge, UK

L'Incontinentia Pigmenti (IP, MIM 308300) est une génodermatose qui suit une hérédité dominante liée à l'X. Cette affection est habituellement responsable d'une mort embryonnaire chez les garçons, mais les femmes IP survivent et présentent des manifestations cutanées, dentaires, unguéales, oculaires, éventuellement associées à

une atteinte neurologique qui conditionne le pronostic. Plus de 90% des femmes vectrices ont un biais complet d'inactivation de l'X, reflet d'une sélection exercée au détriment des cellules exprimant l'X muté. L'implication récente du gène NEMO (NFKappaB-essential modulator ou IKBKG), localisé en Xq28, a permis de faciliter le diagnostic et le conseil génétique, notamment dans le cas de formes frustes de la maladie. Dans 80% des cas, la mutation NEMO est une délétion des exons 4 à 10 de ce gène. A ce jour les méthodes de détection de ce réarrangement manquent de sensibilité et de reproductibilité. Le but de notre étude était de mettre au point un test moléculaire plus fiable et plus robuste, notamment à visée de diagnostic prénatal. Ce test est fondé sur une PCR multiplex amplifiant simultanément le gène NEMO délété et le gène sauvage. La combinaison de ce test à l'étude de ségrégation de marqueurs polymorphes liés à Xq28, et à l'analyse du profil d'inactivation du chromosome X, a permis de réaliser un diagnostic prénatal chez 15/16 couples à risque de transmettre cette affection. Nous proposons une stratégie de diagnostic prénatal de l'IP, fondée sur l'utilisation séquentielle de ces différents moyens d'investigation moléculaire.

383 >> Poster n°253**GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE****INDICATIONS DE L'ANALYSE DU GÈNE ARX DANS LE RETARD MENTAL LIÉ À L'X : L'EXPÉRIENCE DU LABORATOIRE DE STRASBOURG**

H. Hichri (1), L. Faivre (2), V. Laugel (3), C. Philippe (4), C. Weber (5), B. Leheup (6), A. de Saint-Martin (3), D. Devys (5), M. Cossee (1)

(1) Laboratoire de Diagnostic Génétique, CHRU, Strasbourg

(2) Centre de Génétique, Hôpital d'Enfants, Dijon

(3) Service de Pédiatrie 1, CHRU, Strasbourg

(4) Laboratoire de Génétique, CHRU, Nancy

(5) INSERM U 184, IGBMC, Strasbourg

(6) Service de Médecine Infantile III et Génétique Clinique, CHU, Nancy

Des mutations du gène ARX (X-linked aristaless gene), localisé en Xp22.1, ont été récemment mises en évidence chez des patients atteints de retard mental (RM) avec syndrome de West et/ou dystonie ainsi que dans des familles de RM non spécifique lié à l'X. Nous avons analysé 5 patients masculins présentant un RM avec dystonie et/ou syndrome de West. Nous avons identifié une mutation du gène ARX dans 2 cas. Il s'agissait de la mutation récurrente correspondant à une duplication de 24pb dans l'exon 2 responsable de l'expansion d'une séquence de poly-alanines. Par ailleurs, nous avons effectué une étude de liaison dans une grande famille de RM lié à l'X qui nous a permis de définir un intervalle de 23cM en Xp22.1. Le gène ARX, localisé dans cet intervalle, constituait un excellent gène candidat et nous avons effectivement mis en évidence dans cette famille la duplication de 24pb du gène ARX. De récentes études suggèrent que la recherche de mutations du gène ARX chez des garçons atteints de RM isolé ne se justifie probablement pas. Par contre, nos résultats illustrent que cette recherche est indiquée si le RM est associé à une dystonie et/ou syndrome de West et/ou dans les atteintes familiales dont l'étude de liaison est compatible avec la localisation du gène ARX.

385

GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE

DÉTECTION DE VARIANTS PAR DHPLC DANS RDH10, UN GÈNE IMPLIQUÉ DANS LE MÉTABOLISME DU CYCLE VISUEL

A. Sénéchal, C. Maubaret, G. Humbert, CP. Hamel
INSERM U583 "Physiopathologie et Thérapie des déficits sensoriels et moteurs"; Equipe : Génétique et Thérapie des Cécités Rétiniennes, Montpellier

Avec une prévalence d'environ 1/4000, les Rétinites Pigmentaires non syndromiques (RP) représentent la cause la plus commune de handicap visuel héréditaire. Outre 38 gènes répertoriés, d'autres gènes restent à découvrir. Le gène RDH10 code pour une deshydrogénase spécifique de l'épithélium pigmentaire de la rétine impliquée dans le métabolisme du cycle visuel. Il constitue ainsi un candidat intéressant pour les RP (Wu et al, IOVS, 2002, 43 : 3365-3372).

Nous avons détecté des mutations dans ce gène par DNA High Performance Liquid Chromatography (DHPLC) et les variants ont été caractérisés par séquençage. Cette étude a porté sur deux populations: l'une composée de 137 patients non apparentés atteints de rétinite pigmentaire provenant de familles à transmission autosomique récessive (AR), et l'autre composée de 82 cas index (AR) atteints de diverses formes de dystrophies rétinienne.

Deux variations de séquence ont été trouvées. L'une est un polymorphisme intronique IVS4+39insA retrouvé chez 45% des cas. L'autre est une substitution située dans l'exon 2, T->G(C98G) trouvée à l'état hétérozygote chez deux patients (1 cas de rétinite pigmentaire, 1 cas de dystrophie maculaire). La présence de ce variant chez deux témoins suggère qu'il s'agit aussi d'un polymorphisme.

D'autres gènes impliqués dans le cycle visuel seront testés par cette méthode.

387

GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE

EMERY-DREIFUSS LIÉ À L'X: UNE MUTATION D'ÉPISSAGE DANS LE GÈNE EMD DÉLÈTE L'EXON 2 (LEM DOMAIN) DANS UNE PARTIE DE L'ARNM, MAIS ABOLIT L'EXPRESSION DE L'ÉMERINE DANS LE MUSCLE

D. Récan (1), S. Llense (1), C. Peccate (1), M. Serrano (2), N. Carelle (1), F. Niel (1), N. Deburgrave (1), P. Gallano (2), G. Bonne (3), I. Illa (2), J. Kaplan (1), F. Leturcq (1)

(1) Laboratoire de Biochimie et Génétique Moléculaire, H Cochin, AP-HP, Paris

(2) Servicio de Neurología, H Santa Creu I Sant Paul, Barcelona, Spain

(3) INSERM UR582, GH Pitié-Salpêtrière, Paris

Objectif : La dystrophie musculaire d'Emery-Dreifuss (X-EDMD) est due à des mutations du gène de l'émerine, protéine de l'enveloppe nucléaire qui interagit avec plusieurs protéines nucléaires, dont BAF (Barrier to Autointegration Factor), via un domaine nucléoplasmique, le "LEM". La plupart des mutations causales sont "nulles", induisant une absence d'émerine. De rares mutations faux-sens et délétions en phase ont été rapportées, mais aucune ne concerne le domaine LEM. Nous rapportons, chez un patient EDMD, une nouvelle mutation d'épissage affectant le LEM, ainsi que ses conséquences sur l'ARN et la protéine.

Méthodes et résultats : Le séquençage du gène EMD a détecté une mutation dans l'intron 1, IVS1-7C>A. L'analyse de l'ARN musculaire par RT-PCR, PCR quantitative et séquençage, a mis en évidence deux transcrits abondamment exprimés, un transcrit normal et un délété des 35 codons de l'exon 2 correspondant à la partie distale du LEM et aux acides aminés suivants. Par contre, l'analyse de la protéine musculaire par western-blot a montré une absence totale d'émerine normale et tronquée.

Conclusion : L'absence d'une partie du domaine LEM, due à l'épissage alternatif de l'exon 2, suffit à abolir l'expression de l'émerine dans le muscle. Cette délétion, en perturbant l'interaction BAF-émerine, pourrait déstabiliser le complexe chromatine-lamina et empêcher la rétention de l'émerine à la membrane nucléaire. Cet effet délétère serait dominant puisque la délétion des 35 codons ne concerne qu'une moitié du transcrit exprimé, alors que la protéine normale elle-même est absente. Ces résultats soulignent l'importance de l'intégrité du LEM dans la stabilité et/ou la fonction de l'émerine au sein du complexe de l'enveloppe nucléaire musculaire.

390 >> Poster n°254

GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE

MUTATIONS DU GÈNE TNFRSF1A CHEZ DES PATIENTS PRÉSENTANT UN PHÉNOTYPE FMF NON EXPLIQUÉ PAR DES ANOMALIES DU GÈNE MEFV

A. Delahaye (1), D. Tchernitchko (1), M. Legendre (1), C. Cazeneuve (2), P. Vivien (1), L. Skopinski (1), S. Amselem (1,2)

(1) Service de Biochimie-Génétique, Hôpital Henri Mondor, Créteil
(2) INSERM U468, Créteil

Le syndrome TRAPS (TNF-receptor associated periodic syndrome) est une affection autosomique dominante se caractérisant par des accès répétés de fièvre associée à des douleurs abdominales, articulaires, musculaires, un rash cutané et/ou une conjonctivite. Il est dû à différentes mutations situées dans le gène TNFRSF1A. Son tableau clinique est voisin de celui de la fièvre méditerranéenne familiale (FMF), maladie autosomique récessive, dont le diagnostic clinique repose sur des critères établis (Livneh et al.), et le diagnostic moléculaire sur l'identification de mutations dans le gène MEFV. Ces deux maladies peuvent se compliquer d'amylose. Il est cependant crucial de différencier le syndrome TRAPS d'une FMF, compte tenu des implications thérapeutiques : dans le syndrome TRAPS, la colchicine (traitement de choix de la FMF), serait inefficace, alors que de nouvelles molécules comme les inhibiteurs du TNF-alpha semblent prévenir les crises voire l'amylose de ce syndrome.

Dans le but d'évaluer l'implication éventuelle du gène TNFRSF1A chez les patients dont le phénotype remplit les critères de Livneh, mais non porteurs de deux allèles MEFV mutés, nous avons criblé les exons 2, 3 et 4 de TNFRSF1A (où siègent les mutations connues responsables du syndrome TRAPS). Parmi les 411 patients étudiés, 31 ont une mutation de TNFRSF1A. Une nouvelle mutation C55R a été mise en évidence.

Cette étude montre l'intérêt de l'analyse du gène TNFRSF1A chez les patients présentant un phénotype FMF non expliqué par des anomalies de MEFV, le diagnostic de certitude de TRAPS permettant de guider au mieux le conseil génétique et les indications thérapeutiques.

391 >> Poster n°255**GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE****LE SYNDROME DE BARDET-BIEDL : TRI-ALLÉLISME OU NON? PREMIERS RÉSULTATS SUR UNE COHORTE DE 29 FAMILLES**

H. Hichri (1), C. Stoetzel (2), A. Verloes (3), D. Bonneau (4), P. Bitoun (5), C. Hamel (6), D. Lacombe (7), B. Leheup (8), D. Martin-Coignard (9), G. Morin (10), F. Perrin-Schmitt (2), M. Cossee (1), J.L. Mandel (1), H. Dollfus (2, 11)

(1) Laboratoire de Diagnostic Génétique, CHRU, Strasbourg

(2) INSERM U 184, Strasbourg

(3) Unité de Génétique Clinique, Hôpital Robert Debré, Paris

(4) Service de Génétique Médicale, CHU, Angers

(5) Service de Pédiatrie, Hôpital Jean Verdier, Bondy

(6) INSERM U583, Montpellier

(7) Service de Génétique Médicale, CHU, Bordeaux

(8) Service de Médecine Infantile III et Génétique Clinique, CHU, Nancy

(9) Service de Pédiatrie, Centre Hospitalier, Le Mans

(10) Département de Pédiatrie, CHU, Amiens

(11) Service de Génétique Médicale, Hôpital de Haute-pierre, Strasbourg

Le syndrome de Bardet-Biedl (BBS) associe troubles cognitifs, rétinopathie pigmentaire, obésité, polydactylie, hypogonadisme et atteinte rénale. Il est caractérisé par une grande hétérogénéité génétique, impliquant au moins sept loci (BBS1 à 7) dont cinq gènes identifiés : BBS1 (40%), BBS2, BBS4, BBS6 et BBS7. Pour certaines familles, la présence de 3 allèles mutés au niveau de 2 gènes différents semblerait nécessaire pour développer la maladie, définissant un nouveau modèle dit "tri-allélique". Nous rapportons l'étude des cinq gènes BBS chez 34 patients (29 familles). Des mutations ont été mises en évidence dans 14 familles (50%). Pour 7 d'entre elles, 2 mutations du même gène ont été identifiées. Le gène BBS1 est le plus fréquemment impliqué avec la mutation récurrente M390R retrouvée dans 5 familles, à l'état homozygote (n=2) ou associée à une autre mutation BBS1 (n=3). Des mutations à l'état hétérozygote composite ont été retrouvées pour BBS2 (1 famille) et BBS6 (1 famille). Dans 7 autres familles, une seule mutation a été identifiée : 1 famille BBS1, 2 familles BBS4 et 4 familles BBS6. Cet excès d'hétérozygotie suggère la présence d'au moins une autre mutation, éventuellement dans un gène non encore identifié. Une hérédité tri-allélique serait possible pour un de nos patients qui présente la mutation M390R (BBS1) homozygote et une mutation faux-sens BBS6 dont le caractère pathologique reste à démontrer. Nous avons entrepris d'étudier une plus grande cohorte de patients pour mieux tester l'hypothèse tri-allélique. Ces premiers résultats soulignent aussi les difficultés actuelles pour le conseil génétique de cette affection.

392 >> Poster n°256**GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE****GÈNE KCNE3 ET PARALYSIES PÉRIODIQUES : UN LIEN REMIS EN CAUSE**

D. Sternberg (1), N. Tabti (2,3), E. Fournier (2), B. Hainque (1), B. Fontaine (3,4), Résocanaux (5)

(1) Fédération de Biochimie, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Assistance Publique - Hôpitaux de Paris

(2) Département de Physiologie, CHU Pitié-Salpêtrière, Assistance Publique - Hôpitaux de Paris

(3) INSERM U546, Paris

(4) Fédération de Neurologie, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière,

Assistance Publique - Hôpitaux de Paris

(5) Réseau de recherche clinique, génétique, physiopathologique et thérapeutique sur les maladies musculaires des canaux ioniques et apparentées créé en 2001, soutenu par l'AFM et l'INSERM

Les paralysies périodiques ont été décrites d'abord selon des critères cliniques et biologiques. Les paralysies périodiques familiales hypokaliémiques (HOPP) et hyperkaliémiques (HYPP) ont été d'abord individualisées, puis le syndrome d'Andersen (AS) en 1994. Des anomalies de fonctionnement de canaux ioniques de la membrane cellulaire musculaire ont été suggérées par l'existence des fluctuations de kaliémie au cours des accès et les études électrophysiologiques menées sur muscle isolé. La localisation et l'identification des anomalies génétiques les plus fréquemment en cause dans les paralysies périodiques familiales à partir de 1990 a montré effectivement que tous les gènes en cause codent pour des composants de canaux ioniques membranaires : HYPP, SCN4A, canal sodium, 1990 ; HOPP, CACNL1A3, canal calcium, 1994, SCN4A, 1999 ; AS, KCNJ2, canal potassium, 2001.

En 2001, une mutation faux-sens d'un peptide (MIRP2) associé aux canaux potassium et codé par le gène KCNE3 était retrouvée dans deux cas de paralysie périodique et publiée, étude fonctionnelle à l'appui, comme une nouvelle mutation causale dominante de paralysie périodique (MIRP2-R83H). Nous avons testé KCNE3 et en particulier cette nouvelle mutation dans les cas de paralysie périodique encore en attente d'un diagnostic moléculaire. Suite à la découverte d'un sujet double hétérozygote pour MIRP2-R83H et une mutation faux-sens causale de SCN4A, nous avons recherché MIRP2-R83H dans une large cohorte de sujets contrôles normaux. Cette étude nous a amené à découvrir que MIRP2-R83H est présente chez 1 à 2 % des sujets normaux et n'est pas une mutation causale de paralysie périodique.

396 >> Poster n°257**GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE****DÉLÉTION DE LA CONNEXINE 30 ET MUTATION DE LA CONNEXINE 26 : ANALYSE MOLÉCULAIRE ET PHÉNOTYPE**

D. Feldmann (1), F. Denoyelle (2), EN. Garabédian (2), R. Couderc (1), S. Odent (3), A. Joannard (4), B. Delobel (5), H. Journel (6), C. Ferrec (7), H. Dollfus (8), J.L. Mandel (9), A. David (10), V. Drouin-Garraud (11), D. Lacombe (12), F. Fellman (13), J. Vigneron (14), P. Lewin (15), C. Petit (16), S. Marlin (17)

(1) Service de Biochimie et de Biologie Moléculaire et Inserm U587, Hôpital d'Enfants Armand-Trousseau, AP-HP, Paris

(2) Service d'ORL et de Chirurgie Cervico-faciale et Inserm U587, Hôpital d'Enfants Armand-Trousseau, AP-HP, Paris

(3) Unité de Génétique, Hôpital Pontchaillou, Rennes

(4) Service de Pédiatrie, CHU, Grenoble

(5) Centre de Génétique, Hôpital St Antoine, Lille

(6) Unité de Génétique Médicale, CHR, Vannes

(7) Laboratoire de Génétique Moléculaire et d'Histocompatibilité, CHU, Brest

(8) Service de Génétique médicale, Hôpital de Haute-pierre, Strasbourg

(9) Laboratoire de Diagnostic Génétique, Faculté de Médecine, Strasbourg

(10) Service de Génétique, Hôtel Dieu, Nantes

(11) Service de Génétique, Hôpital Charles Nicole, Rouen

(12) Unité de Génétique Médicale, Hôpital Pellegrin, Bordeaux

(13) Service de Cytogénétique, Hôpital St Jacques, Besançon

(14) Maternité Régionale A. Pinard, Nancy

(15) Laboratoire Pasteur Cerba, Cergy Pontoise

(16) Unité de Génétique des Déficiences Sensoriels, Inserm U587, Institut Pasteur, Paris

(17) *Unité de Génétique Médicale et Inserm U587, Hôpital d'Enfants Armand-Trousseau, AP-HP, Paris*

La surdité est le déficit sensoriel le plus fréquent chez l'enfant. En France, un enfant sur mille naît sourd sévère ou profond, ou est atteint de surdité avant l'âge de deux ans. 60% à 80% des cas de surdité sont d'origine génétique parmi lesquelles 70% sont isolées. La cause la plus fréquente de surdité non syndromique (NS) de transmission autosomique récessive est une atteinte de la connexine 26 due à des mutations du gène GJB2. Récemment une grande délétion contenant entre autre le gène GJB6 codant la connexine 30 a été décrite chez des patients atteints de surdité NS.

L'étude du gène GJB2 et la recherche de la délétion GJB6 (delGJB6-D13S1830) ont été effectuées chez 255 patients non apparentés, atteints de surdité NS prélinguale. Chez 81 patients (32%) deux allées GJB2 mutées ont été retrouvées. Plus de 30 mutations différentes ont été observées dont 35delG 76%, L90P 4.1%, 167delT 2.6% et 312del14, E47X, Q57X 2%. Chez 29 patients porteurs d'un seul allèle GJB2 muté, la délétion GJB6 a été retrouvée chez 16. Dans toutes les familles étudiées, les mutations s gr giaient avec la surdité. L'étude des phénotypes des patients montre que parmi les patients atteints de surdité profonde le pourcentage de patients hétérozygotes composites GJB2-GJB6 et homozygotes GJB2 est significativement plus élevé que parmi les patients atteints de surdité modérée ou légère. En conclusion, la délétion GJB6 est retrouvée en France fréquemment associée à une mutation GJB2. Un digénisme ou la délétion de séquences régulatrices du gène GJB2 pourraient être en cause.

400 >> Poster n 258

GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE

ORGANISATION DU GÈNE HUMAIN DE LA CARNITINE PALMITOYLTRANSFÉRASE 1 HÉPATIQUE (CPT1A) ET BASES MOLÉCULAIRES ET FONCTIONNELLES DU DÉFICIT EN CPT1A.

S. Gobin (1,2), L. Thuillier (1,2), JP. Bonnefont (1), G. Jogl (3), A. Faye (2), L. Tong (3), A. Munnich (1), J. Girard (2), C. Prip-Buus (2)
(1) INSERM U393, Paris
(2) INSERM U567, Paris
(3) Columbia University, New-York, USA

L'oxydation mitochondriale des acides gras (OAG) joue un rôle essentiel dans le maintien de l'homéostasie énergétique au cours du jeûne et de l'exercice prolongé. L'étape régulatrice de l'OAG est située au niveau de la carnitine palmitoyltransférase 1 (CPT1) dont il existe 3 isoformes, hépatique (CPT1A), musculaire (CPT1B) et cérébrale (CPT1C).

Le déficit en CPT1A est une anomalie héréditaire grave de l'OAG. Elle se manifeste par des accès d'hypoglycémie hypoc ton mique déclenchés par le jeûne chez le jeune enfant, exposant à des séquelles neurologiques, voire à une mort subite. La séquence du cDNA de la CPT1A humaine a été identifiée en 1995 mais la structure du gène demeurait jusqu'alors inconnue. Afin d'établir les bases moléculaires du déficit en CPT1A, nous avons caractérisé la structure du gène CPT1A humain et de ses régions régulatrices. Ces données nous ont permis d'identifier 9 mutations (5 faux-sens, 1 non sens, 1 mutant d'épissage, 1 insertion, et 1 grande délétion) dans une série de 6 patients déficitaires en CPT1A. Nous avons établi les conséquences fonctionnelles des mutations faux-sens par des études de mutag nese dirigée suivies d'expression

hétérologue dans *S. cerevisiae*. Nous avons localisé ces mutations dans un modèle structural 3D de la CPT1A humaine. Elles peuvent être réparties en 2 catégories selon qu'elles affectent le site actif directement (déterminant "fonctionnel") ou indirectement (déterminant "structural"). Cette étude pourrait contribuer à la mise en œuvre d'une thérapie pharmacologique du déficit en CPT1A.

406 >> Poster n 259

GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE

EXPÉRIENCE DE DIX ANNÉES DANS LE DIAGNOSTIC DES MALADIES MITOCHONDRIALES

C. Jardel (1), D. Sternberg (1), P. Laforêt (2), S. Filaut (1), A. Lomb s (3), B. Hainque (1)
(1) UF de cardiogénétique et myog n tique, Service de Biochimie B, Hôpital de la Salpêtrière, AP-HP, Paris
(2) Fédération de Neurologie, Hôpital de la Salpêtrière, AP-HP, Paris
(3) INSERM U582, Hôpital de la Salpêtrière, Paris

De 1994 à 2003, 1100 demandes nous ont été adressées pour un diagnostic de mitochondriopathies. Elles concernaient 193 nouveau-nés et nourrissons (0 à 2 ans), 161 enfants (2 à 15 ans) et 746 adultes. Les arguments cliniques et biologiques en faveur d'une pathologie mitochondriale varient selon l'âge des patients. Chez l'adulte l'atteinte neuromusculaire prédomine : intolérance à l'effort (32%), ophtalmoplégie (13%), encéphalopathie (35%), épilepsie myoclonique (10%), ataxie (7%); chez le jeune enfant, l'encéphalopathie (78%) et l'hypotonie (47%), l'insuffisance hépatique (23%) ainsi que les cardiomyopathies sont les plus fréquentes. Les activités enzymatiques de la chaîne respiratoire mesurées sur les homogénats tissulaires montraient un déficit isolé chez 41% des enfants < 2 ans et 20% des enfants < 15 ans alors qu'elles montraient un déficit combiné chez 35% des adultes et 10% des enfants. Des anomalies morphologiques caractéristiques (RRF, déficit en COX)  taient retrouvées chez 50% des adultes alors que seulement 30% des enfants présentaient des anomalies, souvent atypiques. Les analyses génétiques sont orientées par les données précédentes. Au laboratoire nous réalisons l'étude de l'ADNmit (recherche de délétion et de déplétion, analyse des gènes des ARNt lys et leu(UUR) voire des 22 ARNt, cytochrome b, recherche de mutations fréquentes NARP, LHON). Nous adressons aux centres les pratiquant l'analyse des gènes nucléaires suspectés. L'anomalie moléculaire a ainsi été identifiée chez 15% des adultes (ADNmit dans 109 cas, ADN nucléaire dans 5 cas) et 8% des enfants (respectivement 14 et 13 cas). L'amélioration de ce faible rendement nécessite de disposer des informations cliniques, morphologiques et biologiques indispensables à une meilleure orientation de l'analyse moléculaire.

408

GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE

PCSK9, TROISIÈME GÈNE IMPLIQUÉ DANS L'HYPERCHOLESTÉROLÉMIE FAMILIALE

M. Abifadel, D. Allard, M. Varret, JP. Rabès, M. Devillers, D. Erlich, C. Junien, C. Boileau

L'hypercholestérolémie à transmission autosomique dominante (ADH) est une maladie athérogène caractérisée par une élévation des taux plasmatiques de cholestérol total et de cholestérol-LDL (Low Density Lipoprotein).

Jusqu'en 2003, deux gènes étaient tenus pour responsables de la pathologie: le gène codant le récepteur des LDL (LDLR) et le gène codant son ligand, l'apolipoprotéine B (APOB). En 1999, notre équipe avait montré une hétérogénéité génétique de la maladie encore plus importante en identifiant un nouveau locus HCHOLA3 en 1p32-34.1 impliqué dans l'ADH. L'identification du gène correspondant a été réalisée par clonage positionnel et par une analyse de liaison effectuée sur des familles hypercholestérolémiques dans lesquelles les gènes LDLR et APOB avaient été exclus. Après construction de la carte physique de la région candidate en 1p32 et séquençage des gènes localisés dans cette région et codant des protéines pouvant avoir une implication dans le métabolisme lipidique, trois mutations ont été identifiées dans le gène PCSK9 (proconvertase subtilisin kexin 9). Ce neuvième membre de la famille des proconvertases code un enzyme nommé NARC-1 (Neural Apoptosis Regulated Convertase 1) qui appartient à la sous-classe protéinase K-like des subtilisines. Le rôle physiopathologique exact de NARC-1 dans le métabolisme du cholestérol, ainsi que ses substrats restent encore à élucider. PCSK9 est exprimé dans le foie, intervient donc dans l'homéostasie du cholestérol et pourrait ainsi constituer une cible thérapeutique intéressante pour le traitement des hypercholestérolémies.

409 >> Poster n°260

GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE

MUTATION M34T DU GÈNE GJB2 ET SURDITÉ ?

D. Feldmann (1), F. Denoyelle (2), N. Loundon (2), EN. Garabedian (2), R. Couderc (1), A. Joannard (3), B. Delobel (4), H. Journal (5), C. Ferrec (6), V. Drouin-Garraud (7), C. Petit (8), S. Marlin (9)
 (1) Service de Biochimie et de Biologie Moléculaire et INSERM U587, Hôpital d'Enfants Armand-Trousseau, AP-HP, Paris
 (2) Service d'ORL et de Chirurgie Cervico-Faciale et INSERM U587, Hôpital d'Enfants Armand-Trousseau, AP-HP, Paris
 (3) Service de Pédiatrie, CHU, Grenoble
 (4) Centre de génétique, Hôpital St Antoine, Lille
 (5) Unité de génétique médicale, CHR, Vannes
 (6) Laboratoire de génétique moléculaire, CHU, Brest
 (7) Service de génétique, Hôpital Charles Nicolle, Rouen
 (8) Unité de Génétique des Déficiences Sensoriels, INSERM U587, Institut Pasteur, Paris
 (9) Unité de génétique médicale et INSERM U587, Hôpital d'Enfants Armand-Trousseau, AP-HP, Paris

Les mutations du gène GJB2 codant la connexine 26 sont la cause la plus fréquente de surdité congénitale non syndromique. Plus de 60 mutations du gène GJB2 ont été répertoriées, causant le phénotype récessif DFNB1 et dominant DFNA3. Le phénotype associé à la mutation M34T, d'abord décrit comme dominant puis récessif, est controversé. Les nombreuses études fonctionnelles du variant M34T ne permettent pas de conclure.

Nous présentons onze familles (4 cas sporadiques et 7 cas familiaux) où la mutation M34T est présente. Dans 6 familles sur 7, M34T ne ségrège pas avec la surdité. Parmi les membres non atteints des familles, avec audiogramme normal, 5 étaient hétérozygotes composites (M34T/35delG), un (M34T/delGJB6) et 8 étaient hétérozygotes M34T. Enfin, la fréquence allélique de M34T dans une population française de 111 contrôles est de 1.72% versus 2.12% (ns) dans une population de 188 patients atteints de surdité NS. Ces résultats permettent de conclure à un polymorphisme.

410 >> Poster n°261

GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE

RECHERCHE DE MUTATIONS DU GÈNE SPG4 CHEZ 296 PATIENTS ATTEINTS DE PARAPLÉGIE SPASTIQUE HÉRÉDITAIRE PAR LA TECHNIQUE DE DHPLC.

C. Depienne (1,2,3), JY. Lephay (1), S. Poëa (1), C. Tallaksen (1), E. LeGuern (1,2,3), A. Brice (1,2,3), A. Dürr (1,3) et les membres du réseau SPATAX
 (1) INSERM U289
 (2) Fédération de neurologie, AP-HP, groupe hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris
 (3) Département de génétique, cytogénétique et embryologie, AP-HP, groupe hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris

Les Paraplégies Spastiques Héréditaires (PSH) regroupent des pathologies hétérogènes caractérisées par une spasticité progressive des membres inférieurs. Sur les 21 loci identifiés, 10 sont associés à une transmission autosomique dominante (AD), et SPG4 représenterait environ 40 % des familles avec une PSH pure à transmission AD; celui-ci correspond à un gène codant pour une ATPase putative de la famille des protéines AAA, appelée spastine. Afin d'identifier les individus présentant une mutation dans SPG4 parmi 296 cas index atteints de forme pure de PSH, nous avons criblé les 17 exons de ce gène, par DHPLC et séquençage. Les cas index, en majorité d'origine française proviennent de 231 familles compatibles une transmission AD, et 65 sont sans histoire familiale. A ce jour, nous avons identifié 18 mutations différentes (6 mutations faux-sens, 3 mutations dans les sites d'épissage, 3 insertions et 6 délétions) chez 20 cas index (dont un cas sans histoire familiale). Quatorze de ces mutations n'avaient jamais été décrites. L'un des deux polymorphismes décrits dans SPG4, P293P, a été retrouvé chez 6 patients (2%). De plus, nous avons identifié plusieurs mutations localisées dans différents introns, dont l'effet sur l'expression du gène reste à déterminer. Enfin, les résultats préliminaires de cette étude suggèrent que la fréquence des cas associés à SPG4 parmi les PSH pures été surestimée dans les précédentes études. La technique de DHPLC est donc parfaitement adaptée au diagnostic moléculaire de SPG4, du fait notamment de la rareté des polymorphismes, et permet un crible rapide d'un grand nombre de patients.

411 >> Poster n°262

GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE

DÉCRYPTAGE DES VARIANTS GÉNÉTIQUES DES CÉROÏDE-LIPOFUSCINOSES EN FRANCE.

C. Caillaud, JP. Puech, J. Dussau, L. Poenaru
 Laboratoire de Génétique, Unité INSERM 567, Faculté de Médecine Cochin, Paris

Les céroïde-lipofuscinoses neuronales (CLN) sont des maladies neurodégénératives caractérisées par une accumulation de lipopigments autofluorescents, notamment dans les neurones. L'hétérogénéité clinique de ces affections incluant des formes classiques (infantile, infantile tardive, juvénile, adulte) et de nombreux variants, commence à être décryptée. Sept loci au moins (CLN1 à CLN7/8) seraient impliqués dans la genèse de ces maladies, dont six sont déjà clonés.

Les patients français présentant un tableau classique sont maintenant bien caractérisés. Ainsi, un déficit en tripeptidyl peptidase I a été retrouvé dans la moitié des formes

infantiles tardives (les plus fréquentes en France) et un déficit en palmitoyl protéine thioestérase dans les formes infantiles. Les mutations correspondantes des gènes CLN1 et CLN2, pour la plupart sévères (délétions, non-sens), ont été mises en évidence. Dans la forme juvénile, moins fréquente, les patients étaient le plus souvent porteurs de la délétion commune de 1,02 kb. Cependant, certains variants se sont révélés à l'intérieur de ce groupe. Il s'agissait de patients présentant des anomalies des gènes CLN1 et CLN2, associant une mutation non-sens et une mutation faux-sens, probablement moins délétère.

A ce stade, d'autres patients ayant une céréoïde-lipofuscinose authentifiée par la présence d'une surcharge typique restent encore non élucidés. L'étude des autres gènes potentiels (CLN6, CLN5, CLN7/8) est actuellement en cours, notamment dans les formes infantiles tardives atypiques. Ce travail de décryptage à la fois clinique et moléculaire des différents variants est réalisé avec l'aide de cliniciens et de neuropathologistes dans le cadre d'un réseau spécifique consacré à ces affections.

412 >> Poster n°263

GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE

SUSPICION D'UNE ISODISOMIE MATERNELLE PARTIELLE DU CHROMOSOME 7 EN MOSAÏQUE

MP. Reboul (1), O. Tandonnet (1), C. Belet de Putter (1), L. Rebouissoux (2), K. Moradkhani (1), ZQ. Wen (1), R. Saura (1), B. Arveiler (1), D. Lacombe (1), L. Taine (1), A. Iron (1)
(1) Service de Génétique Médicale, CHU, Bordeaux
(2) Département de Pédiatrie, CHU, Bordeaux

Nous rapportons l'observation d'un garçon de 4 ans présentant un retard staturo-pondéral à début intra-utérin sévère, isolé et inexplicable (-3.5DS à 3 ans). Un test sudoral douteux a été complété par une recherche de mutations du gène CFTR.

L'analyse exhaustive du gène CFTR n'a permis de mettre en évidence qu'une hétérozygotie pour la délétion F508, argumentant pour exclure un diagnostic de CFTRopathie.

Cependant, le signal de l'allèle F508del d'origine maternelle est apparu beaucoup plus intense que celui de l'allèle normal, que ce soit par hybridation ou par séquençage de l'exon 10. L'analyse comparative chez le cas index et ses parents de plusieurs marqueurs polymorphes (intra, juxta et extragéniques) puis d'un ensemble de marqueurs microsatellites répartis sur environ 80 Mb du bras long du chromosome 7 a permis de confirmer la contribution plus importante de la mère par rapport à celle du père au génotype du sujet.

L'analyse par cytogénétique conventionnelle avec un niveau de résolution de 550 bandes et par cytogénétique moléculaire (FISH avec 4 BAC couvrant une région d'environ 10 Mb autour du gène CFTR) n'a pas mis en évidence de duplication partielle entre les bandes 7q31.1 et 7q31.31.

Le lien entre la présence d'une DUP7 et un retard de croissance intra-utérin ayant déjà été établi, une des hypothèses envisagées pour expliquer le tableau clinique et les résultats moléculaires de cet enfant est la présence d'une mosaïque dans le tissu analysé avec 2 populations cellulaires, l'une porteuse d'une isodisomie maternelle partielle et l'autre d'une disomie biparentale.

414 >> Poster n°264

GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE

IMPLICATION DE L'HAPLOTYPE IVS8-5T/12TG DANS LES ABSENCES BILATÉRALES DES CANAUX DEFÉRENTS CHEZ LES HÉTÉROZYGOTES POUR UNE MUTATION DU GÈNE CFTR

MP. Reboul (1), JL. Pariente (2), A. Papaxanthos (3), D. Lacombe (1), A. Iron (1)

(1) Service de Génétique, CHU, Bordeaux

(2) Service d'Urologie-Andrologie, CHU, Bordeaux

(3) Service de Biologie de la Reproduction, CHU, Bordeaux

L'absence bilatérale des canaux déférents (ABCD) est une cause importante d'azoospermie et est présente chez 95% des patients mucoviscidiques. La relation entre ABCD et mucoviscidose n'est pas simple car, d'une part, l'ABCD isolée se présente comme une pathologie distincte de la mucoviscidose, mais, d'autre part, elle peut être considérée comme un phénotype particulier ou une forme incomplète de mucoviscidose. L'ABCD et la mucoviscidose classique sont des formes extrêmes d'un large spectre de formes cliniques de base moléculaire commune en relation avec le gène CFTR.

Nous avons génotypé les séquences polyT et polyTG de l'intron 8 et la variation 1540A/G (M470V) de l'exon 10 parallèlement avec la recherche de mutations du gène CFTR dans 2 groupes d'hommes infertiles (17 avec ABCD, 21 sans ABCD) et un groupe témoin de 104 sujets analysés dans le cadre du conseil génétique (i.e. conjoints représentatifs de la population générale).

La fréquence des chromosomes porteurs d'une mutation est significativement plus élevée chez les patients ABCD (38,2%) que dans le groupe témoin (2,4%) ; aucun des 21 infertiles non ABCD n'est porteur. Les sujets hétérozygotes composites (en considérant l'allèle 5T comme une mutation à effet modéré) représentent 58,8% des patients ABCD. La fréquence de l'haplotype 5T/12TG est très significativement plus élevée chez les ABCD (26,5%) que chez les non ABCD (2,5%) et dans le groupe témoin (1,6%). Dans notre étude, dans l'ABCD, l'association de l'haplotype 5T/12TG en trans par rapport à une mutation CF semble la principale cause génétique de ce type d'infertilité masculine.

425

GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE

GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE DE LA MALADIE DE WILSON: IDENTIFICATION DE NOUVEAUX MARQUEURS MICROSATELLITES POUR L'ANALYSE D'HAPLOTYPES

M. Bost (1,2), G. Sanna (3), L. Boutrand (3), P. Latour (1), A. Sarcey (1), MP. Locatelli (1), A. Vandenberghe (1,3)

(1) Unité de Neurogénétique, CHU, Lyon

(2) Trace Élément-Institut pour l'UNESCO, Lyon

(3) ISPB, Laboratoire de Génétique Moléculaire Humaine, Lyon

La maladie de Wilson est une affection autosomique récessive liée à une anomalie du métabolisme du cuivre se traduisant par des troubles hépatiques et/ou neurologiques voire psychiatriques. Le gène de la maladie, localisé en 13q14-21, code pour une ATPase à cuivre, l'ATP7B dans laquelle environ 200 mutations différentes, ont été identifiées. Vu la taille du gène (environ 100Kb, séquence codante 3,3Kb), le nombre d'exons (21/22, 25 amplicons), un diagnostic indirect par étude de liaison

génétiq ue reste le plus rapide pour identifier les patients présymptomatiques et les sujets hétérozygotes. Les microsatellites de type poly(CA) sont souvent non-informatifs ou posent des problèmes d'interprétation. Nous avons recherché de nouveaux marqueurs tri-, tetra- et pentanucléotides polymorphes afin d'établir un diagnostic indirect plus fiable. A partir de la séquence génomique, nous avons construit un contig (logiciel BLAST) de clones renfermant le gène ATP7B et recherché des répétitions tri-, tetra- et pentanucléotides (logiciel TANDEM REPEAT FINDER). Puis nous avons testé le caractère polymorphe et la distribution des allèles dans une population de 50 personnes non apparentées. Six microsatellites polymorphes ont été identifiés et caractérisés : un tri-, quatre tetra et un penta nucléotide qui couvrent une région de 1 Mb de part et d'autre du gène. Les nouveaux marqueurs s'avèrent informatifs et facilitent l'interprétation (absence de fragments fantômes). Ils permettent de confirmer l'état hétérozygote d'un sujet porteur ou l'état homozygote atteint d'un patient pré symptomatique, ce dernier nécessitant l'instauration d'un traitement chélateur ou aux sels de zinc afin d'éviter la progression de la maladie.

432 >> Poster n°265

GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE

LES DYSPLASIES ECTODERMIQUES ANHIDROTiques DOMINANTES ET RÉCESSIVES SONT ALLÉLIQUES AU LOCUS EDARADD

L. Baala (1,2), F. El-kerch (2), S. Hadj-Rabia (1), A. Munnich (1), S. Lyonnet (1), A. Sefiani (2), A. Smahi (1)
(1) INSERM U-393 Hôpital Necker, Paris
(2) Département de Génétique Humaine, INH, Rabat, Maroc

Les dysplasies ectodermiques anhidrotiques (DEA) forment un groupe de maladies caractérisées par des anomalies du développement des dérivés du tissu ectodermique embryonnaires : glandes sudoripares, cheveux, et dents. Si le tableau clinique semble homogène, plusieurs modes de transmission sont décrits. La forme récessive liée au chromosome X est la plus fréquente et résulte des mutations du gène ED-1 codant pour l'ectodysplasine, un membre de la famille de récepteurs TNF. Les formes autosomiques dominantes et récessives sont plus rares et deux gènes sont d'ores et déjà identifiés : i) le gène EDA-3 codant pour la protéine EDAR, un récepteur TNF, dont les mutations sont responsables de formes dominantes ou récessives, ii) le gène EDARADD récemment identifié, dont les mutations conduisent à une forme récessive de DEA.

Nous rapportons une forme familiale de DEA transmise sur le mode autosomique dominant. Les sujets atteints présentent une DEA avec hypotrichose, hypodontie et anhidrose. Nous avons localisé le gène sur le chromosome 1q42-q43 où le gène EDARADD a été cartographié. Nous avons séquencé les 7 exons du gène et identifié une mutation faux-sens (G335→T) qui change une leucine en arginine (Leu 112→Arg). Nous avons démontré que cette mutation inhibe l'activation du NF-κB. Nous en concluons que les mutations du gène EDARADD résultent à des formes récessives ou dominantes de DEA. EDAR est activé par son ligand, l'ectodysplasine, et il utilise EDARADD pour former un complexe intracellulaire qui à son tour active NF-κB. La mutation décrite ici semble abolir l'interaction d'EDARADD à EDAR et affecte la voie de signalisation en aval, et qui joue un rôle crucial dans la

différenciation des annexes de la peau. Ce résultat pourrait expliquer la similarité phénotypique des formes liées à l'X, autosomiques dominantes et autosomiques récessives des DEA.

435 >> Poster n°266

GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE

BASE DE DONNÉES UMD-LDLR : ANALYSE MOLÉCULAIRE DE 840 MUTATIONS DU GÈNE DU RÉCEPTEUR DES LDL

D. Allard (1), M. Abifadel (1,2), J.P. Rabès (1,3), C. Bérout (4), C. Junien (1,3), C. Boileau (1,3), M. Varret (1)
(1) INSERM U383, Hôpital Necker-Enfants Malades, AP-HP, Université René Descartes, Paris
(2) Faculté de Pharmacie, Université Saint-Joseph, Beyrouth, Liban
(3) Laboratoire de Biochimie, d'Hormonologie et de Génétique Moléculaire, CHU Ambroise Paré, AP-HP, Université Versailles - Saint-Quentin-en-Yvelines, Boulogne
(4) Laboratoire de Génétique Moléculaire, IURC, Montpellier

L'hypercholestérolémie familiale (HCF) touche 1/500 sujet et est caractérisée par une élévation des taux de cholestérol-LDL conduisant à des complications cardiovasculaires. La maladie du récepteur est due à des mutations du gène LDLR (récepteur des LDL). A ce jour, 1130 mutations ont été identifiées dans le gène LDLR. Pour faciliter leur analyse et rechercher des corrélations génotype/phénotype, nous avons développé une base de donnée et un logiciel d'analyse : UMD-LDLR.

L'analyse des 840 mutations ponctuelles incluses dans UMD-LDLR donne les informations suivantes : [1] 60% des mutations sont des faux-sens et 21% sont au niveau de dinucléotides CpG. [2] Malgré une distribution sur tout le gène, il existe un excès de mutations dans l'exon 4 (domaine de liaison du ligand) et l'exon 9 (domaine EGF-like) (P<0.001), et il existe un défaut de mutations dans les exons 13 et 15 (domaine EGF-like) (P<0.001) et l'exon 16 (domaine transmembranaire) (P<0.01). [3] 38% des petites délétions se produisent au niveau de séquences répétées. [4] 63% des mutations dans le domaine de fixation du ligand touchent des acides aminés conservés. [5] Les données fonctionnelles disponibles pour 236 mutations (28%) indiquent que 38% d'entre elles sont de classe 2B (défaut du transport du récepteur à la surface cellulaire) et que 33% d'entre elles sont de classe 1 (allèles nuls). [6] Finalement, la recherche de corrélations génotype/phénotype est difficile tant que les données clinico-biologiques sont incomplètes. L'accès direct à UMD-LDLR via internet doit faciliter l'entrée de données précises pour chacune des mutations recensées.

440 >> Poster n°267

GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE

MUTANT NDUFS3 SUBUNIT OF MITOCHONDRIAL COMPLEX I CAUSES LEIGH SYNDROME

P. Bénit (1), A. Slama (2), F. Cartault (3), I. Giurgea (2), D. Chretien (1), S. Lebon (1), C. Marsac (4), A. Rötig (1), A. Munnich (1), P. Rustin (1)
(1) Unité de Recherche sur les Handicaps Génétiques de l'enfant (INSERM U393) et Département de Génétique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris
(2) Laboratoire de Biochimie 1, AP-HP Hôpital de Bicêtre, Paris
(3) Centre hospitalier Départemental Félix Guyon, Service Génétique Bellepierre, Saint-Denis, La Réunion
(4) CERTO Faculté Necker-Enfants Malades, Paris

Les déficits en complexe I de la chaîne respiratoire constituent un groupe hétérogène de maladies génétiques

résultant de mutations de l'ADN mitochondrial ou nucléaire. A ce jour, 13 des 14 gènes codant pour les sous unités catalytiques du complexe I (7 gènes mitochondriaux et 6 gènes nucléaires) ont été rapportés mutés. Les mutations dans ces gènes sont la cause de syndromes de Leigh ou de pseudo-Leigh ou encore de cardiomyopathies hypertrophiques. En combinant une méthode de chromatographie à haute pression en condition dénaturante (D-HPLC) et le séquençage direct, nous avons montré que des mutations dans le gène *NDUFS3* (NADH dehydrogenase iron-sulfur protein 3) codant la quatorzième et dernière des sous-unités catalytiques du complexe I, sont également la cause d'un syndrome de Leigh à révélation tardive, associé à une atrophie optique et un déficit en complexe I.

442 >> Poster n°268

GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE

DÉLÉTION PARTIELLE DU GÈNE *NSD1* CHEZ UN PATIENT PRÉSENTANT UN SYNDROME DE SOTOS

C. de La Rochebrochard (1), V. Drouin-Garraud (1), C. Lecointre (2), C. Hervé (3), J. Perrotte (1), E. Bessenay (1), S. Fehrenbach (1), T. Frébourg (1), P. Saugier-Verber (1)

(1) Service de Génétique, CHU de Rouen

(2) Département de Pédiatrie, CHU de Rouen

(3) Service de Néonatalogie, CHU de Rouen, 76031 Rouen

Le syndrome de Sotos associe une avance staturale pré- et postnatale avec avance d'âge osseux, une macrocéphalie, une dysmorphie faciale caractéristique et un retard psychomoteur. Les mutations ponctuelles et les délétions complètes du gène *NSD1*, détectables par FISH, ne sont retrouvées que chez 76% des patients présentant un syndrome de Sotos typique. Nous rapportons l'observation d'une jeune fille présentant un syndrome de Sotos associé à une athyréose résultant d'une délétion partielle du gène *NSD1*. Le dépistage néonatal a révélé une hypothyroïdie secondaire à une athyréose, traitée par L-thyroxine. Elle développe un syndrome de West à l'âge de 5 mois. A 8 ans, l'avance staturale et la macrocéphalie (taille et PC supérieurs au 98^{ème} percentile), une dysmorphie faciale caractéristique et un retard mental modéré font évoquer le diagnostic de syndrome de Sotos. Les radiographies des mains montrent l'avance d'âge osseux. La recherche de délétions du gène *NSD1* a été réalisée par QMPSF (Quantitative Multiplex PCR of Short Fluorescent Fragments) incluant des amplicons situés dans les exons 2 et 23 du gène *NSD1*, dans le gène *FLJ21458* localisé à 3,4 Mb du gène *NSD1* et dans le gène *PBGD*. Chez cette patiente, nous avons identifié une délétion partielle de *NSD1*, emportant l'exon 23 et respectant l'exon 2 et le gène *FLJ21458*. Cette observation démontre l'existence de délétions partielles du gène *NSD1*. La présence de telles délétions partielles, indétectables par FISH, doit être considérée lorsque le criblage du gène *NSD1*, par séquençage et par FISH, s'est révélé négatif.

446 >> Poster n°269

GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE

IDENTIFICATION DE NOUVELLES MUTATIONS DU GÈNE *AIRE* CHEZ 3 PATIENTS ATTEINTS DU SYNDROME POLYENDOCRINOPATHIE AUTOIMMUNE - CANDIDOSE - DYSTROPHIE ECTODERMIQUE (APECED)

S. Marreiros (1), P. Saugier-Verber (1), D. Geneviève (2), M. Le Merrer (2), A. Linglart (3), S. Frérot (1), N. Drouot (1), T. Frébourg (1)

(1) Service de Génétique, CHU de Rouen

(2) Département de Génétique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris

(3) Service d'Endocrinologie Pédiatrique, Groupe Hospitalier Cochin - Saint Vincent de Paul, Paris

Le syndrome PolyEndocrinopathie Autoimmune - Candidose - Dystrophie Ectodermique (APECED; MIM 240300) est une affection monogénique rare de transmission autosomique récessive résultant de mutations du gène *AIRE*, localisé en 21q22.3 et comportant 14 exons. La protéine *AIRE* semble avoir un rôle essentiel dans la régulation de la tolérance immunitaire. A ce jour, 46 mutations ont été identifiées, dont deux récurrentes, Arg257Stop et 964del13. Nous avons séquencé la totalité de la région codante du gène *AIRE* chez trois patients présentant un tableau clinique complet d'APECED et appartenant à des familles consanguines. Quatre mutations, dont trois nouvelles, ont été identifiées : le patient 1 présente une insertion homozygote (94insT) dans l'exon 1; le patient 2 présente une mutation faux sens homozygote (Ala58Asp) dans l'exon 2, non retrouvée sur 100 chromosomes témoins; le patient 3, en dépit de la consanguinité familiale, est hétérozygote composite avec une substitution dans l'exon 1 (Ala21Val) et une mutation d'épissage (1096-1g@a) dans l'intron 9 déjà décrite. L'identification d'une mutation dans le gène *AIRE* permet de confirmer le diagnostic d'APECED sur des bases moléculaires, ce qui est essentiel pour prévenir, dans les familles, l'insuffisance surrénalienne aiguë potentiellement létale. Par ailleurs, le décryptage moléculaire du gène *AIRE* pourrait permettre de définir les domaines protéiques impliqués dans la régulation de la tolérance immunitaire dans cette pathologie qui constitue un modèle unique d'affection autoimmune de transmission mendélienne.

447 >> Poster n°270

GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE

RÉVISION MOLÉCULAIRE DES DYSTROPHIES MUSCULAIRES PROGRESSIVES DE CAUSE INCONNUE

NB. Romero (1), F. Leturcq (2), N. Deburgrave (2), J.C. Kaplan (2), P. Laforêt (1), E. Lacene (1), M. Pucelle (1), N. Hanna (2), S. Quijano-Roy (1), B. Eymard (1), P. Richard (1), P. Guicheney (1)

(1) CHU Pitié-Salpêtrière, Paris

(2) CHU Cochin, Paris

Des mutations du gène *FKRP* (FuKutin Related Protein, une N-glycosylase), peuvent être à l'origine de dystrophies musculaires congénitales (MDC1C), et aussi de formes moins sévères à révélation tardive (LGMD2I) (Brockington et al, 2001). Dans tous les cas le défaut de glycosylation se manifeste par des anomalies secondaires, qualitatives et quantitatives de l'alpha-dystroglycane (membre du complexe DGC) objectivées en immunofluorescence et western-blot.

À la lumière de ces données nous avons réexaminé des patients présentant une dystrophie musculaire dont la symptomatologie avait commencé dès la naissance ou plus tard et où l'étiologie demeurait en suspens, après élimination des causes génétiques classiques. La stratégie de réévaluation a consisté à cribler l'alpha-dystroglycane par immunocytochimie et western-blot puis à rechercher les mutations dans le gène *FKRP*. Parmi la trentaine de cas étudiés on peut d'ores et déjà opérer la catégorisation suivante :

1er groupe : tableau clinique de DMC sévère avec cardiomyopathie et insuffisance respiratoire : l'alpha DG est

anormal en IF et le plus souvent absente (non testée en WB) et associées à des mutations dans le gène FKRP

2ème groupe : tableau clinique DMD-like/BMD-like/LGMD, fréquemment associés à une cardiomyopathie et/ou insuffisance respiratoire : l'alpha DG est anormal en IF (aspect en « mosaïque ») et en WB (absente ou diminuée) et associées à la mutation L276I à l'état homozygote ou hétérozygote (associée à une autre mutation).

3ème groupe : même tableau clinique: l'alpha DG est anormal en IF et en WB et aucune mutation dans le gène FKRP n'a été trouvée

452 >> Poster n°271

GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE

IDENTIFICATION DES CONDUCTRICES PAR PCR QUANTITATIVE DANS LES DÉLÉTIONS DU GÈNE DE L'IDURONATE SULFATASE (MALADIE DE HUNTER)

R. Froissart, V. Bonnet, I. Maire

Laboratoire de Biochimie Pédiatrique, Hôpital Debrousse, Lyon

La maladie de Hunter ou mucopolysaccharidose de type II est une maladie de surcharge lysosomale, de transmission récessive liée à l'X. Elle est due au déficit en iduronate sulfatase (IDS). Quelle que soit la présentation clinique, le diagnostic biologique est facile par mise en évidence du déficit en IDS. Cependant, l'étude enzymatique ne permet pas d'identifier avec fiabilité toutes les conductrices dans les familles à risque car l'X muté peut être préférentiellement inactivé.

L'étude du gène de l'IDS chez le cas index permet d'identifier dans tous les cas l'altération génique et de proposer ainsi aux apparentées un diagnostic fiable de conductrice. Dans environ 10% des cas, il existe une délétion totale ou partielle du gène. La recherche de conductrices dans ces familles nécessite le plus souvent la mise en oeuvre d'un Southern blot, qui n'est pas une technique quantitative. Par contre, la mise au point d'une technique de PCR quantitative en temps réel nous a permis de rechercher les conductrices dans 2 familles, l'une présentant une délétion totale du gène IDS, l'autre présentant une délétion de l'exon 8 avec insertion d'une séquence de plusieurs kb. L'amplification de l'exon 8 du gène IDS, et de l'exon 1 du gène de l'AGT (utilisé comme gène de référence) ont été effectuées sur LightCycler (Roche Diagnostics) avec le kit LC-FastStart DNA Master SYBR Green I. Des courbes d'étalonnage réalisées pour les 2 gènes ont permis la quantification relative du gène cible IDS par rapport au gène de référence (logiciel RelQant, Roche Diagnostics).

La technologie de PCR quantitative en temps réel nous a permis de remplacer la technique de Southern pour les cas de délétions partielles (gain de temps) et de diagnostiquer avec fiabilité les conductrices dans les cas de délétions totales.

453

GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE

APPORTS DE LA DHPLC DANS LE DIAGNOSTIC DE LA MALADIE DE CHARCOT-MARIE-TOOTH

M. Naimi (1,2), S. Tardieu (2), C. Depienne (2,4), A. Brice (2,4), O. Dubourg (3,4), E. Leguern (2,4)

(1) Laboratoire de Génétique, CHU Archet II, Nice

(2) Département Génétique Cytogénétique et Embryologie, CHU Pitié-Salpêtrière, Paris

(3) Service de neuropathologie, CHU Pitié-Salpêtrière, Paris

(4) U289 INSERM, CHU Pitié-Salpêtrière, Paris

La maladie de Charcot-Marie-Tooth (CMT) est une neuropathie héréditaire fréquente et génétiquement hétérogène. Si la duplication de la région 17p11.2 est l'anomalie moléculaire la plus fréquente chez les patients CMT ayant à l'électromyogramme des vitesses de conduction motrices du nerf médian (VCM) < 30 m/s, le CMT lié à l'X (CMTDX) représente 15-25 % de l'ensemble des CMT. Dans les familles CMT sans transmission père-fils dont le cas index présente une VCM entre 30 et 40 m/s, cette fréquence atteint 44 % quand la technique de crible des mutations est la SSCP (Single Strand Conformation Polymorphism). Cette technique constitue la méthode de dépistage des mutations du gène CX32 la plus répandue.

Notre objectif était de mettre au point le dépistage des mutations du gène CX32 par la technique de DHPLC (Denaturing High-Performance Liquid Chromatography), réputée pour être plus sensible et plus rapide.

Cette étude montre que la sensibilité et la spécificité de la DHPLC, évaluées respectivement par l'analyse de 30 patients porteurs d'une mutation du gène CX32 et de 96 patients non mutés, sont de 100 %. En comparaison, l'analyse par SSCP à une sensibilité de 83 %. Ainsi, le screening par DHPLC des patients avec 30 < VCM < 40 m/s a permis de réévaluer la fréquence des mutations du gène CX32 dans ce groupe à 67 %.

L'ensemble de ces données a permis de proposer l'utilisation de la DHPLC dans le cadre de l'activité de routine du laboratoire, et d'envisager de nouvelles perspectives pour le diagnostic du Charcot-Marie-Tooth.

464 >> Poster n°272

GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE

UNE NOUVELLE MÉTHODE DE QUANTIFICATION RELATIVE DE L'EXPRESSION ALLÉLIQUE BASÉE SUR L'EXTENSION D'AMORCE ET LA DHPLC : APPLICATION AU GÈNE MLH1

G. Raux (1), I. Tournier (1), F. Di Fiore (1), I. Maréchal (2), C. Leclerc (2), C. Martin (3), Q. Wang (4), M.P. Buisine (5), D. Stoppa-Lyonnet (6), S. Olschwang (7), T. Frebourg (1,3), M. Tosi (1)

(1) Inserm EMI 9906, IFRMP, Faculté de Médecine et Pharmacie, Rouen

(2) EFS de Normandie, Site de Boisguillaume

(3) Service de Génétique, CHU de Rouen

(4) Centre d'Oncologie Génétique, Centre Léon Bérard, Lyon

(5) Laboratoire de Biochimie et de Biologie Moléculaire, CHU de Lille

(6) Service de Génétique Oncologique, Institut Curie, Paris

(7) Inserm U 434 et Hôpital Saint-Antoine Paris

La détection des altérations géniques situées en dehors des régions codantes, à l'origine d'une altération de l'expression, est essentielle au diagnostic moléculaire des maladies mendéliennes et à la caractérisation des bases moléculaires des maladies multifactorielles. Nous avons développé une méthode simple de quantification relative de l'expression allélique, basée sur la RT-PCR et l'extension d'amorce sur un SNP, en utilisant des dideoxy-nucléotides non fluorescents, suivie de la séparation des produits par DHPLC. Nous avons choisi comme modèle le gène MLH1 impliqué dans le cancer colorectal héréditaire non polyposique ou syndrome HNPCC, car ce gène présente, dans l'exon 8, le polymorphisme fréquent c.655 A>G (Ile219Val). Nous avons étudié la contribution de chaque allèle à l'expression de MLH1 chez 40 sujets témoins non apparentés hétérozygotes pour ce polymorphisme. Cette méthode nous a permis de définir un intervalle étroit pour

l'expression de chaque allèle, compris entre 44.7 % et 55.3 % de l'expression totale. Nous avons ensuite mesuré l'expression de chaque allèle chez 12 patients atteints de syndrome HNPCC, qui présentaient, outre le polymorphisme dans l'exon 8, des mutations différentes de MLH1, en phase ou avec perte du cadre de lecture. Tous les défauts pouvant induire une instabilité de l'ARN messager, selon les modèles du «nonsense-mediated mRNA decay», ont été identifiés par un déséquilibre de l'expression des deux allèles. Cette méthode permet de détecter indirectement tout les défauts à l'origine d'une altération quantitative de l'expression et peut être appliquée aux gènes contenant dans leur région transcrite des SNPs de fréquence allélique élevée.

472 >> Poster n°273

GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE

LOCALISATION DU GÈNE RESPONSABLE DE L'ATAXIE CÉRÉBELLEUSE AUTOSOMIQUE DOMINANTE AVEC NEUROPATHIE SENSITIVE (SCA25) SUR LE CHROMOSOME 2

G. Stevanin (1), N. Bouslam (1), S. Thobois (4), H. Azzedine (1), C. Soumphonphakdy (1), L. Ravaux (1), A. Boland (5), M. Schalling (6), E.

Broussolle (4), A. Brice (1,2,3), A. Dürr (1,2)

(1) INSERM U289, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris

(2) Département de Génétique Cytogénétique et Embryologie AP-HP, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris

(3) Fédération de Neurologie AP-HP, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris

(4) Hôpital Neuro-chirurgical Pierre Wertheimer, Lyon

(5) Centre National de Génotypage, Evry

(6) Karolinska Hospital, Stockholm, Suède

Les ataxies cérébelleuses autosomiques dominantes (ADCA) forment un groupe de pathologies neurodégénératives très hétérogène, aussi bien d'un point de vue clinique et neuropathologique que génétique avec plus de 20 loci responsables.

Nous avons identifié une famille comportant 18 individus dans laquelle les patients présentent un tableau clinique variable associant une ataxie cérébelleuse à une neuropathie sensitive sévère. L'atrophie cérébelleuse est très marquée et concerne le vermis et les hémisphères. L'âge de début est de 17 mois à 39 ans.

La réalisation d'une cartographie primaire a permis de mettre en évidence une liaison génétique de cette affection avec des marqueurs du bras court du chromosome 2. Des valeurs significatives de lod score ont été obtenus avec les marqueurs D2S2378 et D2S2734. L'analyse de liaison multipoint réalisée sur 16 marqueurs génétiques de la région ainsi que la reconstruction des haplotypes ont permis de restreindre l'intervalle candidat à 12,6cM, soit 15Mb entre les marqueurs D2S2174 et D2S2736. L'analyse de 4 autres familles avec ADCA n'a pas permis d'identifier de nouvelles familles liées à ce locus.

Parmi les 71 gènes présents dans l'intervalle, l'implication du gène CRIPT, codant pour une protéine post-synaptique a pu être exclu par séquençage des exons. Enfin, l'implication de répétitions CAG, la mutation majeure au sein des ADCA, n'a pas été mise en évidence par l'utilisation de l'anticorps 1C2 sur des extraits protéiques de patients et par la technique Repeat Expansion Detection (RED) sur l'ADN des patients. Ce nouveau locus a été appelé spinocerebellar ataxia 25 (SCA25).

473 >> Poster n°274

GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE

ETUDE MOLÉCULAIRE DE 53 FAMILLES DE SCLÉROSE TUBÉREUSE DE BOURNEVILLE

MC. Malinge, S. Peculier, A. Guichet, D. Bonneau
Service de Génétique, CHU, Angers

La sclérose tubéreuse de Bourneville (STB) est une maladie autosomique dominante à expressivité variable touchant 1/7000 nouveau-nés. Elle se caractérise par des signes neurologiques, cutanés, rénaux, ophtalmologiques et cardiaques. La STB est responsable d'épilepsie (65% des cas) et de retard du développement (40%). C'est une affection génétiquement hétérogène pour laquelle deux gènes (TSC1 et TSC2) ont été identifiés. Nous avons recherché par DHPLC et séquençage les mutations de TSC1 et TSC2 pour 53 familles. Un total de 47 sujets atteints (dont 5 fœtus porteurs de rhabdomyomes cardiaques) et de 54 sujets à risque a été étudié. La mutation causale a été identifiée pour 40 familles (76 %). Il s'agit de 11 formes familiales (28 %) et de 29 cas sporadiques (72 %). Douze mutations de TSC1 (30%) et 28 mutations de TSC2 (70%) ont été identifiées. Les mutations de TSC1 ont été trouvées pour 7/11 des formes familiales (63 %) et celles de TSC2 pour 24/29 (83 %) des formes de novo. Les mutations retrouvées sont 16 mutations non-sens, 16 insertion-délétion (1 à 19 pb), 5 jonctions exon-intron et 3 faux sens. Il s'agit dans la majorité des cas (29/40 = 72.5 %) de mutations non répertoriées dans la TSC variation database. L'étude moléculaire des gènes TSC1 et TSC2 nous a permis de donner un conseil génétique pour les familles étudiées, de réaliser 3 diagnostics prénatals et de confirmer le diagnostic de STB pour des fœtus ayant des rhabdomyomes à l'échographie

475 >> Poster n°275

GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE

LES PROTÉINES CLDN14 MUTÉES CAUSANT LA SURDITÉ SONT INCAPABLES DE FORMER DES JONCTIONS SERRÉES

M. Wattenhofer (1), A. Reymond (1), A. Charollais (2), D. Caille (2), V. Falcicola (1), C. Borel (1), A. Pampanos (3), R. Rabionet (4), MB. Petersen (3), X. Estivill (4), P. Meda (2), SE. Antonarakis (1)

(1) Division of Medical Genetics, University of Geneva Medical School ; (2) Department of Morphology, University of Geneva Medical School ; (3) Aghia Sophia Children Hospital, Athens ; (4) Centre de Regulacio Genomica, Barcelona

La surdité congénitale DFNB29 est due à des mutations dans CLDN14. Ce gène code pour l'une des claudines, protéines composant les jonctions serrées (JS). Pour déterminer la(les) caractéristique(s) altérée(s) dans DFNB29, nous avons étudié les conséquences de deux mutations CLDN14 faux-sens. L'une est la substitution V85D découverte dans une famille pakistanaise. L'autre est le variant G101R, que nous avons identifié par séquençage du cadre de lecture ouvert du gène CLDN14 chez 183 patients de Grèce et d'Espagne, atteints de surdité non-syndromique et négatifs pour des mutations dans le gène GJB2. Un seul des chromosomes étudiés porte la transition 301G>A qui change le résidu G101 en R101. Le résidu G101 est conservé dans presque toutes les Claudines humaines. Pour déterminer si le variant G101R est pathogénique et dans quelle partie de sa fonction le mutant V85D est atteint,

nous avons regardé leurs localisations subcellulaires et leurs capacités à former des JS. La protéine V85D se localise de façon diffuse dans le cytoplasme. Au contraire, les protéines CLDN14Wt et G101R sont localisées à la membrane plasmique, suggérant que (i) la fonction de la protéine mutée est affectée par sa mauvaise localisation et (ii) le variant G101R est soit non-pathogénique soit affecté dans une autre caractéristique. En effet les cellules LM transduites avec CLDN14G101R ne forment pas de JS alors que les LM transduites avec CLDN14Wt en forment.

Ces résultats suggèrent que le variant G101R n'est pas capable de former des JS. Ils sont en accord avec l'hypothèse que G101R est pathogénique.

480

GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE

UNE FAMILLE AVEC UN CHARCOT-MARIE-TOOTH AUTOSOMIQUE RÉCESSIF AVEC LIAISON AU LOCUS 10Q23-Q24 (FORME RUSSE)

N. Ravise (1), M.P. Muriel (1), A. Brice (1), E. Leguern (1), O. Dubourg (1,2)

(1) U289 Neurologie et Thérapeutique Expérimentale, Paris

(2) Consultation multidisciplinaire sur les neuropathies héréditaires, Paris

La maladie de Charcot-Marie-Tooth est un groupe de pathologies héréditaires du nerf périphérique, qui est très hétérogène tant sur le plan clinique que génétique. Elle se manifeste par une amyotrophie et une faiblesse musculaire distales associées à des troubles sensitifs de même topographie. En Europe, les formes autosomiques récessives semblent rares et correspondent majoritairement à des cas isolés en raison de la petite taille des fratries. Toutefois, un CMT de transmission autosomique récessive (HMSNR) a été identifiée chez des gitans originaires des Balkans (Ann. Neurol. 2001). Le gène responsable a été localisé en 10q23-q24.

Une famille avec consanguinité d'origine Tzigane présentant un tableau clinique de Charcot-Marie-Tooth comportant un âge de début précoce, un déficit moteur important aux membres inférieurs avec abolition des réflexes ostéotendineux et des déformations des pieds, a été identifiée à l'hôpital Pitié-Salpêtrière. Devant l'origine ethnique de la famille, des marqueurs microsatellites polymorphes de la région 10q23-q24 ont été testés.

Les résultats de l'analyse de ségrégation des allèles des marqueurs démontrent une liaison au 10q23-q24, en particulier les 4 patients de la famille sont homozygotes pour le marqueur D10S1672. La reconstruction des haplotypes délimite un région génomique candidate de 1 Mbp. Au plan phénotypique, l'étude ultrastructurale de la biopsie de nerf d'un des sujets atteints est plutôt en faveur d'une atteinte axonale.

482 >> Poster n°276

GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE

APPROCHE DES BASES STRUCTURALES DE LA MALADIE DE FABRY PAR MODÉLISATION MOLÉCULAIRE.

K. Azibi (1,2), M.F. Szajnert (2), J. Dussau (1), J.P. Puech (1), L. Poenaru (1,2), C. Caillaud (1, 2)

(1) Laboratoire de Génétique, Université Paris V, Hôpital Cochin, Paris

(2) Institut Cochin, Unité 567 INSERM, UMR 8104 CNRS, Paris

La maladie de Fabry est due à un déficit en alpha-galactosidase A, responsable de l'accumulation de glycosphingolipides (globotriaosylcéramide ou Gb3) principalement dans les lysosomes de l'endothélium vasculaire et des cellules musculaires lisses. Les patients présentent des angiokératomes, des douleurs abdominales, des opacités cornéennes, des paresthésies des extrémités et tardivement une insuffisance rénale.

La caractérisation des mutations dans le gène de alpha-galactosidase permet de clarifier le mécanisme moléculaire responsable du déficit enzymatique et facilite la détection intra-familiale des patients atteints de maladie de Fabry et des femmes conductrices. La mise en évidence de 17 nouvelles mutations dans notre étude démontre l'hétérogénéité moléculaire de cette maladie.

Pour comprendre les effets des mutations sur la structure de la protéine, nous avons modélisé (logiciel SCWRL / CBS modeller service) l'alpha-galactosidase mutée par homologie au modèle humain, obtenu d'après les données cristallographiques de l'alpha-N-acetylgalactosaminidase du poulet. Le logiciel Swiss-Pdb Viewer nous a permis d'analyser l'impact des mutations sur la structure en 3D. Sept nouvelles mutations faux sens (A156N, S297C, P265R, G361A, I354K, Q279H, D264A) ont été positionnées sur ce modèle. Elles entraînent soit une alteration du site actif soit une réduction de la stabilité de la protéine.

Cette approche de modélisation moléculaire permet d'élucider la relation structure fonction et de prédire la sévérité de la maladie.

489

GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE

LA CASEIN KINASE II EST ELLE IMPLIQUÉE DANS LA GLOBOZOSPERMIE CHEZ L'HOMME ?

O. Pirrello (1), N. Machev (1), F. Schmidt (2), P. Terriou (3), Y. Menezo (4), S. Viville (1)

(1) Institut de Génétique et de Biologie Moléculaire et Cellulaire, Illkirch

(2) CECOS Haut-Rhin, Mulhouse

(3) Institut de Médecine de la Reproduction, Marseille

(4) Laboratoire Merieux, Lyon

La globozoospermie est une tératozoospermie au cours de laquelle la formation de la tête du spermatozoïde est perturbée, rendant le spermatozoïde non fécondant. L'existence de cas familiaux suggère que cette pathologie a une origine génétique, mais aucun gène impliqué n'a encore pu être identifié.

Très récemment, une souris mutante dépourvue d'une sous-unité catalytique alpha' de l'enzyme Caséine kinase II a été décrite. Ce mutant présente un phénotype unique rappelant celui des patients atteints de globozoospermie à savoir : une déformation de la tête des spermatozoïdes et des spermatides. Sur des coupes épидидymaires 100% des spermatozoïdes présentaient des anomalies de l'acrosome. Fait intéressant, ce gène est fortement conservé au cours de l'évolution ; chez la levure, la mutation de son orthologue (orb5) provoque un phénotype sphérique.

La caséine kinase II est un hétérotétramère, composé de deux sous unités catalytiques alpha ou alpha' et de deux sous unités régulatrices beta.

A partir, des récentes découvertes concernant la casein kinase II, les modèles de souris et de levure, nous nous sommes demandés si l'un de les deux gènes, Csnk2a2 et Csnk2b (codant respectivement pour les sous unités alpha' et beta) pouvait être responsable de la globozoospermie

chez l'homme. Pour tenter de répondre à cette question nous avons comparé, à la recherche d'une mutation, les séquences exoniques et les jonctions introns/exons des gènes *Csnk2a2* et *Csnk2b* de sept patients atteints de globozoospermie à une population témoin fertile. Actuellement seulement quatre polymorphismes ont été retrouvés.

495 >> Poster n°277

GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE

INTÉRÊT DE LA RECHERCHE DE L'ADN FOETAL (SRY) DANS LE SANG MATERNEL DANS LA PRISE EN CHARGE DU DIAGNOSTIC ET DU TRAITEMENT PRÉNATAL DU DÉFICIT EN 21-HYDROXYLASE

V. Tardy (1), JM. Costa (2), M. Olivi (2), P. Ernault (2), Y. Morel (1) en collaboration avec l'ensemble des services français
(1) Biochimie Endocrinienne et Moléculaire, Hôpital Debrousse, Lyon
(2) Biologie Moléculaire, Hôpital Américain de Paris, Paris

Un diagnostic prénatal et un traitement à la dexaméthasone sont proposés aux couples à risque d'avoir un enfant atteint de forme classique de déficit en 21-hydroxylase. Les hypothétiques conséquences de ce traitement in utero déduites d'expérimentations animales (perturbations de l'architecture neuronale, HTA...) nécessitent d'en limiter les indications aux seuls foetus de sexe féminin. Une détermination précoce du sexe foetal par analyse du sérum maternel ("test SRY") devrait donc permettre de ne pas traiter les fœtus masculins. Le protocole suivant est proposé depuis janvier 2002 aux couples à risque: "test SRY" entre 6 et 7.5 SA, si le résultat est négatif mise en route du traitement par Dexaméthasone avant 8 SA, contrôle du "test SRY" vers 10 SA et diagnostic prénatal (11-12 SA).

Onze des 21 filles avec 1 risque sur 4 de forme classique ont bénéficié de ce protocole, 7 filles ont été traitées avant "test SRY" et 3 ont eu "test SRY" et traitement après 8 SA. Parmi les 26 fœtus masculins, le traitement a été évité dans 9 cas contre 9 foetus traités avant "test SRY", pour les 8 restants le "test SRY" a été fait trop tard; dix garçons ont bénéficié d'un diagnostic prénatal, les autres étant pris en charge à la naissance. Enfin, le "test SRY" peut être utile si le risque de 21-OHD est indéterminé ou faible ou si les femmes consultent tardivement. Aucune discordance n'a été observée entre "test SRY", caryotype et contrôle à la naissance.

En conclusion, cette nouvelle prise en charge semble validée mais nécessite une étroite collaboration entre pédiatres, obstétriciens, généticiens et biologistes pour une prise en charge optimisée des femmes enceintes.

497 >> Poster n°278

GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE

PSEUDOXANTHOME ELASTIQUE : SPECTRE DE MUTATIONS DU GÈNE *ABCC6* DANS 45 FAMILLES.

N. Chassaing (1), L. Martin (2), J. Mazereeuw-Hautier (3), J.L. Bonafé (3), P. Calvas (1), A. Hovnanian (1,4)
(1) Service de Génétique Médicale, Hôpital Purpan, Toulouse
(2) Service de Dermatologie, Hôpital Porte-madeleine, Orléans
(3) Service de Dermatologie, Hôpital Rangueil, Toulouse
(4) INSERM U563, Hôpital Purpan, Toulouse

Le pseudoxanthome élastique (PXE, MIM 264800) est caractérisé par une atteinte cutanée, ophtalmique et

cardiovasculaire. La transmission est autosomique récessive le plus souvent, mais des cas de transmission autosomique dominante ont été décrits. Son incidence est estimée de 1/25000 à 1/100000. Le PXE est dû à des mutations du gène *ABCC6* codant pour un transporteur transmembranaire, surtout exprimé dans le foie et les reins. Nous avons étudié *ABCC6* dans 45 familles (la plupart originaire de France) par séquençage des exons les plus fréquemment mutés (exons 24 et 28), par dHPLC des 29 autres exons suivi éventuellement de séquençage, et par recherche de la délétion récurrente des exons 23 à 29 (EX23>29del). Nous avons identifié 33 mutations différentes dont 19 nouvelles (11 faux-sens, 1 non-sens, 5 mutations d'épissage, 2 délétions intragéniques). Le taux de détection de mutation est de 70%. Les mutations récurrentes R1141X et EX23>29del ont été identifiées sur 9 et 4 allèles mutés respectivement (15% et 7% des mutations retrouvées). Nous n'avons pas observé de corrélation génotype/phénotype.

Nous avons pu démontrer un mode de transmission pseudodominant dans une famille dans laquelle une transmission autosomique dominante était suspectée. Nous discutons la probable transmission unique autosomique récessive du PXE, et la variabilité phénotypique inter et intrafamiliale observée dans les familles étudiées. Ces informations devraient aider lors du conseil génétique dans ces familles.

505

GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE

SYNDROME DE DONNAI-BARROW (DBS) : EXCLUSION DES LOCUS HOMÉOTHÉTIQUES *VAX1-EMX2* ET *VAX2-EMX1*

V. Gaston, N. Chassaing, P. Calvas, E. Bieth
Service de Génétique Médicale, CHU de Toulouse, Hôpital Purpan, Toulouse

Le syndrome de Donnai-Barrow (MIM222448) associe hernie diaphragmatique, omphalocèle, hypertélorisme, myopie sévère, colobome, surdité-neurosensorielle et agénésie du corps calleux. Récemment, nous avons décrit 4 nouveaux cas (2 familles) qui s'ajoutent aux 8 cas précédemment publiés et qui renforcent le modèle d'une transmission autosomique et récessive (Chassaing et al., 2003, Am J Med Genet 121A:258-262). Des phénotypes approchant comportant notamment des anomalies du développement oculaire (colobome) et une agénésie du corps calleux ayant été rapporté chez la souris dont le gène homéothétique *VAX1* a été invalidé, nous avons émis l'hypothèse d'une liaison entre le DBS et les locus contenant les clusters de gènes *VAX1-EMX2* ou *VAX2-EMX1*. Ces deux locus situés chez l'homme en 10q25-26 et 2p13 respectivement joueraient en effet en synergie avec *PAX6/PAX2* un rôle crucial dans les processus d'axonogénèse et de développement de l'œil. Nous montrons que pour chacune des deux familles étudiées l'association à au-moins un de ces deux locus peut être exclue.

510 >> Poster n°279

GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE

ACTION BIPOTENTIELLE DE *SF1* DANS LE DÉVELOPPEMENT DES GONADES ET DES SURRÉNALES: À PROPOS D'UN CAS DE DYSGÉNÉSIE GONADIQUE SANS ATTEINTE SURRÉNALE.

D. Mallet (1), P. Bretones (2), L. Michel-Calemard (1), M. Zhou (2), M.

David (2), Y. Morel (1)

(1) Laboratoire de Biochimie Endocrinienne, Hôpital Debrousse, Lyon

(2) Service d'Endocrinologie Pédiatrique, CHU Lyon Sud, Lyon

Le récepteur nucléaire SF1 est impliqué dans la différenciation sexuelle et le développement des glandes surrénales. Son invalidation chez la souris conduit à une agénésie des surrénales et des gonades. Chez l'homme, des mutations ont été identifiées. Trois patients présentent une dysgénésie gonadique avec insuffisance surrénalienne (IS): un patient 46,XY hétérozygote pour la mutation G35E, un patient 46,XY homozygote pour la mutation R92Q et une patiente 46,XX hétérozygote pour la mutation R255L. Un quatrième patient 46,XY, hétérozygote pour une délétion de 8pb dans l'exon 6, présente seulement une dysgénésie gonadique, sans IS (non publié). L'absence d'atteinte surrénalienne suggérait que la partie tronquée (83AA C-ter) n'était indispensable que pour le développement des gonades. Nous présentons un cas cliniquement identique suggérant plutôt un effet « dose-dépendant » de SF1. Il s'agit d'une ambiguïté sexuelle isolée (hypospade périnéal avec bourgeon génital de 1cm et résidus müllériens) sans IS. L'histologie confirme la dysgénésie gonadique asymétrique. L'absence d'IS a été vérifiée à l'âge de 7 ans (ACTH et test à l'ACTH normaux). Nous avons identifié une mutation non sens du gène SF1, hétérozygote, de novo qui devrait produire une protéine tronquée très courte, non fonctionnelle. Toute réinitiation de la traduction produirait aussi une protéine non fonctionnelle. SF1 régulerait différemment les gènes du développement de ces deux glandes. Une autre maladie due à une mutation de SOX9, le syndrome campomélique s'accompagne toujours de signes osseux mais seulement dans 75% d'atteinte testiculaire. L'explication reposerait sur un mécanisme d'action de SOX9 passant par soit une dimérisation coopérative (os) soit une action monomérique (testis).

513

GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE

IDENTIFICATION DE DÉLÉTIONS ET DE DUPLICATIONS PARTIELLES DE LA RÉGION AZFC CHEZ DES HOMMES INFERTILES

V. Rozé (1), C. Roux (1,2), MC. Clavequin (1,2), JL. Bresson (1,2), F. Fellmann (1,2)

(1) EA3185 Génétique et Reproduction, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Besançon

(2) Service de Génétique - Histologie - BDR, CHU Saint-Jacques, Besançon

Des microdélétions de la région AZF (azoospermia factor) sur le bras long du chromosome Y sont identifiées dans 3 à 12 % des situations d'infertilité masculine sévère. Dans environ 2/3 des cas, la délétion emporte la région AZFc, la plus distale, qui couvre environ 3,5 Mb au niveau génomique et contient 32 gènes et transcrits, parmi lesquels 4 exemplaires du gène DAZ (deleted in azoospermia).

Récemment, l'existence de délétions partielles de la région AZFc a été rapportée et la perte d'une ou plusieurs copies du gène DAZ et des gènes présents dans cet intervalle pourrait expliquer certains tableaux d'infertilité masculine. En raison de l'organisation complexe de cette région génomique, constituée de nombreux segments palindromiques répétés, et de la faible informativité des polymorphismes (SNVs et SFVs) identifiés, liée à des

phénomènes fréquents de conversion génique, nous avons développé une méthode quantitative pour le dosage du nombre des copies du gène DAZ. Nous avons étudié l'ADN leucocytaire de 41 hommes présentant une infertilité sévère de nature sécrétoire (N=26) ou obstructive (N=15), pour lesquels l'histologie testiculaire était disponible. Cette technique a permis d'identifier 6 cas de délétions partielles de la région AZFc chez des hommes présentant une infertilité de nature sécrétoire et 3 cas de duplications chez des hommes dont l'infertilité est de nature obstructive, avec une spermatogenèse conservée. Si l'implication des délétions partielles de la région AZFc dans le phénotype "infertilité masculine" était avérée, la PCR en temps réel, relativement simple à mettre en oeuvre, pourrait être utilisée pour leur détection.

515 >> Poster n°280

GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE

CORRECTION INTRACÉRÉBRALE DANS LE MODÈLE ANIMAL DE LA MALADIE DE SANDHOFF À L'AIDE DE VECTEURS VIRAUX

C. Bourgoin (1), C. Emiliani (2), A. Gelot (3), L. Poenaru (1), C. Caillaud (1)

(1) Laboratoire de Génétique, Unité INSERM 567, Faculté de Médecine Cochin, Paris

(2) Department of Cellular and Molecular Biology, University of Perugia, Italy

(3) Unité de Neuropathologie, Hôpital Trousseau, Paris

La maladie de Sandhoff est une maladie neurodégénérative à transmission autosomique récessive caractérisée par l'accumulation intralysosomale de ganglioside GM2. Elle est due à des mutations du gène HEXB codant la chaîne bêta des hexosaminidases, et conduit à un déficit en hexosaminidases A et B.

Un transfert de gènes a été réalisé dans le modèle murin de la maladie à l'aide d'un adénovirus recombinant codant la chaîne bêta. Après injection intracérébrale, ce vecteur a permis de restaurer une activité hexosaminidase totale correcte, mais l'hexosaminidase A n'a bénéficié que d'une correction partielle. La coinjection de mannitol, composé hyperosmotique, a démontré sa capacité à favoriser la diffusion du vecteur, permettant une diminution des doses administrées et l'élimination des effets délétères du vecteur observés habituellement à fortes concentrations.

Des vecteurs AAV contenant les ADNc humains HEXA et HEXB sous le contrôle du promoteur CAG ont été construits, puis testés chez les souris Sandhoff en période néonatale. L'AAV-HEXB injecté seul en intracérébral permet de restaurer l'activité hexosaminidase globale dans le cerveau entier où il diffuse largement, mais l'Hex A n'atteint que 20 % de la normale. La coadministration des vecteurs AAV-HEXA et AAV-HEXB, générant une surexpression des sous-unités alpha et bêta, permet une correction de l'activité Hex A capable de dégrader le ganglioside GM2 accumulé. Ce résultat montre la nécessité d'apporter les deux sous-unités dans le cas d'une protéine hétérodimérique, comme Hex A. D'autre part, il atteste pour la première fois d'un effet thérapeutique dans ce modèle.

519 >> Poster n°281**GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE****RECHERCHE DU GÈNE DE L'ALPHA-SYNUCLÉINE MULTICOPIE PAR DOSAGE DANS 126 FAMILLES**

P. Ibanez (1), B. Debarges (1), E. Lohmann (1), A. Destée (4), S. Lainé (1), M. Periquet (1), P. Pollak (5), F. Durif (6), C. Tranchant (7), Y. Agid (1,3), A. Dürr (1,2,3), A. Brice (1,2,3) et le French Parkinson's Disease Genetics Study Group*

(1) INSERM U289, Paris

(2) Département de Génétique, Cytogénétique et Embryologie, AP-HP, Paris

(3) Fédération de Neurologie, AP-HP, Paris

(4) Service de Neurologie, Hôpital Roger Salengro, Lille

(5) Service de Neurologie, CHU, Grenoble

(6) Fédération de Neurologie, Hôpital Gabriel Montpied, Clermont-Ferrand

(7) Service des maladies du Système Nerveux et du Muscle, Hôpital Civil, Strasbourg (7)

* Y. Agid, A.M. Bonnet, M. Borg, A. Brice, E. Broussolle, P. Damier, A. Destée, A. Dürr, F. Durif, E. Lohmann, M. Martinez, C. Penet, P. Pollak, O. Rascol, F. Tison, C. Tranchant, M. Vérin, F. Viallet, M. Vidailhet, J.M. Warter

Bien qu'elles ne représentent qu'une petite proportion des cas de maladie de Parkinson, les formes mono-géniques permettent d'impliquer de nouvelles voies dans les mécanismes menant à cette pathologie.

Parmi les gènes impliqués, celui de l'alpha-synucléine (PARK1) a été le premier identifié, responsable d'une forme autosomique dominante de maladie de Parkinson. Seules deux mutations ponctuelles (Ala53Thr et Ala30Pro) ont été identifiées dans un nombre restreint de familles. Cependant, une étude récente montre que d'autres types de mutations, duplications et triplications du gène de l'alpha-synucléine pourraient rendre compte de formes autosomiques dominantes de maladie de Parkinson.

Nous avons donc recherché la présence de multiplications de l'alpha-synucléine dans 126 familles avec une transmission de la maladie compatible avec un mode autosomique dominant. Le dosage de l'alpha-synucléine par une technique de PCR multiplex semi-quantitative des exons 3 et 4 du gène a permis de détecter des duplications de ces exons chez 2 cas index. La vérification de la présence d'une copie surnuméraire du gène complet a été obtenue par l'analyse des marqueurs flanquant le gène.

Ces résultats confirment l'implication de l'alpha-synucléine dans les formes autosomiques dominantes de la maladie de Parkinson et soulignent le rôle d'un gain de fonction toxique de la protéine soit par surexpression soit par mutation ponctuelle.

522 >> Poster n°282**GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE****DES MUTATIONS PONCTUELLES DANS LES GÈNES PRKCG ET FGF14, RESPONSABLES D'ATAXIES SPINOCÉRÉBELLEUSES !**

G. Stevanin (1), A. Camuzat (1), S. Poëa (1), C. Jeannequin (1), E. Lohmann (1,2), M. Gouttard (5), V. Hahn (4), E. Ollagnon-Roman (6), M.L. Welter (2), A. Brice (1,2,3), A. Dürr (1,3)

(1) INSERM U289, Hôpital de la Salpêtrière, Paris

(2) Fédération de Neurologie, Hôpital de la Salpêtrière, Paris

(3) Département de Génétique Cytogénétique et Embryologie, Hôpital de la Salpêtrière, Paris

(4) Centre du langage, Hôpital de la Salpêtrière, Paris

(5) Hôpital de Bourg-en-Bresse

(6) Hôpital de la Croix-Rousse, Lyon

Les ataxies cérébelleuses autosomiques dominantes (ADCA) sont des pathologies neurodégénératives cliniquement et génétiquement hétérogènes avec plus de 20 loci identifiés à ce jour. La majorité des formes génétiques connues est due à des expansions nucléotidiques codantes ou non. Récemment, des mutations faux-sens dans les gènes codant pour la sous-unité gamma de la protéine kinase C (PRKCG/SCA14) et le fibroblast growth factor 14 (FGF14), ont été identifiées dans plusieurs familles.

Nous avons étudié le gène PRKCG dans 6 familles d'origine française avec ADCA par analyse de liaison à l'aide de marqueurs microsatellites. Une liaison génétique significative avec les marqueurs D19S180, 921 et 924 a été mise en évidence dans une famille. Le séquençage du gène PRKCG a permis de mettre en évidence une nouvelle mutation (F643L), au niveau d'un acide aminé très conservé au cours de l'évolution situé au sein du domaine catalytique de l'enzyme. La mutation est absente de 150 témoins caucasiens. Les caractéristiques cliniques de cette forme sont un âge de début variable (de l'enfance à 60 ans) se manifestant par une ataxie cérébelleuse, des réflexes ostéotendineux abolis, des myoclonies et souvent un déficit intellectuel.

D'autre part, les 5 exons du gène FGF14 ont été séquencés chez 40 cas index présentant une ADCA pour lesquels les autres gènes connus avaient été exclus. Aucun patients de notre cohorte ne s'est révélé porteur d'une mutation dans ce gène.

La découverte de mutations ponctuelles dans des gènes responsables d'ADCA aura nécessairement un impact majeur en terme de diagnostic génétique.

523 >> Poster n°283**GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE****MTMR13, UN NOUVEAU GÈNE IMPLIQUÉ DANS UN SYNDROME ASSOCIANT MALADIE DE CHARCOT-MARIE-TOOTH ET GLAUCOME JUVÉNILE**

H. Azzedine (1), A. Bolino (2), N. Birouk (3), M. Di Ducca (4), A. Bouhouche (3), R. Gouider (5), A. Brice (1), J. Laporte (6), E. Le Guern (1)

(1) Laboratoire de Neurologie et Thérapeutique expérimentale, INSERM U289, Paris

(2) Dulbecco Telethon Institut, Laboratory of Molecular Genetics, Genova, Italie

(3) Service de Neurologie, Hôpital des Spécialités, Rabat, Maroc

(4) Laboratory of Nephrology, Gaslini institut, Genova, Italie

(5) Service de Neurologie, Hôpital Razi, Tunis, Tunisie

(6) IGBMC, CNRS/INSERM/ULP, Illkirch

La maladie de Charcot-Marie-Tooth (CMT) est une neuropathie périphérique présentant une grande variabilité aussi bien phénotypique que génétique. Elle est caractérisée par une amyotrophie et une faiblesse musculaire distales associées à des troubles sensitifs de même topographie. Il existe deux types de CMT : la forme démyélinisante et la forme axonale. Différents modes de transmission de la maladie ont été décrits : autosomique dominant, lié à l'X et autosomique récessive (CMTAR). Plus de 25 loci et une dizaine de gènes ont été rapportés. Nous nous sommes intéressés à une forme particulière de CMT associant un Glaucome Juvénile. Une cartographie primaire a été réalisée. 400 marqueurs microsatellites couvrant la totalité du génome et espacés entre-eux avec un intervalle moyen de 10 centi-Morgan ont été utilisés. Nous avons localisé le gène en cause sur le chromosome 11p15 (CMT4B2). L'analyse des banques de données nous a permis de concentrer nos efforts sur le séquençage de gènes candidats par position et par fonction

dans la région d'intérêt. Nous avons pu ainsi identifier le gène en cause chez deux familles présentant la même forme complexe de CMT. Il s'agit d'un gène de 40 exons répartis sur 600 Kb codant pour un ARNm de 5550 Kb et une protéine de 1849 acides aminés. Cette protéine comporte 3 domaines DENN, 1 Domaine PTPc/DSPc dégénéré, 1 SET interacting domaine et un domaine PH. L'analyse de 4 autres familles avec liaison génétique à ce même locus est en cours. Les développements de l'étude seront donnés au cours du colloque.

525 >> Poster n°284

GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE

SPONDYLARTHRITE ANKYLOSANTE, RECHERCHE DE GÈNES CANDIDATS

B. Nedelec, V. Gilquin, C. Dulac, S. Laoussadi, M. Delpech et les membres du Consortium EUROAS
 Institut Cochin, U567, Département GDPM, Université René Descartes, Paris

La spondylarthrite ankylosante représente la seconde des grandes maladies rhumatismales inflammatoires chroniques. Elle présente une composante héréditaire puisque sa fréquence est 23 fois plus élevée chez les sujets apparentés à des sujets atteints. Environ 90% des sujets atteints de la maladie possèdent l'allèle B27 du HLA de classe I. Il est certain maintenant que des facteurs environnementaux et d'autres gènes interviennent aussi. Notre projet de recherche a pour but de tenter de caractériser ces gènes. Pour cela nous avons été à l'origine de la création d'un consortium européen appelé EUROAS qui regroupe aujourd'hui 10 pays. Ceci nous a permis d'avoir accès à des centaines de familles atteintes. Les extractions d'ADN sont réalisées par le Généthron. Un tour de génome a été effectué par le Centre National de Génotypage (CNG) sur les 69 premières familles récoltées (831 individus). Un calcul de lod scores non paramétriques (Genhunter) nous a permis de caractériser 10 locus potentiellement candidats, car présentant un lod score supérieur à 2 ($0.0001 < p < 0.01$). Nous nous sommes plus particulièrement intéressés au locus 16q23.1 qui avait été caractérisé comme locus candidat au cours de deux tours de génome réalisés par l'équipe de BP Wordsworth. Une analyse de huit microsatellites de la région nous a permis de réduire l'intervalle, dans lequel nous avons analysé deux gènes candidats, ceux de la phospholipase C gamma 2 et celui de l'interleukine 17C. Aucun des polymorphismes que nous avons caractérisés dans leurs parties codantes ne présente d'association avec la maladie.

529 >> Poster n°285

GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE

APPLICATION DE LA RÉSONANCE DES PLASMONS DE SURFACE À LA DÉTECTION DES INTERACTIONS ADN : ADN. VERS UNE PUCE À ADN DIAGNOSTIQUE, « TEMPS RÉEL » ET SANS MARQUAGE FLUORESCENT

N. Bassil (1), E. Maillart (1), M. Canva (1), Y. Levy (1), MC. Millot (2), S. Pissard (3), R. Narwa (3), M. Goossens (3)

(1) Laboratoire Charles Fabry de l'Institut d'Optique, CNRS UMR 5801 Orsay

(2) LRP, CNRS UMR C 7581, Thiais

(3) Laboratoire de Génétique Moléculaire et Physiopathologie, INSERM U 468

En fonction de la complexité du gène étudié, le diagnostic moléculaire des affections génétiques peut nécessiter la

recherche d'un grand nombre de mutations ponctuelles, multipliant les expériences élémentaires consommatrices de temps et d'un coût global élevé. La « Puce à ADN diagnostique » permettant en une expérience la recherche d'un grand nombre de mutations ponctuelles, s'affranchit de ces difficultés. En nous servant du modèle de la mucoviscidose (gène CFTR), nous avons mis au point une puce à ADN dont l'originalité repose sur le mode d'acquisition du signal, fondée sur une propriété d'absorption résonnante de la lumière : la Résonance des Plasmons de Surface (SPR) et l'utilisation d'une surface fonctionnalisée auto-assemblée stable (MUA-PEI-Extravidine). Les données sont acquises en temps réel grâce à une caméra CCD et informatisées. Une puce de 196 plots « sondes » (matrice 14x14) a été construite avec des oligonucléotides biotinylés contenant des mutations de l'exon 10 du gène CFTR ($\Delta F508$, $1540 A > G$ et $1716 G > A$). Cette surface sensible a été testée avec des mélanges d'oligonucléotides complémentaires « cibles » non marqués. Les résultats montrent que les hybridations obtenues avec le mélange de cibles sont spécifiques, chaque cible reconnaissant parfaitement sa sonde, et suffisamment sensible pour permettre une acquisition en temps réel des signaux. Ce prototype est un premier pas vers l'obtention d'un système diagnostique à haut débit, théoriquement réutilisable, et ne nécessitant aucun marquage de l'ADN cible à tester. L'application à l'étude de cibles obtenues par PCR avec des patients atteints est en cours de développement.

530 >> Poster n°286

GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE

ANALYSE MOLÉCULAIRE DES DÉFICITS EN PYRUVATE KINASE PAR DHPLC : BILAN DE 3 ANNÉES D'ÉTUDE.

S. Pissard (1), I. Max Audit (1), P. Vivien (1), L. Skopinski (1), M. Cohen-Solal (1), M. Tosi (2), M. Goossens (1)

(1) Biochimie et génétique, AP-HP et INSERM U468, Hop Henri-Mondor, Créteil

(2) INSERM EMI 9906, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Université de Rouen

Le déficit en Pyruvate kinase (OMIM : 266200) est la plus fréquente des anomalies de la glycolyse anaérobie des globules rouges. Il détermine une anémie chronique de sévérité variable pouvant entraîner un tableau comparable à une alpha thalassémie majeure. La recherche des anomalies moléculaires du gène PKR (1q21) a montré que 80 % des mutations retrouvées sont de type privés réparties sur les 11 exons du gène avec 3 mutations fréquemment récurrentes R486W, R510Q et E241X. En utilisant la dHPLC, nous avons recherché les mutations dans 49 familles. Nous avons identifié 65 des 86 allèles potentiellement délétères dont 10 x R486W, 7 x R510Q et 4 x E241X et 25 nouveaux mutants. Ce résultat est en accord avec la fréquence des mutations privées et la prévalence des mutations R486W et R510Q dans cette pathologie. Dans 34 sur 49 familles, nous avons trouvé un génotype compatible avec le phénotype, identifié un allèle dans 7 familles et 0 allèle dans 8 familles (75% de détection). Deux hypothèses peuvent expliquer ce faible résultat global 1- l'existence de grandes délétions et un test QMPSF a été mis au point. Un cas de délétion emportant de l'exon 4 à l'exon 10 a été retrouvé. 2- le gène PKR pourrait ne pas être impliqué dans les 8 familles ou 0 allèle ont été trouvés ce qui porterait le taux de détection à 92 %. Eut égard à la difficulté du dosage enzymatique, la recherche moléculaire pourrait être un élément du diagnostic étiologique d'une anémie chronique.

ONCOGÉNÉTIQUE**18****ONCOGÉNÉTIQUE****L'ANTI-ONCOGÈNE P53: ETUDE IMMUNO-HISTOCHEMIQUE ET SÉROLOGIQUE DANS LE CANCER DU SEIN EN TUNISIE**

W. Troudi, S. Sadkaoui, F. Ben Ayed, M. Ben Abdallah, A. Elgaaied, K. Ben Romdhane

En Tunisie, les carcinomes mammaires représentent 14,1% de l'ensemble des tumeurs malignes et 27,5% des tumeurs malignes féminines. De ce fait, le cancer du sein constitue la première localisation observée chez les patientes tunisiennes. Sa fréquence est relativement élevée (11%) chez la femme tunisienne âgée de moins de 35 ans.

Parmi les gènes les plus impliqués dans les pathologies cancéreuses, l'anti-oncogène p53 est mis en cause dans 50% des cancers humains. En effet, des études ont montré que le gène de la p53 est muté dans 70% des cancers du poumon, 60% des cancers colorectaux et 40% des cancers mammaires. L'altération de la p53, abolissant sa fonction transactivatrice, peut avoir plusieurs conséquences notamment, l'augmentation de sa demi-vie et sa stabilisation dans les cellules tumorales. Chez certains malades, on observe l'apparition d'auto-anticorps anti-p53 sériques.

Nous avons étudié l'accumulation de la p53 dans les cellules tumorales de 88 patientes atteintes de cancer du sein par la technique immuno-histochimique. Ces patientes ont été recrutées au service de chimiothérapie de l'Institut de carcinologie Salah Azaiez de Tunis. Par ailleurs, un test sérologique a été effectué sur ces mêmes malades, visant à détecter des anticorps sériques anti-p53 afin de déterminer une possible relation de cause à effet entre l'accumulation de la p53 et l'apparition des auto-anticorps sériques. Nous avons, par la suite, réalisé une analyse de corrélation entre les résultats immuno-histochimiques et sérologiques avec des paramètres clinico-pathologiques pour nos malades et ce, afin de préciser l'implication de la p53 dans le processus pathologique du cancer du sein.

Notre étude a montré que la p53 est altérée chez 41% des patientes recrutées. Cette altération, se fait probablement de manière tardive au cours du processus de cancérogenèse. D'autre part, l'apparition d'anticorps sériques anti-p53 pourrait être un marqueur d'agressivité dans le cancer du sein.

30 >> Poster n°287**ONCOGÉNÉTIQUE****LA VOIE RÉGULÉE PAR PGC-1 EST IMPLIQUÉE DANS LA PROLIFÉRATION MITOCHONDRIALE DES TUMEURS ONCOCYTAIRES THYROÏDIENNES**F. Savagner
EMIU 00-18, Laboratoire de Biochimie et Biologie moléculaire, CHU, Angers

Les oncocytomes thyroïdiens sont des tumeurs bénignes ou malignes, correspondant à la prolifération de cellules oncocytaires au cytoplasme envahi par les mitochondries.

L'origine de la prolifération mitochondriale dans ces tumeurs est encore inconnue. Les coactivateurs transcriptionnels de la famille PGC-1 sont des médiateurs de la biogenèse mitochondriale, de par leur propriété à activer des gènes nucléaires codant pour des protéines mitochondriales. Un membre de la famille PGC-1 est exprimé dans le tissu thyroïdien, PGC-1 related coactivator ou PRC. L'expression du gène PRC et de deux gènes cibles, NRF-1 et TFAM, a été quantifiée pour 30 tumeurs oncocytaires sporadiques (26 adénomes et 4 carcinomes) et leurs tissus sains appariés, dans le but d'apprécier le rôle de cette cascade de régulation sur la prolifération mitochondriale des cellules oncocytaires. Ces trois gènes sont surexprimés de façon significative dans les tumeurs. Parallèlement, il existe une augmentation significative de l'activité cytochrome oxydase (complexe IV de la chaîne respiratoire) et du contenu en ADN mitochondrial dans les oncocytomes par rapport aux tissus sains. Ces résultats montrent pour la première fois que la surexpression de la voie PGC-1 est impliquée dans la prolifération mitochondriale des tumeurs oncocytaires thyroïdiennes. De plus, la dérégulation d'un coactivateur transcriptionnel comme PRC permet de relier l'accumulation de mitochondries au défaut de synthèse d'ATP observé précédemment dans ces tumeurs. Enfin, la surexpression de PRC pourrait expliquer la prolifération conjointe des mitochondries et des cellules oncocytaires dans le tissu thyroïdien et participer à la tumorigenèse.

47 >> Poster n°288**ONCOGÉNÉTIQUE****ANALYSE DES FACTEURS HISTOLOGIQUES PRÉDICTIONNELS D'UNE MUTATION GERMINALE DE BRCA1/2 DANS LE CANCER DU SEIN PRÉCOCE, À PARTIR D'UNE ÉTUDE EN POPULATION.**

V. Bonadona (1), O.M. Sinilnikova (2,3), A. Brémond (1), P. Mathevet (2), H. Mignotte (1), A. Martin (4), J.Y. Bobin (2), P. Romestaing (2), D. Raudrant (2), R.C. Rudigoz (2), S. Chopin (3), G. Lenoir (3,5), C. Lasset (1).

(1) Centre Léon Bérard, Lyon

(2) Hospices Civils de Lyon, Lyon

(3) Centre International de Recherche sur le cancer, Lyon

(4) Clinique Jeanne d'Arc, Lyon

(5) Institut Gustave Roussy, Villejuif

L'objectif est de rechercher les caractéristiques histologiques du cancer du sein de survenue précoce associées à une mutation germinale des gènes BRCA1 ou BRCA2. Afin d'éviter les biais de sélection liés à la survie et/ou aux antécédents familiaux, une série prospective de cancers du sein a été collectée sur une base de population (registre du cancer du sein du Rhône). De 1995 à 1997, 231 femmes atteintes d'un cancer du sein avant 46 ans ont accepté l'analyse génétique.

Une mutation délétère a été identifiée chez 21 femmes (9.1% : 15 BRCA1, 6 BRCA2) dont 38% sans histoire familiale évocatrice d'une prédisposition héréditaire. Un variant de signification inconnue a été détecté chez 31 autres femmes (13.4% : 9 BRCA1, 23 BRCA2).

Les cancers du sein associés à une mutation délétère de BRCA1/2, comparés aux autres cancers :

- sont plus souvent de type médullaire (10.5% vs 2%, p = 0.03) et de haut grade SBR (53% de grade III vs 31%, p = 0.07);

- montrent plus souvent une absence de récepteurs aux oestrogènes (88% vs 44%, p = 0.0005) et à la progestérone (77% vs 32%, p = 0.0003);

- présentent moins souvent une composante "in situ"

associée (54% vs 82%, $p = 0.02$).

Aucune différence significative n'est retrouvée entre les cancers du sein associés à un variant et ceux observés chez les femmes non mutées.

Chez les femmes présentant un cancer du sein précoce, nous confirmons que les caractéristiques histologiques des tumeurs peuvent aider à identifier les patientes porteuses d'une prédisposition héréditaire liée aux gènes BRCA1 ou BRCA2.

64 >> Poster n°289

ONCOGÉNÉTIQUE

ETUDE DE COHORTE FRANÇAISE SUR L'ATAXIE-TÉLANGIECTASIE (COF-AT)

E. Cavaciuti (1,2), A. Laugé (3), MG. Dondon (1), N. Janin (4), JO. Bay (5), J. Hall (6), D. Stoppa-Lyonnet (3), N. Andrieu (1,2) pour le groupe CoF-AT*

(1) Service de Biostatistiques/Inserm, Institut Curie, Paris

(2) Inserm EMI00-06, Evry

(3) Service de Génétique Oncologique, Institut Curie, Paris

(4) Service de Génétique, CHU Sart Tilman, Liège, Belgique

(5) Unité de transplantation médullaire et Laboratoire d'oncologie moléculaire, Centre Jean Perrin, Clermont-Ferrand

(6) Groupe de la Réparation de l'ADN, CIRC, Lyon

L'Ataxie-Télangiectasie (AT) est une maladie génétique récessive de l'enfant caractérisée par une ataxie cérébelleuse dégénérative, des télangiectasies cutanées ou muqueuses, un déficit immunitaire et un risque augmenté de cancer. De plus, les mères d'enfants AT semblent avoir un risque élevé de cancer du sein (CS) comparé à celui de la population générale. En 1995 a été identifié un premier gène (ATM) responsable de cette maladie dont la protéine est impliquée dans la réparation des cassures double-brin de l'ADN. Bien que l'AT soit rare, jusqu'à 1% de la population pourrait être hétérozygote pour les gènes de l'AT. Ce trait génétique pourrait être impliqué dans un pourcentage non négligeable de CS.

Les objectifs principaux de l'Etude CoF-AT sont, tout en proposant un suivi avec une action de dépistage précoce du CS, d'estimer le risque de cancer associé aux gènes de l'AT et d'étudier l'histoire naturelle du CS chez les hétérozygotes AT.

Une cohorte de femmes apparentées au 1er, 2^{ème} ou 3^{ème} degré à un enfant AT est en cours de constitution depuis mai 2003. Ces femmes appartiennent aux familles recrutées lors de l'étude familiale rétrospective (1) et aux nouvelles familles identifiées dans le cadre des diagnostics des enfants atteints. Le contact auprès de ces dernières se fait par l'intermédiaire des pédiatres, des neuropédiatres, des généticiens et de l'APRAT (2). Un total de 800 inclusions de femmes hétérozygotes et non-hétérozygotes est attendu en 2 ans. Les femmes sont interrogées sur leurs antécédents personnels et familiaux de cancer et sur leur exposition aux facteurs de risque. Une DNAtèque et une tumoroèque sont mises en place.

(1) Janin N et al. Br J Cancer 1999, 80:1042 ; Geoffroy-Perez B et al. Int J Cancer 2001, 93:288 ; 2002, 99:619-623

(2) Association Pour la Recherche sur l'AT

* P. Berthet (Centre François Baclesse, Caen), A. Chompret (Institut Gustave Roussy, Villejuif), K. Dahan (Luxembourg), L. Faivre (CHU Hôpital d'Enfants, Dijon), M. Frenay (Centre

Antoine Lacassagne, Nice), JP. Fricker (Centre Paul Strauss, Strasbourg), L. Gladiéff (Institut Claudius Regaud, Toulouse), C. Lasset (Centre Léon Bérard, Lyon), D. Leroux (CHU, Grenoble), M. Longy (Institut Bergonié, Bordeaux), S. Nizard (CHR Hôpital de la Source, Orléans), H. Zattara-Cannoni (Hôpital d'Enfants de la Timone, Marseille)

65 >> Poster n°290

ONCOGÉNÉTIQUE

TRISOMIE DU BRAS LONG DU CHROMOSOME 1 PAR TRANSLOCATION T(1;22) DANS LE LYMPHOME DE BURKITT : À PROPOS DE 2 CAS

S. Toujani (1), J. Van der akker (1), MF. Portnoi (1), S. Fasola (2), S. Maury (3), JL. Taillemite (1)

(1) Service d'embryologie pathologique et cytogénétique, CHU Saint Antoine, Paris

(2) Service d'hématologie et oncologie, CHU Armand Trousseau, Paris

(3) Service d'hématologie, CHU Henri Mondor, Créteil

L'apport de la cytogénétique conventionnelle dans le lymphome de Burkitt (LB) est indiscutable. Ainsi, la mise en évidence de la translocation $t(8;14)(q24;q32)$ ou de l'une de ses variantes à savoir les translocations $t(8;22)(q24;q11)$ et $t(2;8)(p12;q24)$ permet de conforter le diagnostic de LB. Par ailleurs, les anomalies secondaires sont présentes dans 70% des cas et presque une fois sur 2 il s'agit de réarrangements du bras long du chromosome 1.

Une analyse cytogénétique effectuée chez 2 patients, a permis de détecter une trisomie partielle du bras long du chromosome 1 par translocation $t(1;22)(q10;p10)$ non rapportée antérieurement dans la littérature à notre connaissance.

Le premier patient, est une fille âgée de 4ans pour laquelle les paramètres clinico-biologiques sont en faveur d'une LAL de type Burkitt. Le caryotype médullaire montre:

- un remaniement interprété en cytogénétique conventionnelle comme étant une translocation complexe $t(8;14;15)(q24;q32;q14)$. Une FISH avec utilisation de la sonde c-Myc est en cours pour valider cette hypothèse. Cette anomalie a été retrouvée sur 20 mitoses parmi 21 dont 2 comprennent une trisomie du bras long du chromosome 1 par $t(1;22)$

- une cellule est sans anomalies décelées

En ce qui concerne le deuxième patient, il s'agit d'un jeune homme âgé de 36 ans, chez qui une rechute médullaire d'un LB a été évoquée. Le caryotype a été réalisé sur sang très blastique, l'analyse de 27 mitoses permet de détecter:

- sur 22 mitoses, la translocation $t(8;14)$ associée à une trisomie partielle du bras long du chromosome 1 par $t(1;22)$

- trois cellules hyperdiploïdes à 57 chromosomes comprenant une trisomie totale du chromosome 1

- une cellule normale

Bien que les anomalies secondaires dans les LB ne soient pas considérées comme étant un élément déterminant dans le pronostic de la maladie, la description d'une anomalie aussi récurrente que celle impliquant le bras long du chromosome 1 mérite de revoir l'impact de ce remaniement dans l'évolution et la prise en charge de la maladie.

70 >> Poster n°291**ONCOGÉNÉTIQUE****DIAGNOSTIC MOLÉCULAIRE DES PRÉDISPOSITIONS HÉRÉDITAIRES AUX CANCERS MAMMAIRES : COMPARAISON ENTRE PAYS EUROPÉENS ET MÉDITERRANÉENS**

YJ. Bignon (1), L. Chouchane (2), N. Zammateo (3), A. Mégarbane (4), A. El Gaied (5), N. Ben Jaafar (6), C. Sibile (7), G. Leclerc (8), A. Sefiani (6), J. Remacle (3), V. Vidal (1)

(1) Centre Jean Perrin, Unité d'Oncogénétique, Clermont-Ferrand

(2) Laboratoire d'Immuno-Oncologie Moléculaire, Faculté de Médecine, Monastir, Tunisie

(3) Université de Namur, URBC, Namur, Belgique

(4) Université Saint Joseph, Unité de Génétique médicale, Beyrouth, Liban

(5) Laboratoire de Génétique Moléculaire, d'Immunologie et de Biotechnologie, Faculté des Sciences, Tunis, Tunisie

(6) Institut National d'Oncologie, Service de radiothérapie, Rabat, Maroc

(7) Institut Jules Bordet, Laboratoire J-C. Heuson de cancérologie mammaire, Bruxelles, Belgique

(8) Centre de Génétique médicale, Université catholique de Louvain, Bruxelles, Belgique

Deux niveaux de variabilité génétique dans le cancer du sein sont étudiés et/ou comparés entre les pays européens et les méditerranéens : au niveau germinale, les types de mutations dans les gènes de susceptibilité BRCA1/BRCA2 pour environ 100 familles, et au niveau somatique, le portrait moléculaire transcriptomique de 600 tumeurs sur des biopuces. Nos objectifs sont :

- identification des facteurs génétiques impliqués dans les cancers du sein sporadiques, consanguins (pour les pays méditerranéens) et familiaux.

- évaluation du diagnostic génétique prédictif individuel de risque héréditaire de cancer de sein: contribution aux stratégies préventives et thérapeutiques adaptées et au suivi médical.

- quand la tumeur est développée, génération des profils d'expression de transcrits classifiés selon la pathologie (en particulier cancers inflammatoires du sein pour les pays méditerranéens), l'histologie, le grade histo- pronostic tumoral, le stade tumoral, la présentation de la maladie (sporadique, consanguin, héréditaire), la rechute, la réponse précoce au traitement.

Les premiers résultats du consortium seront présentés (financement 5^{ème} PCRDT européen entre France, Belgique, Maroc, Tunisie et Liban).

74**ONCOGÉNÉTIQUE****ANALYSE DE L'EXPRESSION EN ARNM DES GÈNES BRCA1, BRCA2 ET HMSH2 DANS DES ADÉNOCARCINOMES COLORECTAUX LIEBERKHÜNIENS**

L. Le Corre (1), C. Vissac-Sabatier (1), N. Chalabi (1), YJ. Bignon (1), A. Daver (2), A. Chassevent (2), DJ. Bernard-Gallon (1)

(1) Laboratoire d'Oncologie Moléculaire, Centre Jean Perrin, INSERM UMR 484-UdA, Clermont-Ferrand

(2) Laboratoire de Radioanalyse, Centre Paul Papin, Angers

Un déficit dans le système de réparation des dommages à l'ADN serait responsable de 10 à 15% des cancers du côlon. Ce système implique plusieurs gènes, en particulier le gène hMSH2. D'autre part, des études tendent à démontrer l'implication des oncosuppresseurs BRCA1 et BRCA2 dans

ce type de cancer. Afin de mieux appréhender le rôle des gènes BRCA1, BRCA2 et hMSH2 dans les cancers colorectaux sporadiques, nous avons comparé l'expression des ARNm de ces gènes dans 72 adénocarcinomes Lieberkühniens et le tissu colique normal correspondant. Les ARNm BRCA1 3', BRCA2 3' (transcrits pleine longueur), BRCA1 Ex11 (transcrits contenant l'exon 11), BRCA2 Ex12 (transcrits contenant l'exon 12) et hMSH2 ont été quantifiés par RT-PCR quantitative en temps réel. Une nette augmentation des valeurs moyennes d'expression de ces gènes a été observée dans les tumeurs en comparaison avec le tissu sain colique correspondant (BRCA1 3': 4,9 ; BRCA2 3': 12,0 ; BRCA1 Ex11: 3,5 ; BRCA2 Ex12: 9,7 ; hMSH2: 3,5). Ces résultats suggèrent une dérégulation de l'expression des gènes BRCA1, BRCA2 et hMSH2 dans les adénomes Lieberkühniens. Comme les produits de ces gènes augmentent durant la progression du cycle cellulaire (particulièrement en phase S), l'expression accrue de ces gènes est peut être liée à un niveau de prolifération plus élevé dans les tumeurs que dans le tissu normal. Par ailleurs, l'augmentation de l'expression des ARNm de BRCA1 et BRCA2 pourrait correspondre à un rétrocontrôle négatif pour freiner la prolifération cellulaire au niveau des adénocarcinomes Lieberkühniens.

(Subventionné par le comité départemental de la Ligue contre le Cancer du Maine et Loire)

75 >> Poster n°292**ONCOGÉNÉTIQUE****RECHERCHE DE DÉLÉTIONS TOTALES DU GÈNE APC DANS DES FAMILLES DE PAF SANS MUTATION GERMINALE IDENTIFIÉE**

T. Martin-Denavit (1,2,5), S. Pinson (1), S. Giraud (1), B. Lignau (1,3), S. Olschwang (4), H. Plauchu (5), JC. Saurin (3), A. Calender (1)

(1) Laboratoire de Génétique Moléculaire, Hospices Civils de Lyon, hôpital Edouard Herriot, Lyon

(2) Laboratoire de Génétique Chromosomique, Hospices Civils de Lyon, hôpital Edouard Herriot, Lyon

(3) Service de Gastroentérologie, Hospices Civils de Lyon, Centre Hospitalier Lyon Sud, Lyon

(4) Laboratoire de Génétique Moléculaire, CEPH, Paris

(5) Service de Génétique Clinique, Hospices Civils de Lyon, Hôtel Dieu et Faculté de Médecine Laënnec, Université Claude Bernard, Lyon

La polypose adénomateuse familiale (PAF), maladie héréditaire à transmission autosomique dominante (incidence de 1/8000 à 1/10000 naissances) est à l'origine de 1 % des cancers colorectaux. Elle se caractérise par le développement précoce dans le tractus digestif de nombreux polypes adénomateux associé à des manifestations extracoliques.

Le gène APC (Adenomatous Polyposis Coli) suppresseur de tumeur a été séquencé en 1991 sur le chromosome 5q21. Les mutations germinales retrouvées sont le plus souvent des mutations ponctuelles pour lesquelles il existe des corrélations génotype-phénotype. On estime à 2% les patients porteurs de délétions de grande taille.

Nous rapportons la recherche de délétions de grande taille à partir de 19 familles dont l'analyse par précriblage et séquençage étaient demeurées négatives. A partir de prélèvements sanguins des cas index des 19 familles atteints de PAF, nous avons étudié les polymorphismes à l'aide de marqueurs bialléliques et de microsatellites. Nous avons pu ainsi définir les sujets homozygotes pour ces

polymorphismes qui sont suspects d'avoir une délétion de grande taille. Une technique de FISH pour les sujets homozygotes a été mise au point. Pour 2 familles, nous avons pu conclure qu'il existait une délétion de grande taille et préciser la taille de la délétion. En cas de recherche mutationnelle négative par les méthodes de précriblage et de séquençage, la technique de FISH pour les délétions du gène APC nous apporte une réponse supplémentaire. En cas de patient isolé et de recherche mutationnelle négative, nous recommandons une recherche de la délétion du gène APC.

85 >> Poster n°293

ONCOGÉNÉTIQUE

ETUDE DES DÉLÉTIONS GÉNIQUES (ATM ET P53) DANS LES CELLULES DE REED-STERNBERG DE LA MALADIE DE HODGKIN PAR TECHNIQUE DE PCR SUR CELLULES ISOLÉES PAR MICROMANIPULATION

V. Lespinet, F. Terraz, G. Delsol, T. Al Saati
INSERM U563 et Plateforme d'Histopathologie Experimentale, CHU Purpan, Toulouse

Les anomalies géniques et les mécanismes oncogéniques qui sont impliqués dans la maladie de Hodgkin (MDH) sont méconnus. Les cellules de Reed Sternberg sont rares par rapport aux cellules normales environnantes. Ceci rend difficile l'interprétation des résultats basés sur l'étude de l'ADN total. La technique de PCR sur cellules isolées par micromanipulation "Single Cell PCR" a ouvert des possibilités nouvelles dans l'étude des délétions géniques survenant dans les cellules de RS par l'analyse des pertes alléliques à l'aide de microsatellites. Dans ce projet, nous utiliserons cette technique pour étudier les gènes p53 et ATM qui semblent être de bons candidats dans l'oncogenèse de cette maladie. Dans 2 des 15 cas de MDH étudiés, les résultats préliminaires suggèrent l'existence d'une délétion génique dans le gène ATM des cellules de RS. En revanche, le locus de p53 semble indemne de cette anomalie. L'étude immunohistochimique des protéines p53 et ATM montre, de façon inattendue, une accumulation de la protéine p53 dans les cellules néoplasiques. En revanche, comme on pouvait s'y attendre, les cas présentant une perte allélique du gène ATM présentent des cellules de RS dépourvues de cette protéine. Nous tentons d'expliquer la perte d'expression de ATM dans les cellules de RS à savoir si une délétion du gène ATM est associée à une mutation du second allèle, et de voir quelles sont les implications cliniques et notamment pronostiques de la détection de ces anomalies géniques dans la MDH.

87 >> Poster n°294

ONCOGÉNÉTIQUE

INFLUENCES DES PHYTO-ŒSTROGÈNES DU SOJA ET DU STATUT ŒSTROGÉNIQUE SUR L'EXPRESSION D'UN PANEL DE GÈNES INTERAGISSANT AVEC LES ONCOSUPPRESSEURS BRCA1 ET BRCA2 DANS DES LIGNÉES CONTINUES MAMMAIRES HUMAINES

B. Caetano, N. Chalabi, L. Le Corre, N. Durakovic, YJ. Bignon, DJ. Bernard-Gallon
Laboratoire d'Oncologie Moléculaire, Centre Jean Perrin, INSERM UMR 484-UdA, Clermont-Ferrand

Le cancer du sein est une pathologie très fréquente chez les

femmes. En effet, environ 34.000 nouveaux cas sont diagnostiqués en France chaque année. Des mutations dans les gènes BRCA1 ou BRCA2 ont été retrouvées dans la majorité des cancers du sein héréditaires, alors que ce sont des variations d'expression de ces gènes qui ont été observées dans les tumeurs sporadiques.

Des études épidémiologiques ont mis en évidence une incidence plus faible de cancers du sein dans la population asiatique. Des facteurs environnementaux et en particulier l'alimentation seraient impliqués. En effet, la forte consommation de soja, produit riche en phyto-œstrogènes tels que la daidzéine (4',7-Dihydroxyisoflavone) et la génistéine (4',5,7-Trihydroxyisoflavone), pourrait être responsable de cette faible incidence.

Nous avons étudié dans trois lignées continues mammaires humaines (une dystrophique : MCF10a, et deux tumorales : MDA-MB-231, MCF-7) les effets d'une incubation de 72 heures avec 5 g/ml de génistéine ou 20 g/ml de daidzéine. La quantification des ARNm de 17 gènes impliqués avec les oncosuppresseurs BRCA1 et BRCA2 (GADD45A, BARD1, jun, BAX, RB1, ER alpha, ER beta, BAP1, TNF, p53, p21waf1/cip1, p300, RAD51, pS2, Ki-67), par RT-PCR quantitative en temps réel, a montré une augmentation de l'expression de la plupart de ces gènes dans les cellules cancéreuses (MCF-7 et MDA-MB-231) mais pas dans la lignée dystrophique (MCF10a). Les effets induits par les deux molécules sont différents selon la lignée tumorale, ce qui suggère une influence du statut œstrogénique.

88

ONCOGÉNÉTIQUE

NUTRIGÉNÉTIQUE ET CANCER DU SEIN

L. Delort, E. Guivarc'h, L. Le Corre, N. Chalabi, V. Arfi, N. Durakovic, YJ. Bignon, DJ. Bernard-Gallon
Laboratoire d'Oncologie Moléculaire, Centre Jean Perrin, INSERM UMR 484-UdA, Clermont-Ferrand

Au cours des vingt dernières années, des études épidémiologiques ont permis de mettre en relation l'alimentation et l'apparition de cancer du sein. Ainsi, les constituants essentiels des aliments peuvent jouer un rôle protecteur ou promoteur sur la cancérogenèse.

Certains aliments peuvent avoir un effet bénéfique chez certains individus, ils peuvent n'avoir aucun effet ou pire encore avoir un effet délétère si le terrain génétique n'est pas approprié. C'est pourquoi, aujourd'hui, une nouvelle discipline est apparue : la nutrigenétique.

Le cancer du sein peut être dû à des gènes qui peuvent être regroupés en deux catégories : les gènes de forte pénétrance et les gènes de faible pénétrance. Les mutations dans les gènes BRCA1 et BRCA2 de forte pénétrance, sont assez rares, elles confèrent un risque de cancer du sein élevé mais ne sont responsables que de 5% des cancers du sein. Les gènes polymorphiques de faible pénétrance qui agissent en fonction du mode de vie et des facteurs de risques liés à l'environnement, interviennent dans une grande proportion. Ces gènes de susceptibilité à des facteurs environnementaux peuvent jouer le rôle de gène modificateur aggravant ou protecteur dans les différentes formes héréditaires.

Les nutriments vont interagir avec ces gènes en modifiant leur expression. Par contre des polymorphismes de ces gènes vont induire un métabolisme différent et rendre certains composés toxiques ou carcinogènes.

115 >> Poster n°295**ONCOGÉNÉTIQUE****SYNDROME DE LYNCH : ETUDE CLINIQUE ET BIOLOGIQUE DE 90 FAMILLES EN ALSACE**

O. Caron (1), JM. Limacher (2), JP. Fricker (3), A. Schneider (4), MP. Chenard (5), M. Schmitt (1), JL. Mandel (1)

(1) Laboratoire de Diagnostic Génétique, Faculté de Médecine, Strasbourg

(2) Département d'Oncohématologie, Hôpitaux Universitaires, Strasbourg

(3) Consultation d'Oncogénétique, Centre Paul Strauss, FNCLCC, Strasbourg

(4) Laboratoire de Biochimie et de Biomoléculaire, Hôpital de Hautepierre, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg

(5) Laboratoire d'Anatomie Pathologie, Hôpital de Hautepierre, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg

163 familles dont l'histoire familiale évoquait une prédisposition au cancer du colon de type syndrome de Lynch ont été vues depuis 1993 en consultation d'oncogénétique à Strasbourg. 55 de ces familles remplissaient les critères d'Amsterdam II, et 90 satisfaisaient les critères d'analyse dits « consensuels » (deux cas de cancer appartenant au spectre des cancers du syndrome de Lynch chez des apparentés au premier degré, un cas survenant avant l'âge de 50 ans). Une immunohistochimie à la recherche d'une perte d'expression d'une protéine du système de réparation des mésappariement a été réalisée dans 20 cas. Une perte a été montrée dans 15 cas : 8 fois pour MLH1, 1 fois pour MSH2, 6 fois pour MSH6. En parallèle, 11 instabilités des marqueurs microsatellites tumoraux ont été identifiées dans des tumeurs avec perte d'expression protéique. La recherche de mutations germinales dans les gènes MLH1, MSH2 et MSH6 a été réalisée dans 90 cas par criblage DHPLC (CHU de Rouen, HUS de Strasbourg) ou séquençage direct (CHU St Antoine, Paris). 26 mutations ont été trouvées: 16 mutations ponctuelles et deux grandes délétions dans hMLH1, 4 mutations ponctuelles et deux grandes délétions dans hMSH2 et 2 mutations ponctuelles dans hMSH6. Dans cette série, la seule utilisation des critères d'Amsterdam II n'aurait pas permis la découverte de 6 mutations sur 26. L'indication de l'analyse moléculaire doit reposer sur des critères cliniques plus larges, complétés par l'immunohistochimie et l'analyse des microsatellites. Nous présentons ici les résultats cliniques et biologiques de cette étude.

120**ONCOGÉNÉTIQUE****ETUDE DES RÉARRANGEMENTS DU GÈNE DES IMMUNOGLOBULINES IGH (14Q32) DANS LES LYMPHOMES B NON HODGKINIENS PAR FISH MÉTAPHASIQUE**

I. Bernicot (1), F. Morel (1), N. Douet-Guilbert (1), MJ. Le Bris (1), I. Quintin-Roué (2), C. Berthou (2), M. De Braekeleer (1)

(1) Faculté de Médecine et CHU Morvan, Brest

(2) CHU Morvan, Brest

La majorité des lymphomes à cellules B est caractérisée par la présence de translocations chromosomiques récurrentes, impliquant le plus souvent le gène IGH (14q32). Ces translocations récurrentes sont associées à des groupes "spécifiques" de lymphomes comme la t(11;14) aux lymphomes du manteau (70%) ou la t(14;18) aux lymphomes folliculaires (85%). L'identification des gènes impliqués dans

ces remaniements a permis une meilleure compréhension du processus biologique de ces pathologies. Nous avons analysé par hybridation in situ fluorescente (FISH) métaphasique les réarrangements impliquant le gène IGH dans 29 lymphomes à cellules B en utilisant la sonde IGH dual color (Abbott, Rungis, France). Dans certains cas, la complexité des caryotypes n'avait pas permis l'établissement d'une formule chromosomique en cytogénétique conventionnelle. Un réarrangement de IGH a été observé dans 16 lymphomes parmi les 29 étudiés (55%). Aucun des 4 lymphomes anaplasiques n'a de réarrangement d'IGH, 8 des 9 lymphomes folliculaires étudiés (89 %) présentent un réarrangement du gène IGH [t(14;18)], la totalité des lymphomes du manteau (4 cas) a une t(11;14). Parmi les 12 lymphomes à grandes cellules analysés, 4 montrent un réarrangement d'IGH impliquant un ou des chromosomes partenaires non-identifiés par la cytogénétique conventionnelle. Etant donné le grand nombre d'anomalies de structure souvent observées dans les lymphomes, la FISH métaphasique avec la sonde IGH peut constituer une première étape dans l'analyse des réarrangements d'IGH. Dans un second temps, la Multi-FISH permettrait l'identification du chromosome partenaire.

140 >> Poster n°296**ONCOGÉNÉTIQUE****UNE MUTATION GERMINALE SUR LE GÈNE SDHB CHEZ UN PATIENT PORTEUR D'UN PHÉOCHROMOCYTOME EST UN FACTEUR DE MAUVAIS PRONOSTIC**

AP. Gimenez-Roqueplo (1,2), J. Favier (2), P. Rustin (3), PF. Plouin (2,4), X. Jeunemaitre (1,2)

(1) Département de Génétique, HEGP, Paris

(2) INSERM U36, Collège de France, Paris

(3) INSERM U393, Paris

(4) Département d'Hypertension Artérielle, HEGP, Paris

Des mutations germinales des gènes codants pour les sous-unités B et D de la succinate deshydrogénase mitochondriale (SDHB, SDHD) ont été rapportées dans des familles porteuses de paragangliome héréditaire ou de phéochromocytome familial mais aussi chez quelques patients porteurs de phéochromocytomes d'apparence sporadique. Le but de ce travail était de rechercher des mutations de ces deux gènes sur nombreux sujets atteints et de mettre en évidence des corrélations génotypes-phénotypes. Quarante vingt quatre patients ont été testés dont 57 porteurs d'un phéochromocytome surrénalien bénin et 27 d'un phéochromocytome extra surrénalien, multiple, récidivant ou d'emblée malin. Sur le gène SDHD, nous avons identifié 2 polymorphismes non-fonctionnels (G12S et H50R) mais pas de mutation causale. Six mutations (2 délétions et 4 mutations faux-sens) du gène SDHB ont été identifiées chez 8 patients (9.5%) dont 7 présentaient un phéochromocytome extra-surrénalien, récidivant ou malin d'emblée (87%). Ces mutations germinales de SDHB étaient associées à une délétion du bras court du chromosome 1 au niveau tumoral. Nous avons observé une perte complète de l'activité enzymatique du complexe II mitochondrial sur les tumeurs secondaires à des mutations de SDHB et par immunohistochimie des aspects typiques de malignité sur leur architecture vasculaire. Ces résultats suggèrent que la découverte d'une mutation germinale sur le gène SDHB est un facteur pronostic pour la survenue de récurrences et/ou de métastases qui doit conduire à l'intensification de la surveillance post-chirurgicale, et soulignent l'importance de la recherche de mutations sur le gène SDHB chez tout

patient porteur d'un phéochromocytome d'apparence sporadique.

141 >> Poster n°297

ONCOGÉNÉTIQUE

ORGANISATION DU RÉSEAU NATIONAL PGL.NET POUR LA PRISE EN CHARGE CLINIQUE ET GÉNÉTIQUE DES PARANGLIOMES

AP. Gimenez-Roqueplo (1), X. Jeunemaitre (1) au nom de l'ensemble des membres du réseau PGL.NET (2)

(1) Département de Génétique, HEGP, Paris

(2) Label GIS-Maladies Rares

Les paragangliomes sont des tumeurs très vascularisées dérivées du neuroectoderme. Elles se développent au niveau de la tête (glomus tympanique, jugulaire et vagal) et du cou (glomus carotidien), mais aussi au niveau des ganglions sympathiques thoraco-abdomino-pelviens et de la médullosurrénale. Elles peuvent sécréter des catécholamines (phéochromocytomes). Ces tumeurs sont génétiquement déterminées dans environ 30% des cas. Les sujets porteurs de paragangliome héréditaire développent des tumeurs précocement, qui sont souvent multiples d'emblée et/ou récurrentes parfois malignes. Les mutations décrites siègent sur les gènes SDHD, SDHB et SDHC qui codent pour trois protéines du complexe II mitochondrial. Ces gènes se comportent comme des gènes suppresseurs de tumeurs. On observe chez les patients atteints une mutation hétérozygote germinale et une perte d'hétérozygotie au niveau tumoral. Le réseau multidisciplinaire de recherche clinique, PGL.NET, qui regroupent plus de 40 équipes équipes médicales et chirurgicales françaises a été créé en février 2003 pour permettre d'homogénéiser la prise en charge clinique, radiologique, biologique et génétique des familles de paragangliome héréditaire. Il a permis d'identifier 46 sujets porteurs d'une mutation, dont 21 sujets porteurs d'une mutation SDHD (14 familles) et 24 sujets porteurs d'une mutation SDHB (18 familles). On retrouve une localisation ORL (glomus carotidien ou vagal) chez 100% des patients porteurs d'une mutation SDHD, 28% d'entre eux ont un phéochromocytome associé. Un phéochromocytome est retrouvé chez 88% des patients porteurs d'une mutation SDHB. Le dépistage présymptomatique des tumeurs qui a débuté a permis de dépister des localisations tumorales méconnues chez 4 sujets dont 3 apparentés asymptomatiques.

220 >> Poster n°298

ONCOGÉNÉTIQUE

FOUR NOVEL HETEROZYGOUS HMLH1 AND HMSH2 GERMLINE MUTATIONS AND ONE HOMOZYGOUS HMLH1 MUTATION IN HEREDITARY NON POLYPOSIS COLON CANCER

JM. Rey (1), JP. Brouillet (1), M. Noruzinia (2), T. Maudelonde (1), P. Sarda (2), P. Pujol (1,2)

(1) Laboratoire de Biologie cellulaire, CHU de Montpellier et INSERM 540

(2) Service de Génétique, Hôpital A de Villeneuve, CHU de Montpellier

The majority of hereditary nonpolyposis colorectal cancer (HNPCC) is caused by germline mutations of mismatch repair (MMR) genes in either MLH1, MSH2 or MSH6 genes. Patients from 60 HNPCC families were selected using

Amsterdam criteria and/or microsatellite instability to be screened for MLH1, MSH2 and MSH6 gene mutations. Four novel heterozygote alterations causing appearance of premature stop codons were characterized, three consisting in single-bp deletions causing a frameshift (MLH1 : 16delG, 658delT ; MSH2 : 54delC) and one consisting in MSH2 344 CAG to TAG transversion. One previously described, the MLH1 269 TCA to TGA transversion was found as an homozygote alteration in a patient with both mother and father families harboring HNPCC cancer spectrum pathologies. This patient developed a colon cancer at the age of 22, suggesting a particularly aggressive phenotype. Our analysis contributes to the further characterization of mutational spectrum of MMR genes in HNPCC families.

228

ONCOGÉNÉTIQUE

ETUDE DES REMANIEMENTS DE LA RÉGION 1P36 DANS LES OLIGODENDROGLIOMES PAR UNE TECHNIQUE D'HYBRIDATION IN SITU EN FLUORESCENCE (FISH) SUR DES COUPES INCLUSES EN PARAFFINE ET PAR GÉNOTYPAGE FLUORESCENT DE L'ADN TUMORAL À L'AIDE DE MICROSATELLITES

N. Auger (1), S. Saïkali (2), V. David (3), Y. Guegan (4), JP. Moulinoux (1), M. Le Calve (1)

(1) Laboratoire de cytogénétique et biologie cellulaire, CHU Pontchaillou, Rennes

(2) Laboratoire d'anatomopathologie, CHU Pontchaillou, Rennes

(3) Laboratoire de génétique moléculaire, CHU Pontchaillou, Rennes

(4) Service de neurochirurgie, CHU Pontchaillou, Rennes

Les oligodendrogliomes sont des tumeurs du système nerveux central. Des délétions au niveau d'un chromosome 1 en 1p36.3 ont été mises en évidence dans 40 à 92 % des oligodendrogliomes. D'après les études rétrospectives publiées, ce remaniement est de bon pronostic avec une meilleure réponse au traitement et une survie plus longue. La technique de référence pour cette recherche de délétion est la perte d'hétérozygotie à l'aide de marqueurs de type microsatellites. Cette technique s'avère souvent difficile voire impossible à mettre en œuvre surtout lors d'études rétrospectives puisqu'elle nécessite un prélèvement sanguin pour comparer l'ADN tumoral avec l'ADN germlinal. C'est pourquoi notre étude a reposé sur une double stratégie : la recherche de perte d'hétérozygotie (LOH), technique de référence, et l'hybridation in situ fluorescente (FISH) à l'aide de sondes de type BAC sur coupes de tumeurs incluses en paraffine, technique plus facilement applicable en routine et permettant de s'affranchir de l'obtention d'ADN germlinal. Nous avons testé ainsi 14 tumeurs.

Les résultats obtenus par les deux techniques sont globalement concordants. De plus, n'ayant obtenu les prélèvements sanguins que de deux patients, la FISH nous a permis pour certaines tumeurs de valider à posteriori une hémizygotie que nous suspicions devant une homozygotie de plusieurs marqueurs contigus.

236 >> Poster n°299**ONCOGÉNÉTIQUE****RECHERCHE DE MUTATIONS CONSTITUTIONNELLES SUR LES GÈNES BRCA : SÉRIE DE 284 PATIENTS.**

V. Caux-Moncoutier (1), S. Pagès-Berhouet (1), A. Laugé (1), C. Dehainault (1), S. Gressier (1), M. Gauthier-Villars (1), I. Coupier (1), P. Pujol (2), A. Chevrier (3), A. Rossi (3), L. Demange (4), M. Frénay (5), C. Houdayer (1), D. Stoppa-Lyonnet (1)
 (1) Service de Génétique Oncologique, Institut Curie, Paris
 (2) CHU Arnaud de Villeneuve, Montpellier
 (3) Hôpital Charles Nicolle, Rouen
 (4) Clinique Courlancy, Reims
 (5) Centre Antoine Lacassagne, Nice

Le cancer du sein est la localisation tumorale la plus fréquente dans les pays occidentaux. On estime que 5 à 10% des cancers du sein et/ou de l'ovaire ont une origine génétique, liée principalement à des altérations des gènes BRCA. La recherche de leurs anomalies est indispensable à la délivrance d'un conseil génétique adapté. Nous avons choisi une stratégie semi-automatisée associant Chromatographie Liquide Haute Performance en conditions Dénaturantes (DHPLC) pour la recherche de mutations ponctuelles, et PCR Multiplex Fluorescente semi-quantitative (QMPSF) pour la recherche de réarrangements de grandes tailles de BRCA1.

Nous rapportons les résultats obtenus sur une série de 284 patients non apparentés et recensés par des consultations de génétique.

Nous avons caractérisé 20 mutations délétères sur BRCA1 et 25 sur BRCA2 (28 mutations décalant le cadre de lecture, 11 non-sens, 2 mutations d'épissage, 3 réarrangements, 1 délétion respectant le cadre). De plus, 17 et 14 faux-sens de signification inconnue ont été identifiés sur BRCA1 et 2, respectivement.

Les mutations délétères de BRCA1 se retrouvent dans 11 familles sein-ovaire (55% des mutations identifiées), 7 familles sein seul (35%), 2 familles ovaire (10%) et les mutations délétères de BRCA2 dans 9 familles sein-ovaire (36%), 14 familles sein seul (56%), 1 famille ovaire (4%), 1 famille avec cancer du sein chez l'homme (4%).

Un total de 16% de mutations délétères a été identifié dans cette large série, justifiant les critères d'indication d'analyse des gènes BRCA. La forte proportion de faux-sens (11%) impose d'explorer leur causalité.

237**ONCOGÉNÉTIQUE****CONTRIBUTION DES RÉARRANGEMENTS DE GRANDE TAILLE AU SPECTRE MUTATIONNEL DU GÈNE BRCA1 : SÉRIE DE 284 CAS.**

S. Pagès-Berhouet (1), S. Gressier (1), A. Laugé (1), V. Caux-Moncoutier (1), C. Dehainault (1), I. Coupier (1), M. Gauthier-Villars (1), M. Tosi (2), C. Houdayer (1), D. Stoppa-Lyonnet (1)
 (1) Service de Génétique Oncologique, Institut Curie, Paris
 (2) INSERM EMI9906, Faculté de Médecine, Rouen

Le cancer du sein est la localisation tumorale la plus fréquente dans les pays occidentaux et on a compté en France 42 000 nouveaux cas en 2000. Cinq à 10 % des cancers du sein ont une origine génétique. Les altérations du gène BRCA1 sont responsables de la majorité des cancers héréditaires du sein et de l'ovaire.

Le spectre mutationnel du gène BRCA1 est complexe. Dans

une étude rétrospective de 120 cas de cancer du sein et de l'ovaire, utilisant le peignage d'ADN, il a été estimé que 11.6% des mutations BRCA1 sont des délétions ou duplications partielles du gène (Gad et al., Oncogene 21 : 6841, 2002). Le peignage d'ADN n'étant pas applicable en routine, nous utilisons la PCR Multiplex Fluorescente semi-quantitative (QMPSF).

Nous avons réalisé une étude prospective combinant la QMPSF à la DHPLC (détection de mutation ponctuelle) sur 284 nouveaux cas index ayant une histoire familiale de cancer du sein et / ou de l'ovaire.

Cette étude a mis en évidence 2 délétions (familles sein-ovaire, sein seul) et 1 duplication (famille sein-ovaire).

Vingt mutations délétères BRCA1 ont été caractérisées par l'approche QMPSF et DHPLC, les réarrangements de grande taille représentent donc 15% (3 sur 20) des altérations BRCA1. De plus, ces 3 réarrangements n'ont pas été rapportés dans la littérature.

Ces résultats justifient la recherche systématique des réarrangements de grande taille dans le criblage complet du gène BRCA1.

240 >> Poster n°300**ONCOGÉNÉTIQUE****MUTATIONS GERMINALES DES GÈNES DE PRÉDISPOSITION AU CANCER DU SEIN ET/OU DES OVAIRES BRCA1 ET BRCA2 DANS LE NORD-EST DE LA FRANCE.**

D. Muller (1), J. Abecassis (1), JM. Limacher (2), JP. Fricker (1)
 (1) Unité de génétique oncologique, Centre P. Strauss, Strasbourg
 (2) Service d'oncologie, CHU, Strasbourg

Les gènes BRCA1 et BRCA2 sont responsables de plus de la moitié des formes familiales de cancers du sein et des ovaires. Nous avons recherché les mutations germinales des gènes BRCA1 et BRCA2 par la technique de chromatographie liquide haute performance en condition dénaturante (DHPLC) suivi de séquençage des variants observés. Les familles analysées ont été sélectionnées pour une histoire familiale de cancer du sein et/ou des ovaires selon les critères du Groupe Génétique et Cancer et sur la base de l'estimation de la probabilité d'être muté par le logiciel BRCAPRO. Elles sont toutes originaires d'une aire géographique limitée au Nord-est de la France.

Sur 303 familles sélectionnées, 69 (23%) présentent une mutation du gène BRCA1, dont 57 sont supposées être délétères. Parmi les 39 mutations différentes, 13 provoquent un décalage de lecture, 11 sont des mutations non-sens, 15 des mutations faux-sens. Une mutation particulièrement fréquente, la délétion de 11 nucléotides dans l'exon 11, 3600del11, concerne 20 familles. Elle représente 20/57, soit 35% des familles avec mutations délétères détectées et pourrait être due à un effet fondateur selon nos analyses préliminaires d'allélotypage. Les mutations délétères du gène BRCA1 sont plus fréquentes dans les familles avec une histoire familiale de « Cancer du sein et/ou des ovaires » puisqu'elles concernent 38% d'entre elles, comparées à 16% des familles présentant un syndrome Cancer du sein seul.

Neuf familles présentent une mutation du gène BRCA2 sur les 41 analysées soit 22%. Six mutations, dont deux faux sens, ont été identifiées parmi les 21 familles analysées avec syndrome de « cancer du sein seul » et 3 mutations, dont 2 faux sens, parmi 15 familles avec « cancer du sein et/ou des ovaires ». Cette étude apporte des indications sur la fréquence et les caractéristiques des mutations germinales

des gènes BRCA1 et BRCA2 dans une population régionale de France.

244 >> Poster n°301

ONCOGÉNÉTIQUE

BAP1 ET CANCER DU SEIN

*I. Coupier (1), D. Hughes (2), S. Ginolhac (2), PY. Cousin (1), G. Lenoir (3), O. Sinilnikova (2), D. Stoppa-Lyonnet (1) et Groupe Génétique et Cancer**

(1) Service de Génétique Oncologique, Institut Curie, Paris

(2) Unité d'Epidémiologie Génétique, Centre International de Recherche sur le Cancer, Lyon

(3) Service de Génétique Oncologique, Institut Gustave Roussy, Paris

**Membres du GGC ayant participé à l'étude : B. Bressac de Paillerets, A. Chompret, YJ. Bignon, JP. Peyrat, J. Fournier, C. Lasset, S. Giraud, D. Muller, JP. Fricker, A. Hardouin, P. Berthet, C. Maugard, C. Nagues, R. Lidereau, M. Longy, S. Olschwang, C. Toulas, R. Guimbaud, S. Mazoyer*

Les gènes connus de prédisposition héréditaire BRCA1 et BRCA2 n'expliquent que la moitié des formes héréditaires de cancer du sein ; donc un ou plusieurs autres gènes restent à découvrir. De plus, il existe une variabilité inter et intrafamiliale du risque de cancer du sein et de l'ovaire associée aux mutations des gènes BRCA comme en témoignent les différences d'estimés des risques entre études familiales et études de population. Sans exclure l'influence de facteurs environnementaux ou hormonaux, il est cohérent de faire l'hypothèse de l'intervention de gènes modificateurs du risque de développer du cancer du sein et de l'ovaire dans les familles BRCA1 et BRCA2. Les protéines interagissant avec BRCA1 représentent des bons candidats pour être des facteurs modificateurs. Nous avons examiné le gène BAP1 partenaire de BRCA1 et dont la fonction ubiquitine hydrolase module probablement la fonction ubiquitine ligase de BRCA1.

Dans un premier temps, nous avons séquencé BAP1 dans une série de 48 cas indépendants présentant une prédisposition. Aucune mutation n'a été identifiée. BAP1 n'est donc probablement pas un gène majeur de prédisposition aux cancers du sein

Le séquençage de BAP1 a permis de repérer des polymorphismes qui seront étudiés comme facteur modificateur chez 750 patientes avec une mutation BRCA.

255 >> Poster n°302

ONCOGÉNÉTIQUE

RECHERCHE DE MUTATIONS DES GÈNES BRCA1 ET BRCA2 : EXPÉRIENCE CLERMONTOISE CONCERNANT 200 FAMILLES DE CANCERS DU SEIN ET/OU DE L'OVAIRE.

N. Uhrhammer, F. Finat-Duclos, F. Gachon, YJ. Bignon

Laboratoire Diagnostique Génétique et Moléculaire, Centre Jean Perrin, Clermont-Ferrand

Environ 5% des cancers du sein surviennent dans un contexte familial et les 2 gènes majeurs de risque actuellement identifiés sont BRCA1 et BRCA2. Nous avons mis en place un Laboratoire de diagnostic génétique et moléculaire en relation avec le Service d'Oncogénétique au Centre Jean Perrin pour étudier ces gènes et proposer éventuellement un suivi médical adapté.

Le gène BRCA1 a été analysé sur 200 familles. 30 mutations

délétères et 18 mutations faux-sens ont été répertoriées. Ces résultats sont en accord avec ceux de la littérature, utilisant les mêmes critères de choix des familles (3 cas de cancer du sein et/ou de l'ovaire, ou 2 cas dont 1 survenu précocement ou avec atteinte bilatérale). La mutation 3958del5ins4 a été retrouvée dans 3 familles dont l'origine permet de suggérer un effet régional.

L'étude du gène BRCA2 a été entreprise dans 65 familles. Dans 9 familles, des mutations délétères ont été identifiées dont l'une a été retrouvée dans 4 familles d'origine auvergnate, suggérant fortement un effet fondateur. Une autre mutation (8203A>G) est située sur l'avant dernier nucléotide de l'exon 17 et change Arg2659 en Gly. L'analyse de l'ARNm met en évidence 3 types d'ARNm : un ARNm normal, un qui présente le faux-sens, enfin un autre avec délétion de l'exon 17.

Pour les familles dans lesquelles aucune mutation n'a été identifiée, nous allons compléter l'analyse par la recherche de mutations de grande taille sur ces gènes et le séquençage d'autres gènes de risque de cancer du sein comme CHK2 et ATM.

263 >> Poster n°303

ONCOGÉNÉTIQUE

CARACTÉRISATION D'UNE LARGE DÉLÉTION GERMINALE DU LOCUS INK4 INCLUANT LES GÈNES P16INK4A, P14ARF ET P15INK4B.

G. Bolasco (1), D. Vidaud (1,2), I. Laurendeau (1), E. Pasmant (1,2), D. Héron (3), M. Vidaud (1,2), I. Bièche (1)

(1) Laboratoire de Génétique Moléculaire, EA3618, Faculté de Pharmacie - Université Paris 5

(2) Service de Biochimie, Hôpital Beaujon AP-HP

(3) Département de Génétique, Cytogénétique et Embryologie, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, AP-HP

Nous avons précédemment rapporté l'existence d'une délétion germinale du locus INK4 au sein d'une large famille présentant un syndrome mélanome/astrocytome (MIM155755). Afin d'identifier les bornes centromérique et télomérique de cette délétion, nous avons mis en place une stratégie fondée sur le dosage génique par PCR en temps réel de STS (« Sequence Tagged Site ») positionnés à intervalles réguliers, entre les marqueurs microsatellites D9S736 et D9S976 précédemment identifiés comme non délétés et distants d'environ 700 kilobases. En trois étapes successives, l'analyse quantitative de 28 STS localisés tous les 6 et enfin tous les kilobases nous a conduit à définir un intervalle de taille compatible avec une amplification par XL-PCR. Le séquençage du fragment de jonction ainsi généré a permis d'identifier une large délétion de 403 kilobases incluant les trois gènes du locus INK4 : p16INK4A (p16), p14ARF et p15INK4B (p15). Un test de prédisposition génétique (amplification par PCR d'un fragment de jonction de 320 paires de bases) a pu être proposé en consultation de conseil génétique aux membres de la famille. L'analyse de la séquence nucléotidique des bornes de la délétion n'a identifié aucune séquence particulière à l'exception d'une séquence de type L1 tronquée au niveau de la borne centromérique.

L'implication des gènes p16INK4A et p14ARF dans la prédisposition héréditaire au mélanome est aujourd'hui largement documentée. En revanche, leur rôle respectif dans l'apparition des tumeurs du système nerveux reste

encore à définir, tout comme celui de p15INK4B dont aucune anomalie germinale n'avait été jusqu'à présent rapportée.

271 >> Poster n°304

ONCOGÉNÉTIQUE

ANALYSE GÉNÉTIQUE DES CANCERS ORL

S. Gad (1), H. Blons (1), B. Weissman (2), P. Beaune (1), P. Laurent-Puig (1)

(1) UMR-S Inserm 490, Centre Universitaire des Saints-Pères, Paris
(2) Lineberger Comprehensive Cancer Center, University of North Carolina, Chapel Hill, USA

L'incidence des cancers des voies aérodigestives supérieures (ORL) a été estimée à 20000 cas en France. Ils représentent 10% des cancers diagnostiqués. L'âge au diagnostic est de 55-60 ans. Dans 70% des cas, les tumeurs sont détectées à un stade avancé : le pronostic reste sombre et la survenue d'une récurrence locale ou d'un second cancer est fréquente. Le traitement standard assure un contrôle loco-régional : association de chirurgie, radiothérapie, chimiothérapie.

Les études épidémiologiques ont montré le rôle primordial du tabac et de l'alcool dans la survenue des cancers ORL. La fumée de tabac contient de nombreuses substances carcinogènes, pouvant interagir avec l'ADN pour former des adduits à l'origine de mutations.

Les pertes et gains de matériel chromosomique sont des altérations fréquentes des cancers ORL. Les délétions du 17p constituent un événement précoce : il existe une corrélation avec des mutations du gène TP53. La perte du 18q est associée de manière significative à un stade tumoral avancé et des pertes d'hétérozygotie ont été détectées : ceci suggérerait l'existence d'un gène suppresseur de métastases en 18q.

Une approche gène-candidat est en cours dans une région commune de délétion en 18q22 grâce aux cartes du génome humain. Cette région a notamment été définie grâce à une lignée tumorale ORL (FaDu) servant de base à une approche fonctionnelle : un test d'invasion cellulaire in vitro où plusieurs lignées sont comparées dans l'attente que FaDu possède un pouvoir métastatique plus important, suggérant l'existence d'un gène suppresseur de métastases en 18q22.

273

ONCOGÉNÉTIQUE

IDENTIFICATION OF GERMLINE P14ARF MUTATIONS IN TWO MELANOMA PRONE FAMILIES

K. Laud-Duval (1), M. Barrois (1), D. Pham (1), MF. Avril (1), A. Chompret (1), A. Goldstein (2), G. Peters (3), A. Spatz (1), GM. Lenoir (1), B. Bressac-de Paillerets (1)

(1) Institut Gustave Roussy, Service de Génétique, Villejuif

(2) NCI, Genetic Epidemiology Branch Bethesda, USA

(3) Imperial Cancer Research Fund, UK

Familial cutaneous melanoma (CM) predisposition is associated with germline mutations at CDKN2A/ARF locus (9p21) and CDK4 locus (12q13). The CDKN2A/ARF locus contains overlapping tumor suppressor genes CDKN2A and ARF, encoding two distinct proteins p16INK4 and p14ARF. CDKN2A mutations have been found in 20-40% of melanoma families. At the beginning of our study, 2 large deletions of 9p21 involving CDKN2A and exon 1b of ARF have been identified in melanoma-neural system tumor syndrome (CM-NST). These observations prompted us to

search germline alterations at 9p21 locus in melanoma families.

Patients tested (n=51) belong to CM families, families with CM and NST, Li-Fraumeni like syndrome families including a melanoma case and patients with multiple primary CM. We screened for germline mutations in CDKN2A/ARF locus by dHPLC analysis. To identify germline large deletion, we have quantified the CDKN2A and ARF genes copy number by Real-Time quantitative PCR.

In the family A, we have identified a p14ARF exon 1b missense germline mutation (G16D) in two brothers with CM. No loss of heterozygosity has been detected in brothers tumours. We can't conclude about functional consequences of p14ARF G16D mutation: the 1-20 peptide has decreased affinity for MDM2 but not the full p14ARF G16D protein.

In family B including five CM cases, the two cousins with CM tested are carriers of the large germline deletion (8474 bp) 196bp downstream of the initiating codon of exon 1b of p14ARF and 11233 bp downstream of the exon 1a of p16INK4A.

In conclusion, ARF is a third melanoma predisposing gene.

307

ONCOGÉNÉTIQUE

ANALYSE MULTIGÉNIQUE DU CANCER DU SEIN SPORADIQUE PAR LA TECHNIQUE DES BIOPUCES SNPS (SINGLE NUCLEOTIDE POLYMORPHISMS)

N. Durakovic (1), N. Chalabi (1), L. Le Corre (1), YJ. Bignon (1), V. Vidal (2), DJ. Bernard-Gallon (1)

(1) Laboratoire d'Oncologie Moléculaire, Centre Jean Perrin, INSERM UMR 484-UdA, Clermont-Ferrand

(2) Société Diagnostique, Aurillac

Le cancer du sein est la première cause de mortalité chez la femme. Ce sont des mutations dans les gènes BRCA1 et BRCA2 qui interviendraient dans les cas familiaux. Des gènes polymorphes agissant en fonction du mode de vie et des facteurs de risque liés à l'environnement, interviennent dans les cancers héréditaires et sporadiques. L'effet de ces gènes est cumulatif.

Nous avons étudié 11 polymorphismes, correspondant à 6 gènes, chez 26 patientes de l'étude épidémiologique COSA (Cancer du Sein et de l'Ovaire en Auvergne) qui ont développé un cancer du sein sans antécédent familial.

Après une amplification par PCR, les fragments d'intérêt ont été définis par digestion enzymatique pour les quatre polymorphismes du gène de la N-acétyl transférase NAT2 (G191A, G590A, C481T, G857A) et les deux polymorphismes du gène de la famille des cytochromes P450 CYP1A1 (A462G, T461C).

Le génotypage SNPs par séquençage a été réalisé pour le gène de la famille des cytochromes P450 CYP1B1 (A453G, G432C), le gène de la catéchol-O-méthyl transférase COMT (G1947A), le gène de la glutathion-S-transférase pi GSTP1 (A313G) et le gène du récepteur des œstrogènes ESR I (G325C).

Ces résultats ont servi de référence pour la mise au point de la technique des biopuces SNPs. Nos biopuces SNPs contenaient des dépôts d'oligonucléotides de 15 mer avec la base polymorphe en position centrale. Les résultats obtenus avec cette technique pour NAT2 (G191A, G590A, C481T, G857A), COMT (G1947A), GSTP1 (A313G) et ESR I (

G325C) ne sont que préliminaires, dus à un nombre d'essais encore insuffisant.

326 >> Poster n°305

ONCOGÉNÉTIQUE

INTÉRÊT D'UNE BASE DE MUTATIONS BRCA1 ET BRCA2 DANS LES FAMILLES FRANÇAISES

R. Lidereau (1), C. Bérout (2) et le sous-groupe Laboratoire du Groupe Génétique et Cancer de la FNCLCC (3)

(1) Centre René Huquenin, Saint Cloud

(2) Institut Universitaire de Recherche Clinique, Montpellier

(3) Groupe Génétique et Cancer incluant S. Bezieau, I. Bièche, B. Bressac de Paillerets, F. Coulet, MC. Gorisse, A. Hardouin, M. Longy, D. Muller, S. Olschwang, JP. Peyrat, C. Philippe, P. Rostagno, T. Noguchi, O. Sinilnikova-Evrard, D. Stoppa-Lyonnet, H. Stora de Novion, C. Toulas, N. Uhrhammer

Objectifs : BRCA1 et BRCA2 sont les gènes majeurs de susceptibilité au cancer du sein et/ou de l'ovaire. Les mutations germinales affectant ces gènes sont majoritairement des mutations de petite taille (mutations ponctuelles, délétions ou insertions de quelques nucléotides). Plus récemment des mutations complexes ont été décrites (pertes ou duplications d'exons, altérations en 5' du gène). Ces mutations sont retrouvées sur l'ensemble de la séquence des 2 gènes.

Si le caractère délétère des mutations tronquantes est généralement admis, peu de données permettent de conclure sur la signification biologique de nombreuses mutations faux sens, introniques, délétions ou insertions «in frame».

Méthodes : Mise en place d'une base regroupant les mutations des gènes BRCA1/2 dans les familles françaises à partir du logiciel générique UMD ("Universal Mutation Database"). Ce logiciel permet la création de banques de données spécifiques d'un locus (Locus Specific DataBase" ou LSDB). Il permet non seulement la création de LSDB utilisables localement mais également accessibles via Internet. Il intègre de nombreux outils d'analyse (distribution des mutations, corrélations génotype-phénotype...).

Résultats : En plus de la description des mutations dans les familles françaises, la compilation des données issues des laboratoires associées aux consultations du Groupe Génétique et Cancer doit aider en particulier à valider le caractère délétère de mutations de signification biologique inconnue. La détection de mutations faux sens associées à des mutations délétères dans certaines familles peut avoir des répercussions sur la prise en charge des patients. Les premiers résultats acquis sur plus de 500 familles seront présentés.

327 >> Poster n°306

ONCOGÉNÉTIQUE

PRÉDISPOSITIONS GÉNÉTIQUES AUX CANCERS DU SEIN ET DE L'OVAIRE : ETUDE PROSPECTIVE DE SUJETS PORTANT UNE MUTATION DES GÈNES BRCA

C. Noguès (1), M. Gauthier-Villars (2), A. Chompret (3), JP. Fricker (4), C. Lasset (5), E. Luporsi (6), P. Berthet (7), H. Sobol (8) et le Groupe Génétique et Cancer de la FNCLCC (9)

(1) Centre René Huquenin, Saint Cloud

(2) Institut Curie, Paris

(3) Institut Gustave Roussy, Villejuif

(4) Centre Paul Strauss, Strasbourg

(5) Centre Léon Bérard, Lyon

(6) Centre Alexis Vautrin, Nancy

(7) Centre François Baclesse, Caen

(8) Institut Paoli-Calmettes, Marseille

(9) Groupe Génétique et Cancer incluant C. Adenis, YJ. Bignon, V. Bonadona, A. Chevrier, L. Demange, H. Dreyfus, C. Dugast, F. Eisinger, M. Frenay, P. Gesta, L. Gladieff, R. Guimbaud, M. Longy, JM. Limacher, A. Lortholary, TD. N'Guyen, A. Rossi, D. Stoppa-Lyonnet, L. Venat-Bouvet, P. Vennin, H. Zattara-Cannoni

Objectifs : 5 à 10% des cas de cancer du sein et de l'ovaire seraient dus à une prédisposition génétique transmise selon le mode autosomique dominant. Les mutations des gènes BRCA1 et BRCA2 sont responsables d'une partie de ces formes héréditaires. Plusieurs questions se posent pour améliorer la prise en charge des familles dans lesquelles une telle mutation a été identifiée: 1) Quel est le risque qu'un sujet porteur d'une mutation développe un cancer du sein et/ou de l'ovaire et/ou un autre cancer au cours de sa vie ? 2) Ces risques de cancer sont-ils modifiés par des facteurs environnementaux (en particulier les radiations d'origine médicale), des facteurs hormonaux, d'autres facteurs génétiques ? 3) Doit-on utiliser les mêmes paramètres pour évaluer le pronostic des cancers du sein et de l'ovaire associés à une altération des gènes BRCA que ceux utilisés pour les cancers communs ? 4) Quel est l'impact psychologique et social pour une personne de se savoir prédisposée au cancer du sein et/ou de l'ovaire ?

Méthodes : Une cohorte nationale de femmes et d'hommes porteurs d'une mutation sur BRCA, atteints ou non de cancer, est constituée. Les personnes de 18 ans et plus, sont incluses à partir des consultations d'oncogénétique. Elles complètent un questionnaire épidémiologique et psychologique d'inclusion. Une mise à jour des facteurs de risques est organisée annuellement. Pour pouvoir répondre aux questions posées avec une puissance suffisante, le suivi se fera sur 10 ans.

Résultats : une description de la population (600 personnes au 1er septembre 2003) sera présentée.

355

ONCOGÉNÉTIQUE

POLYPOSE ADÉNOMATEUSE FAMILIALE : UNE MUTATION DU GÈNE APC PEUT EN CACHER UNE AUTRE !!!

S. Pinson (1), F. Prieur (2), N. Burnichon (1), S. Giraud (1), S. Olschwang (3), G. Lesca (1), T. Martin (1), JC. Saurin (4), A. Calender (1)

(1) Laboratoire de génétique HEH, CHU, Lyon

(2) Service de Génétique, CHU, St Etienne

(3) Unité de Génétique St Antoine, CHU, Paris

(4) Service de gastro-entérologie Lyon Sud, CHU, Lyon

La polypose adénomateuse familiale (PAF) est une affection héréditaire autosomique dominante, responsable de 1% des cancers colorectaux. Cliniquement, ces patients peuvent présenter plusieurs types de manifestations : des polypes adénomateux multiples dans le colon et le rectum et des manifestations extracoliques, comme les adénocarcinomes duodénaux et les tumeurs desmoïdes, pour ne citer que les plus graves.

Nous rapportons le cas d'une grande famille originaire d'Afrique du Nord dont plus de 10 individus sont suivis pour une polypose adénomateuse familiale. La recherche moléculaire d'une mutation délétère dans cette famille a permis de détecter une délétion entraînant un décalage du cadre de lecture dans l'exon 11 (1563 delT) chez le cas index et sa descendance.

Cette mutation n'a pas été retrouvée chez les enfants du frère du cas index malgré un tableau de polypose typique.

Chez l'un des enfants, une analyse moléculaire de l'ensemble des régions codantes a été entreprise et a permis d'identifier une mutation délétère différente sur l'exon 12 (1563 del T). Cette mutation a été également détectée chez sa mère pour qui le diagnostic de PAF n'avait pas été fait. L'enquête familiale rétrospective montre que le frère du cas index reste asymptomatique à 76 ans mais n'a jamais eu de coloscopie, et que sa femme a dans ses antécédents une colectomie subtotale.

Cette observation démontre la nécessité d'obtenir des renseignements cliniques sur tous les ascendants des sujets testés même lorsque la mutation est connue et, l'intérêt de poursuivre les analyses lorsque les résultats semblent discordants.

371 >> Poster n°307

ONCOGÉNÉTIQUE

HÉTÉROGÉNÉITÉ DES RÉARRANGEMENTS DU GÈNE MLL DANS LES LEUCÉMIES AIGÜES DE L'ENFANT.

B. Quilichini (1), H. Zattara (1), C. Fossat (2), G. Michel (3), A.M. Vagner-Capodano (1), N. Philip (1)

(1) Département de Génétique, Hôpital Timone, Marseille

(2) Laboratoire d'Hématologie, Hôpital Timone, Marseille

(3) Service d'Hématologie Pédiatrique, Hôpital Timone, Marseille

Le gène MLL est impliqué dans la leucémogénèse des hémopathies malignes lymphoïdes et myéloïdes. Il est actuellement démontré que les réarrangements MLL sont corrélés à un pronostic péjoratif.

Nous rapportons sept cas de leucémies aiguës de l'enfant avec un réarrangement atypique du gène MLL.

Les réarrangements de la bande 11q23 peuvent être mis en évidence par la cytogénétique conventionnelle mais aussi par les techniques de FISH interphasique ou métagasique en utilisant la sonde LSI MLL. Cependant, l'interprétation de la technique d'hybridation peut être délicate, dans les cas où l'on observe une perte du signal fluorescent orange (partie 3' de MLL). Il peut alors s'agir d'un réarrangement MLL ou d'une simple délétion 11q23. Dans notre série, deux cas présentent un réarrangement 11q23 (confirmé en biologie moléculaire) associé à une délétion 3'MLL.

Dans un cas, on retrouve la présence d'un réarrangement MLL dans une LAM-MO et dans deux cas la présence d'un réarrangement MLL dans une LAL-T (dont un cas avec une expression restreinte du TCR à la lignée gamma-delta).

Dans quatre cas, on observe un réarrangement du gène MLL associé à des anomalies chromosomiques complexes identifiées par des techniques de peinture panchromosomique (Multiplex-FISH et WCP) ou de peinture de bandes chromosomiques (Xcyste-mBand).

L'apport des techniques FISH est d'un grand intérêt pour le pronostic et l'indication thérapeutique.

Notre étude confirme l'hétérogénéité des réarrangements de la bande 11q23 décrits dans un unique sous-type d'hémopathie maligne : « la leucémie aiguë associée à un réarrangement du gène MLL ».

372

ONCOGÉNÉTIQUE

IDENTIFICATION D'UN HAPLOTYPE DE TROIS MUTATIONS GERMINALES DU GÈNE HOXB7 CHEZ DEUX ENFANTS ATTEINTS D'HÉMOPATHIE LYMPHOÏDE MALIGNE

V. van Scherpenzeel Thim (1), R. Rezsöházy (2), F. Gofflot (2), J. Picard

(2), G. Cornu (3), C. Vermeylen (3), C. Verellen-Dumoulin (1)

(1) Centre de Génétique humaine, UCL, Bruxelles

(2) Unité de Génétique du développement, UCL, Bruxelles

(3) Service d'hématologie et d'oncologie pédiatrique, UCL, Cliniques Universitaires Saint-Luc, Bruxelles

HOXB7 est un des 39 gènes HOX qui codent pour des facteurs de transcription jouant un rôle clé dans l'embryogenèse. HOXB7 est également impliqué dans le contrôle de la prolifération et de la différenciation des cellules hématopoïétiques.

Dans cette étude, un haplotype unique de 3 mutations germinales ponctuelles dans le premier exon du gène HOXB7 a été découvert chez 2 enfants atteints respectivement de lymphome non hodgkinien (LNH) et de leucémie lymphoblastique aiguë (LLA). Il s'agit de 2 mutations faux sens, A9T et Y78C, et d'une substitution silencieuse, G48. Les mutations G48 et Y78C n'ont jamais été observées lors de l'analyse du gène HOXB7 chez 100 individus sains. La fréquence allélique de la variante A9T a été estimée à 7,5% dans la population contrôlée.

Le caryotype réalisé sur la moelle osseuse du patient atteint de LNH au moment du diagnostic a révélé une anomalie somatique en 7q35 (gène TCR- β), caractéristique des hémolympopathies de type T.

L'analyse cytogénétique au niveau des cellules leucémiques du patient atteint de LLA a montré des réarrangements somatiques en 11q23, comprenant une délétion du gène MLL (mixed-lineage leukemia). La protéine MLL est connue pour réguler l'expression des gènes HOX durant l'embryogenèse. De plus, des réarrangements du gène MLL sont fréquemment décrits dans les leucémies aiguës et semblent directement liés à une dérégulation de l'expression des gènes HOX. Nous faisons ici l'hypothèse d'un lien entre les mutations germinales de HOXB7 et les réarrangements de MLL dans l'apparition de la LLA de ce patient.

376 >> Poster n°308

ONCOGÉNÉTIQUE

RECHERCHE D'UNE PERTE D'HÉTÉROZYGOTIE EN 1P ET 19Q DANS LES TUMEURS GLIALES: AIDE AU DIAGNOSTIC ET À LA PRISE EN CHARGE THÉRAPEUTIQUE DES PATIENTS.

F. Escande (1), C. Ramirez (2), M.P. Buisine (1), C.A. Maurage (3), F. Dubois (2), M.M. Ruchoux (3), N. Porchet (1)

(1) Laboratoire de Biochimie et Biologie Moléculaire, Hôpital C. Huriez, CHRU Lille

(2) Service de Neurochirurgie, Hôpital R. Salengro, CHRU Lille

(3) Service de Neuropathologie, Hôpital R. Salengro, CHRU Lille

Les gliomes représentent la principale cause de tumeurs primitives du système nerveux central. Parmi eux, les oligodendrogliomes qui représentent 25-33% des tumeurs gliales de l'adulte, se différencient par une meilleure réponse au traitement et un meilleur pronostic. Cependant, l'hétérogénéité évolutive de ces tumeurs rend le plus souvent leur prise en charge thérapeutique délicate. De plus, si l'évaluation histologique demeure la base de la classification de ces tumeurs, leur diagnostic différentiel reste difficile du fait de l'absence de marqueurs immunohistochimiques spécifiques. Récemment, des analyses chromosomiques et moléculaires des tumeurs gliales ont montré que les oligodendrogliomes présentent dans 50 à 80% des cas une délétion des segments chromosomiques 1p et 19q. La perte combinée de ces deux régions constitue un facteur prédictif de chimiosensibilité et de survie chez les patients et ce indépendamment du

grade de la tumeur.

Nous rapportons ici une étude réalisée sur 120 tumeurs gliales classées selon les critères histologiques de l'OMS. La recherche de délétion chromosomique 1p et/ou 19q a été réalisée par amplification PCR de marqueurs microsatellites et comparaison des profils alléliques obtenus sur ADN tumoral et ADN constitutionnel. L'analyse des résultats moléculaires associés aux données anatomo-pathologiques et cliniques montrent que l'approche moléculaire de ces tumeurs confirme non seulement le diagnostic histologique mais augmente également la spécificité du diagnostic et améliore la prise en charge thérapeutique des patients avec la mise en place d'une stratégie thérapeutique spécifique.

377

ONCOGÉNÉTIQUE

VARIANT ÉPITHÉLIOÏDE D'UNE TUMEUR MALIGNÉ DES GAINES NERVEUSES : ETUDE D'UN CAS EN CYTOGÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE (M-FISH)

B. Quilichini (1), F. Casalonga (1), H. Zattara (1), M. Soulier (1), MA. Chrestian (2), R. Nicollas (3), N. Philip (1)

(1) Département de Génétique, Hôpital Timone Marseille

(2) Laboratoire d'Anatomo-Pathologie, Hôpital Timone Marseille

(3) Fédération d'ORL, Hôpital Timone, Marseille

Les tumeurs malignes des gaines nerveuses périphériques (MPNST) sont des tumeurs rares qui dérivent des cellules de Schwann. Le variant épithélioïde ou schwannome malin épithélioïde (E-MPNST) représente moins de 5 % des MPNST avec une moyenne d'âge de survenue comprise entre 20 et 50 ans. L'association E-MPNST et NF1 semble exceptionnelle, contrairement aux autres MPNST.

Les anomalies chromosomiques observées dans les MPNST par technique de cytogénétique conventionnelle sont hétérogènes : caryotype complexe souvent triploïde ou tétraploïde sans anomalie chromosomique spécifique avec présence de chromosomes marqueurs.

Nous rapportons une étude en bandes « R » et en multiplex FISH d'un cas de variant épithélioïde de MPNST chez une adolescente de 13 ans localisé au niveau de la région cervico-parotidienne, confirmé par immunohistochimie (protéine S-100, NCAM, EMA : positifs / marqueurs vasculaires et musculaires : négatifs)

Les réarrangements chromosomiques identifiés par Multiplex-FISH impliquent les bandes : 5p15, 6p21, 12q24, 14q12, 15q13, 17q21 et 22q11. La formule chromosomique est : 46, XX, der(5)add(5)(p15), del(6)(p21), del(12)(q24), -14, -15, -17, +mar1, +mar2, +mar3 .ish t(5 ;15)(p15 ;q13), t(6 ;22)(p21 ;q11), del(12)(q24), t(14 ;17)(q12 ;q21).

En comparant nos résultats avec les 77 cas de MPNST publiés dans la littérature, nous avons observé une récurrence entre les points de cassure précisés dans notre cas et ceux publiés.

A notre connaissance, ce cas représente le premier cas de variant épithélioïde étudié par Multiplex-FISH.

Des études complémentaires sont nécessaires pour identifier des gènes candidats (oncogènes et gènes suppresseurs de tumeur) aux points de cassure récurrents.

378 >> Poster n°309

ONCOGÉNÉTIQUE

IDENTIFICATION DE VARIANTES NUCLÉOTIDIQUES DE GÈNES HOX DANS LES LEUCÉMIES LYMPHOBLASTIQUES AIGÜES ASSOCIÉES À DES

ANOMALIES DU DÉVELOPPEMENT

V. van Scherpenzeel Thim (1), R. Rezzohazy (2), F. Gofflot (2), J.

Picard (2), G. Cornu (3), C. Vermylen (3), C. Verellen-Dumoulin (1)

(1) Centre de Génétique humaine, UCL, Bruxelles

(2) Unité de Génétique du développement UCL, Bruxelles

(3) Service d'Hématologie et d'Oncologie pédiatrique, UCL, Cliniques Universitaires Saint-Luc, Bruxelles

Trente-neuf gènes HOX codent pour des facteurs de transcription impliqués dans l'embryogenèse. Certains gènes HOX jouent également un rôle dans la régulation de l'hématopoïèse et l'oncogenèse des leucémies. De façon surprenante, on observe une prévalence élevée d'anomalies congénitales chez des enfants atteints de leucémie. L'objectif est d'évaluer l'implication des gènes HOX dans les leucémies lymphoblastiques aiguës (LLA) associées à des malformations congénitales.

Une recherche de mutations constitutionnelles des gènes HOX chez 11 enfants atteints de LLA et présentant des anomalies congénitales squelettiques a mené à l'identification de 8 variantes nucléotidiques. Six mutations sont localisées dans le premier exon de gènes HOX, dont 5 mutations faux sens (G65D dans HOXA4, E81V dans HOXD4, S123P dans HOXD4, A9T dans HOXB7 et R182Q dans HOXD12) et une insertion d'un triplet dans une séquence codant un motif polyglutamine (266InsQ dans HOXD9). Deux mutations sont localisées dans des parties non codantes du gène HOXD10, une délétion intronique de 12pb (IVS-79del12) et une substitution en 3'UTR (3'UTR+2T>G).

La détection de 7 des 8 variantes parmi 100 individus sains plaide en faveur de polymorphismes. Nous ne pouvons cependant pas exclure l'hypothèse d'un modèle polygénique, faisant intervenir des gènes HOX de susceptibilité.

La mutation E81V de HOXD4 identifiée chez un patient atteint de LLA avec anomalie squelettique n'est pas retrouvée chez les contrôles. L'analyse de cette mutation chez 106 patients LLA supplémentaires a permis la détection d'un deuxième porteur. Nous faisons ainsi l'hypothèse d'une implication de la mutation E81V de HOXD4 dans l'apparition des LLA de ces patients.

381 >> Poster n°310

ONCOGÉNÉTIQUE

ASSOCIATION DU GÈNE DE L'ENDOTHÉLINE 1 AU RISQUE DE MÉLANOME

N. Soufir (1), R. Meziani (1), AS. Jeannot (2), A. Bourillon (1), V. Descamps (3), B. Gérard (1), A. Archimbaud (4), L. Ollivaud (4), M. Baccard (4), J. Benessiano (5), G. Lanternier (6), P. Saïaq (7), C. Lebbé (4), N. Basset-Sequin (4), B. Crickx (3), F. Clerget-Darpoux (2), B. Grandchamp (1)

(1) Laboratoire de Biochimie Hormonale et Génétique, Hôpital Bichat-Claude Bernard, Paris

(2) Unité d'Epidémiologie Génétique INSERM 535, Hôpital Paul Brousse, Villejuif

(3) Service de Dermatologie, Hôpital Bichat-Claude Bernard, Paris

(4) Service de Dermatologie, Hôpital Saint-Louis, Paris, France

(5) Centre d'Investigations Cliniques, Hôpital Bichat Claude Bernard, Paris

(6) Service de Dermatologie, Hôpital Percy, Clamart

(7) Service de Dermatologie, Hôpital Ambroise Paré, Boulogne Billancourt

L'endothéline 1 est une molécule multifonctionnelle jouant un rôle dans le développement, la différenciation cellulaire, la physiologie cardio-vasculaire, ainsi que la cancérogénèse par ses effets mitogénique, anti-apoptotique et

angiogénique. Par ailleurs, l'endothéline 1 a un rôle majeur dans la pigmentation UVB induite: secrétée par les kératinocytes sous l'effet des UV, elle entraîne une prolifération des mélanocytes et une augmentation de production de mélanine.

Dans ce travail, nous avons testé si des polymorphismes du gène EDN1 modulent le risque de mélanome.

Matériels et Méthodes : 144 malades atteints de mélanome et 103 sujets témoins sans antécédents personnels ni familial de cancer cutané ont été génotypés par SnapShot pour 4 polymorphismes bi-alléliques (SNP) du gène EDN1 (InsA +134, IVS1+187, E106E, K198N). Les distributions des génotypes formés par les allèles des 4 SNPs ont été comparées chez les malades et les témoins. Résultats : Les distributions des génotypes sont significativement différentes chez les cas et les témoins ($p = 0.003$). Une analyse approfondie des résultats a permis d'identifier un haplotype associé au risque de mélanome, (absence d'insertion A en -134 homozygote, IVS1+187 hétérozygote, allèle fréquent E106E homozygote, K198N hétérozygote), présent chez 42.5% des malades et 23.8% des témoins ($p=0.0022$, OR = 2.36, IC [1.35 ; 4.14]).

Discussion : Notre étude montre une association significative d'un haplotype du gène EDN1 avec le risque de mélanome. L'insertion de A en -134 a été précédemment montrée associée à l'HTA et ayant un effet fonctionnel (augmentation de la stabilité de l'ARNm et de la quantité de protéine). L'absence de cette insertion sur l'haplotype associé au risque de mélanome pourrait donc contribuer à une diminution de la quantité d'endothéline 1, avec pour effet une diminution de la mélanogénèse UV induite et une moindre photoprotection.

382

ONCOGÉNÉTIQUE

ANOMALIES CHROMOSOMIQUES COMPLEXES CARACTÉRISÉES PAR M-FISH DANS UN CAS D'UN SYNDROME DE SÉZARY.

B. Quilichini (1), H. Zattara (1), F. Casalonga (1), D. Intagliata (1), P. Berbis (2), N. Philip (1)

(1) Département de Génétique, Hôpital Timone, Marseille

(2) Service de Dermatologie, Hôpital Nord, Marseille

Le syndrome de Sézary est un lymphome T cutané de pronostic péjoratif.

Les données cytogénétiques du syndrome de Sézary sont limitées du fait d'un index mitotique bas et d'un faible pourcentage d'infiltration sanguine des cellules malignes. Des anomalies chromosomiques ont été décrites dans 60% des cas, impliquant les chromosomes 1, 2, 6, 9, 10, 14, 15, 17 et 19.

Nous rapportons l'étude cytogénétique d'un cas de syndrome de Sézary survenu chez un homme de 55 ans.

Le caryotype (réalisé après culture de 72 heures et stimulé avec la phytohémaglutinine) révèle des anomalies chromosomiques clonales complexes. Une technique en Multiplex-FISH a été réalisée pour identifier les différents chromosomes marqueurs. Nous avons pu mettre en évidence des anomalies complexes de nombre et de structure concernant les chromosomes 2, 5, 10, 13, 22 et Y. La formule chromosomique est : 45,X,-2,-5,-10,-10,-13,-Y,+mar1,+mar2,+mar3,+mar3,+mar4 .ish ins(2;Y), t(5;10), der(10),-10, der(13)t(10;13) x2, t(5;22).

Dans plus d'un quart des cas publiés, les anomalies chromosomiques observées ne sont pas caractérisées mais classées en chromosomes marqueurs. L'identification par

technique de cytogénétique moléculaire de ces chromosomes marqueurs pourrait permettre de mettre en évidence des anomalies récurrentes spécifiques et ainsi d'être un apport à une meilleure compréhension de la leucémogénèse de ces lymphomes cutanés.

384 >> Poster n°311

ONCOGÉNÉTIQUE

CORRÉLATIONS CLINIQUES, HISTOPATHOLOGIQUES ET CYTOGÉNÉTIQUES DANS 115 TUMEURS DU REIN

F. Casalonga (1), B. Quilichini (1), H. Zattara (1), J.C. Delarozière (2), D. Intagliata (3), L. Daniel (3), E. Lechevallier (4), C. Coulange (4), N. Philip (1)

(1) Département de Génétique, Hôpital Timone, Marseille

(2) Laboratoire de Santé Publique, Faculté de Médecine, Marseille

(3) Laboratoire d'Anatomo-Pathologie, Hôpital Timone, Marseille

(4) Service d'Urologie, Hôpital Salvator, Marseille

Les tumeurs du rein constituent un groupe hétérogène de tumeurs caractérisées par de nombreux types histologiques. La tumeur la plus fréquemment retrouvée est le carcinome à cellules rénales de forme conventionnelle (cellules claires) dans 60 à 80% des cas. Les études histologiques et moléculaires ont permis de classer ces tumeurs en fonction des mécanismes de tumorigénèse. La classification actuellement utilisée est basée sur les caractéristiques génétiques.

Nous rapportons l'étude cytogénétique dans une série de 115 tumeurs du rein (76 carcinomes à cellules rénales de forme conventionnelle, 34 tumeurs tubulopapillaires, 2 carcinomes urothéliaux, 2 angiomyolipomes et un oncocytome). Des anomalies chromosomiques clonales ont été retrouvées dans 68% des cas. 29% des carcinomes à cellules rénales de forme conventionnelle présentent des anomalies de structure. Les tumeurs tubulopapillaires sont caractérisées par des anomalies de nombre (73% de ces tumeurs présentent une hyperdiploïdie) impliquant préférentiellement les chromosomes 7, 12, 16, 17, 20 et la perte du chromosome Y.

Les anomalies chromosomiques ont été évaluées en fonction des indicateurs de pronostic (grade, stade et survie).

389 >> Poster n°312

ONCOGÉNÉTIQUE

CYTOGÉNÉTIQUE CONVENTIONNELLE ET MOLÉCULAIRE MURINE : ÉTUDE DE LA LIGNÉE CDK4 R24C/R24C

K. Moradkhani (1,2), R. Saura (2), P. Dubus (1), L. Taine (1,2)

(1) Laboratoire histologie et pathologie moléculaire des tumeurs, Université Victor Segalen Bordeaux 2, Bordeaux

(2) Service de génétique médicale, CHU Pellegrin Maternité, Bordeaux

La réalisation puis l'analyse de modèles animaux est une approche permettant de mieux comprendre les mécanismes contrôlant la prolifération cellulaire et les anomalies moléculaires impliquées en cancérogénèse. Dans les cellules eucaryotes, le cycle cellulaire est régulé par des complexes protéiques associant principalement une kinase cycline dépendante (Cdk) et une cycline.

Notre travail a porté sur l'étude d'une lignée de souris obtenue par recombinaison homologue avec substitution du gène Cdk4 normal par sa forme mutée Cdk4 R24C. En devenant résistant à l'inhibition exercée par la famille Ink4, le mutant Cdk4 R24C agit in vivo comme un oncogène. Ces

animaux présentent spontanément avec une forte incidence des angiosarcomes. La survenue tardive de ces tumeurs pourrait être corrélée avec des anomalies moléculaires surajoutées. Ainsi cette lignée paraît être un modèle d'intérêt pour tenter d'identifier des mécanismes récurrents participant au développement ou à la progression de ces tumeurs.

Les principales difficultés de cette approche reposent sur les particularités morphologiques des chromosomes de souris, les difficultés d'identification de remaniements chromosomiques complexes retrouvés en pathologie tumorale, et l'obtention de cellules tumorales.

Nous avons montré la faisabilité de l'étude par cytogénétique conventionnelle et M-FISH (Metasystems, Allemagne) des cellules dérivant de la lignée Cdk4 R24C/R24C et avons mis en évidence un der(17) avec une origine 3 du signal ectopique, d'évolution clonale sur un angiosarcome. L'identification d'une anomalie clonale présente sur 100% des métaphases examinées est un élément très encourageant pour notre tentative d'identification de mécanismes récurrents participant au développement ou à la progression de ces tumeurs.

Nous souhaitons compléter l'exploitation du matériel disponible d'autres angiosarcomes ; si le der(17) était retrouvé dans 2 cas ou plus, la démarche qui serait adoptée reposerait sur la caractérisation moléculaire précise de ce der(17) par FISH avec les ADN sélectionnés grâce aux banques murines suivie de l'étude de l'annotation des régions impliquées et la recherche d'un ou plusieurs gènes candidats.

394 >> Poster n°313

ONCOGÉNÉTIQUE

DÉTECTION DE LARGES RÉARRANGEMENTS DU GÈNE BRCA1 PAR PCR QUANTITATIVE EN TEMPS RÉEL.

M. Barrois (1), I. Bièche (2,3), S. Mazoyer (4), MC. Champème (2), B. Bressac-de Paillerets (1), R. Lidereau (2)

(1) Service de Génétique, Institut Gustave Roussy, Villejuif

(2) INSERM E0017/Oncogénétique, Centre René Huquenin, Saint-Cloud

(3) Laboratoire de Génétique Moléculaire - UPRES EA 3618, Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, Université Paris V, Paris

(4) Laboratoire de Génétique, Unité Mixte de Recherche 5641 CNRS, Université Claude Bernard, Lyon

Des mutations germinales des gènes BRCA1 et BRCA2, principalement des mutations ponctuelles ou des délétions/insertions de quelques nucléotides, sont à l'origine de près de 70% des cancers héréditaires du sein et/ou de l'ovaire. Cependant, la fréquence des mutations observées pour le gène BRCA1 est plus basse que celle attendue par les études de liaisons. Cette différence de fréquence serait due à l'existence de réarrangements de grandes tailles (délétions ou duplications d'un ou plusieurs exons), non détectables par les techniques moléculaires classiquement utilisées pour identifier les mutations ponctuelles.

Nous avons développé un outil, basé sur la PCR quantitative en temps réel, permettant le dosage génique (détermination du nombre de copies) de chacun des 23 exons du gène BRCA1. Cette technique fut utilisée pour analyser une série de 91 familles françaises présentant des cancers du sein et de l'ovaire, caractérisées par l'absence de mutations des gènes BRCA1 et BRCA2.

L'analyse de cette première série de familles à haut risque de mutations du gène BRCA1, nous a permis de détecter 7

(7.7%) réarrangements complexes, avec une grande diversité d'altérations (délétions ou duplication d'un ou plusieurs exons).

Ces résultats suggèrent que la PCR quantitative soit une alternative prometteuse à la QMPSF (Quantitative Multiplex PCR of Short Fluorescent Fragments) pour détecter de façon simple et fiable les grands réarrangements du gène BRCA1 ; cet outil est donc utile pour le diagnostic.

403

ONCOGÉNÉTIQUE

EVALUATION DE L'ACTIVITÉ DE LA CONSULTATION D'ONCOGÉNÉTIQUE EN HÉMATOLOGIE DU CHU DE BESANÇON

MA. Collonge-Rame (1), JO. Bay (2), YJ. Bignon (2), JL. Bresson (1), JY. Cahn (4)

(1) Service de Génétique, CHU, Besançon

(2) Unité d'Oncogénétique, Centre Jean Perrin, Clermont-Ferrand

(3) Service d'Hématologie, CHU, Besançon

Objectifs : Des agrégations familiales d'hémopathies malignes touchant la lignée myéloïde et ou lymphoïde sont rapportées. Des agrégations associant hémopathies malignes et tumeurs solides sont également décrites. La survenue de plusieurs cas d'hémopathies malignes dans une famille amène à rechercher une éventuelle prédisposition héréditaire.

Patients et méthode : Nous avons étudié de façon rétrospective les 40 dossiers des patients adressés à la consultation d'oncogénétique en hématologie du CHU de Besançon de janvier 1997 à décembre 2002.

Résultats : 37 sur 40 proposants (32 familles) ont été adressés pour évaluation d'un risque familial d'hémopathies malignes. L'existence d'une prédisposition génétique a pu être éliminée pour 10 familles (31%). 22 agrégations familiales dont 16 (73%) associant uniquement des hémopathies ont été identifiées.

11 agrégations sont spécifiques de lignées cellulaires dont 10 spécifiques de la lignée lymphoïde. Les plus remarquables sont les 3 agrégations de leucémie lymphoïde chronique (LLC) et une agrégation de syndrome myéloprolifératif mixte. 5 agrégations sont spécifiques du tissu hématopoïétique. 6 agrégations associent des tumeurs solides non spécifiques de tissu et des hémopathies malignes mais aucun syndrome de Li-Fraumeni.

Conclusions :

Un risque de prédisposition génétique aux hémopathies malignes a été identifié pour 22 familles. En dehors des LLC familiales, ces agrégations n'entrent pas dans le cadre de syndromes familiaux dûment authentifiés. L'existence de prédispositions familiales aux hémopathies malignes est actuellement établie mais les aspects moléculaires sont peu connus. La mise en évidence de familles reste une étape fondamentale pour la compréhension des différents mécanismes impliqués et la caractérisation de gènes de prédisposition.

431 >> Poster n°314**ONCOGÉNÉTIQUE****ATAXIE-TÉLANGIECTASIE ET PATHOLOGIE MOLÉCULAIRE DU GÈNE ATM**

A. Laugé (1), S. Angèle (2), E. Cavaciuti (3), N. Andrieu (3), J.O. Bay (4), J. Couturier (1), C. Dubois d'Enghien (1), L. Deneux (5), J. Hall (2), D. Stoppa-Lyonnet (1)

(1) Service de Génétique Oncologique, Institut Curie, Paris

(2) Groupe de la Réparation de l'ADN, CIRC, Lyon

(3) Service de Biostatistiques/Inserm, Institut Curie, Paris

(4) Unité de transplantation médullaire et Laboratoire d'oncologie moléculaire, Centre Jean Perrin, Clermont-Ferrand

(5) Service de Biochimie, Institut Curie, Paris

L'Ataxie-Télangiectasie (AT) est une maladie récessive de l'enfant caractérisée par une ataxie cérébelleuse dégénérative, des télangiectasies cutanées ou muqueuses, un déficit immunitaire et un risque augmenté de cancer. Le gène ATM est responsable de la très grande majorité des cas d'AT. Localisé en 11q22-23, ATM est composé de 66 exons dont 62 sont codants et produit un transcrit de 13 Kb codant pour une protéine de 3.056 acides aminés.

Nous avons étudié 123 cas d'AT ou de suspicion d'AT présentant au moins 1 des 5 critères ou groupe de critères diagnostiques de la maladie : (1) ataxie cérébelleuse, apraxie oculo-motrice, (2) déficit immunitaire clinique ou biologique, (3) télangiectasies, (4) augmentation de l'alphafœtoprotéine sérique, (5) caryotype présentant des remaniements spontanés des chromosomes 7 et 14. La détection des mutations a été menée avec une succession de techniques basées sur l'étude de l'ARN extraits de lignées lymphoblastoïdes (PTT, REF, FAMA, DHPLC, séquençage direct) puis sur ADN génomique (séquençage direct). Sur les 145 mutations détectées, 122 étaient tronquantes (84 %) et 23 des faux-sens (16 %).

Afin d'estimer la sensibilité des analyses, nous avons retenu les 76 cas pour lesquels 4 ou 5 critères diagnostiques étaient présents. Sur les 135 mutations attendues (prise en compte de la consanguinité des parents), 109 mutations ont été détectées, permettant de retenir que notre sensibilité de détection est de l'ordre de 81 %.

La synthèse de ces résultats va nous permettre par ailleurs de définir la place des différents critères pour le diagnostic d'AT.

455 >> Poster n°315**ONCOGÉNÉTIQUE****SYNDROME MYÉLOPROLIFÉRATIF AVEC ÉOSINOPHILIE ASSOCIÉ À UNE NOUVELLE TRANSLOCATION (5;12)**

C. Goumy (1), L. Simon (2), B. Perissel (1), P. Minard (3), A. Itoua Ngaporo (2), P. Vago (1)

(1) Cytogénétique Médicale, Faculté de Médecine, CHU Clermont-Ferrand

(2) Hématologie Biologique, CH Moulins

(3) Médecine interne, CH Moulins

Une éosinophilie peut être observée dans 2 types d'hémopathies : d'une part les syndromes hyperéosinophiliques idiopathiques, où elle reflète un processus réactionnel, paraclonal ; d'autre part, les leucémies à éosinophiles, beaucoup plus rares et authentifiées uniquement par des anomalies caryotypiques. Quelques rares anomalies de structure ont été décrites chez des patients atteints de syndromes myéloprolifératifs avec

éosinophilie. Parmi elles, la t(5;12)(q33;p13) entraînant la formation du gène de fusion PDGFRb / ETV6 (TEL) est souvent retrouvée. D'autres translocations ont été rapportées, fusionnant PDGFRb avec différents partenaires (H4, HIP1, CEV 14, Rab5), toujours dans un contexte d'hyperéosinophilie sanguine et médullaire.

De plus, il a été récemment décrit une t(5;12)(q33;q22) dans laquelle le gène BTG1, localisé en 12q22 activerait par fusion son partenaire ETV6 (TEL).

Nous rapportons ici le cas d'un patient avec un syndrome myéloprolifératif associé à une hyperéosinophilie et à une t(5;12)(q33;q24) inhabituelle de part son point de cassure en 12q24. Le caryotype médullaire retrouvait l'anomalie dans 12 mitoses sur 20. La translocation a été confirmée par FISH à l'aide des sondes WCP 5, WCP 12, et LSI 5q33-34. La formule chromosomique proposée est donc : 46,XY,ish t(5;12)(q33;q24)(WCP5+, WCP12+, LSI5q33-34+)[12]/46,XY[8].

Une étude récente portant sur 205 patients atteints de myélofibrose avec métaplasie myéloïde a retrouvé de nombreux remaniements impliquant cette région 12q24 et suggère la présence d'un proto-oncogène pouvant être responsable de la leucémogénèse. Afin de mieux comprendre le mécanisme d'un tel syndrome à la fois myéloprolifératif et myélodysplasique, il serait intéressant d'aller plus loin dans la recherche d'un éventuel nouveau partenaire du gène PDGFRb.

481 >> Poster n°316**ONCOGÉNÉTIQUE****LINITE RECTALE, CANCER GASTRIQUE DIFFUS HÉRÉDITAIRE ET FENTE LABIO-PALATINE**

T. Frébourg (1), P. Hochain (2), A. Hédouin (1), V. David (3), M. Blayau (3)

(1) Service de Génétique, CHU de Rouen

(2) Centre Médico-chirurgical du Cèdre, Bois-Guillaume

(3) Laboratoire de Génétique Moléculaire et Hormonologie, CHU Hôpital, Pontchaillou, Rennes

Le cancer gastrique diffus héréditaire, résultant de mutations du gène de la cadhérine E (CDH1), est un cancer particulièrement agressif et difficile à prendre en charge, puisque, chez les porteurs de mutations, la normalité de la gastroscopie et des biopsies systématiques ne permet pas d'exclure la présence de cellules malignes. Nous rapportons le cas d'une famille remarquable par sa présentation. Le cas index fut pris en charge à 23 ans pour une sténose circonférentielle étendue du bas rectum réalisant un tableau de linite rectale. Le père du cas index avait développé à 48 ans un cancer gastrique diffus, le grand-père paternel était décédé à 36 ans d'un cancer gastrique et une tante paternelle avait développé à 45 ans un cancer du sein. La survenue d'épigastralgies chez une cousine paternelle du cas index, âgée de 22 ans, a conduit, vu le contexte, à la réalisation d'une gastroscopie et de biopsies systématiques qui ont révélé un cancer gastrique diffus. L'analyse du gène CDH1 a permis d'identifier une mutation d'épissage (531+2 T/A, intron 4). Fait remarquable, le cas index et sa cousine germaine, atteints de cancer, présentaient une fente labio-palatine. Si cette association peut être fortuite, compte-tenu de l'incidence de la fente dans la population, il est possible que la fente puisse résulter, dans cette famille, de la mutation du gène CDH1. En effet, comme l'ont montré les modèles murins, la cadhérine E, protéine d'adhésion cellulaire, semble jouer un rôle important dans la fermeture de la voûte palatine au cours de l'embryogenèse.

512 >> Poster n°317

ONCOGÉNÉTIQUE

**INTÉRÊT DE L'ANALYSE DES POLYMORPHISMES EN
DÉSÉQUILIBRE DE LIAISON POUR LA DÉTECTION DE
RÉARRANGEMENTS GÉNOMIQUES DE BRCA1**

A. Hardouin (1), D. Vaur (1), J.J. Baumann (1), G. Roussel (1), S. Krieger (1), C. Dugast (2), A. Lortholary (3), T. Frebourg (4), P. Berthet (5)

(1) Laboratoire de Biologie clinique et Oncologique, CRLCC François Baclesse, Caen

(2) Consultation d'oncogénétique, Centre Eugène-Marquis et CHU de Rennes

(3) Consultation d'oncogénétique, CRLCC Paul Papin, Angers

(4) Service de Génétique, CHU de Rouen

(5) Consultation d'oncogénétique, CRLCC François Baclesse, Caen

Plus d'une dizaine de polymorphismes ont été décrits dans le gène BRCA1. Dans notre étude de recherche de mutations de BRCA1 par criblage en DHPLC, 8 polymorphismes distribués sur une grande partie du gène (IVS8-61, 2430T/C, 2731T/C, 3232A/G, 3667A/G, 4427T/C, 4956A/G, IVS18+66G/A) sont apparus en très fort déséquilibre de liaison chez nos 248 proposantes testées. L'analyse des 2 haplotypes majeurs formés par ces polymorphismes a été utilisée pour repérer des régions de BRCA1 éventuellement touchées par des grandes délétions. Cette approche a pu être appliquée aux 99 patientes hétérozygotes (soit 40% des cas) parmi les 248 proposantes testées. Parmi les 99 patientes hétérozygotes, une seule patiente était apparemment homozygote pour les polymorphismes IVS8-61delT, 2430T/C, 2731C/T, 3232A/G, 3667A/G, 4427T/C situés dans les exons 9,11 et 13 alors qu'elle était hétérozygote pour les polymorphismes 4956A/G, IVS18+66G/A situés dans les exons 16 et 18. La recherche de réarrangement de grande taille permis de mettre en évidence une délétion génomique hétérozygote emportant les exons 8 à 13 de BRCA1 chez cette patiente. L'histoire familiale de cette patiente n'était pas très évocatrice d'une prédisposition héréditaire au cancer du sein et de l'ovaire, car il s'agissait d'une présentation sporadique sans antécédents familiaux, le seul argument clinique en faveur de la prédisposition étant la survenue d'un cancer du sein bilatéral l'un à 35 ans et l'autre à 60 ans. Cette observation démontre que la détection dans le gène BRCA1 d'une hémizygotie partielle de ces polymorphismes en déséquilibre de liaison doit faire systématiquement rechercher une délétion génomique hétérozygote.

INDEX des Posters

Liste des communications présentées lors du congrès sous forme de posters

CONSEIL GENETIQUE & PROBLEMES ETHIQUES

- 108 >> Poster n°1 Transmission paternelle d'une forme congénitale de myotonie de Steinert, un piège pour le conseil génétique.
 216 >> Poster n°2 Calculs de risque pour la mucoviscidose. Outils informatiques.
 308 >> Poster n°3 Réflexion éthique et analyse des pratiques dans le cadre du diagnostic prénatal.
 338 >> Poster n°4 Conséquences familiales du diagnostic d'adrénoleucodystrophie chez une conductrice isolée.
 346 >> Poster n°5 Contribution de l'étude de l'inactivation de l'X dans le retard mental lié à l'X.
 485 >> Poster n°6 Recherche de corrélations génotype-phénotype dans la neurofibromatose de type 2.

FOETOPATHOLOGIE ET DIAGNOSTIC PRÉNATAL

- 5 >> Poster n°7 Monosomies partielles du chromosome 13: Etude fœtopathologique et cytogénétique (A propos de 6 cas).
 19 >> Poster n°8 Vers un meilleur dépistage prénatal de la mucoviscidose.
 24 >> Poster n°9 Expérience nancéenne de la QF-PCR appliquée au diagnostic prénatal chromosomique.
 29 >> Poster n°10 Amplification génique et surexpression du gène c-erbB2 : intérêt dans la maladie trophoblastique. A propos d'un cas d'avortement spontané du premier trimestre.
 57 >> Poster n°11 Omphalocèle géante et syndrome de Prune-Belly, forme fœtopathologique d'un syndrome de Beckwith Wiedemann.
 58 >> Poster n°12 Devenir des hygromas cervicaux dépistés au premier trimestre de la grossesse, en région Champagne Ardenne.
 73 >> Poster n°13 Calcifications viscérales fœtales et prélèvements prénataux : association fortuite ou relation causale?.
 89 >> Poster n°14 Diagnostic prénatal d'une maladie de surcharge en acide sialique libre (ISSD : Infantile Sialic Acid Storage Disease).
 99 >> Poster n°15 FISH (Hybridation in situ en fluorescence) et diagnostic de tétraploïdie sur produits de fausses couches spontanées du 1er trimestre.
 106 >> Poster n°16 Diagnostic prénatal de trisomie 6 en mosaïque.
 121 >> Poster n°17 Polymicrogyrie Périssylvienne Congénitale: Diversité étiologique et hétérogénéité génétique. Etude de 5 observations anatomo-cliniques..
 129 >> Poster n°18 Dysplasie acineuse congénitale partielle du poumon : 3 observations.
 131 >> Poster n°19 Diagnostic prénatal précoce d'un syndrome de Larsen récidivant.
 132 >> Poster n°20 MALADIES KYSTIQUES RENALES A REVELATION FŒTALE ET NEONATALE : ETUDE FŒTOPATHOLOGIQUE DE 54 CAS.
 142 >> Poster n°21 Délétion terminale du bras long du chromosome 10. À propos de deux nouveaux cas manifestés par une uropathie obstructive anténatale..
 159 >> Poster n°22 Etude par FISH de la distribution d'une trisomie 7 en mosaïque et détermination de son origine parentale et méiotique par quantification allélique.
 165 >> Poster n°23 Monosomie 21q et Séquence Akinésie Fœtale.
 193 >> Poster n°24 Dysplasie spondylo-épiphysaire congénitale : Un diagnostic anténatal réalisable ?.
 203 >> Poster n°25 Diagnostic prénatal d'une épidermolyse bulleuse congénitale associée à une atrésie pylorique: forme léthale en rapport avec un déficit en plectine.
 206 >> Poster n°26 L'ADN foetal circulant dans le sérum maternel provient des cellules cyto- et/ou syncytio-trophoblastiques.
 209 >> Poster n°27 Un nouveau signe d'appel cardiaque de la trisomie 21 ?.
 221 >> Poster n°28 Phénotype foetal du syndrome de Pallister-Killian : Etude clinique à partir de 53 observations..
 247 >> Poster n°29 Diagnostic fœtopathologique d'un syndrome de Marfan néonatal révélé par un tableau d'akinésie fœtale.
 256 >> Poster n°30 HYPERGLYCINEMIE SANS CETOSE: DU DIAGNOSTIC ENZYMATIQUE AU DIAGNOSTIC MOLECULAIRE.
 288 >> Poster n°31 Diagnostic prénatal d'une t(8;11)(q24.1;qter) avec rétention de la sonde subtélomérique du 11q..
 302 >> Poster n°32 Syndrome orofaciodigital avec dysgénésie cérébrale.
 322 >> Poster n°33 Hyper Clarté nucale du Premier Trimestre révélant une dysplasie campomélique variante.
 325 >> Poster n°34 Diagnostic prénatal d'une délétion intercalaire du chromosome 1 del1(q23q25).
 361 >> Poster n°35 Les môles hydatiformes et les cancers post-molaires. Un modèle pour l'étude du phénomène "d'empreintes parentales".
 364 >> Poster n°36 Une cause inhabituelle d'hydrocéphalie anténatale: l'hamartome glioneuronal de l'aqueduc de Sylvius.
 424 >> Poster n°37 Etude prospective du devenir des fœtus porteurs d'hygroma colli vus au Centre de Diagnostic Prénatal du CHU d'Amiens entre avril 1993 et décembre 2002.
 441 >> Poster n°38 Diagnostic de l'hydrocéphalie liée à l'X : des critères morphologiques au diagnostic moléculaire.
 460 >> Poster n°39 Diagnostic prénatal d'une trisomie partielle pure 17p13 : à propos d'un cas.
 462 >> Poster n°40 Syndromes récurrents létaux en fœtopathologie.
 468 >> Poster n°41 Récurrence d'un nanisme léthal de type hypophosphatasie probable, avec présence de spicules osseuses métaphysaires..
 493 >> Poster n°42 Manifestations inhabituelles du Syndrome de Smith-Lemli-Opitz : à propos de deux observations.
 496 >> Poster n°43 Etude d'un gène candidat dans le syndrome "Tétra-amélie et hypoplasie pulmonaire".
 499 >> Poster n°44 Génotypage RHD foetal par analyse du sérum maternel: deux ans d'expérience.

- 500 >> Poster n°45 Méthode de standardisation de la quantification de l'ADN fœtal dans le sang maternel et dépistage des anomalies chromosomiques foetales : étape préliminaire à une étude multicentrique.
- 503 >> Poster n°46 Absence de mutation ponctuelle du gène PTPN11 (syndrome de Noonan) chez 13 foetus à clarté nucale augmentée
- 516 >> Poster n°47 Diaphanospondylodysostose : Confirmation d'une affection récessive avec anomalie de l'ossification des vertèbres et néphroblastomatose.
- 521 >> Poster n°48 Diagnostic antenatal de micromélie sévère : Chondrodysplasie ponctuée de type Conradi-Hünemann-Happle.

GÉNÉTIQUE CHROMOSOMIQUE

- 27 >> Poster n°49 Recherche de remaniements subtélomériques par technique de FISH chez 91 patients avec retard mental.
- 76 >> Poster n°50 Caractérisation cytogénétique et moléculaire d'une délétion terminale du bras court du chromosome 1 de très petite taille : à propos d'une observation.
- 90 >> Poster n°51 Duplication 17p11.2-recombinaison homologue réciproque à la microdélétion du syndrome de Smith-Magenis : hétérogénéité clinique ?.
- 93 >> Poster n°52 Screening multitélomérique chez les patients avec RM/ACM : les remaniements cryptiques du chromosome 1 sont-ils plus fréquents que ceux des autres chromosomes ?.
- 97 >> Poster n°53 Un cas de translocations multiples chez une fillette atteinte de dystrophinopathie et de retard mental..
- 98 >> Poster n°54 Deux cas de petits chromosomes surnuméraires très inhabituels : 47,XY,+mar.ish der(17)(D17Z1+, SMCR-).
- 118 >> Poster n°55 Etude de l'équipement chromosomique des spermatozoïdes d'un homme avec un caryotype 46,XY,t(9;22)(q21;q11.2) par FISH multi couleurs.
- 123 >> Poster n°56 Récurrence de dysraphie du système nerveux central associée à une translocation cryptique (3;5)(q28;p14) parentale.
- 134 >> Poster n°57 Etude cytogénétique avec FISH multitélomérique d'une population de 32 patients retardés mentaux sévères
- 138 >> Poster n°58 DELETION INTERCALAIRE DU BRAS COURT DU CHROMOSOME 10.
- 157 >> Poster n°59 Evaluation du taux d'aneuploidie et de diploidie chez des hommes infertiles avec anomalies du caryotype et/ou anomalie du sperme..
- 161 >> Poster n°60 Monosomie 2q12q14.3 pure par ins(9;2)(p12;q12q14.3)pat. Rôle des duplons ?.
- 164 >> Poster n°61 Caractérisation moléculaire d'une inversion-duplication du bras court du chromosome 8.
- 181 >> Poster n°62 Anneau du chromosome 6. Neocentromère ou fission centromérique ?.
- 194 >> Poster n°63 Coexistence d'une microdélétion subtélomérique 8p homogène dans le sang et d'un remaniement du 8 en mosaïque dans les fibroblastes.
- 196 >> Poster n°64 Analyse cytogénétique de la ségrégation méiotique dans les spermatozoïdes d'un remaniement chromosomique complexe par hybridation in situ fluorescente.
- 197 >> Poster n°65 Syndrome dysmorphique, craniosténose, retard de croissance et hyperthyroïdie de type pseudo-Basedow chez un patient porteur d'une délétion intercalaire 14q32.1.
- 219 >> Poster n°66 Triplique 15q11-q13 d'origine paternelle : Un phénotype spécifique ?
- 261 >> Poster n°67 Récurrence d'holoprosencéphalie secondaire à un remaniement chromosomique parental de petite taille.
- 270 >> Poster n°68 Néphroblastome bilatéral multinodulaire et translocation réciproque équilibrée t(1 ; 2)(q31 ; q32) de novo : Analyse par cytogénétique moléculaire chez un sujet déficient mental..
- 272 >> Poster n°69 Syndrome de Willi-Prader par disomie uniparentale du chromosome 5, inv dup(15) et trisomie 15 en mosaïque.
- 275 >> Poster n°70 Pratique en francophonie de l'étude des régions subtélomériques : résultats - année 2003 - de l'enquête ACLF.
- 280 >> Poster n°71 Trisomie 20p partielle par recombinaison d'une inversion péricentrique d'origine maternelle.
- 281 >> Poster n°72 Estimation du risque de déséquilibre gamétique chez les patients porteurs d'une translocation robertsonienne t(13;14)..
- 282 >> Poster n°73 Analyse du premier globule polaire chez les couples en échec d'implantation (transfert de plus de 10 embryons sans grossesse)..
- 292 >> Poster n°74 Trisomie 14q partielle : à propos de 5 observations.
- 311 >> Poster n°75 Microdeletion 10q23, incluant le locus PTEN dans deux cas de syndrome de Bannayan-Riley-Ruvalcaba sévères.
- 334 >> Poster n°76 Description de trois enfants porteurs d'une translocation familiale déséquilibrée impliquant les extrémités 10q26 et 15q26.
- 345 >> Poster n°77 Remaniement intrachromosomique de novo entraînant une duplication 20p pure.
- 352 >> Poster n°78 MLS syndrome : à propos de quatre nouvelles observations.
- 369 >> Poster n°79 Localisation cytogénétique des gènes des fucosyltransférases: intérêts de l'étude comparative oiseau/homme..
- 370 >> Poster n°80 Délétion partielle de la région 11p11.2 impliquée dans le syndrome de Potocki-Shaffer et phénotypie du syndrome de Prader Willi.
- 445 >> Poster n°81 Caractérisation rapide de délétions par QMPSF chez deux patients non apparentés présentant un syndrome de gènes contigus en Xp21.
- 448 >> Poster n°82 Translocation déséquilibrée en mosaïque chez un enfant avec retard mental et polydactylie pré-axiale.
- 456 >> Poster n°83 Difficultés d'interprétation cytogénétique devant la découverte d'un marqueur chromosomique surnuméraire en mosaïque : intérêt de la CGH ?.
- 459 >> Poster n°84 Syndrome d'aneuploïdies variées en mosaïque : à propos d'un cas.
- 466 >> Poster n°85 Caractérisation moléculaire d'une délétion 14q23q31.1 chez un patient au phénotype évocateur de syndrome de Holt-Oram.
- 477 >> Poster n°86 Duplication/délétion 5p de novo et cri du chat sans autre signe clinique du CDC syndrome.
- 487 >> Poster n°87 Apport des sondes en contig pour le diagnostic pré implantatoire des translocations robertsoniennes.

- 506 >> Poster n°88 Etude d'une translocation t(X;Y)(p22.3;q11.2) déséquilibrée chez deux garçons non apparentés : Réduction de l'intervalle critique sur le chromosome X et le chromosome Y.
 508 >> Poster n°89 Un nouveau cas d'homme apparemment 45,X avec translocation Y;21.

GÉNÉTIQUE CLINIQUE

- 12 >> Poster n°90 Les délétions partielles du locus DAZ ne sont que rarement impliquées dans la survenue d'une infertilité chez l'homme.
 13 >> Poster n°91 Le syndrome de pseudo-obstruction intestinale chronique lié à l'X. A propos d'un nouveau cas..
 16 >> Poster n°92 Dysplasie spodylo-épi-métaphysaire de type Hall avec sténose laryngée : un nouveau critère diagnostic?..
 17 >> Poster n°93 Deux nouvelles pathologies associées à des mutations de CDMP-1 : dysplasie en aile d'anges et anomalies dentaires..
 36 >> Poster n°94 Analyse moléculaire du gène MECP2 chez 352 patients présentant un retard mental.
 42 >> Poster n°95 Une duplication en tandem d'une partie du gène COL4A5 est la mutation fondatrice responsable de la prévalence élevée du syndrome d'Alport en Polynésie Française.
 59 >> Poster n°96 Déplétion de l'ADN mitochondrial et mutations du gène de la déoxyguanosine kinase.
 62 >> Poster n°97 Syndrome d'Aicardi Goutières: première observation de récurrence diagnostiquée en anténatal par imagerie et biochimie.
 72 >> Poster n°98 Etude de la représentation des actions routinières dans la maladie de Huntington.
 79 >> Poster n°99 Expression très variable du syndrome de Joubert dans une même famille.
 82 >> Poster n°100 Hétéroplasie osseuse progressive associée à une mutation de novo du gène GNAS1.
 83 >> Poster n°101 Encéphalopathie convulsivante précoce sévère avec déficit en NAGA : cause ou découverte fortuite?..
 84 >> Poster n°102 Anomalies neurologiques du syndrome de Costello.
 96 >> Poster n°103 Mosaic trisomy 22 in a malformed newborn female.
 103 >> Poster n°104 Syndrome alpha thalassémie - retard mental lié à l'X (ATR-X) : une nouvelle mutation identifiée ou un phénotype qui ne trompe pas.
 104 >> Poster n°105 Fièvre méditerranéenne familiale : confrontation du diagnostic clinique au diagnostic moléculaire et proposition d'un nouveau set de critères cliniques de diagnostic..
 135 >> Poster n°106 Démographie des jeunes généticiens.
 136 >> Poster n°107 Syndrome de Silver Russel par disomie uniparentale maternelle.
 149 >> Poster n°108 Syndrome de Costello : étude clinique et anthropométrique.
 175 >> Poster n°109 Syndrome de Weill-Marchesani-like ou syndrome GEMSS.
 190 >> Poster n°110 Syndrome de Cohen : diversité du phénotype chez 3 patients avec mutations du gène COH1.
 192 >> Poster n°111 Leuconychie totale et kystes sébacés : coségrégation sur 5 générations dans une nouvelle famille..
 200 >> Poster n°112 Syndrome de Simpson Golabi Behmel : Analyse clinique fine de sujets porteurs d'une mutation du gène GPC3.
 217 >> Poster n°113 Polymalformation et Embryofœtopathie au Valproate.
 223 >> Poster n°114 Association d'une dystrophie musculaire des ceintures avec calpainopathie et syndrome d'insulino-résistance.
 229 >> Poster n°115 Analyse détaillée d'une famille atteinte de maladie de Günther comportant une patiente homozygote mutée asymptomatique.
 230 >> Poster n°116 Syndrome du QT Long congénital : relation génotype-phénotype dans la période néonatale.
 232 >> Poster n°117 Atteinte oro-laryngée dans la neurofibromatose : à propos d'un cas..
 234 >> Poster n°118 Intérêt de l'échographie de la peau dans le diagnostic non-invasif de neurofibromes présentant un aspect de «taches bleutées»..
 235 >> Poster n°119 Les mutations du gène FOXL2 dans le syndrome BPES.
 238 >> Poster n°120 Amylose cutané-viscérale de Moulin avec mutation du gène de l'apolipoprotéine A1.
 239 >> Poster n°121 De nouvelles mutations récurrentes dans les déficits de la chaîne respiratoire mitochondriale.
 248 >> Poster n°122 Forme infantile précoce de la maladie de Steinert: une nouvelle entité clinique ?..
 284 >> Poster n°123 Microcéphalie, petite taille, hypogonadisme et retard mental chez l'homme mâle: le syndrome de Renpenning.
 287 >> Poster n°124 Mutation du gène ARX chez un garçon atteint de retard mental associé à une encéphalocèle transsphénoïdale, à une agénésie du corps calleux et à un déficit hypophysaire partiel..
 289 >> Poster n°125 Expression clinique des porteuses symptomatiques de mutations du gène EMD. A propos de 4 cas..
 291 >> Poster n°126 Variation phénotypique des mutations du récepteur 1 au FGF : syndrome de Kallmann.
 294 >> Poster n°127 Dystrophinopathie de révélation néonatale chez un garçon porteur d'un remaniement du chromosome X.
 306 >> Poster n°128 Spectre clinique et génétique des laminopathies. L'expérience du réseau européen EUROMEN.
 314 >> Poster n°129 CDG Ia : impact des isolats de population, pronostic à l'âge adulte, variabilité intrafamiliale. Enseignements de l'observation de cousines germaines originaires de Franche-Comté.
 319 >> Poster n°130 Syndrome de Usher : de la génétique à la physiopathologie.
 331 >> Poster n°131 Variabilité génétique et phénotypique du syndrome de Brugada.
 335 >> Poster n°132 Syndrome Oto-Palato-Digital chez 2 garçons non apparentés.
 348 >> Poster n°133 Les hyperinsulinismes : maladies hétérogènes sur le plan génétique.
 350 >> Poster n°134 Amyotrophie spinale distale autosomique récessive liée au 11q13 (Chronic DSMA): mise en évidence d'un déséquilibre de liaison dans la population européenne et localisation fine en 11q13.3.
 356 >> Poster n°135 Etude moléculaire et phénotypique de 54 cas de neutropénies congénitales sévères du Registre Français des Neutropénies.
 358 >> Poster n°136 Unidisomie parentale en 11p15 en mosaïque du côté d'une hémihypertrophie corporelle gauche chez un garçon ayant présenté un kyste surrénalien du même côté dans la période anténatale.
 366 >> Poster n°137 Atteinte multi-viscérale du diabète de type MODY5 associé à des mutations du gène codant pour le facteur HNF-1beta (hepatocyte nuclear factor-1beta)..
 380 >> Poster n°138 Dystrophie musculaire congénitale avec retard mental et anomalie de la glycosylation de l'alpha-dystroglycane.
 393 >> Poster n°139 Le Syndrome de Cornélia de Lange. A propos de cinq observations.

- 405 >> Poster n°140 Etude de 30 cas de retards mentaux inexplicés par les sondes subtélomériques.
 413 >> Poster n°141 Une nouvelle leucoencephalopathie vasculaire héréditaire de transmission dominante autosomique caractérisée par l'association leucoaraïose, hémiplégie infantile, et malformation d'Axenfeld-Rieger.
 416 >> Poster n°142 Myasthénie congénitale par mutation du gène CHRNE.
 420 >> Poster n°143 Profil neurodéveloppemental du déficit en succinique semialdéhyde deshydrogénase.
 422 >> Poster n°144 LE GENE SPG3a est fréquemment impliqué dans les paraparésies spastiques autosomiques dominantes.
 429 >> Poster n°145 Première description en France d'un patient présentant une maladie de Creutzfeldt-Jakob associée à la mutation V180I de PRNP.
 430 >> Poster n°146 Une mutation nouvelle du gène de la protéine prion (PRNP) dans une maladie de Creutzfeldt-Jakob familiale.
 437 >> Poster n°147 Le syndrome de Lujan-Fryns : discussion sur la variabilité phénotypique et les critères de diagnostic à propos d'une famille de six patients et de la revue de la littérature..
 463 >> Poster n°148 Syndrome d'Ehlers-Danlos vasculaire : critères diagnostiques, complications viscérales et rationnel pour un essai thérapeutique.
 467 >> Poster n°149 Un programme de dépistage du département de génétique de Necker dans une cohorte d'adolescents et de jeunes adultes porteurs de maladies psychiatriques.
 470 >> Poster n°150 Etude du phénotype comportemental, cognitif et biologique dans le syndrome de Williams-Beuren
 474 >> Poster n°151 Démence fronto-temporale autosomique dominante associée à la mutation PRO301LEU du gène TAU : description d'une famille avec un cas anatomo-pathologique.
 478 >> Poster n°152 Correction pharmacologique d'un déficit en CPT2 dans les myoblastes de patients: effets comparés de différents agonistes des PPAR.
 491 >> Poster n°153 Etude clinique et génétique du syndrome de Sotos dans une série de 25 patients.
 494 >> Poster n°154 Une myotonie autosomique dominante avec démence fronto-temporale non DM1, non DM2 : phénotype et implication du locus DM3 sur le chromosome 15q21-24..
 504 >> Poster n°155 Mutations des gènes NPHP1 et NPHP4 a dans la néphronoptise juvénile.
 511 >> Poster n°156 Un nouveau cas de syndrome de Malpuech dans une famille consanguine.
 514 >> Poster n°157 Tétrasonomie 15q1 : A propos d'une observation marocaine..
 527 >> Poster n°158 Un cas de multi-déficit en facteurs vitamine K-dépendants hétérozygote composite pour le gène de la gamma-glutamyl carboxylase.

GÉNÉTIQUE ÉPIDÉMIOLOGIQUE

- 80 >> Poster n°159 Screening moléculaire systématique du gène MECP2 dans une cohorte de 612 patients atteints de retard mental sans expansion trinuécléotidique au locus FRAXA.
 101 >> Poster n°160 L'allèle E148Q du gène MEFV n'est pas impliqué dans la fièvre méditerranéenne familiale.
 112 >> Poster n°161 Nouvelles données épidémiologiques de l'hémochromatose héréditaire.
 144 >> Poster n°162 Anomalies héréditaires du globule rouge dans la population Tunisienne:hétérogénéité moléculaires et diversité des origines..
 148 >> Poster n°163 Porphyries Hépatiques Aiguës et métabolisme lipidique.
 163 >> Poster n°164 Variation du risque de cancer du sein en fonction de la nature de la mutation du gène ATM : étude familiale rétrospective.
 169 >> Poster n°165 Absence du rôle du triplet CAG du gène POLG dans l'infertilité masculine : résultats d'une étude collaborative.
 336 >> Poster n°166 Epidémiologie moléculaire du gène RHD en Bretagne : implications transfusionnelles.
 419 >> Poster n°167 Effets modificateurs du gène MC1R, des nævus atypiques et des coups de soleil sur la pénétrance du gène CDKN2A dans des familles françaises à cas multiples de mélanome..
 492 >> Poster n°168 Utilisation de phylogénies d'haplotypes pour la détection de facteurs génétiques de risque.
 526 >> Poster n°169 Fréquences et Effets fondateurs de mutations dans les gènes LMNA et GDAP1 impliqués dans les formes Axonales Autosomiques Récessives de la maladie Charcot-Marie-Tooth (CMT-AR) dans le bassin méditerranéen..
 14 >> Poster n°170 Holoprosencéphalie : Bilan de l'étude moléculaire effectuée au CHU de Rennes.
 15 >> Poster n°171 Le mini-séquençage : vers une autre approche du diagnostic préimplantatoire des maladies monogéniques.
 20 >> Poster n°172 Maladie de Cowden à type de syndrome de Protée. Second événement sous forme de perte d'allèle en mosaïque au locus PTEN..
 22 >> Poster n°173 Mise en place d'une nouvelle technique de criblage du gène dystrophine : le "SCAIP sequencing"..
 25 >> Poster n°174 Homogénéité clinique et hétérogénéité génétique du syndrome de Weill-Marchesani..
 26 >> Poster n°175 Hétérogénéité clinique et génétique du syndrome de Desbuquois..
 31 >> Poster n°176 Identification d'un nouveau locus responsable d'ataxie spinocérébelleuse héréditaire (SCA21): approche gène-candidat.
 39 >> Poster n°177 Identification du premier gène responsable de retard mental isolé autosomique récessif: la Neurotrypsine, une protéine de la famille des protéases à sérine.
 40 >> Poster n°178 Analyse mutationnelle du gène DYSF et spectre phénotypique des dysferlinopathies.
 44 >> Poster n°179 Un modèle prédictif de la sévérité des mutations du gène de la phosphatase alcaline non tissu-spécifique dans l'hyphosphatasie.
 46 >> Poster n°180 Diagnostic préimplantatoire de l'hémophilie A, de l'adrénoleucodystrophie liée à l'X, de l'hydrocéphalie liée à l'X et de l'incontinentia pigmenti par analyse de ségrégation de marqueurs polymorphes en Xq28..
 49 >> Poster n°181 Recherche de mutations mitochondriales chez des familles Tunisiennes atteintes de surdité : mise en évidence d'une mutation dans le gène ND1 chez une famille.
 50 >> Poster n°182 Apport prépondérant de la génétique moléculaire au diagnostic péri-natal de l'acrodermatite entéropathique : cas d'un nourrisson tunisien âgé de 4 mois..
 52 >> Poster n°183 UMD et UMD-central : les outils pour créer et analyser des banques de données de mutations
 53 >> Poster n°184 La même mutation du gène codant pour le récepteur à la ryanodine (RYR2) entraîne différents types de troubles du rythme ventriculaires.

54	>> Poster n°185	Etude de gènes candidats dans le syndrome CAMOS (Cerebellar Ataxia with Mental retardation, Optic atrophy and Skin abnormalities).
63	>> Poster n°186	SLC11A3 : un gène majeur des surcharges en fer dominantes.
81	>> Poster n°187	Etude moléculaire approfondie de la maladie de Rendu-Osler chez les patients sans mutation de la séquence codante des gènes ALK1 et ENG.
91	>> Poster n°188	Retard statural et gène SHOX : variabilité génotypique dans une cohorte de 50 patients.
94	>> Poster n°189	Analyse de WFS1 sur une série de 15 patients suspects d'un syndrome de Wolfram.
102	>> Poster n°190	Des études in vitro démontrent la spécificité tissulaire de la régulation de l'épissage alternatif de l'exon 9 du gène CFTR.
105	>> Poster n°191	Diagnostic moléculaire de la dystrophie myotonique de type 2 (PROMM)..
110	>> Poster n°192	Analyse du mécanisme mutationnel de délétions introniques du gène WNK1, responsables d'une forme mendélienne d'hypertension artérielle.
111	>> Poster n°193	Variations du transcriptome des cellules Caco-2 : un modèle pour la différenciation entérocytaire et l'absorption du fer.
113	>> Poster n°194	Gènes nucléaires impliqués dans la stabilité de l'ADNmt : à propos de cas sporadiques et familiaux..
114	>> Poster n°195	Anomalies des voies de signalisation dans les retards de croissance osseuse liées au gène FGFR3.
122	>> Poster n°196	INFEVERS: Une base de donnée évolutive pour les syndromes autoinflammatoires.
124	>> Poster n°197	Hémophilies et délétions : Diagnostic des conductrices par PCR quantitative en temps réel.
146	>> Poster n°198	Diagnostic des hémophilies A et B par DHPLC et séquençage.
150	>> Poster n°199	Anomalie de distribution des protéines de la myéline périphérique liée à l'insertion d'une protéine PLP/DM20 mutée.
153	>> Poster n°200	Corrélation entre le phénotype clinique, les données métaboliques et le génotype dans les déficits en carnitine palmitoyltransférase 2.
156	>> Poster n°201	Le gène OMGP dans le syndrome autistique: de la cellule aux patients.
158	>> Poster n°202	Localisation d'un locus responsable de myopie forte autosomique dominante sur le chromosome 7q36.3.
162	>> Poster n°203	Dysplasies Ectodermiques Héritaires : une implication significative du gène EDAR.
166	>> Poster n°204	Un phénotype variable lié à une nouvelle mutation du gène PAX 6 (IVS4+5G>C) dans une famille de nystagmus congénital et d'hypoplasie fovéale..
168	>> Poster n°205	Hybridation Génomique Comparative sur microarrays. Etude de la région 17p par puce à ADN chez 25 patients atteints d'un syndrome de Smith-Magenis..
170	>> Poster n°206	Application de la QMPSF pour la détection de grands réarrangements touchant le gène MECP2 chez des patientes présentant un syndrome de Rett.
171	>> Poster n°207	GENATLAS, une base pour l'intégration des données de la biologie et de la médecine à la cartographie..
173	>> Poster n°208	Recherche de remaniement génomique de la région du gène MBP dans les leucodystrophies de cause indéterminée.
180	>> Poster n°209	Variabilité des phénotypes liés à des mutations du facteur d'initiation de la traduction eIF2B et corrélation sévérité / baisse de l'activité GEF de eIF2B.
184	>> Poster n°210	Absence de la protéine Alsin chez les patients présentant une paralysie spastique progressive ascendante de début infantile (IAHSP).
186	>> Poster n°211	Rôle de la protéine BLM au cours de la recombinaison méiotique à travers l'identification de nouveaux partenaires.
189	>> Poster n°212	Localisation, identification et expression du gène responsable du syndrome de Dyggve-Melchior-Clausen.
199	>> Poster n°213	Développement d'un modèle de tauopathies dans la drosophile.
207	>> Poster n°214	Analyse du gène chst6 dans les dystrophies maculaires de la corne.
211	>> Poster n°215	Implication du récepteur de la ryanodine dans les myopathies congénitales.
213	>> Poster n°216	Détection moléculaire des délétions du gène CFTR par PCR multiplex semi-quantitative fluorescente.
214	>> Poster n°217	Génétique de l'hyperthermie maligne.
222	>> Poster n°218	Caractérisation de délétions du gène CBP par PCR quantitative en temps réel et CGH-array
224	>> Poster n°219	L'hémochromatose : une maladie polygénique ?.
225	>> Poster n°220	Recherche du gène responsable de rétinite pigmentaire dans 6 familles.
226	>> Poster n°221	Une nouvelle mutation non sense du gène TfR2, implique dans l'hémochromatose héréditaire de type III, à l'origine d'une surcharge en fer précoce.
227	>> Poster n°222	Une mutation faux-sens dans la neuroligin 4 (NLGN4) est associée avec une déficience mentale liée au chromosome X avec ou sans autisme.
233	>> Poster n°223	Analyse génétique et fonctionnelle des mutations du gène OCRL1.
242	>> Poster n°224	Transmission pseudo-dominante dans les Syndromes Myasthéniques Congénitaux.
243	>> Poster n°225	Sélénopathie: Une nouvelle entité dans les myopathies.
245	>> Poster n°226	Regulation of the PLP gene expression by the transcription factor SOX10.
249	>> Poster n°227	C/EBPbeta-dependent activation of the TNFalpha-inducible expression of MEFV, the gene involved in FMF.
252	>> Poster n°228	Caractérisation fonctionnelle de la mutation p.Q283P du gène de l'hémochromatose héréditaire de type I (HFE) : confirmations expérimentales des prédictions d'une étude structurale in silico.
253	>> Poster n°229	Expression and subcellular localisation of pyrin proteins carrying the most common mutations involved in familial mediterranean fever.
257	>> Poster n°230	Cartographie du locus MYAS1 lié au complexe HLA dans la myasthénie acquise auto-immune avec une hyperplasie du thymus.
259	>> Poster n°231	Extension du phénotype associé aux mutations du gène codant les lamines A/C dans les cardiomyopathies dilatées.
265	>> Poster n°232	L'atrophie optique autosomique dominante associée à une cataracte (MIM 165300) est due à une mutation du gène OPA3.
268	>> Poster n°233	Détection rapide de grands réarrangements génomiques dans le gène CFTR : Approche méthodologique et fréquence..
274	>> Poster n°234	Etude moléculaire des mutations germinales du gène MEN1 dans les séquences consensus d'épissage et en zones introniques chez 18 patients atteints de Néoplasie Endocrinienne Multiple de type 1..
283	>> Poster n°235	Stratégies de mise en place du diagnostic moléculaire du syndrome de Usher.

- 295 >> Poster n°236 Diagnostic génétique des Calpaïnopathies : stratégie moléculaire et analyse d'une série de 15 cas.
- 297 >> Poster n°237 Transfert de gène dans le modèle murin de la maladie de Sandhoff à l'aide de vecteurs lentiviraux.
- 301 >> Poster n°238 LMNA, MTMR2 et GDAP1 : implications dans les formes autosomiques récessives de maladie de Charcot-Marie-Tooth.
- 303 >> Poster n°239 Aplasia of the anterior pituitary and optic nerve coloboma due to an Alu-element insertion in the homeodomain of HESX1.
- 309 >> Poster n°240 Délétion au sein de la région codante de PTPN11 chez un sujet présentant un syndrome de Noonan.
- 312 >> Poster n°241 Diagnostic pré-implantatoire de la mucoviscidose : plus de 90% des couples peuvent être pris en charge..
- 313 >> Poster n°242 Etude moléculaire des gènes Alpha- et Gamma-Sarcoglycane, et du gène de la Cavéoline 3 dans une série de patients atteints de myopathie des ceintures.
- 315 >> Poster n°243 Pathophysiology of syndromic combined pituitary hormone deficiency due to a LHX3 defect.
- 316 >> Poster n°244 Diagnostic génétique de la maladie de von Hippel Lindau par QMPSF (Quantitative Multiplex PCR of Short Fluorescent Fragments).
- 321 >> Poster n°245 Syndrome de Pendred : Analyse du gène PDS et phénotype..
- 324 >> Poster n°246 Recherche de mutation du gène GPC3 dans le syndrome de Simpson Golabi Behmel.
- 332 >> Poster n°247 Diagnostic moléculaire et dépistage néonatal de la mucoviscidose dans le sud de la France: 1) extrême hétérogénéité allélique 2) très faible incidence.
- 337 >> Poster n°248 14 Nouvelles mutations du gène OPA1 dans les Atrophies Optiques Dominantes.
- 359 >> Poster n°249 Caractérisation de la fibrose congénitale des muscles extra-oculaires de type 4 (CFEOM4) et localisation du locus FEOM4 par l'étude d'une translocation équilibrée t(2;13)(q37.3;q12.11).
- 365 >> Poster n°250 Aspects cliniques, biochimiques et moléculaires chez cinq patients présentant un syndrome d'Hyperinsulinisme-Hyperammoniémie.
- 367 >> Poster n°251 Etude du gène KLF8 (ZNF741) dans les retards mentaux liés à l'X.
- 373 >> Poster n°252 Développement d'un nouveau test pour le diagnostic prénatal de l'Incontinentia Pigmenti.
- 383 >> Poster n°253 Indications de l'analyse du gène ARX dans le retard mental lié à l'X : l'expérience du laboratoire de Strasbourg.
- 390 >> Poster n°254 Mutations du gène TNFRSF1A chez des patients présentant un phénotype FMF non expliqué par des anomalies du gène MEFV.
- 391 >> Poster n°255 Le syndrome de Bardet-Biedl : tri-allélisme ou non? Premiers résultats sur une cohorte de 29 familles.
- 392 >> Poster n°256 Gène KCNE3 et paralysies périodiques : un lien remis en cause.
- 396 >> Poster n°257 Délétion de la connexine 30 et mutation de la connexine 26 : Analyse moléculaire et phénotype.
- 400 >> Poster n°258 Organisation du gène humain de la carnitine palmitoyltransférase 1 hépatique (CPT1A) et bases moléculaires et fonctionnelles du déficit en CPT1A..
- 406 >> Poster n°259 Expérience de dix années dans le diagnostic des maladies mitochondriales.
- 409 >> Poster n°260 Mutation M34T du gène GJB2 et surdité ?.
- 410 >> Poster n°261 Recherche de mutations du gène SPG4 chez 296 patients atteints de Paraplégie Spastique Héritaire par la technique de DHPLC..
- 411 >> Poster n°262 Décryptage des variants génétiques des céroïde-lipofuscinoses en France..
- 412 >> Poster n°263 SUSPICION D'UNE ISODISOMIE MATERNELLE PARTIELLE DU CHROMOSOME 7 EN MOSAÏQUE.
- 414 >> Poster n°264 IMPLICATION DE L'HAPLOTYPE IVS8-5T/12TG DANS LES ABSENCES BILATERALES DES CANAUX DEFERENTS CHEZ LES HETEROZYGOTES POUR UNE MUTATION DU GENE CFTR.
- 432 >> Poster n°265 Les dysplasies ectodermiques anhidrotiques dominantes et récessives sont alléliques au locus EDARADD.
- 435 >> Poster n°266 Base de données UMD-LDLR : Analyse moléculaire de 840 mutations du gène du récepteur des LDL.
- 440 >> Poster n°267 Mutant NDUFS3 subunit of mitochondrial Complex I causes Leigh syndrome.
- 442 >> Poster n°268 Délétion partielle du gène NSD1 chez un patient présentant un syndrome de Sotos.
- 446 >> Poster n°269 Identification de nouvelles mutations du gène AIRE chez 3 patients atteints du syndrome PolyEndocrinopathie Autoimmune - Candidose - Dystrophie Ectodermique (APECED).
- 447 >> Poster n°270 Révision moléculaire des dystrophies musculaires progressives de cause inconnue.
- 452 >> Poster n°271 Identification des conductrices par PCR quantitative dans les délétions du gène de l'iduronate sulfatase (maladie de Hunter).
- 464 >> Poster n°272 Une nouvelle méthode de quantification relative de l'expression allélique basée sur l'extension d'amorce et la DHPLC : application au gène MLH1.
- 472 >> Poster n°273 Localisation du gène responsable de l'ataxie cérébelleuse autosomique dominante avec neuropathie sensitive (SCA25) sur le chromosome 2.
- 473 >> Poster n°274 Etude moléculaire de 53 familles de sclérose tubéreuse de Bourneville.
- 475 >> Poster n°275 Les protéines CLDN14 mutées causant la surdité sont incapables de former des jonctions serrées.
- 482 >> Poster n°276 Approche des bases structurales de la maladie de Fabry par modélisation moléculaire..
- 495 >> Poster n°277 Intérêt de la recherche de l'ADN foetal (SRY) dans le sang maternel dans la prise en charge du diagnostic et du traitement prénatal du déficit en 21-hydroxylase.
- 497 >> Poster n°278 PSEUDOXANTHOME ELASTIQUE : SPECTRE DE MUTATIONS DU GÈNE ABCC6 DANS 45 FAMILLES..
- 510 >> Poster n°279 Action bipotentielle de SF1 dans le développement des gonades et des surrénales: à propos d'un cas de dysgénése gonadique sans atteinte surrénale..
- 515 >> Poster n°280 Correction intracérébrale dans le modèle animal de la maladie de Sandhoff à l'aide de vecteurs viraux.
- 519 >> Poster n°281 Recherche du gène de l'alpha-synucléine multicopie par dosage dans 126 familles.
- 522 >> Poster n°282 Des mutations ponctuelles dans les gènes PRKCG et FGF14, responsables d'ataxies spinocérébelleuses !.
- 523 >> Poster n°283 MTMR13, un nouveau gène impliqué dans un syndrome associant Maladie de Charcot-Marie-Tooth et Glaucome juvénile.
- 525 >> Poster n°284 Spondylarthrite ankylosante, recherche de gènes candidats.
- 529 >> Poster n°285 Application de la Résonance des Plasmons de surface à la détection des interactions ADN :ADN. Vers une Puce à ADN diagnostique, « temps réel » et sans marquage fluorescent.
- 530 >> Poster n°286 Analyse moléculaire des déficits en Pyruvate Kinase par DHPLC : bilan de 3 années d'étude.

ONCOGÉNÉTIQUE

- 30 >> Poster n°287 La voie régulée par PGC-1 est impliquée dans la prolifération mitochondriale des tumeurs oncocytaires thyroïdiennes.
- 47 >> Poster n°288 Analyse des facteurs histologiques prédictifs d'une mutation germinale de BRCA1/2 dans le cancer du sein précoce, à partir d'une étude en population..
- 64 >> Poster n°289 Etude de Cohorte Française sur l'Ataxie-Télangiectasie (CoF-AT).
- 65 >> Poster n°290 Trisomie du bras long du chromosome 1 par translocation t(1;22) dans le lymphome de Burkitt : à propos de 2 cas.
- 70 >> Poster n°291 Diagnostic moléculaire des prédispositions héréditaires aux cancers mammaires : comparaison entre pays européens et méditerranéens.
- 75 >> Poster n°292 Recherche de délétions totales du gène APC dans des familles de PAF sans mutation germinale identifiée.
- 85 >> Poster n°293 Etude des délétions géniques (atm et p53) dans les cellules de reed-sternberg de la maladie de hodgkin par technique de pcr sur cellules isolées par micromanipulation.
- 87 >> Poster n°294 Influences des phyto-œstrogènes du soja et du statut œstrogénique sur l'expression d'un panel de gènes interagissant avec les oncosupresseurs BRCA1 et BRCA2 dans des lignées continues mammaires humaines.
- 115 >> Poster n°295 Syndrome de Lynch : Etude clinique et biologique de 90 familles en Alsace.
- 140 >> Poster n°296 Une mutation germinale sur le gène SDHB chez un patient porteur d'un phéochromocytome est un facteur de mauvais pronostic.
- 141 >> Poster n°297 Organisation du réseau national PGL.NET pour la prise en charge clinique et génétique des paragangliomes.
- 220 >> Poster n°298 Four novel heterozygous hMLH1 and hMSH2 germline mutations and one homozygous hMLH1 mutation in hereditary non polyposis colon cancer.
- 236 >> Poster n°299 Recherche de mutations constitutionnelles sur les gènes BRCA : série de 284 patients..
- 240 >> Poster n°300 Mutations germinales des gènes de prédisposition au cancer du sein et/ou des ovaires BRCA1 et BRCA2 dans le Nord-Est de la France..
- 244 >> Poster n°301 BAP1 et cancer du sein.
- 255 >> Poster n°302 Recherche de mutations des gènes BRCA1 et BRCA2 : expérience clermontoise concernant 200 familles de cancers du sein et/ou de l'ovaire..
- 263 >> Poster n°303 Caractérisation d'une large délétion germinale du locus INK4 incluant les gènes p16INK4A, p14ARF et p15INK4B..
- 271 >> Poster n°304 Analyse génétique des cancers ORL.
- 326 >> Poster n°305 Intérêt d'une base de mutations BRCA1 et BRCA2 dans les familles françaises.
- 327 >> Poster n°306 Prédispositions génétiques aux cancers du sein et de l'ovaire : Etude prospective de sujets portant une mutation des gènes BRCA.
- 371 >> Poster n°307 Hétérogénéité des réarrangements du gène MLL dans les leucémies aiguës de l'enfant..
- 376 >> Poster n°308 Recherche d'une perte d'hétérozygotie en 1p et 19q dans les tumeurs gliales: Aide au diagnostic et à la prise en charge thérapeutique des patients..
- 378 >> Poster n°309 Identification de variantes nucléotidiques de gènes HOX dans les leucémies lymphoblastiques aiguës associées à des anomalies du développement.
- 381 >> Poster n°310 Association du gène de l'endothéline 1 au risque de mélanome.
- 384 >> Poster n°311 Corrélations cliniques, histopathologiques et cytogénétiques dans 115 tumeurs du rein.
- 389 >> Poster n°312 Cytogénétique conventionnelle et moléculaire murine : étude de la lignée Cdk4 R24C/R24C.
- 394 >> Poster n°313 Détection de larges réarrangements du gène BRCA1 par PCR quantitative en temps réel..
- 431 >> Poster n°314 Ataxie-télangiectasie et pathologie moléculaire du gène ATM.
- 455 >> Poster n°315 Syndrome myéloprolifératif avec éosinophilie associé à une nouvelle translocation (5;12).
- 481 >> Poster n°316 Linite rectale, cancer gastrique diffus héréditaire et fente labio-palatine.
- 512 >> Poster n°317 Intérêt de l'analyse des polymorphismes en déséquilibre de liaison pour la détection de réarrangements génomiques de BRCA1.