
1^{ÈRES} ASSISES DE GÉNÉTIQUE HUMAINE ET MÉDICALE

**18•19•20 JANVIER 2002
MARSEILLE • PALAIS DU PHARO**

PROGRAMME FINAL

**RÉSUMÉS DES COMMUNICATIONS
ORALES ET AFFICHÉES**

Président d'Honneur du Congrès

Jean-François Mattei

Comité Scientifique

Philippe Jonveaux (Nancy)- Président

Serge Amsellem (Paris)

Mireille Claustres (Montpellier)

Patrice Eydoux (Paris)

Josué Feingold (Paris)

Thierry Frebourg (Rouen)

Dominique Gaillard (Reims)

Didier Lacombe (Bordeaux)

Jean-Louis Mandel (Strasbourg)

Sylvie Manouvrier (Lille)

Anne Moncla (Marseille)

Gilles Thomas (Paris)

Catherine Turleau (Paris)

Christine Verellen (Bruxelles)

Comité Local d'Organisation

Nicole Philip - Présidente

Anne-Marie Capodano

Alain Dessen

Michel Fontés

Nicolas Lévy

Marie-Geneviève Mattei

Michaël Mitchell

Caroline Piquet

Hagay Sobol

Pierre Szepetowski

Laurent Villard

La Fédération des Associations de Génétique Humaine et Médicale

regroupe 7 associations françaises fondatrices.

Président : Arnold Munnich

► Société Française de Génétique Humaine

Président : Josué Feingold

► Collège National des Enseignants et Praticiens de Génétique Médicale

Président : Didier Lacombe

► Association des Cytogénétiens de Langue Française

Président : Philippe Jonveaux

► Association Nationale des Praticiens en Génétique Moléculaire

Président : Michel Goossens

► Groupe de Génétique Médicale des 3^{èmes} Jeudi

Président : Henri Plauchu

► Club de Conseil Génétique de Langue Française

Présidente : Christine Verellen-Dumoulin

► Société Française de Fœtopathologie

Présidente : Catherine Nessman

Vendredi 18 Janvier

	Auditorium Pharo	Amphi Méditerranée	Salle 120
7h30	Inscription et affichage des posters		
8h50	■ Ouverture des Assises		
9h30	■ Génétique des maladies neuromusculaires		
11h30	Pause, visite des stands et des posters		
12h00	■ Communications orales sur sélection des abstracts		
13h00	Déjeuner		● Atelier déjeuner-débat Applied Biosystems
14h30	■ Génétique clinique	■ Génétique moléculaire	■ Foetopathologie
16h30	Pause, visite des stands et des posters		
17h10	■ Conférence d'actualité		
19h00	Accueil par Monsieur le Sénateur-Maire de Marseille, Jean-Claude Gaudin, à l'Hôtel de Ville		

Samedi 19 Janvier

	Auditorium Pharo	Salle 92	Salle 120
8h00	■ Instabilité chromosomique et cancer		
9h50	Pause, visite des stands et des posters		
11h00	■ Communications orales sur sélection des abstracts		
12h30	Déjeuner		● Atelier déjeuner-débat Adgenix
14h00	■ Génétique chromosomique	● Atelier déjeuner-débat Roche Diagnostics	■ Conseil génétique et éthique
16h00	Pause, visite des stands et des posters		
17h00	■ Génétique des maladies infectieuses		
19h00			

Dimanche 20 Janvier

	Auditorium Pharo	Amphi Méditerranée	Salle 120
8h30	■ Génétique du développement		
9h50	Pause et remise des prix posters		
11h00	■ Génétique du développement		
12h20	Clôture du congrès		

- Séances plénières
- Sessions simultanées
- Ateliers

E	• Programme synoptique.....	3
R	• Programme Vendredi	6
I	• Programme Samedi.....	9
A	• Programme Dimanche.....	11
M	• Titres des communications affichées.....	12
M	• Résumé des communications orales	CO 1
O	• Résumés des communications affichées	CO 18
S	• Index des mots-clefs.....	CO 122

7h30-9h00

Inscription et affichage des posters

8h50-9h30

**Auditorium
Pharo**

Ouverture des Assises - Conférence d'accueil

>> **Génétique, nouvelle mythologie et permanence de l'homme.**
Jean-François Mattei

9h30-11h30

**Auditorium
Pharo**

Séance plénière

Génétique des maladies neuromusculaires

Modérateur : Arnold Munnich (Paris)

9h30

• **Les amyotrophies spinales, de la maladie au gène et retour ...**
Suzie Lefebvre (Paris)

10h10

• **Hétérogénéité clinique et génétique des laminopathies**
Gisèle Bonne (Paris)

10h50

• **Hétérogénéité génétique des neuropathies périphériques héréditaires**
Nicolas Lévy (Marseille)

11h30-12h00

Pause, visite des stands et des posters

12h00-13h00

**Auditorium
Pharo**

Séance plénière

Communications orales

Modérateurs : Philippe Jonveaux (Nancy) • Stanislas Lyonnet (Paris)

12h00

• **Thérapie enzymatique substitutive de la maladie de Fabry par alpha-galactosidase recombinante**
Dominique Germain (Paris)

12h15

• **Inactivation du gène CX26 codant pour la connexine26 dans l'oreille interne chez la souris pour comprendre la pathogénèse de la forme la plus fréquente de surdité héréditaire, DNFB1**
Martine Cohen-Salmon (Paris)

12h30

• **Les gènes du chromosome 21 et la carte d'expression de leur orthologues murins**
Alexandre Reymond (Genève - Suisse)

12h45

• **Localisation de gènes nucléaires impliqués dans les déficits de la chaîne respiratoire mitochondriale par transfert de chromosomes et fragments de chromosomes dans des fibroblastes exprimant le déficit**
Pascale De Lonlay (Paris)

13h00-14h30

Déjeuner

13h00-14h30

Salle 120

Atelier déjeuner-débat Applied Biosystems

>> **Génotypage de mutations : quelles stratégies pour quels besoins ?**

14h30-16h30

Sessions simultanées

**Auditorium
Pharo**

1

Génétique clinique

Modérateurs : Sylvie Manouvrier (Lille) • Didier Lacombe (Bordeaux)

>> **Du phénotype au génotype : le rôle du clinicien**

14h30

• **L'embryo-fœtopathie due au valproate. Etude de 100 observations**
Hubert Journel (Vannes)

14h45

• **Formes pédiatriques graves de myopathie facio-scapulo-humérale**
Delphine Heron (Paris)

- 15h00 • **Hémiplégie infantile, leucoaraïose avec dilatation des espaces périvasculaires cérébraux et tortuosités artériolaires rétinienes : une nouvelle angiopathie familiale autosomique dominante**
Katayoun Vahedi (Paris)
- 15h15 • **Holoprosencéphalie : un modèle d'hétérogénéité clinique et génétique**
Sylvie Odent (Rennes)
- 15h30 • **Le syndrome de Blau, une affection probablement souvent méconnue liée à des mutations de CARD15**
Sylvie Manouvrier-Hanu (Lille)
- 15h45 • **Circonstances cliniques du diagnostic du syndrome de Smith-Lemli-Opitz. A propos de 45 cas**
Alice Goldenberg (Paris)
- 16h00 • **Haploinsuffisance et perte de fonction au locus SMADIP1 dans des formes syndromiques**
Jeanne Amiel (Paris)
- 16h15 • **Syndromic short stature in patients with a germline mutation in the LIM homeobox LHX4**
Kalotina Machinis (Creteil)

Amphithéâtre
Méditerranée

2

Génétique moléculaire

Modérateurs : Michel Goossens (Créteil) • Thierry Frebourg (Rouen)

>> Physiopathologie des maladies génétiques : aspects moléculaires

- 14h30 • **La PCR Multiplex de courts fragments fluorescents : une méthode simple et rapide pour la détection des remaniements hétérozygotes des gènes**
Thierry Frebourg (Rouen)
- 14h45 • **Analyse du statut de méthylation des gènes KCNQ10T et H19 pour le diagnostic et le pronostic dans le syndrome de Wiedemann-Beckwith**
Véronique Gaston (Paris)
- 15h00 • **Le facteur de transcription SOX10 régule directement l'expression de la connexine 32, protéine impliquée dans la forme liée à l'X de la maladie de Charcot-Marie-Tooth**
Mathilde Girard (Créteil)
- 15h15 • **Etude de liaison et d'association génétique dans une large famille atteinte de maladies auto-immunes thyroïdiennes**
Abdellatif Maalej (Sfax - Tunisie)
- 15h30 • **Large délétion impliquant le gène GJB6 associée à une surdité congénitale profonde**
Nathalie Pallares-Ruiz (Montpellier)
- 15h45 • **MSH4 partenaire de RAD51 et de P53 dans les tumeurs gliales ?**
Fanny Burel-Vandenbos (Nice)
- 16h00 • **Thalassemia Intermedia caused by somatic reduction to hemizygoty**
Catherine Badens (Marseille)
- 16h15 • **Maladie d'Alexander et mutations du gène de la GFAP**
Diana Rodriguez (Clermont-Ferrand)

Salle 120

3

Foetopathologie et diagnostic prénatal

Modérateurs : Dominique Gaillard (Reims) • Henri Plauchu (Lyon)

>> **Valeur prédictive des examens foetopathologiques : implications dans le conseil génétique**

- 14h30 • **Intérêt de l'examen foetopathologique dans le cadre des interruptions médicales de grossesse : à propos de 300 autopsies fœtales**
Louise Devisme (Lille)
- 14h45 • **Identification de mutations du gène SOX9 dans des syndromes campoméliques avec ou sans réversion de sexe**
Laurence Michel-Calemard (Lyon)
- 15h00 • **Diagnostic Foetopathologique de Syndrome de Wiedemann - Beckwith : intérêt pour le Conseil Génétique**
Marie-Bénédicte Leger-Ravet (Longjumeau)
- 15h15 • **Du fœtus au gène**
Marie Gonzales (Paris)
- 15h30 • **Diagnostic de Trisomie 8 dans les Agénésies du Corps Calleux : Intérêt pour le Conseil Génétique**
Marylise Dolley (Courbevoie)
- 15h45 • **Moles hidatiformes complètes associées à des grossesses évolutives : Présentation de 4 cas**
Marie-Pierre Audrezet (Brest)
- 16h00 • **Glycogénose Type IV (GSD IV) à révélation anténatale : étude collaborative de la SOFFCET de 6 cas**
J.-J. Roux (Lyon)
- 16h15 • **Nouvelle approche par PCR semi-quantitative pour le diagnostic prénatal rapide des trisomies 21, 18 et 13**
Haissam Rahil (Nancy)
- 16h30-17h10 Pause, visite des stands et des posters
- 17h10-18h10 **Conférence d'actualité**
- Auditorium Pharo** • **Thérapie génique**
Alain Fischer (Paris)
- 19h00 Accueil par Monsieur le Sénateur-Maire de Marseille,
Jean-Claude Gaudin, à l'Hôtel de Ville

PROGRAMME VENDREDI

8h00-10h30

Auditorium
Pharo

Séance plénière

Instabilité chromosomique et cancer

Modérateurs : Anne-Marie Capodano (Marseille) • Gilles Thomas (Paris)

8h00

• **Applications de la CGH arrays dans la caractérisation des tumeurs**
Alain Aurias (Paris)

8h40

• **Modification des histones et contrôle de la prolifération et différenciation cellulaires**
Annick Harel-Bellan (Villejuif)

9h20

• **Étude combinée génome-transcriptome dans les cancers du sein**
Daniel Birnbaum (Marseille)

10h00-11h00

Pause, visite des stands et des posters

11h00-12h30

Auditorium
Pharo

Séance plénière

Communications orales

Modérateurs : Michel Fontés (Marseille) • Jean-Louis Mandel (Strasbourg)

11h00

• **Identification de gènes impliqués dans l'instabilité chromosomique par crible fonctionnel dans la levure**
Jean-Michel Flaman (Rouen)

11h15

• **Caractérisation d'un modèle murin pour la myopathie myotubulaire**
Anna Buj-Bello (Illkirch)

11h30

• **Nouvelle stratégie de prise en charge du disgnostic prénatal des maladies liées à l'X : analyse de l'ADN fœtal dans le sérum maternel**
Jean-Marc Costa (Neuilly)

11h45

• **Refinement of a 400 Kb critical region allows genotypic differentiation between isolated lissencephaly, Miller-Dieker syndrome and other phenotypes secondary to deletions of 17P13.3.**
Carlos Cardoso (Marseille)

12h00

• **Transfert de gènes dans le modèle animal de la maladie de Sandhoff à l'aide de vecteurs AAV**
Christophe Bourgoin (Paris)

12h15

• **Le gène Nemo : de l'Incontinentia pigmenti aux déficits immunitaires...**
Asma Smahi (Paris)

12h30

• **The penetrance of dominant erythropoietic protoporphyria is modulated by statement of wild-type fech**
Laurent Gouya (Colombes)

12h45-14h00

Déjeuner

Salle 120

Atelier déjeuner-débat Adgenix

>> **Cytogénétique du III^{ème} millénaire**

Nouvel outil d'imagerie pour la cytologie et la cytogénétique moléculaire

Salle 92

Atelier déjeuner-débat Roche Diagnostics

>> **Strategie towards tailored cancer therapy**

Hubert Stockinger

>> **Quantitative RT-PCR assays from formalin fixed, paraffin-embedded tissue using the LightCycler System**

Manuela Poignée

14h00-16h00

Sessions simultanées

Auditorium
Pharo

1

Cytogénétique

Modérateurs : Anne Moncla (Marseille) • Catherine Turleau (Paris)

>> Les nouveaux enjeux de la cytogénétique moléculaire

- 14h00 • **De l'ADN satellite aux satellites chromosomiques : étude du polymorphisme des bras courts des chromosomes agrocentriques par les techniques AgNOR et FISH**
Martine Doco-Fenzy (Reims)
- 14h15 • **Pseudo-ostéodystrophie héréditaire d'Albright et délétion de la région 2Q37 : définition d'un territoire minimal critique**
Frédéric Laumonier (Tours)
- 14h30 • **Avance staturale et trisomie 15QTER comprenant le gène du récepteur à l'IGF1 : description de deux familles et revue de la littérature**
Laurence Faivre (Paris)
- 14h45 • **Aneuploidies multiples en mosaïque (mosaic variegated aneuploidy) : diagnostic prénatal et analyse neuropathologique.**
Caroline Piquet (Marseille)
- 15h00 • **Détection rapide des réarrangements en 17P11.2 par une méthode de Fish sans culture cellulaire : (Fish Direct, FISHD) : une étude prospective sur 130 patients avec neuropathies périphériques héréditaires**
Nicole Ravise (Paris)
- 15h15 • **Premières grossesses après biopsie du premier globule polaire assistée par laser et diagnostic préconceptionnel des aneuploïdies ovocytaires**
Christophe Petit (Nancy)
- 15h30 • **Caractérisation des anomalies centromériques dans les liposarcomes**
Nicolas Sirvent (Nice)
- 15h45 • **Fréquence des remaniements du chromosome 12 dans la splénomégalie myéloïde**
Joris Andrieux (Lille)

Salle 120

2

Conseil génétique et éthique

Modérateurs : Jean-François Mattei (Marseille) • Christine Verellen (Bruxelles)

>> Conseil génétique et éthique à l'épreuve de la réalité

- 14h00 • **Mise en place d'un groupe de travail sur la pratique du diagnostic prénatal génétique, d'un point de vue éthique et psychologique**
Perrine Malzac (Marseille)
- 14h15 • **Le test présymptomatique pour les affections neurogénétiques autosomiques dominantes : l'intérêt d'une démarche respectant l'encadrement multidisciplinaire**
Gaetan Lesca (Lyon)
- 14h30 • **La génétique médicale au Québec**
Grant A Mitchell (Montréal - Québec)
- 14h45 • **Intérêt d'un suivi à long terme de l'évolution psycho-dynamique de l'enfant et de sa famille après diagnostic d'une anomalie des gonosomes**
Nicole Morichon-Delvallez (Paris)
- 15h00 • **Etude du devenir des enfants nés après un diagnostic de pathologie de la nuque à l'échographie du 1^{er} ou du 2^{ème} trimestre**
Clarisse Baumann (Paris)

SAMEDI
DIMANCHE

- 15h15 • **Le dépistage prénatal de la trisomie 21 identifie préférentiellement les fœtus destinés à avorter**
Nathalie Leporrier (Caen)
- 15h30 • **Conseil génétique dans la Cardiomyopathie Hypertrophique : expérience préliminaire du Réseau français.**
Philippe Charron (Paris)
- 15h45 • **NF France : recommandations de prise en charge de la neurofibromatose**
Stéphane Pinson (Lyon)

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

17h00-19h00

Auditorium
Pharo

Séance plénière

Génétique des maladies infectieuses

Modérateurs : Alain Dessein (Marseille) • Serge Amsellem (Créteil)

- 17h00 • **Modification de conformation des protéines et pathologies transmissibles : le modèle des prions**
Dominique Dormont (Paris)
- 17h40 • **Interactions génétiques hôte-pathogène : le point de vue de la bactérie**
Eric Denamur (Paris)
- 18h20 • **Prédispositions génétiques aux maladies infectieuses humaines**
Laurent Abel (Paris)

8h30-12h00

Auditorium
Pharo

Séance plénière

Génétique du développement

Modérateurs : Christo Goridis (Marseille) • Nicole Philip (Marseille)

- 8h30 • **Dissection génétique de la voie de signalisation des rétinoïdes**
Manuel Mark (Strasbourg)
- 9h10 • **Contrôle génétique du développement du cerveau postérieur**
Patrick Charnay (Paris)
- 9h50-11h00 Pause et remise des prix posters par Josué Feingold et Dominique Bonneau
- 11h00 • **Aspects moléculaires de la segmentation des vertébrés**
Olivier Pourquié (Marseille)
- 11h40 • **Profil d'expression génique et syndromologie**
Michel Vekemans (Paris)

12h20 **Clôture du Congrès**

Communications Affichées

N°	Auteur	Titre
51	DE LEERSNYDER Hélène	L'association des bêta-bloquants et de la mélatonine améliore le comportement diurne et restaure le sommeil nocturne dans le syndrome de Smith-Magenis
52	DOLLFUS Hélène	Spectre clinique de l'haploinsuffisance à TWIST : du BPES au SCS
53	FAIVRE Laurence	Le syndrome de Desbuquois
54	COLLIGNON Patrick	Apport des techniques immunohistochimiques dans le diagnostic du syndrome de Marfan
55	PASQUIER Laurent	Bilan de la consultation de génétique de Rennes pour l'exploration d'un retard mental
56	BLANCHET Patricia	Syndrome alpha-Thalassémie Retard Mental lié à l'X : ATR-X. Présentation de 8 sujets âgés de 3 à 28 ans
57	GENEVIEVE David	Symptômes atypiques dans le syndrome de Kabuki : analyse d'une série de 20 cas et revue de la littérature
58	STOLL Claude	Syndrome oro-facio-digital de type I dû à une mutation du gène OFD 1, suivi pendant 24 ans
59	ESCANDE Fabienne	Signes cliniques rares (dysplasie de hanche) et inhabituels (anomalies dentaires) dans une famille de brachydactylie de type c avec mutation de CDMP1
60	PASQUIER Laurent	Variabilité des manifestations cliniques du syndrome de Cockayne, à propos de 4 nouveaux cas
61	MILH Mathieu	Forme sévère de syndrome d'Adams-Oliver avec malformations cérébrales : analyse d'un cas familial et d'un cas sporadique
62	LATOURET Patrick	Epilepsie et mosaïque de chromosome 20 en anneau
63	VERLOES Alain	Dysplasie spondylométaphysaire type Afrique de l'Est : une nouvelle SMD avec vertèbres arrondie
64	VIOT Géraldine	Dysostose acrofaciale de type postaxial chez 2 frères : syndrome de Miller ou nouvelle entité ?
65	GILBERT Brigitte	Forme familiale d'asplénie congénitale isolée révélée par des méningites récidivantes à pneumocoque
66	TOUTAIN Annick	Paraplégie spastique, glaucome et retard mental : une nouvelle entité non liée aux gènes L1CAM, XNP, PLP et MECP2
67	MOLINA-GOMES Denise	A propos d'un diagnostic de délétion 1p36
68	HOLDER-ESPINASSE Muriel	Sequence de Pierre Robin : étude retrospective de 117 patients
69	PRIEUR Fabienne	Comment un bilan de retard mental peut conduire au diagnostic de dystrophie musculaire
70	BAZIN-RIGAULT Anne	Syndrome de Willi Prader : présentation néo-natale inhabituelle
71	BAUMANN Clarisse	Dysplasie polyépiphysaire avec retard majeur d'ossification épiphysaire sans retentissement statural
72	BAUMANN Clarisse	Dysplasie squelettique avec os grêles, appositions périostées, retard d'ossification de la boîte crânienne et retard mental
73	VERLOES Alain	Mutation nouvelle de FGFR2 dans une craniosténose non syndromique avec scaphocéphalie
74	GERARD Marion	Syndrome de Bardet Biedl ou syndrome de McKusick Kaufman ? Confirmation d'un nouveau phénotype
75	CHASSAING Nicolas	Fibrose pleurale familiale avec télangiectasies oculaires et infertilité masculine : un nouveau syndrome ?
76	GENEVIEVE David	Cutis laxa, dysmorphie faciale, fente palatine et retard psychomoteur : un nouveau syndrome ?
77	BONNEAU Dominique	XLAG (Lissencéphalie, Agénésie du corps calleux, Anomalies génitales) : Un nouveau syndrome dominant lié à l'X
78	MORIN Gilles	Phocomélie des membres supérieurs avec absence de pouce et atrésie des choanes chez une mère et son fils
79	GIULIANO Fabienne	Dysplasie fronto-métaphysaire : premier cas de transmission d'un père à sa fille

80	GIULIANO Fabienne	Le syndrome macrocéphalie-cutis marmorata telangiectatica congenita. A propos d' une série de 6 patients : définition des critères diagnostiques
81	CANKI-KLAIN Nina	Diagnostic dilemna in an atypical X-linked Emery-Dreifuss family
82	LE MAREC Bernard	Suivi des enfants trisomiques 21 : 30 ans d'expérience
83	M'RAD Ridha	syndrome OSA : a propos d'un cas familial tunisien
84	MAAZOUL Faouzi	Le Syndrome Oculo-cérébrocutané
85	BRUN Catherine	The combined psychoanalyst-geneticist consultation : a 10 year experience
86	LAYET Valérie	Mutation Y158X du gène Sonic-Hedgehog : variabilité d'expression phénotypique au sein d'une même famille
87	ABERT Blandine	Diagnostic prénatal échographique du syndrome de Bardet-Biedl : à propos d'un cas
88	DIEUX-COÀSLIER Anne	Manifestations cliniques rarement rapportées dans le syndrome de Costello, à propos de cinq observations
89	BOUTE-BENEJEAN Odile	Une nouvelle observation d'hypoplasie cérébelleuse avec sclérose endostale
90	MORTEMOSQUE Isabelle	Syndrome de Turner et grossesse : à propos d'une femme ayant eu trois enfants
91	VERLOES Alain	Syndrome de Stilling-Turk-Duane et scoliose sévère chez 2 soeurs
92	HADJ-RABIA Smaïl	Spectre phénotypique des mutations du gène TP63
93	VIGNERON Jacqueline	Un nouveau cas de Syndrome de Finlay-Marks, ou Scalp-Ear-Nipple Syndrome
94	MIGNOT Cyril	Maladie de Gaucher foetale
95	HARLAND Elise	Le syndrome de Sphrintzen Goldberg : sémiologie revue à la lumière de 11 nouvelles observations
96	LIQUIER Alain	Le syndrome de Lujan - Fryns : une fibrillinopathie de type 1 ? Présentation de deux cas et revue de la littérature
97	BURGLEN Lydie	Syndrome de Myhre : 3 nouvelles observations et revue de la littérature
98	JULIA Sophie	Délétion (14)(q24.2q32.1) : une dysmorphie cranio-faciale caractéristique
99	CHAABOUNI Myriam	Association Syndrome de Turner et Kabuki Syndrome
100	LABAUGE Pierre	Les formes familiales de cavernomes. Caractéristiques cliniques, neuro-radiologiques, évolutives et génétiques
101	PHILIPPE Anne	Autisme chez un enfant porteur d'une délétion chromosomique en 2q37
102	MATHIEU Michèle	Gracilité du squelette, fractures périnatales et pathologie musculaire
103	DELRUE Marie-Ange	Risque tumoral dans le syndrome de Costello
104	BENIT Paule	Mutations du gène NDUFV2 dans un déficit du complexe I de la chaîne respiratoire
105	GOBIN Stéphanie	Caractérisation de l'organisation du gène humain de la CPT1A: contribution à l'analyse moléculaire des patients déficitaires
106	HOLDER-ESPINASSE Muriel	Aspects cliniques, biochimiques et moléculaires chez 3 adultes présentant un syndrome CDG de type Ia
107	DJOUADI Fatima	Myopathies métaboliques et déficits de _-oxydation des acides gras: nouvelles approches diagnostiques
108	GORRY Philippe	Pathologie moléculaire des gènes de la voie de signalisation Hedgehog
109	BITOUN Pierre	Cataracte et glaucome : les facteurs de transcription impliqués dans le développement du segment antérieur oculaire
110	RIO Marlene	Retard mental et anomalies des télomères : leçons d'une étude pilote de génotypage automatique
111	FARRA Chantal	Developmental Genome Anatomy Project (DGAP): Projet de localisation et D' identification de genes impliqués dans le développement humain à partir des remaniements chromosomiques équilibrés
112	BENZACKEN Brigitte	Application des sondes télomériques dans les bilans de FCS et les retards mentaux : comparaison avec la CGH en haute résolution
113	SANLAVILLE Damien	Réversion sexuelle complète secondaire à une disomie fonctionnelle Xp incluant le gène DAX1 par t(X Y)(p21.2 p11.3)
114	MARTIN DENAVIT Tanguy	Une observation rare de syndrome de Cat-Eye avec un phénotype sévère
115	SANLAVILLE Damien	Deux cas de disomie fonctionnelle Xq28 détectées à l'aide des sondes subtélomériques

S	116	FRANCES Anne-Marie	Translocation cryptique et "démarche diagnostique globale" : à propos d'une observation originale d'une trisomie 19q
	117	VIALARD François	Localisation de 3 points de cassures au locus POF2 chez des patientes avec translocations X-autosome et insuffisance ovarienne prématurée
	118	MOREL Frédéric	Risque d'aneuploidie dans la descendance d'un homme présentant un syndrome de Klinefelter
	119	RIO Marlène	Délétions subtélomériques 1p36 : phénotype et caractérisation moléculaire d'un nouveau syndrome microdélétionnel
	120	SANLAVILLE Damien	Recherche d'anomalies dans l'association charge par cytogénétique moléculaire
R	121	GUILLIER-GENCİK Zuzana	Conservation de la synténie au sein de la région chromosomique impliquée dans le syndrome d'Alagille sur 300 millions d'années
	123	TOURAINÉ Renaud	Utilisation de la PCR quantitative en temps réel pour détecter une délétion 1p36: une nouvelle stratégie de dépistage des délétions sous-télomériques ?
	124	BRISSET Sophie	Trisomie 16q24. Description d'un cas et suggestion d'une carte phénotypique des trisomies 16q
E	125	THAUVIN-ROBINET Christel	Extrophie cloacale chez un enfant présentant une délétion 9q34-qter résultant d'une translocation déséquilibrée de novo entre les chromosomes 9q et Yq
	126	VIOT Géraldine	De la génétique mendélienne aux télomères
	127	BRISSET Sophie	Etude clinique et cytogénétique de 4 cas de syndrome de Cat-Eye.
	128	DE MAS Philippe	Intégrité du chromosome 20 en anneau dans l'état épileptique non convulsif ?
	129	MILLER Konstantin	Nouvelle approche pour le diagnostic de la délétion 22q11.2 sur noyaux interphasiques de la muqueuse buccale de patients avec fente palatine apparemment isolée
T	130	LAUMONNIER Frédéric	Etude d'une inversion équilibrée du chromosome X chez une fille retardée : un nouveau cas d'implication du gène IL1RAPL ?
	131	LAUMONNIER Frédéric	Translocation réciproque équilibrée [46, XY, t(9 10) (q22.32 q23.31)] associée à un syndrome autistique : cartographie physique des points de cassure
	132	PERRIN Yannick	Trisomie partielle 14q24->qter : à propos d'un cas
S	133	MISSIRIAN Chantal	Malségrégation d'une translocation cryptique à l'origine d'un syndrome d'Angelman: implication pour le conseil génétique
	134	DEVICTOR Monique	La triploidie en mosaïque: un diagnostic qu'il faut savoir évoquer
	135	MARGUERAT Philippe	Hygroma colli et constitution triplo-X : coïncidence ou association ?
	136	GEFFROY Sandrine	Inversion du chromosome X, retard mental et infertilité : à propos d'une observation avec transmission sur deux générations sans co-ségrégation
	137	LEJEUNE-DUMOULIN Sophie	Syndrome de Jacobsen par transmission déséquilibrée d'une translocation submicroscopique avec point de cassure en 11Q24.2 dans une région apparemment sans bloc connu de séquences riches en CCG
O	138	M DOCO-FENZY Martine	Identification par C.G.H. et M-FISH de duplications partielles des chromosomes 12, 16 et X chez 3 enfants porteurs de retard global des acquisitions
	139	JOLY-HELAS Géraldine	Découverte prénatale d'un der(6)t(6 8)(p22 p23)mat
	140	DUPONT Jean-Michel	Etude du profil de méthylation du satellite 2 dans le placenta : implications pour un rôle de l'hétérochromatine dans le contrôle de l'expression des gènes
P	141	LEBBAR Aziza	A propos d'un cas familial de del 18q
	142	BAYOU Nadia	Mise au point d'une technique d'hybridation in situ fluorescente sur les cellules épithéliales buccales
	143	BEN JEMAA Lamia	Hétérogénéité clinique chez 3 patients tunisiens avec une microdélétion 22q11.2
	144	MOIROT Hélène	Réarrangement cryptique télomérique 9 22 et retard familial
	145	TILL Marianne	Mise en évidence d'une translocation cryptique déséquilibrée impliquant 11qter devant une récurrence de syndrome malformatif avec hypoplasie du cœur gauche

- 146 YARDIN Catherine Faut-il réaliser systématiquement une FISH de la région 15Q11Q13 en cas de syndrome autistique : à propos d'un cas
- 147 DAHOUN Sophie Capacités langagières de sujets affectés de syndrome Velo-Cardio-Facial: rôle de l'origine parentale de la délétion 22q11.2.
- 148 LOHMANN Laurence Méfions nous des diagnostics faciles comme la trisomie 21...
- 149 LOHMANN Laurence Disomie uniparentale du chromosome 14 : importance d'un diagnostic précoce
- 150 MIGNON-RAVIX Cécile Human intestinal telomeres associate in vivo with TRF1 and TRF2 proteins
- 151 BAAJ Nawal Délétions 15q distales de novo : à propos de deux cas
- 152 CARVES Céline Hémi-atrophie corporelle et trisomie 22 en mosaïque
- 153 DE FREMINVILLE Bénédicte Intêret de l'étude en hybridation in situ par des systèmes multiprobes, dans des cas d'anomalies chromosomiques déséquilibrées de novo
- 154 NORUZINIA Mehrdad Trisomie partielle 16p pure chez 3 patients
- 155 MARLE Nathalie Diagnostic prénatal d'une trisomie 14q distale pure
- 156 GINGLINGER Emmanuelle Investigations cytogénétiques parentales complémentaires et découverte rétrospective d'une trisomie 3p et d'une monosomie 5p partielles par déséquilibre d'une translocation maternelle t(3 5)(p23 p14)
- 157 LE DU-ROGINE Nathalie Diagnostic prénatal de trisomie 22 : à propos de 17 cas diagnostiqués dans 13 laboratoires français de cytogénétique
- 158 CANDELIER Jean-Jacques Evolution de la carte cytogénétique des gènes des fucosyltransférases: comparaison Homme/Galliformes
- 159 DROUIN-GARRAUD Valérie Délétion de la région 3q27-qter associée à une anémie dysérythropoïétique congénitale
- 160 JOLY-HELAS Géraldine Diagnostic de trisomie 22 en mosaïque chez un foetus
- 161 LE CAIGNEC Cédric Diagnostic prénatal d'un marqueur surnuméraire en mosaïque, de novo, XIST-négatif, identifié par FISH chez un fœtus masculin avec malformations cérébrales
- 162 JAMAR Mauricette A propos d'une translocation t(19 22) chez un homme azoospermique
- 163 VALDUGA Mylène Caractérisation moléculaire d'une inversion péricentrique du chromosome 6, inv(6)(p12q16), associée à un syndrome de CHAR
- 164 LAGIER-TOURENNE Clotilde Trisomie partielle 3p24-pter associée à une délétion subtélomérique du bras court du chromosome 5 : corrélation génotype-phénotype
- 165 GIRARD-LEMAIRE Françoise Translocation déséquilibrée en mosaïque chez un enfant présentant un syndrome polymalformatif
- 166 LAPIERRE Jean-Michel Apport de la CGH au diagnostic cytogénétique
- 167 GREGOIRE Marie-José La recherche d'anomalies chromosomiques cryptiques subtélomériques : une approche clinique et cytogénétique indissociable
- 168 BOCENO Michelle Anneau du 8 hérité, chez un enfant exploré pour retard des acquisitions et microcéphalie
- 169 SCHAFF Jean-Luc Epilepsie syndromique et chromosome 20 en anneau
- 170 LESPINASSE James Remaniements chromosomiques complexes (5 nouveaux cas) et remaniement chromosomique multiple (1 nouveau cas) : l'apport des outils de la génétique chromosomique moléculaire et conséquences sur l
- 171 CHELLOUG Nora Cas d'un retard mental associé à une duplication de la bande Xp22.3 du chromosome X
- 172 METZLER-GUILLEMAIN Catherine Distribution subnucléaire des isoformes de la protéine HP1 dans les spermatoocytes humains, au stade pachytène
- 173 HURET Jean-Loup Atlas de Génétique des Cancers, Banque de Données Expertisée sur Internet : <http://www.infobiogen.fr/services/chromcancer>
- 174 VIGUIE Franck Remaniement 4Q dans 3 cas de leucémie aiguë myéloïde / myéloдисplasie : anomalie clonale ou constitutionnelle en mosaïque ?
- 175 MOREL Frédéric Délétion de la région 5' du gène ABL dans la leucémie myéloïde chronique : fréquence, origine et pronostic
- 176 ANDRIEUX Joris Etude comparative des anomalies chromosomiques des splénomégalies myéloïdes primitives et post polyglobulie de Vaquez
- 177 ANDRIEUX Joris La stimulation par le TPA favorise la mise en évidence de la translocation (11 14) dans le lymphome du manteau: à propos de 18 cas

S	178	COULLIN Philippe	Localisation cytogénétique des sites D'intégration du MAV sur le poulet et comparaison génomique : une stratégie pour rechercher des gènes potentiellement impliqués dans le néphroblastome humain
	179	FOA Cyril	Caractérisation de nouvelles anomalies chromosomiques dans les tumeurs adipocytaires bénignes
	180	CHANTOT-BASTARAUD Sandra	Etude par analyse spectrale et caryotype en bandes R de 20 lymphomes B diffus à grandes cellules
	181	HENRY Catherine	Caractérisation cytogénétique d'une nouvelle lignée de cancer du sein
	182	ROLL Patrice	Réarrangement chromosomique atypique décelé en cytogénétique moléculaire dans un cas de lipoblastome
R	183	ZATTARA-CANNONI Hélène	Analyse des anomalies génomiques dans les méningiomes bénins, atypiques et anaplasiques
	184	GILBERT Brigitte	Diagnostic prénatal de jumelles monozygotes discordantes pour le syndrome de Turner : conduite à tenir pour le conseil génétique prénatal
	185	NORTH Marie-Odile	Diagnostic prénatal d'une translocation robertsonienne sauteuse et discordante fœtoplacentaire
E	186	PESCIA Graziano	Détection des aneuploïdies foetales dans le sang maternel
	187	STOLL Claude	Impact du diagnostic prénatal sur la prévalence des malformations congénitales à la naissance
	188	BERNARD Rafaëlle	Prenatal detection of the 17p11.2 duplication in Charcot-Marie-Tooth disease : necessity of a multidisciplinary approach for heterogeneous disorders
	189	ATTIA-SOBOL Jocelyne	DIagnostic anténatal d'une holoprosencéphalie inaugurale et confirmée par la biologie moléculaire
	190	LARCHER Marie-Estelle	Trisomie partielle 14q22-qter de survenue de novo: à propos d'une observation diagnostiquée en période prénatale et revue de la littérature
T	191	COSTA Jean-Marc	Fetal RHD genotyping in maternal serum during the first trimester of pregnancy
	192	MARTIN-DENAVIT Tanguy	Découverte antenatale d'une trisomie 13 en mosaïque
	193	DORAY Bérénice	Le syndrome de Pallister-Killian : Difficultés du diagnostic prénatal
	194	CENS Steven	Implications of prenatal molecular analysis of 22q11 deletion in genetic counselling : 5 pregnancies in the same family
S	195	SOULIER Marie	Hydramnios révélateur d'un syndrome de Stickler
	196	PINSON Lucile	Evaluation de la PCR Quantitative pour le diagnostic de la trisomie 21. Etude rétrospective à partir de 252 liquides amniotiques
	197	LE CAIGNEC Cédric	Diagnostic prénatal d'une affection osseuse évoquant une dysplasie cléido-crânienne associée à une translocation réciproque de novo t(2q 6q) (q36 q16)
O	198	TABET Anne-Claude	diagnostic prénatal d'une trisomie 16q totale et identification d'un marqueur chromosomique surnuméraire par caryotype spectral
	199	PELISSIER Marie-Christine	Diagnostic prénatal d'une délétion 20p11-p12
	200	FREDOUILLE Catherine	Forme anatomique mineure de CAV chez les fœtus trisomiques 21 à cœur "normal"
P	201	BITOUN E.	Diagnostic prénatal du syndrome de Netherton par recherche de mutations du gène SPINK5
	203	MARCORELLES Pascale	Placenta et gangliosidose à GM1 : à propos d'une observation
	204	MARTINOVIC Jelena	Impact de l'examen fœtopathologique sur le conseil génétique. Expérience du Centre Pluridisciplinaire de Diagnostic Prénatal de Necker
205	TOUTAIN Annick	Syndrome Neu-Laxova : présentation d'un cas avec situs inversus et description neuropathologique	
206	BEAUFREERE Anne-Marie	Hydranencéphalie avec akinésie fœtale de cause génétique : à propos de deux observations de syndrome de Fowler (hydrocéphalie - hydranencéphalie par vasculopathie proliférante : PV-HH)	
207	MEHAUT S.	L'hypophosphatasie fœtale et périnatale	
208	PEREZ Marie-Josee	Contribution de l'examen fœtopathologique à un diagnostic de mucoviscidose	

S

- 209 FALLET Catherine
 210 MOLINA GOMES Denise
 211 FREDOUILLE Catherine
 212 LIPRANDI Agnes
 213 LIPRANDI Agnes
 214 VIBERT-GUIGUE Claude

R

- 215 LE CALVE Michel
 216 MOLINARI Florence
 217 LEBRE Anne-Sophie

E

- 218 PERIQUET Magali
 219 BONNET-DORION Françoise

T

- 220 FELLOUS Marc
 221 CHERQUI Stephanie
 222 MORAINÉ Claude
 223 MONCLA Anne

S

- 224 GOIZET Cyril
 225 BEN YAOU Rabah
 226 CHAMBERT Sylvie
 227 DELETTRE Cécile

O

- 228 TOURNIER-LASSERVE E.
 229 VARRET Mathilde
 230 ARVEILER Benoît

P

- 231 CAILLAUD Catherine
 232 LIA-BALDINI Anne-Sophie
 233 HEIDET Laurence
 234 CAMPOS-XAVIER Ana Belinda
 235 PHILIP Nicole
 236 DESSAY Sabine
 237 BOYER Amandine

- 238 DEVYS Didier
 239 EYMARD-PIERRE Eleonore

Forme foetale severe, precocement lethale, de maladie de gaucher. Importance de l'examen feotopathologique dans le depistage de ces affections

Syndrome de GREBE : un cas de diagnostic anténatal précoce

Syndrome malformatif anténatal révélant un syndrome de Goltz

Syndrome de Roberts : à propos d' une observation foetale

Maladie de Caffey : à propos d' une observation prénatale

Hydrocéphalie et cardiopathiesévère : association inhabituelle dans un syndrome de Walker-Warburg

Mise en évidence de triploïdies par la technique de FISH...

Cartographie par homozygotie de trois loci de retard mental idiopathique : vers l'identification du premier gène de RM isolé réces-sif autosomique

Approche de la fonction de l'ataxine-7 impliquée dans l'ataxie céré-belleuse autosomique dominante de type II (SCA7) par identification de ses partenaires protéiques

Frequency of parkin mutations in a large series of patients with isolat-ed early-onset parkinsonism

Cartographie de la région 16q22.1 impliquée dans le cancer du sein: étude de gènes candidats

Syndromic ans isolated premature ovarian failure : analysis of FOXL2 gene

Caractérisation du phénotype des souris invalidées pour le gène Ctns, modèle murin de la cystinose

Mutations de MECP2 et déficience mentale non spécifique liéé au sexe: corrélation phénotype-génotype dans trois familles

Mutations du gène MECP2 et Syndrome de Rett : Etude des corréla-tions phénotype/génotype

Localisation d'un gène de leucodystrophie sans cause en 11q14.3

Dystrophie musculaire d'Emery-Dreifuss avec mutation homozygote du gène codant pour les lamines A/C. A propos d'une famille.

Dix ans de diagnostic moléculaire des myopathies de Duchenne (DMD) et de Becker (BMD): stratégies et techniques

L'atrophie optique dominante de type I : une nouvelle maladie mito-chondriale

Criblage du gène KRIT1 dans 122 familles atteintes de cavernomatose cérébrale: spectre mutationnel et corrélations génotype-phénotype

Evaluation of the respective contributions of LDLR, APOB, FH3 and more gene defects to autosomal dominant hypercholesterolemia

Molecular analysis of the CBP-gene in 65 patients with Rubinstein-Taybi syndrome

Hétérogénéité génétique des céroïde-lipofuscinoses en France

Approche moléculaire de la dominance dans l'hypophosphatasie

Etude de l'expression du gène MYH9 dans le rein humain et mise en évidence de mutations de ce gène dans les syndromes de Fechtner et d'Epstein

Variabilité phénotypique de la maladie de Camurati-Engelmann au locus TGF-beta1

Recherche de perte d'hétérozygotie dans les tumeurs de patients atteints de syndrome de Costello

Un Phénotype de syndrome FG est-il associé à la surexpression des gènes FLN-A et EMD en Xq28 ?

Screening for mutations in N-MYC downstream regulated gene (NDRG-1) in unrelated patients with Charcot-Marie-Tooth disease sug-gests a low frequency of mutation in inherited neuropathy

Une microdéletion du centre de l'empreinte héritée de la grand-mère paternelle d'un patient Prader-Willi n'empêche pas l'établissement d'une empreinte de type paternelle

Paralysie spastique ascendante progressive de début infantile liée au gène ALS2 en 2q33-q35

- S
- 240 EYMARD-PIERRE Eleonore Hétérogénéité génétique du syndrome CACH (Childhood Ataxia with Central Hypomyelination syndrome)
- 241 BIETH Eric Amyotrophie spinale infantile et sclérose latérale amyotrophique familiale au sein d'une même famille : à propos d'une histoire instructive...
- 242 PLAUCHU Henri Importance du génotypage pour l'étude du phénotype hétérogène de la maladie de Rendu-Osler, dans le cadre d'une prise en charge de la maladie par un réseau
- 243 THAUVIN-ROBINET Christel Hypochondroplasie et taille dans les limites de la normale. Une autre famille avec la mutation Asn540Ser dans le gène FGFR3
- 244 AUDREZET Marie-Pierre Haplotypes complexes du gène CFTR pour les mutations I148T et 3601-17 T>C
- R
- 245 LE GAC Gérard Analyse de la séquence codante du gène HFE par D-HPLC (Denaturing High Performance Liquid Chromatography)
- 246 VILLEGIER Ludovic The human LDL receptor gene database (UMD-LDLR): Molecular analysis of 649 mutations
- 247 ANDRIEUX Joris Etude quantitative des transcrits du gène CFTR dans la dilatation des bronches par PCR en temps réel (Taq-Man)
- 248 FROISSART Roseline Maladie de Fabry: identification de nouvelles mutations et études d'expression
- E
- 249 STEVANIN Giovanni Hétérogénéité génétique de la maladie de Huntington : criblage de l'expansion CAG/CTG au locus Huntington's disease like-2
- 250 PEOC'H Katell Maladie de Creutzfeldt-Jakob génétique : multiples origines de la mutation E200K en France
- 251 M'RAD Ridha Etude génétique de 30 cas tunisiens de néphronophtise juvénile
- 252 KALATZIS Vasiliki Mutations du gène CTNS dans la cystinose
- 253 MINASSIAN Berge A canine model for the non-EPM2A form of Lafora's progressive myoclonus epilepsy
- T
- 254 LOSSI Anne-Marie FISH analysis and mutation screening of the enhancer of Zeste homolog 2 (EZH2) gene : a candidate gene for Coffin-Siris syndrome
- 255 RAYNAUD Martine Profil d'inactivation des X très dévié chez les conductrices dans certaines familles de retard mental lié au sexe
- 256 BLAYAU Martine Perte de mutation au locus X fragile : un mécanisme de conversion génique?
- 257 BLAYAU Martine Déficit en Alpha1-Antitrypsine par disomie uniparentale du chromosome 14
- S
- 258 CARLES Soukeyna Etude du gène DYT1 dans les formes de dystonie idiopathique de torsion
- 259 LECOURTOIS Magalie Les mutations de la préséniline 1 responsables des formes autosomiques dominantes de la maladie D'Alzheimer conduisent dans la drosophile à une perte de fonction vis à vis de la voie Notch
- O
- 260 CHEVALIEZ Stéphane Identification des mutations du gène APRT responsable de l'urolithiase de 2,8-dihydroxyadénine dans la population française
- 261 MOIZARD Marie-Pierre Criblage mutationnel du gène ATP7A dans la maladie de Menkes
- 262 EL GHOUZZI Vincent Identification d'une mutation tronquante de FGFR2 dans une forme familiale du syndrome de Jackson Weiss
- 263 BOTTANI Armand MECP2 gene deletion in a mentally-handicapped 4-year-old boy and his unaffected mother
- 264 AUBOURG Pauline X-linked myopathy with excessive autophagy : genes exclusion in the XQ28 region and X-inactivation studies in obligate carriers
- 265 CEBALLOS-PICOT Irène Identification et analyse des mutations du gène ATP7B responsables de la maladie de Wilson dans la population française - relation génotype/phénotype
- P
- 266 STERNBERG Damien Corrélation génotype-phénotype dans la paralysie périodique hypokaliémique
- 267 PEREIRA Sandrine De Novo Reciprocal translocation t(412)(q26 p12) in a patient with Andersen syndrome (periodic paralysis and long QT syndrome)

- 268 ROLL Patrice In silico search and mutational analysis of candidate genes for the ICCA (infantile convulsions and choreoathetotic dyskinesia) syndrome at chromosome 16p12-q12
- 269 GENTON Pierre Clinical and Genetic Analysis of a New Multigenerational Pedigree with GEFS+ (Generalized Epilepsy with Febrile Seizures Plus) : More Evidence for Genetic Heterogeneity
- 270 HERON Delphine Syndrome d'Hay-Wells: 2 nouveaux patients avec mutation du gène p63
- 271 DUPUIS Stéphanie Implication d'une mutation du gène STAT1 dans l'immunité antimycobactérienne et antivirale
- 272 BITOUNE Emmanuelle Syndrome de Netherton : variabilité d'expression et spectre de mutations...
- 273 LAJEUNIE Elisabeth Prévalence de la mutation Pro250Arg du gène FGFR3 dans les craniosténoses coronales
- 274 MOUTOU Céline Diagnostic préimplantatoire de la mucoviscidose par PCR multiplexe
- 275 MONCLA Anne Polymorphisms in the C-terminal domain of MECP2 in mentally handicapped boys : implications for genetic counselling
- 276 DURR Alexandra Diagnostic génétique et ataxies cérébelleuses autosomique dominantes
- 277 LEHEUP Bruno Mosaïque somatique du défaut de l'empreinte maternelle de la région 15q11 : un nouveau cas avec des signes atypiques du syndrome d'Angelman sans obésité
- 278 GIRAUD Sophie Importance du génotypage pour l'étude de phénotype hétérogène de la maladie de Rendu-Osler
- 279 DE VERNEUIL Hubert Analyse du gène HFE chez 49 malades atteints de Porphyrie Cutanée du Sud-Ouest de la France
- 280 GUITTARD Caroline Méthode de caractérisation rapide et fiable par PCR fluorescente de la séquence répétée (TG)_m dans l'IVS8 du gène CFTR. Application à l'étude de 121 patients porteurs d'une agénésie bilatérale des CAN
- 281 LE BER Isabelle L'atrophie dentato-rubro-pallido-luysienne parmi les ataxies cérébelleuses autosomiques dominantes
- 282 LIREUX Barbara Mutations du gène GNAS1 et Ostéodystrophie Héritaire d'Albright: un gène deux phénotypes
- 283 MICHEL-CALEMARD Laurence Séquençage de 78 exons du gène de la dystrophine dans les myopathies de Duchenne et Becker : identification de 42 mutations ponctuelles
- 284 MAITRE Marianne Mutations du gène de la thymidine phosphorylase dans le syndrome MNGIE. Diagnostic différentiel des formes typiques et variantes : à propos de trois cas
- 285 NGUYEN Karine Etude moléculaire du gène de la Dysferline dans les Myopathies des ceintures (LGMD2B) et la Myopathie distale de Miyoshi (MM)
- 286 DORAY Bérénice Anomalies de fermeture du tube neural associées à une trisomie partielle du bras court du chromosome 2
- 287 MALLET Delphine Etude moléculaire d'une cause rare d'ambiguïté sexuelle et d'aménorrhée primaire: le déficit en 17alpha-hydroxylase/17,20-lyase
- 288 VINCENT Marie-Claire Une nouvelle mutation (IVS 4 +5 G >C) du gène PAX6 dans une famille de Nystagmus Congénital
- 289 RICHARD Pascale Distribution des gènes responsables de Cardiomyopathie Hypertrophique dans 102 familles génotypées
- 290 RICHARD Pascale Analyse du gène PRKAG2 dans la cardiomyopathie hypertrophique familiale associée au syndrome de Wolff Parkinson White
- 291 TARDY Véronique Validation par la biologie moléculaire du dépistage néonatal du déficit en 21-hydroxylase en France
- 292 HERON Delphine Cadre et temporalité pour les tests présymptomatiques dans les myopathies à révélation tardive : expérience de l'institut de myologie
- 293 VINCENT Marie-Claire Stratégie diagnostique des Dysplasies ectodermiques anhidrotiques
- 294 FELLMANN Florence Fréquence des microdélétions AZFa dans les cas d'infertilité masculines avec azzospermie idiopathique
- 295 CALENDER Alain Mutations germinales du gène de la Néoplasie Endocrinienne Multiple de type 1 (MEN1 - OMIM 131100) dans une large série de familles françaises: recherche de corrélations génotype-phénotype

S	296	TILL Marianne	Syndrome d'Aicardi Gouttières : une maladie génétique à suspecter devant une symptomatologie de fœtopathie virale non documentée
	297	PEDEILLIER Karinne	Evaluation of a mutation screening strategy for the UBE3A gene in 33 patients from 25 families with Angelman Syndrome
	298	FAUGERE Valérie	Criblage de l'exon ORF15 du gène RPGR à l'aide du test de troncation des protéines (PTT)
	299	GENDROT Chantal	Une nouvelle mutation du gène MDR3 dans un cas de Cholestase Intra-hépatique Gravidique
	300	BADENS Catherine	Association d'une hémoglobine S et d'un nouveau variant de l'hémoglobine à affinité pour l'O ₂ diminuée: l'Hb Canebière beta102(G4)Asn->His
R	301	LE BER Isabelle	Etude clinique et mise en évidence indirecte de l'expansion du gène ZNF9 dans une nouvelle famille française atteinte de PROMM
	302	LESCA Gaetan	Les conductrices symptomatiques pour les dystrophinopathies avec biais d'inactivation du chromosome X
	303	FEUILLET-FIEUX Marie-Noëlle	Four novel mutations in patients with atypical CF
	304	BEY-OMAR-CABET Faiza	L'agénésie vésiculo-déférentielle est-elle une forme non-classique de mucoviscidose ?
E	305	PISSARD Serge	One step and reliable full HFE genotyping using DHPLC methodology
	306	DAHAN Karine	Familial juvenile hyperuricemic nephropathy
	307	GASTON Véronique	Recherche de mutation du gène GLYPICAN-3 dans les syndromes de croissance excessive
	308	NIEL Florence	Western-blot analysis of emerin and lamin A/C in Emery-Dreifuss diseases
	309	SCHLUTH Caroline	Diagnostic prénatal échographique du syndrome 49, XXXXY
T	310	COSTACatherine	Carrier diagnosis of galactosemia in a family with complete deletion of the GALT gene using quantitative real-time PCR
	311	BIETH Eric	Le reverse dot-blot, un moyen simple et rapide de détecter la mutation majoritaire 35delG du gène de la connexine 26
	312	STERNBERG Damien	Variations de séquence des gènes d'ARN de transfert mitochondriaux : comment distinguer les mutations pathogènes des polymorphismes ?
	313	LE MARECHAL Cédric	Génotypage de l'IVS8 poly-T du gène CFTR par extension d'amorce couplée à la DHPLC
	314	BUISINE Marie-Pierre	Mutations du gène APC répertoriées dans des familles du Nord - Pas-de-Calais atteintes de Polypose Adénomateuse Familiale
S	315	ESCANDE Fabienne	Identification d'une nouvelle mutation du gène APC responsable d'un épissage constitutionnel de l'exon 14
	316	PIQUION Nicole	Le diagnostic de syndrome de Marfan en l'absence de signes cliniques morphologiques évocateurs
	317	BATT Martine	L'annonce du diagnostic présymptomatique de maladie de Huntington
	318	BIANCALANA Valérie	4 ans de diagnostic moléculaire du syndrome X fragile (1997-2000), évolution du dépistage depuis 1991
O	319	COSSEE Mireille	Diagnostic moléculaire indirect de la maladie de Menkes : expérience du laboratoire de Strasbourg
	320	GIRARDET Anne	Mise au point d'un diagnostic pré-implantatoire pour une famille présentant un syndrome d'Angelman
	321	AZIBI Kémal	Hétérogénéité moléculaire de la maladie de Fabry : caractérisation de douze mutations nouvelles
	322	GIRARDET Anne	Amplification unicellulaire de deux microsatellites en vue de la réalisation d'un diagnostic pré-implantatoire : application au rétinoblastome héréditaire
P	323	PAQUIS-FLUCKLINGER V.	La recherche de plusieurs anomalies de l'ADN mitochondrial permet-elle d'améliorer le dépistage des diabètes mitochondriaux ? Analyse d'une série de 96 patients présentant un diabète associé à une surdité

- 324 NARBONNE Hervé Rechercher la mutation A3243G tRNALeu de l'ADN mitochondrial dans les cellules de la muqueuse buccale pour améliorer le dépistage des diabètes mitochondriaux
- 325 MOERMAN Alexandre Mutation MELAS et syndrome de la nuque tombante : une nouvelle association
- 326 SOUFIR Nadem Prévalence des variants du récepteur à l'alpha-MSH (MC1R) chez les malades suspects de prédisposition génétique au mélanome. Corrélation avec les mutations germinales de P16INK4A
- 327 SEVILLA Christine La diffusion des tests génétiques de prédisposition au cancer du sein ou de l'ovaire
- 328 LONGY Michel Instabilité micro-satellitaire du cancer colo-rectal avant 50 ans, intérêt dans l'identification des syndromes HNPCC
- 329 TARPIN Carole Antécédents familiaux de cancer en population
- 330 LASSET Christine Prévalence des mutations germinales de BRCA1 et BRCA2 dans le cancer du sein chez la femme jeune. Résultats d'une étude de population dans le Rhône
- 331 CHARBONNIER Françoise Fréquence et hétérogénéité des remaniements des exons et du promoteur du gène MSH2 dans le syndrome HNPCC
- 332 COUTURIER Jérôme Caractérisation des déséquilibres chromosomiques du rétinoblastome par hybridation génomique comparative
- 333 GIMENEZ-ROQUEPLO A.-Paule Paraganliome héréditaire: étude fonctionnelle de la mutation R22X du gène SDHD
- 334 SEITE Paule Caractérisation de l'interaction physique et fonctionnelle entre la protéine p14ARF et la Topoisomérase I humaines
- 335 COUPIER Isabelle Réparation des cassures double brin de l'ADN par non homologous end joining dans trois lignées lymphoblastoïdes comportant une mutation-faux sens de BRCA1
- 336 LE MEUR Nathalie Identification dans la levure de gènes dont l'inactivation conduit à une instabilité chromosomique
- 337 BRESSAC-de PAILLERETS Brigitte Identification des personnes à haut risque de mélanome: de la recherche vers la génétique médicale?
- 338 BRESSAC-de PAILLERETS Brigitte Validation fonctionnelle des protéines p16 et CDK4 mutées
- 339 GIULIANO Fabienne Expression aberrante de la protéine MSH4 (MutS Homolog 4) dans des tumeurs gliales
- 340 DUPONT Madeleine Détection rapide des réarrangements du gène MLL par multiplex RT-PCR en un seul essai
- 341 PHILIPPE Christophe Recherche de mutations au sein du gène BRCA1 dans des familles avec prédisposition héréditaire aux cancers du sein et/ou de l'ovaire : l'expérience Lorraine
- 342 MAIRE Georges Diagnostic moléculaire des tumeurs de Darier-Ferrand par détection du gène de fusion COL1A1-PDGFB
- 343 BONADONA Valérie Les prédispositions héréditaires aux cancers du sein et du colon non polyposique : impact du rendu de résultat chez des patients atteints de cancer
- 344 GAD Sophie Recherche de réarrangements du gène BRCA1 par Peignage Moléculaire de l'ADN
- 345 GAUTHIER-VILLARS Marion Recherche de mutations constitutionnelles du gène RB : bilan d'une stratégie combinant cytogénétique, DHPLC et PCR multiplexe semi-quantitative
- 346 OLSCHWANG Sylviane Mosaïque somatique du gène APC associée à une polypose adénomateuse familiale et une transmission germinale
- 347 NOGUES Catherine Prédispositions génétiques aux cancers du sein et de l'ovaire : étude prospective de sujets portant une mutation des gènes BRCA
- 348 TOSI Mario Optimisation des méthodes pour la détection des remaniements du gène BRCA1 dans les prédispositions aux cancers du sein et de l'ovaire
- 349 MARTIN Cosette Neurofibromatose de type 1, syndrome de Peutz-Jeghers et délétion complète du gène STK11 dans une famille
- 350 SEDDIQI Nadia Structure complète, localisation génomique et expression du facteur HIC-3

- S
- 351 MARLIN Sandrine Prévalence des putations mitochondriales dans les surdités isolées : importance des mutations A1555G et T7511C
- 352 AMSELLEM Sabine Variations synonymes et non synonymes du récepteur des LDL dans l'hypercholestérolémie familiales en France
- 353 CATHALA Philippe dHPLC et anthropologie moléculaire
- 354 VERNY Christophe Fréquence des loci associés aux formes démyélinisantes de maladie de Charcot-Marie-Tooth autosomique récessive
- 355 NOTARNICOLA Cécile Altered expression of MEFV and cytokines in patients with familial Mediterranean fever
- 356 EL HACHIMI Khalid H. Haplotype
- 357 LESCA Gaetan Implication des molécules d'adhésion dans la susceptibilité ou la sévérité de la sclerose en plaques
- 358 DE PONTUAL Loic Mutations de la voie RET/GDNF/HASH 1 dans l'Hypoventilation Alvéolaire Centrale Congénitale (HVACC, syndrome d'Ondine)
- 359 ADAM Marie Scolioses idiopathiques : vers la localisation des gènes responsables?
- 360 CHARRON Philippe Polymorphismes génétiques et Cardiomyopathie dilatée idiopathique multifactorielle dans une population caucasienne
- 361 MICHOU Laetitia L'étude de gènes candidats pour la polyarthrite rhumatoïde (PR) au Genhotel illustrée par HLA
- 362 FERRAN Hélène Etude des variations du transcriptome des cellules Caco-2 au cours de leur différenciation : un modèle D'étude de l'absorption intestinale du fer ?
- 363 FAKHFAKH Faiza DMC avec déficit secondaire en mérosine, liée au locus RSMD1 (1p35-36)
- 364 MICHON Laetitia Recherche du gène responsable de la microphthalmie autosomique dominante
- 365 VIOLLET Louis Etude génétique des amyotrophies spinales distales chroniques de l'enfant
- 366 VILLARD Laurent X-linked bilateral perisylvian polymicrogyria maps to Xq
- 367 ABI-FADEL Marianne Fine mapping of region 1p32 that contains the third major locus for autosomal dominant hypercholesterolemia
- 368 DESANDRE GIOVANNOLI Annachiara CMT axonal autosomique récessif lié au locus 1Q21.2-Q21.3 et exploration des loci connus dans les AR-CMT2 dans des familles algériennes
- 369 DE LONLAY Pascale Mutations de BCS1, un gène d'assemblage de la chaîne respiratoire, dans des déficits du complexe III.
- 370 AZZEDINE Hamid Hétérogénéité génétique de la forme axonale de la maladie de Charcot-Marie-Tooth autosomique récessif : fréquences observées des loci connus
- 371 TOUTAIN Annick Syndrome de Nance-Horan : affinement de la localisation en Xp22.2 et exclusion de six gènes candidats
- 372 VILLEGIER Ludovic Vers l'identification d'un quatrième gène majeur dans l'hypercholestérolémie familiale
- 373 ELGAIED-BOULILA Amel Hétérogénéité allélique du gène PDS dans le sud tunisien
- 374 LEGEAI-MALLET Laurence Les mutations "EXT" responsables de la maladie des exostoses multiples sont associées à des anomalies fonctionnelles des chondrocytes
- 375 SANTUCCI-DARMANIN Sabine Identification de différents partenaires de la protéine MSH4 au cours des stades précoces de la prophase de méiose chez les mammifères
- 376 SAUT Noemie Des micro- aux nano-délétions du chromosome Y : localisation des facteurs d'azoospermie (AZF)
- 377 DOUDEMMENT Julien Identification et caractérisation fonctionnelle des facteurs de transcription impliqués dans l' activation de la transcription du gène CFTR
- 378 GOUDOU Danièle Nouveaux motifs rétroviraux endogènes humains de type HERV-7q/W
- 379 GIRODON Emmanuelle Description clinique et fonctionnelle d'un triple mutant du gène CFTR : D443Y-G576A-R668C
- P

- S
R
E
T
S
O
P
- 380 FERGELOT Patricia Etude par transgénèse de la fonction d'HFE1 dans l'absorption intestinale du fer
- 381 GASTALDI Marguerite Identification and Characterization of Human STX1B2 Gene, a New Member of the Syntaxin Family
- 382 RUSTIN Pierre Réduction de l'hypertrophie cardiaque dans l'ataxie de Friedreich par un traitement par l'idébénone
- 383 ARNOLD Anne-Sophie Vers une thérapie cellulaire pour les amyotrophies spinales infantiles
- 384 DURR Alexandra Le diagnostic présymptomatique : facteurs prédictif de la décision
- 385 GARGIULO Marcela Maladie dominante à révélation tardive : l'information du risque dans les familles
- 386 BARUTEAU Alban-Elouen L'annonce du résultat du diagnostic prénatal du syndrome de l' X fragile : problème difficile pour le généticien
- 387 BERNARD R. & SIGAUDY S. Recherche de mutations dans les gènes Connexine 26 (CX26) et Pendrine (PDS) dans les surdités congénitales : stratégie, bilan et perspectives
- 388 CORDIER Marie-Pierre Mosaïque germinale chez le grand-père : un piège pour le conseil génétique dans les familles de maladie RLX
- 389 SAUGIER-VEBER Pascale Détection des délétions hétérozygotes du gène SMN1 dans les familles atteintes d'amyotrophie spinale infantile par PCR multiplex fluorescente : bilan de l'activité et des indications
- 390 RÉSEAU FRANÇAIS "MUCOVISCIDOSE" DES LABORATOIRES DE GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE
Etat des lieux et compte-rendu d'un atelier de consensus sur les pratiques des tests moléculaires
- 391 FLORI L. Paludisme à Plasmodium falciparum : confirmation
- 392 FREUND M. M. Le devenir des anomalies numériques des chromosomes sexuels
- 393 CHEVALIER PORST F. Identification et caractérisation de 4 grandes délétions du gène CFTR
- 394 PIQUION N. L'information et le consentement aux soins du patient - Aspects
- 395 RAY P. F. Bilan d'activité du diagnostic pré-implantatoire moléculaire à Paris
- 396 TAINE L. Tumeur stromale métanéphrique : étude combinée en cytogénétique conventionnelle, FISH et Multi-FISH
- 397 REBOUL MP. Contribution à la connaissance de la sévérité de la mutation 1811+1,6 Kba>G du gène *CFTR* à l'aide de 12 patients mucoviscidosiques (2 homozygotes et 10 hétérozygotes composites)
- 398 GINGLINGER E. Trisomie 22Q terminale : à propos d'une observation
- 399 REBOUL MP. Un cas de pancréatite chronique idiopathique isolée chez un hétérozygote composite (G542X/S1235R) pour le gène *CFTR*

Communications Orales

1. Erreurs Innées du Métabolisme

GERMAIN Dominique Paul¹, Consortium International De La Maladie De Fabry,
1 Département de Génétique Hôpital Européen Georges Pompidou 20 rue Leblanc Paris France

THERAPIE ENZYMATIQUE SUBSTITUTIVE DE LA MALADIE DE FABRY PAR ALPHA-GALACTOSIDASE RECOMBINANTE

La maladie de Fabry est une pathologie héréditaire du métabolisme, de transmission liée au chromosome X, due à un déficit en une enzyme lysosomale : l'alpha-galactosidase A. L'accumulation de glycosphingolipides non dégradés (GL3) dans les tissus et le plasma, conduit à une maladie de la microvasculature avec atteinte cardiaque, neurologique et insuffisance rénale.

La sécurité et l'efficacité de l'alpha-galactosidase recombinante (r-haGal A, agalsidase beta, Genzyme Corporation) fut évaluée dans un essai international multicentrique, randomisé en double aveugle contre placebo (4 pays, 8 centres) portant sur 58 patients qui furent traités pendant 20 semaines à raison d'une perfusion intraveineuse de l'enzyme chaque 14 jours (11 injections). Tous les patients furent ensuite traités par r-aGalA pendant 18 mois, en ouvert.

L'objectif primaire de l'essai clinique était la clairance totale de GL3 de l'endothélium vasculaire rénal. 20 des 29 patients (69%) initialement traités par r-aGalA n'avaient plus aucun dépôt dans l'endothélium des vaisseaux capillaires des reins après 20 semaines de traitement. Aucun des patients sous placebo n'eut d'amélioration ($P < 0,001$). La clairance histologique des dépôts de GL3 dans l'endomyocarde et la peau fut aussi évaluée. Les patients du groupe traité par r-aGalA avaient une nette réduction des dépôts endothéliaux de GL3 dans la peau et le cœur, à la différence des patients sous placebo ($P = 0,001$). Les taux plasmatiques de GL3 furent ramenés à des niveaux indétectables à la posologie de 1 mg/kg de poids corporel. Lors de l'étude d'extension en ouvert, tous les patients initialement sous placebo eurent une clairance complète des dépôts glycolipidiques de l'endothélium des capillaires rénaux. Une diminution des dépôts de GL3 fut par ailleurs objectivée dans de nombreux autres types cellulaires. Ces données confirment la capacité de l'alpha-galactosidase A recombinante à inverser le mécanisme physiopathologique princeps de la maladie de Fabry.

2. Bases Moléculaires des maladies Mendéliennes

COHEN-SALMON Martine¹, Ott Thomas², Michel Vincent¹, Hardelin Jean-Pierre¹, Perfettini Isabelle¹, Eybalin Michel³, Wu Tao⁴, Marcus Daniel C⁴, Wangemann Philine¹, Willecke Klaus⁵, Petit Christine¹

1 CNRS URA 1968, Unité de Génétique des Déficiences Sensorielles Institut Pasteur 25 rue du Dr. ROUX Paris

2 Institut für Genetik, Abt. Molekulargenetik, Universität Bonn, 53117 Bonn, Allemagne),

3 Neurobiologie de l'Audition, INSERM U254, 71 rue de Navacelles, 34090 Montpellier cedex, France

4 Anatomy and Physiology Department, College of Veterinary Medicine, Kansas State University, 1600 Denison Avenue, Manhattan, KS 66506, USA

5 Universität Bonn, 53117 Bonn, Allemagne

INACTIVATION DU GÈNE CX26 CODANT LA CONNEXINE26 DANS L'OREILLE INTERNE CHEZ LA SOURIS POUR COMPRENDRE LA PATHOGENÈSE DE LA FORME LA PLUS FRÉQUENTE DE SURDITÉ HÉRÉDITAIRE, DFNBI

La surdité isolée DFNBI est la forme la plus fréquente de surdité congénitale héréditaire. Elle atteint un enfant sur 2000. Des mutations dans le gène Cx26, codant la connexine 26, en sont responsables. Pour comprendre la pathogénèse de cette surdité, nous avons développé un système d'inactivation du gène Cx26 dirigée dans l'oreille interne de la souris, l'inactivation totale de ce gène étant létale chez la souris au dixième jour de développement embryonnaire.

Dans l'oreille interne, la connexine 26 forme deux réseaux de jonctions communicantes indépendants, l'un reliant les cellules de support des épithéliums sensoriels entre elles, l'autre reliant les cellules des tissus conjonctifs entourant les épithéliums, les fibrocytes. Afin d'inactiver Cx26 dans le réseau épithélial de l'oreille interne, le gène codant la recombinaison Cre a été placé sous le contrôle du promoteur du gène Otog, codant l'otogéline, exprimé spécifiquement dans les cellules de support des épithéliums sensoriels de l'oreille interne. Les souris transgéniques Otog-Cre ont été croisées avec les souris floxées au locus Cx26.

Les souris résultantes Cx26 Otog Cre présentent une surdité comparable à la pathologie DFNBI : sévérité variable (moyenne à profonde), non progressive, prédominante dans les hautes fréquences, sans trouble vestibulaire associé. La surdité est due à une dégénérescence progressive par apoptose du neurépithélium cochléaire (organe de Corti) à partir du 14^{ème} jour de développement postnatal, c'est à dire, après maturation finale de la cochlée. La connexine 26 est donc essentielle dans la physiologie de l'audition. Nous démontrons qu'elle pourrait en particulier jouer un rôle crucial dans le contrôle de la concentration extracellulaire de glutamate sécrété par les cellules sensorielles cochléaires lors d'une stimulation sonore.

3. Génomique et Bio-informatique

REYMOND Alexandre¹, Marigo Valeria², Yaylaoglu Murat³, Camargo Anamaria⁴, Deutsch Samuel¹, Wattenhofer Marie¹, Menzel Olivier¹, Guipponi Michel¹, Stevenson Brian J⁵, Bucher Philipp⁵, Simpson Andrew J⁴, Jongeneel Victor⁵, Eichele Gregor³, Ballabio Andrea², E. Antonarakis Stylianos¹

1 Division of Medical Genetics University of Geneva Medical School CMU, 1, rue Michel Servet 1211 Geneva Suisse

2 TIGEM, Naples, Italy

3 Max Planck Institute, Hannover

4 Ludwig Institute for Cancer Research, Sao Paulo, Brazil

5 Ludwig Institute for Cancer Research, Epalinges, Switzerland

LES GÈNES DU CHROMOSOME 21 ET LA CARTE D'EXPRESSION DE LEUR ORTHOLOGUES MURINS

Identifier les gènes du chromosome 21 (CH21) va permettre de comprendre les mécanismes à l'origine des phénotypes du Syndrome de Down (SD). L'étude de la séquence du CH21 a confirmé 127 gènes, et prédit 98 gènes. Notre analyse montre que la plupart des C21orfs, définis à l'origine par comparaison avec des ESTs épissés, ont été correctement anticipés alors qu'un grand nombre des gènes prédits seulement in silico ne correspondent pas à de véritables gènes. Pensant que cette stratégie d'identification des gènes était probablement biaisée, nous avons re-analysé l'intégralité de la séquence du CH21 en incorporant de nouveaux ESTs et un nouvel algorithme qui nous permet de cartographier les "3' polyadenylation tag". Cette approche nous a permis d'identifier, puis de confirmer expérimentalement 17 nouveaux gènes.

Afin de définir où les gènes du CH21 exercent leur fonction et identifier leur rôle possible dans les phénotypes du SD, nous avons décidé d'établir le "pattern" d'expression de leurs orthologues murins. Pour obtenir une carte complète nous avons opté pour plusieurs méthodes complémentaires: RT-PCR et

hybridations *in situ*. 91 % des gènes testés ont montré une expression durant le développement de la souris. Dans 45 % des cas, l'expression était ubiquitaire, alors que pour 46 % des cDNAs elle était spécifique. Certains des >150 gènes déjà testés montrent une expression compatible avec un rôle dans les phénotypes observés chez les patients trisomique.

Un petit nombre de désordres monogéniques ont été cartographiés sur le CH21. Citons, en particulier, les gènes *TMPRSS3* et *CLDN14* responsables des surdités récessives *DFNB8*, *DFNB10* et *DFNB29*. Nous avons démontré que les mutations dans l'un de ces deux gènes sont des rares causes de surdité non-syndromique chez les Caucasiens. De plus, nous avons décrit des mutations dans le gène *COL18A1* d'une famille hongroise affectée par le Syndrome de Knobloch confirmant ainsi les découvertes de Passos-Bueno et collaborateurs.

4. Cartographie Génétique

DE LONLAY Pascale¹, Mugnier Claude², Chantrel Karine¹, Khadom Noman¹, Munnich Arnold¹, Rustin Pierre¹, Rotig Agnès¹

¹ INSERM U393, Hôpital Necker-Enfants malades, 149 rue de Sèvres, Paris France

² Service informatique, Hôpital Necker

LOCALISATION DE GÈNES NUCLÉAIRES IMPLIQUÉS DANS LES DÉFICITS DE LA CHAÎNE RESPIRATOIRE MITOCHONDRIALE PAR TRANSFERT DE CHROMOSOMES ET FRAGMENTS DE CHROMOSOMES DANS DES FIBROBLASTES EXPRIMANT LE DÉFICIT

Les cytopathies mitochondriales regroupent une grande variété de pathologies dont le dénominateur commun est un déficit de la chaîne respiratoire mitochondriale. L'identification des gènes de ces maladies est extrêmement difficile du fait de leur double origine nucléaire et mitochondriale et de leur très grand nombre. L'identification des gènes nucléaires peut être réalisée soit par une approche de cartographie génétique, soit par des études de complémentation fonctionnelle. L'approche de cartographie génétique est limitée par le très petit nombre de familles avec plusieurs enfants atteints tandis que la méthodologie de complémentation fonctionnelle est réalisable pour tout patient pour lequel un déficit enzymatique s'exprime dans les fibroblastes. Cette méthode consiste à introduire dans des cellules de patients soit des chromosomes entiers soit des fragments de chromosomes jusqu'à réversion du phénotype déficitaire. Ceci permet ainsi d'identifier le chromosome puis la région chromosomique contenant le gène responsable du déficit. Les chromosomes entiers sont obtenus par fragmentation de cellules hybrides homme/rongeur puis fusionnés avec des fibroblastes de malades. Ces fibroblastes sont ensuite cultivés dans un milieu sélectif pauvre en glucose dans lequel seuls les fibroblastes avec une chaîne respiratoire mitochondriale fonctionnelle peuvent survivre et se multiplier. Ainsi l'obtention d'un clone en milieu sélectif après transfert d'un chromosome humain valide la complémentation de ces fibroblastes. La réduction de la région chromosomique contenant le gène muté est ensuite possible grâce à l'utilisation de 96 lignées du Généthon du panel Genebridge 4 ayant servi au séquençage du génome humain, par la même technique de transfert de chromosome. Chaque lignée est parfaitement caractérisée et contient environ un tiers du génome humain et chacune de ces lignées varie l'une de l'autre par son contenu en génome humain. Cette approche a été réalisée sur 4 patients présentant un déficit en complexe I (patient 1), complexe II (patient 2) et complexe I+IV (patients 3 et 4). Le gène muté a été localisé pour chacun des quatre patients sur le chromosome X (patient 1), chromosome 12 (patient 2), chromosome 7 (patient 3) et chromosome 22 (patient 4). Les régions d'intérêt sont actuellement en cours de réduction en utilisant les lignées du Généthon.

5. Génétique Oncologique

FLAMAN Jean-Michel¹, Vasseur Nasrin¹, Lamy Aude¹, Bourguignon Jeannette¹, Le Pessot Florence², Hieter Philip³, Sesbois Richard¹, Christian Bastard¹, Thierry Frébourg¹

¹ INSERM EMI 9906, IFRMP Faculté de Médecine et de Pharmacie 22 Boulevard Gambetta Rouen France

² Service d'Anatomie et Cytologie Pathologiques, CHU de Rouen

³ CMMT, Vancouver, Canada

IDENTIFICATION DE GÈNES IMPLIQUÉS DANS L'INSTABILITÉ CHROMOSOMIQUE PAR CRIBLE FONCTIONNEL DANS LA LEVURE

Dans le but d'identifier des gènes dont l'altération est à l'origine de l'instabilité chromosomique, observée dans la plupart des cancers, nous avons développé une approche fonctionnelle dans la levure *Saccharomyces cerevisiae*. La souche utilisée est porteuse d'une mutation *ocre* au niveau du gène *ADE2* et contient un fragment de chromosome artificiel qui porte un ARNt suppresseur des mutations *ocre*. L'instabilité chromosomique provoque la perte du fragment chromosomique, ce qui démasque la mutation *ade2-* et entraîne l'apparition de secteurs rouges dans les colonies blanches. Le criblage dans cette souche indicatrice de l'instabilité chromosomique d'une banque génomique de levure clonée dans un vecteur multicopies, mimant l'amplification génique, a révélé que la dérégulation du gène de levure *Cib5*, codant pour une des cyclines de type B, entraînait une altération de la ségrégation chromosomique. L'expression hétérologue des cyclines B2 et B1 humaines dans la souche indicatrice induit également une instabilité chromosomique et une sensibilité anormale au *bénomyl* signant une altération du point de contrôle du fuseau mitotique. L'analyse de tumeurs malignes a permis de détecter dans certaines tumeurs une accumulation post-traductionnelle de la cycline B1 et une augmentation de l'expression de l'ARNm de la cycline B2. Ainsi, la dérégulation de l'expression des cyclines de type B, par différents mécanismes, pourrait contribuer à une altération du point de contrôle du fuseau mitotique et donc à l'instabilité chromosomique observée dans les cancers.

6. Bases Moléculaires des maladies Mendéliennes

BUJ-BELLO Anna¹, Laugel Vincent¹, Messaddeq Nadia¹, Laporte Jocelyn¹, Pellissier Jean-François², Mandel Jean-Louis¹

¹ IGBMC (CNRS,INSERM,ULP), BP.163, ILLKIRCH, CU Strasbourg France

² Laboratoire de Biopathologie Nerveuse et Musculaire UPRES EA 3281, Faculté de Médecine, Marseille, France

CARACTÉRISATION D'UN MODÈLE MURIN POUR LA MYOPATHIE MYOTUBULAIRE

La myopathie myotubulaire liée à l'X (MTMX) est une maladie congénitale rare et sévère, avec une atteinte généralisée de la musculature squelettique. L'aspect histopathologique montre de nombreuses fibres hypotrophiques à noyaux centraux ressemblant à des myotubes fœtaux, faisant suggérer que la maladie soit due à un arrêt de la myogénèse. Le gène responsable (MTM1) code pour une lipide-phosphatase d'expression ubiquitaire, nommée myotubularine, impliquée dans le métabolisme des phosphoinositides. Afin de mieux comprendre le mécanisme physio-pathologique de la maladie, nous avons généré une lignée de souris mutantes pour le gène *Mtm1* par recombinaison homologe.

Les souris *m*, les déficientes en myotubularine sont viables mais présentent un retard de croissance. Elles développent un déficit moteur avec amyotrophie des membres postérieurs autour de 4 semaines postnatales, qui s'aggrave et se généralise. La mort survient entre un et trois mois, probablement par insuffisance respiratoire et cachexie.

L'étude histopathologique de la musculature squelettique confirme l'étendue des lésions en phase symptomatique. Nous observons une hypotrophie généralisée avec des fibres à noyaux centraux ou paracentraux qui augmentent en nombre avec la progression de la maladie. Nous présenterons des données qui

indiquent que ni un arrêt de la myogénèse ni un procès actif de nécrose/régénérescence ne semblent être à l'origine de l'apparition de ces fibres à noyaux centralisés, mais qui suggèrent l'existence d'une altération dans le maintien de l'ultrastructure des fibres. Ce modèle murin révèle l'importance de la fonction de la myotubularine dans le muscle squelettique et constituera un bon outil pour d'éventuels tests thérapeutiques.

7. Diagnostic Prénatal

COSTA Jean-Marc¹, Hadjrabia Smail², Faivre Laurence³, Tachdjian Gérard⁴, Gautier Evelyne⁵, Benachi Alexandra⁶
1 Hôpital Américain Centre de Diagnostic Prénatal 63 bd Victor Hugo Neuilly France
2 Génétique Médicale Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris
3 Génétique Médicale CHU Dijon
4 Cytogénétique CHU Bécélère, Clamart
5 Cytogénétique, Hôpital Américain, Neuilly
6 Maternité, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris

NOUVELLE STRATÉGIE DE PRISE EN CHARGE DU DIAGNOSTIC PRÉNATAL DES MALADIES LIÉES À L'X : ANALYSE DE L'ADN FŒTAL DANS LE SÉRUM MATERNEL

Dans son approche conventionnelle, le diagnostic prénatal des maladies liées à l'X est réalisé depuis longtemps par biopsie des villosités chorales. En effet, la détermination échographique du sexe fœtal n'est pas fiable au cours du premier trimestre de grossesse et c'est donc l'analyse cytogénétique des villosités chorales qui permet de connaître le sexe fœtal le plus précocement au cours de la grossesse, à partir de 11 semaines d'aménorrhée (SA). Par ailleurs, les analyses de génétique moléculaire peuvent être réalisées à partir de ce tissu fœtal et les conséquences en terme de mortalité et de morbidité maternelles sont moindres durant cette période de la grossesse si une décision d'interruption de grossesse est envisagée. Toutefois, le risque de perte fœtale lié à cette procédure invasive est relativement élevé (1-3%) alors même que cette biopsie est inutile pour les fœtus de sexe féminin. La mise en évidence récente d'ADN fœtal libre dans le plasma maternel offre de nouvelles perspectives de procédures non invasives de diagnostic prénatal. Nous avons ainsi développé une méthode sensible et fiable de détection de séquence du gène SRY dans le sérum maternel. Une étude préliminaire réalisée en aveugle (N=101 patientes) nous a permis de démontrer que la détermination du sexe fœtal pouvait être réalisée par analyse de l'ADN fœtal du sérum maternel dès le premier trimestre de la grossesse (terme moyen : 11.6 SA). Aucune erreur n'a été observée au cours de cette étude préliminaire. Une nouvelle stratégie de prise en charge du diagnostic prénatal des maladies liées à l'X est donc maintenant proposée. Elle repose sur l'analyse en première intention du sérum maternel entre 10 et 12 SA et un contrôle échographique au deuxième trimestre de la grossesse si le résultat montre un fœtus de sexe féminin. Le prélèvement de villosités chorales est réalisé pour les seuls fœtus m, les pour confirmation de sexe fœtal par analyse chromosomique et pour analyse de génétique moléculaire. A ce jour, plus de 80 patientes ont pu bénéficier avec succès de cette nouvelle prise en charge qui ouvre de nouvelles perspectives de diagnostic prénatal non invasif.

8. Génétique Clinique et Dysmorphologie

CARDOSO Carlos¹, Leventer Richard J², Ward Heather L³, Chung June³, Toyooka Kazu⁴, Gross Alyssa³, Lese Christa M³, Pilz Daniela T⁵, Olney Ann H⁶, Mutchinick Osvaldo M⁷, Wynshaw-Boris Anthony⁴, Dobyns William B³, Ledbetter David H³
1 INSERM U491 - Faculté de Médecine la Timone - 27 Bd. Jean Moulin 13385 Marseille France
2 Department of Neurology and Murdoch Children's Research Institute, Royal Children's Hospital, Flemington Rd, Parkville, Melbourne, VIC 3052, Australia
3 Department of Human Genetics, The University of Chicago, 920 E 58th Street, Chicago, IL 60637, USA
4 University of California, San Diego, School of Medicine 9500 Gilman Drive, La Jolla, CA.
5 Institute for Medical Genetics, University Hospital of Wales, Heath Park Cardiff CF14, United Kingdom
6 Center for Human Genetics, University of Nebraska Medical Center, Omaha, NE
7 Departamento de Genética Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán, México

REFINEMENT OF A 400 KB CRITICAL REGION ALLOWS GENOTYPIC DIFFERENTIATION BETWEEN ISOLATED LISSENCEPHALY, MILLER-DIEKER SYNDROME AND OTHER PHENOTYPES SECONDARY TO DELETIONS OF 17P13.3.

Deletions of 17p13.3 including the LIS1 gene result in the brain malformation lissencephaly characterized by reduced gyration and cortical thickening, however the phenotype can vary from isolated lissencephaly sequence (ILS) to Miller-Dieker syndrome (MDS). At the clinical level, these two phenotypes can be differentiated by the presence of significant dysmorphic facial features and a more severe grade of lissencephaly in MDS. Previous work suggested that children with MDS have a larger deletion than those with ILS, yet the precise boundaries of the MDS critical region and causative genes other than LIS1 have never been fully determined. We have completed a physical and transcriptional map of the 17p13.3 region from LIS1 to the telomere. Using fluorescence *in situ* hybridization, we have mapped the deletion size in 14 children with ILS, 12 children with MDS and 4 children with 17p13.3 deletions not involving LIS1. We show that the critical region that differentiates ILS from MDS at the molecular level can be reduced to 400 kb. Using somatic cell hybrids from selected patients we have identified, by PCR, six genes that are exclusively deleted in patients classified as having MDS. In addition, deletion of the genes CRK and 14-3-3 epsilon delineates patients with the most severe lissencephaly grade. Based on existing functional data for these genes, we suggest that deletion of 14-3-3 epsilon in combination with a deletion of LIS1 account for the complete agyria seen only in patients with MDS. We conclude that 14-3-3 epsilon may also play a role in cortical development.

9. Bases Moléculaires des maladies Mendéliennes

BOURGOIN Christophe^{1,2}, Montanucci Pia³, Emiliani Carla³, Kahn Axel², Poenaru Livia^{1,2}, Caillaud Catherine^{1,2}
1 Laboratoire de Génétique, Université Paris V,
2 ICGM Faculté de Médecine Cochin 24, rue du Faubourg Saint Jacques PARIS FRANCE
3 Department of Cellular and Molecular Biology, University of Perugia, Italy

TRANSFERT DE GENES DANS LE MODELE ANIMAL DE LA MALADIE DE SANDHOFF A L'AIDE DE VECTEURS AAV

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 b des hexosaminidases, et conduit à un déficit en hexosaminidases A et B. L'évolution de la maladie de Sandhoff est dramatique et ne dispose à ce jour d'aucun traitement.

Afin de tester la faisabilité d'un transfert de gènes dans ce modèle, des vecteurs AAV ont été construits, contenant les ADNc humains HEXA et HEXB. Ces vecteurs ont été injectés dans le modèle murin de la maladie de Sandhoff. L'administration intramusculaire d'AAV-HEXB a permis une restauration massive de l'activité hexosaminidase dans le muscle injecté, mais ne s'accompagnant pas de sécrétion. Des injections intramusculaires ont ensuite été réalisées simultanément avec les vecteurs HEXA et HEXB. Cette coadministration a conduit à une augmentation significative de l'activité Hex A spécifique. L'AAV-HEXB a également été injecté dans la veine temporale de souriceaux nouveau-nés, générant des taux thérapeutiques dans le foie et le sérum de ces animaux après 2 mois. Le foie est donc un organe efficace de sécrétion des hexosaminidases, après transduction par des vecteurs AAV.

L'AAV-HEXB a enfin été injecté par voie intracérébrale directe, générant une activité élevée et diffuse dans l'hémisphère injecté, activité liée essentiellement à l'isozyme B, l'Hex A demeurant faible. Une coadministration des vecteurs HEXA et HEXB doit maintenant être réalisée afin de tester sa capacité à produire des taux thérapeutiques d'Hex A dans le système nerveux central.

10. Bases Moléculaires des maladies Mendéliennes

SMAHI Asma¹, Courtois G², Israel A², Gonzales M³, Döffinger R³, Casanova JL⁴, Munnich A¹.

1 U393 INSERM 149, Rue de Sèvres Paris France

2 URA CNRS 1773, Institut Pasteur

3 Laboratoire de cytogénétique, Hôpital Saint Antoine

4 Laboratoire de Génétique humaine des maladies infectieuses, Hôpital Necker

LE GÈNE NEMO : DE L'INCONTINENTIA PIGMENTI AUX DÉFICITS IMMUNITAIRES...

L'Incontinentia pigmenti (IP) ou syndrome Bloch-Sulzberger est une génodermatose sévère transmise sur le mode dominant lié au chromosome X avec létalité masculine tôt au cours du développement. L'IP est caractérisée par une éruption cutanée néonatale souvent associée à des anomalies de développement (dents, cheveux, système nerveux,.....).

Nous avons récemment démontré qu'un remaniement du gène NEMO (NF-kB Essential Modulator) est responsable de 85% de cas d'IP. Ce remaniement résulte en l'absence de la protéine NEMO, résultant dans l'inhibition totale de l'activation NF-kB. NF-kB est un facteur de transcription qui intervient dans la réponse immune, inflammatoire, dans les mécanismes d'apoptose et de prolifération cellulaire.

Nous avons également démontré que des mutations hypomorphes du gène NEMO sont responsables d'un nouveau syndrome, récessif lié à l'X, que nous avons appelé : OL-EDA-ID. Ce syndrome associe des signes de dysplasie ectodermique anhidrotique, une ostéopétrose, un lymphodème, un Déficit Immunitaire et une susceptibilité aux infections. Nous avons démontré grâce à l'analyse de ces patients qu'un défaut d'activation du facteur de transcription NF-kB est un mécanisme physiopathologique commun à l'incontinentia pigmenti, la dysplasie ectodermique anhidrotique, l'ostéopétrose, le lymphodème, et le déficit immunitaire.

11. Génétique Clinique et Dysmorphologie

JOURNEL Hubert¹, de la Pinetiere Armelle², Odent Sylvie², Bonneau Dominique³, Moraine Claude⁴, Lacombe Didier⁵, David Albert⁶, Verloes Alain⁷

1 Génétique Médicale Centre Hospitalier Blvd Guillaudot, VANNES France

2 CHU Rennes

3 CHU Angers

4 CHU Tours

5 CHU Bordeaux

6 CHU Nantes

7 CHU Robert Debré

L'EMBRYO-FŒTOPATHIE DUE AU VALPROATE. ETUDE DE 100 OBSERVATIONS

Objectif : Décrire l'embryofœtopathie due au Valproate : La description de l'embryofœtopathie due au Valproate reste trop souvent limitée à un faciès particulier et à un risque de spina bifida. A propos de 100 cas nous souhaitons attirer l'attention sur la diversité des atteintes et sur le risque de retard mental associé. Notre travail multicentrique, rétrospectif, ne permet pas d'évaluer un risque précis.

Résultats : Quatre aspects distincts sont abordés : (1) Le spina bifida aperta. est cliniquement homogène, et sans autre facteur déclenchant retrouvé. On s'interroge sur la signification de l'absence d'autre dysraphie du tube neural (teratothanasie pour l'anencéphalie ?) (2) La dysmorphie faciale a un aspect reconnaissable, (l'homomorphie) proche des embryopathies dues aux autres anti-convulsivants ou à l'alcool. (3) Les malformations associées majeures ou mineures, touchent tous les organes et particulièrement les extrémités. On a pourtant quelques difficultés déterminer ce qui doit être attribué au Valproate. (4) le retard mental, associé ou non à des troubles psychiatriques (autisme), semble à des degrés divers toucher le tiers des enfants.

Conclusion : La prévention imparfaite de ces atteintes passe par la connaissance (i) de l'épilepsie maternelle, (ii) de son traitement, (iii) de vitaminothérapie complémentaire. La surveillance de la grossesse ne pourra pas permettre d'écarter la plupart des anomalies décrites. Des recommandations et informations écrites à fournir aux patientes enceintes ou qui souhaitent le devenir sont proposées.

12. Génétique Clinique et Dysmorphologie

HERON Delphine¹, Tevissen H², Themar Noel C³, Jeanpierre M⁴, Eymard B³, Laforet P³

1 Département de Génétique, Hôpital de La Salpêtrière PARIS France

2 Service de néonatalogie Hôpital de La Salpêtrière

3 Institut de myologie Hôpital de La Salpêtrière, Paris

4 Service de Biochimie Génétique Hôpital Cochin, Paris

FORMES PEDIATRIQUES GRAVES DE MYOPATHIE FACIO-SCAPULO-HUMERALE

La myopathie facio-scapulo-humérale (FSH) est une dystrophie musculaire autosomique dominante dont le diagnostic est habituellement fait chez l'adulte. Le gène n'est pas connu, mais une anomalie de la région sub-télomérique du chromosome 4 a été mise en évidence permettant une confirmation moléculaire du diagnostic. Il existe une certaine corrélation entre la taille de la délétion et la sévérité de l'atteinte clinique.

Les formes graves à début précoce sont peu connues et possiblement sous-diagnostiquées.

POPULATION ET METHODE

Les dossiers de 16 enfants sévèrement atteints de FSH ont été analysés : âge de début, atteinte musculaire, atteinte auditive et oculaire, atteinte cardiaque, signes neurologiques (retard mental, épilepsie). Les antécédents familiaux de FSH ont été recherchés et l'étude moléculaire des parents a été réalisée.

RESULTATS

L'âge des 1ers signes est inférieur à 7 ans et 7 fois sur 16 avant 1 an. 7 enfants sont en fauteuil roulant (44%). 5 ont une atteinte respiratoire. 8 ont une surdité de perception, 2 une atteinte

rétinienne. 4 enfants ont des difficultés d'apprentissage et un a une épilepsie.

Sur le plan génétique, tous les enfants ont un fragment inférieur à 22 kb (soit une délétion inférieure à 5 unités) et 13 fois sur 16 inférieur à 15 kb (3 unités). Dans 10 cas, un des parents est porteur de la mutation (en mosaïque dans 2 cas).

CONCLUSION

Cette étude permet une meilleure reconnaissance de ces formes pédiatriques graves, débouchant sur une meilleure prise en charge et un conseil génétique adapté.

13. Génétique Clinique et Dysmorphologie

VAHEDI Katayoun¹, Massin Pascale², Polivka Marc³, Dress D⁴, Gouttière Françoise⁵, Chapon Françoise⁶, Gaudric Alain⁷, Bousser Marie-Germaine¹, Tournier-Lasserve Elisabeth⁸

1 Hôpital Lariboisière Service de Neurologie 2 rue A. Paré Paris France

2 Service d'Ophtalmologie, Hôpital Lariboisière

3 Service de Neuropathologie, Hôpital Lariboisière

4 Service de Neurologie, Hôpital Mémorial de Saint-Lô

5 Service de Neuropédiatrie, Hôpital Necker

6 Service de Neuropathologie, CHU de Caen

7 Service d'Ophtalmologie, Hôpital Lariboisière

8 Service de cytogénétique, Hôpital Lariboisière

HÉMIPLÉGIE INFANTILE, LEUCOARAÏOSE AVEC DILATATION DES ESPACES PÉRIVASCULAIRES CÉRÉBRAUX ET TORTUOSITÉS ARTÉRIOLAIRES RÉTINIENNES : UNE NOUVELLE ANGIOPATHIE FAMILIALE AUTOSOMIQUE DOMINANTE

Objectif: Description d'une famille dont 6 membres sur 3 générations présentent une vasculopathie cérébrale à début précoce associée à des tortuosités artériolaires rétiniennes, de transmission autosomique dominante.

Résultats: Six sujets sur les 8 sujets à risque examinés étaient cliniquement symptomatiques. 2/8 sujets ont eu une hémiplégié infantile incluant le patient index, actuellement âgé de 15 ans. L'examen clinique d'un oncle maternel du patient index a mis en évidence un syndrome pyramidal unilatéral avec une hémiparésie corporelle et une séquelle d'infarctus cérébral ancien passé inaperçu (probable hémiplégié infantile). 3/8 sujets ont eu des migraines avec aura. Un patient a eu une hémorragie rétinienne et 5 autres ont des tortuosités artériolaires rétiniennes bilatérales. L'étude IRM cérébrale a mis en évidence des anomalies de la substance blanche cérébrale et des dilatations des espaces périvasculaires chez 6 individus, des séquelles d'infarctus cérébral chez 4 individus. L'étude anatomopathologique en microscopie optique de la biopsie cutanée d'un membre atteint n'a pas mis en évidence d'anomalie architecturale ni immuno-histochimique des parois artériolaires ou capillaires. Le séquençage des exons 3 et 4 du gène Notch 3 n'a pas mis en évidence de mutation de type CADASIL.

Conclusions: Cette famille unique dans la littérature se caractérise par une microangiopathie cérébrale et rétinienne associée à une hémiplégié infantile chez certains membres, de transmission autosomique dominante dont le mécanisme reste à être précisé. L'analyse clinique d'autres membres de cette famille permettra de localiser le gène responsable de cette nouvelle forme de leucoencéphalopathie vasculaire aidant ainsi au démantèlement nosologique de ce groupe d'affections.

14. Génétique du Développement

ODENT Sylvie¹, Blayau Martine², Dubourg Christèle², Pasquier Laurent¹, Lazaro Leïla¹, De La Pintièrre Armelle¹, Aguillette Céline², David Véronique²

1 Génétique médicale. CHU de Rennes Hôpital Pontchaillou Rue Henri Le Guilloux, RENNES FRANCE

2 Génétique Moléculaire. CHU de Rennes

HOLOPROSENCÉPHALIE: UN MODÈLE D'HÉTÉROGÉNÉITÉ CLINIQUE ET GÉNÉTIQUE

L'holoprosencéphalie (HPE ;1/16 000 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 unique avec cyclopie à un phénotype normal chez des porteurs obligatoires d'une mutation dans des cas familiaux dominants autosomiques. Cette affection est génétiquement hétérogène mais des facteurs d'environnement contribuent aussi aux étiologies de l'HPE.

Nous rapportons 121 cas d'HPE non chromosomiques et non apparentés (75 HPE typiques, 28 cas atypique, 18 formes polymorphes). Une analyse clinique est également présentée ainsi que 18 nouvelles mutations hétérozygotes (15% de tous les cas, 23% des HPE typiques) : 10 dans le gène Sonic hedgehog (SHH), 4 dans ZIC2, 3 dans SIX3, 1 dans TGIF. Neuf mutations sont identifiées dans des cas familiaux, tandis que 9 concernent des cas apparemment sporadiques. Des phénotypes originaux, associés à une mutation sont observés : anomalies de l'hypophyse et du corps calleux, microphthalmie colobomateuse et brachymétopie, sténose choanale familiale, fente labiale sans HPE. Cette étude confirme l'extrême variabilité des phénotypes dans les familles d'HPE, l'absence de corrélation génotype-phénotype et l'hétérogénéité génétique de la maladie. Des études fonctionnelles de ces mutations sont en cours. Nos perspectives sont d'étendre cette étude moléculaire à d'autres phénotypes atypiques et d'étudier d'autres gènes candidats. Toute cette approche clinique et moléculaire devrait contribuer à la compréhension de la morphogénèse cérébrale.

15. Génétique Clinique et Dysmorphologie

MANOUVRIER-HANU Sylvie¹, Miceli-Richard Corinne², Prieur Anne-Marie³, Rybojad Michel⁴, Dieux-Coeslier Anne¹, Hafner Renate⁵, Lesage Suzanne², Chamailard Mathias², Zouali Habib², Thomas Gilles², Hugot Jean-Pierre²

1 Service de Génétique Clinique Hôpital Jeanne de Flandre CHRU - LILLE FRANCE

2 Fondation Jean Dausset, CEPH, Paris, France

3 Département d'immunologie pédiatrique, Hôpital Necker, Paris

4 Hôpital Robert Debré, Paris

5 Département de Pediatric Rheumatology, Children's hospital, Garmisch-Partenkirchen, Allemagne

LE SYNDROME DE BLAU, UNE AFFECTION PROBABLEMENT SOUVENT MECONNUE LIÉE À DES MUTATIONS DE CARD15

Le syndrome de Blau (SB) caractérisé par l'association d'atteintes oculaire, articulaire et cutanée, est transmis sur le mode autosomique dominant avec grande variabilité d'expression. Probablement souvent méconnu, il est parfois confondu avec la sarcoïdose infantile. Récemment nous avons démontré l'implication dans le SB du gène CARD15, un membre de la famille CED4/APAF1 des régulateurs de l'apoptose, également incriminé dans le syndrome de Crohn (SC).

Nous souhaitons attirer l'attention sur les critères du diagnostic clinique du SB

Les signes les plus précoces sont probablement cutanés, mais, souvent discrets et fugaces, ils passent inaperçus, sauf s'ils sont recherchés.

Les signes articulaires apparaissent habituellement dans l'enfance. Discrets au début (camptodactylie avec déformation en boutonnière des doigts), ils évoluent vers l'apparition de kystes synoviaux des grosses articulations distales, généralement indolores et n'altérant que tardivement la fonction articulaire.

Les biopsies cutanées et synoviales montrent des granulomes épithélioïdes et géantocellulaires.

Les signes oculaires sont les plus graves. Parfois signalés dès la seconde enfance ou l'adolescence, ils peuvent apparaître chez l'adulte. Des épisodes d'uvéïte se succèdent, s'associent à un œdème papillaire, se compliquent de glaucome. Ils évoluent vers la cécité malgré le traitement anti-inflammatoire local ou général.

Contrairement à la sarcoïdose infantile le SB ne comporte pas d'atteinte viscérale. Aucun des patients décrits ne souffre de troubles digestifs.

Les mutations de CARD15 identifiées en cas de SB concernent le domaine NBD de liaison à la caspase et sont différentes de celles retrouvées dans le SC.

16. Erreurs Innées du Métabolisme

GOLDENBERG Alice¹, Chevy F², Bernard C³, Wolf C², Cormier-Daire V¹

1 Département de Génétique Médicale Hôpital Necker 149 rue de Sévres Paris France

2 Laboratoire de Spectrométrie de masse, Faculté St Antoine, Paris

3 Laboratoire de Biologie moléculaire, Hôpital St Antoine, Paris

CIRCONSTANCES CLINIQUES DU DIAGNOSTIC DU SYNDROME DE SMITH-LEMLI-OPITZ- A PROPOS DE 45 CAS

La mise en évidence d'un déficit en 7Dhydrocholestérol Réductase (7DHCR) à l'origine du syndrome de Smith-Lemli-Opitz (SLO) permet d'en affirmer le diagnostic par un test biochimique reposant sur la présence d'une hypocholestérolémie et d'une accumulation de 7DHC.

Nous présentons ici l'analyse clinique de 45 cas de SLO prouvés biochimiquement illustrant la variabilité des présentations cliniques. En période anténatale (30 suivis échographiques revus et 13 diagnostics anténataux) le diagnostic doit être évoqué devant un retard de croissance intra-utérin (20), une nuque épaisse (8), une polydactylie (3), une malformation viscérale (8) ou génitale (2). En période néonatale (29 cas) le diagnostic repose sur l'association malformative et la dysmorphie faciale, les difficultés alimentaires sont constantes mais l'absence de retard de croissance intra-utérin ne doit pas faire exclure ce diagnostic. Chez le grand enfant et l'adulte (3 cas), le retard mental avec troubles autistiques est au premier plan, la dysmorphie s'atténue, le retard statur pondéral avec microcéphalie sont des éléments constants. La très grande variabilité clinique ne s'explique ni par le profil biochimique ni par les études moléculaires qui ne permettent pas d'établir de corrélations génotype phénotype. Une meilleure compréhension des mécanismes régulateurs de l'expression du gène de la 7DHCR et l'étude du profil d'expression de sonic hedgehog devraient permettre de mieux expliquer la variabilité de ce syndrome polymalformatif.

17. Génétique Clinique et Dysmorphologie

AMIEL Jeanne¹, Espinosa-Parrilla Yolanda¹, Attié-Bitach Tania¹, Steffann Julie¹, Gosset Philippe¹, Prieur Marguerite¹, Boute Odile², Choiset Agnès³, LeMerrer Martine¹, Till Marianne⁴, Touraine Renaud⁵, Toutain Annick⁶, Vekemans Michel¹, Munnich Arnold¹, Lyonnet Stanislas¹

1 Département de Génétique, et Unité INSERM U-393, Hôpital Necker-Enfants Malades Paris France

2 Service de Pédiatrie, Hôpital Huriez, Lille

3 Service de Cytogénétique, Hôpital Saint Vincent de Paul, Paris

4 Service de Pédiatrie, Hôpital Debrousse, Lyon

5 Service de Génétique, Hôpital Nord, Saint-Etienne

6 Service de Génétique, Hôpital Bretonneau, Tours

HAPLOINSUFFISANCE ET PERTE DE FONCTION AU LOCUS SMADIP1 DANS DES FORMES SYNDROMIQUES

La maladie de Hirschsprung (MH) est une malformation intestinale congénitale fréquente, considérée comme une neurocristopathie par absence des neurones entériques. L'observation de plusieurs cas sporadiques de forme syndromique de MH (retard mental, microcéphalie et dysmorphie faciale), avec un remaniement chromosomique impliquant le chromosome 2q22, a permis d'identifier SMADIP1 comme étant le gène responsable.

Nous avons souhaité évaluer la fréquence des mutations de SMADIP1 chez les patients présentant une MH syndromique et mieux définir leur spectre malformatif. Pour cela, nous avons sélectionné 19 patients parmi 250 cas de MH non familiales en vue d'étudier le gène SMADIP1 selon les critères suivants : i)

caryotype standard normal, ii) retard mental modéré à sévère, et, iii) dysmorphie faciale et/ou microcéphalie et/ou épilepsie et/ou agénésie du corps calleux.

Nous avons identifié une délétion emportant le locus SMADIP1 chez 4 patients (caryotype haute résolution, perte d'hétérozygotie, ou PCR semi-quantitative), et une mutation ponctuelle troncante chez 4 autres patients (L562X, 935delG, 1805delA, et 2453insT). Dans tous les cas l'anomalie moléculaire est responsable d'une haploinsuffisance avec perte de fonction et est survenue *de novo*.

Ces résultats permettent d'élargir le spectre malformatif attribué à une anomalie de SMADIP1 en incluant, en particulier, une atteinte de la ligne médiane (agénésie du corps calleux, anomalie de septation cardiaque, hypospadias). Ils suggèrent l'effet pleiotropique de SMADIP1 dans le développement du SNC, des dérivés des crêtes neurales et des structures de la ligne médiane, ainsi que le montre notre étude du patron d'expression de SMADIP1 au cours de l'embryogenèse humaine.

18. Génétique du Développement

MACHINIS Kalotina¹, Pantel Jacques¹, Netchine Irène¹, Leger Juliane², Camand Olivier³, Sobrier Marie-Laure¹, Dastot-Le Moal Florence¹, Duquesnoy Philippe¹, Abitbol Marc³, Czernichow Paul², Amselem Serge¹

1 INSERM U468 Hôpital Henri Mondor Creteil France

2 Service d'Endocrinologie et de Diabétologie, Hôpital Robert Debré

3 CERTO, Faculté Necker

SYNDROMIC SHORT STATURE IN PATIENTS WITH A GERMLINE MUTATION IN THE LIM HOMEODOMAIN LHX4

A large number of transcription factors participate in pituitary organogenesis, a complex multistep developmental process. A few of them (POU1F1, PROP1, HESX1 and LHX3) have already been implicated in human disease conditions revealed by different types of pituitary hormone deficiency; however, the molecular basis of the majority of the combined pituitary hormone deficiency (CPHD) cases is not yet understood.

Lhx4 is a member of the LIM-homeodomain family of transcription factors that was found to be involved in early pituitary development in mouse. Indeed, mice carrying a homozygous targeted disruption of Lhx4 present a distinctly hypoplastic anterior pituitary lobe and reduced numbers in all anterior lobe lineage precursors (gonadotrophs, somatotrophs, lactotrophs, thyrotrophs and corticotrophs).

We have isolated the human ortholog of mouse Lhx4 and tested its implication in the pathogenesis of CPHD. LHX4 sequence analysis revealed the existence of a heterozygous molecular defect in the affected members of a large kindred, in which the pathological phenotype segregates as a fully penetrant and dominant trait over four generations. To evaluate the functional consequences of the identified mutation, we expressed the wild-type and mutant LHX4 proteins in eukaryotic cells together with an LHX4-inducible promoter coupled to a luciferase reporter gene. These experiments, which showed the lack of transactivating properties of the mutant LHX4 protein (compared to that of the wild-type protein), strongly suggest that the identified mutation is indeed a disease-causing molecular defect.

Overall, this first description of an LHX4 molecular defect, which has been identified in a large family with patients displaying a disease phenotype revealed by CPHD, sheds light on the key role played by this factor in human pituitary organogenesis and function.

19. Diagnostic Génétique

FREBOURG Thierry^{1,2}, Charbonnier Françoise^{1,2}, Casilli Frederica², Raux Grégory², Saugier-Weber Pascale^{1,2}, Drouot Nathalie^{1,2}, Duponchel Christiane², Stoppa-Lyonnet Dominique³, Tosi Mario²

1 Service de Génétique, Rouen, France

2 INSERM EMI 9906 Faculté de Médecine et de Pharmacie 22 Boulevard Gambetta Rouen

3 Service de Génétique, Institut Curie, Paris

LA PCR MULTIPLEX DE COURTS FRAGMENTS FLUORESCENTS : UNE MÉTHODE SIMPLE ET RAPIDE POUR LA DÉTECTION DES REMANIEMENTS HÉTÉROZYGOTES DES GÈNES

Les délétions et duplications exoniques hétérozygotes représentent les altérations moléculaires les plus difficiles à mettre en évidence et la difficulté de leur détection limite le diagnostic de nombreuses maladies génétiques. Nous avons développé une méthode simple, la PCR multiplex de courts fragments fluorescents, permettant la détection rapide de ces remaniements. Cette méthode est basée sur (i) l'amplification simultanée de plusieurs courtes séquences génomiques avec des amorces marquées par un fluorochrome, (ii) un nombre limité de cycles, (iii) la superposition informatique des profils obtenus, et (iv) la comparaison de la fluorescence des mêmes pics d'amplification entre patients et contrôles. Cette méthode, développée pour les gènes MSH2, MLH1, MSH6, C1NH, SMN, BRCA1 et RB1, permet l'optimisation du diagnostic moléculaire du syndrome HNPCC, des formes héréditaires de cancers du sein et de l'ovaire et du rétinoblastome héréditaire, et l'amélioration du conseil génétique de l'amyotrophie spinale infantile. De plus, cette méthode permet de localiser précisément les bornes des remaniements. Cette méthode est beaucoup plus rapide et sensible que le Southern blot traditionnellement employé, plus adaptée que la PCR quantitative en temps réel à l'exploration de gènes contenant de nombreux exons, plus flexible que la méthode MAPH (Multiplex Amplifiable Probe Hybridization) récemment développée. Sa simplicité facilite son application à l'exploration de tout gène et son transfert aux laboratoires de génétique moléculaire.

20. Diagnostic Génétique

GASTON Véronique¹, Le Bouc Y^{1,2}, Soupre V³, Burglen L⁴, Donadiéu J⁵, Oro H⁶, Audry G⁶, Vazquez Mp³, Gicquel C^{1,2}

1 Laboratoire d'Explorations Fonctionnelles Endocriniennes, Hôpital Armand Trousseau, 26, avenue du Dr Arnold Netter PARIS

2 INSERM U515, hôpital A. Trousseau

3 Service de Chirurgie Maxillo-faciale, hôpital A. Trousseau

4 Service de Génétique Médicale, hôpital A. Trousseau

5 Service d'Hémo-Oncologie, hôpital A. Trousseau

6 Service de Chirurgie Viscérale, Hôpital A. Trousseau

ANALYSE DU STATUT DE METHYLATION DES GENES KCNQ10T ET H19 POUR LE DIAGNOSTIC ET LE PRONOSTIC DANS LE SYNDROME DE WIEDEMANN-BECKWITH.

Le syndrome de Wiedemann-Beckwith (SWB) est un syndrome de croissance excessive prédisposant au développement de tumeur embryonnaire. Ce syndrome est génétiquement lié à la région chromosomique 11p15 soumise à empreinte parentale. Le diagnostic des SWB s'avère souvent difficile devant la grande variété des anomalies génétiques et épigénétiques. Une autre difficulté est l'évaluation du risque tumoral chez ces patients. L'objectif de cette étude était d'évaluer l'apport diagnostique et pronostique (risque tumoral) de l'analyse du statut de méthylation des gènes KCNQ10T et H19 au niveau leucocytaire dans le SWB. L'analyse du statut de méthylation des gènes KCNQ10T et H19 et une recherche d'unidysomie paternelle (UDP) ont été réalisées chez 97 patients classés en 2 groupes en fonction de leur phénotype: SWB complet (SWBC) (n=61) et SWB incomplet (SWBI) (n=36). Une anomalie a été mise en évidence chez plus de 70 % des patients: déméthylation isolée de

KCNQ10T (46 %), hyperméthylation isolée de H19 (13 %) et déméthylation de KCNQ10T associée à une hyperméthylation de H19 en rapport avec une UDP (13 %). Les signes cliniques: sévérité du phénotype, viscéromégalie, omphalocèle ou hémihypertrophie et les anomalies moléculaires: UDP en 11p15, déméthylation de KCNQ10T ou hyperméthylation de H19 ont été évaluées en terme de risque tumoral. Sur le plan clinique, seule la sévérité du phénotype (SWBC vs SWBI) est associée de façon significative à un risque tumoral (p=0,05, risque relatif=4) et sur le plan moléculaire, l'existence d'une UDP en 11p15 ou d'une hyperméthylation de H19 est très significativement associée à un risque tumoral (p<0,0001, risque relatif=respectivement 8 et 10).

Ces résultats montrent que la recherche d'anomalies épigénétiques de la région 11p15 dans le SWB contribue non seulement au conseil génétique mais aussi à l'évaluation du risque tumoral chez ces patients.

21. Génétique du Développement

GIRARD Mathilde¹, Bondurand Nadège¹, Pingault Véronique^{1,2}, Lemort Nicole¹, Goossens Michel^{1,2}

1 INSERM U468-Hôpital Henri Mondor 51 av. du Maréchal de Lattre de Tassigny CRETEIL FRANCE

2 Laboratoire de Biochimie et Génétique Moléculaire, AP-HP

LE FACTEUR DE TRANSCRIPTION SOX10 RÉGULE DIRECTEMENT L'EXPRESSION DE LA CONNEXINE 32, PROTÉINE IMPLIQUÉE DANS LA FORME LIÉE À L'X DE LA MALADIE DE CHARCOT-MARIE-TOOTH

Des mutations de SOX10, un facteur de transcription indispensable au développement du système nerveux entérique (SNE), des mélanocytes, et des cellules gliales, sont à l'origine de certains cas de syndrome de Shah-Waardenburg (WS4), une neurocristopathie associant une aganglionose intestinale, des défauts de pigmentation et une surdité. L'expression de MITF et RET, deux gènes jouant des rôles majeurs dans le développement des mélanocytes et du SNE, respectivement, est contrôlée par SOX10. L'observation que certains patients WS4 présentent également des défauts de myélinisation du système nerveux central et périphérique est en corrélation avec la démonstration récente que P0, un des composants majeurs de la myéline du système nerveux périphérique (SNP), est une autre cible transcriptionnelle de SOX10. Cependant ces caractéristiques phénotypiques suggèrent que SOX10 pourrait réguler d'autres gènes impliqués dans le processus de myélinisation. C'est pourquoi nous avons testé l'éventuelle implication de SOX10 dans la régulation de l'expression de MBP, PMP22, et la Connexine 32, trois protéines de constitution de la myéline du SNP. Notre étude montre que SOX10, en synergie avec EGR2, active l'expression de Cx32 en se liant directement à son promoteur. En accord avec ce résultat, des mutants SOX10 identifiés chez des patients présentant des défauts de la myéline du SNP sont incapables de transactiver le promoteur Cx32. De plus, nous montrons qu'une mutation du promoteur Cx32 décrite chez un patient atteint de la forme liée à l'X de la maladie de Charcot-Marie-Tooth (CMTX) altère la fonction de SOX10 sur ce promoteur. Ces résultats apportent de nouveaux éléments sur les mécanismes moléculaires qui sous-tendent les défauts de myélinisation du SNP observés dans les CMTX, et étendent le spectre des gènes régulés par SOX10.

22. Héritéité Multifactorielle

MAALEJ Abdellatif¹, Noura Bouguacha¹, Hafedh Makni¹, Hammadi Ayadi¹, Mohamed Bellasoued²

1 Laboratoire de Génétique Moléculaire Humaine (LGMH) Sfax Tunisie

2 Servive d'endocrinologie, EPS Hédi Chaker de sfax, Tunisie

ETUDE DE LIAISON ET D'ASSOCIATION GÉNÉTIQUE DANS UNE LARGE FAMILLE ATTEINTE DE MALADIES AUTO-IMMUNES THYROÏDIENNES

La susceptibilité aux maladies auto-immunes thyroïdiennes (MAIT) est sous le contrôle de facteurs génétiques et d'environnement.

Dans ce travail nous avons effectué une recherche des composantes génétiques de susceptibilité à ces affections auto-immunes basée sur un criblage du génome et une étude de liaison et d'association avec certains gènes de l'immunité dans une large famille consanguine, atteinte de MAIT (la maladie de Basedow et la Thyroïdite de Hashimoto's).

L'analyse de 250 marqueurs microsatellites a permis de mettre en évidence une liaison du marqueur D2S171 localisé sur le bras court du chromosome 2 pour lequel un maximum de lod score MMLS-c=3,03 a été trouvé.

D'autres marqueurs microsatellites ont montré des lod scores positifs : MMLS-c=1,17 pour D2S174, MMLS-c=1,40 pour D3S1276, MMLS-c=1,44 pour D3S1279, MMLS-c =1,78 pour D4S1597, MMLS-c=1,38 pour D10S249 et MMLS-c=1,01 pour D2S274. Cependant, l'analyse des microsatellites couvrant Le CMH (D6S285, HLA DQB1 CAR1/CAR2, TNFa IR2/IR4, D6S273, D6S292), le gène CTLA-4 (CTLA4-poly(AT), D2S311, D2S143), les gènes VH des Ig (D14S81, D14S1054, D14S65, D14S292) et le gène Cb du TCR (D7S495, D7S684, D7S661) infirme une éventuelle liaison de ces marqueurs avec les MAIT dans notre étude. De même, les études d'associations des gènes TCR C beta, VH Ig et CTLA-4 infirment une association de ces gènes avec les MAIT. Par ailleurs, une association des MAIT avec l'antigène HLA-B37 a été trouvée (TDT=4,82, P<0,05). Ces résultats suggèrent l'existence d'au moins un gène majeur lié au marqueur D2S171 et d'un gène au niveau du locus HLA-B37 qui semble jouer un rôle mineur dans la genèse des MAIT.

23. Bases Moléculaires des maladies Mendéliennes

PALLARES-RUIZ Nathalie¹, Blanchet Patricia², Mondain Michel³, Claustres Mireille¹, Roux Anne-Françoise¹.

1 Laboratoire de Génétique Moléculaire IURC 641, Ave Doyen Giraud - Montpellier

2 Service de Génétique Médicale, CHU Montpellier

3 Service d'ORL, CHU Montpellier

LARGE DELETION IMPLIQUANT LE GENE GJB6 ASSOCIEE A UNE SURDITE CONGENITALE PROFONDE

L'origine génétique des surdités est reconnue dans plus de la moitié des cas. Seulement une vingtaine de gènes, sur 100 estimés, sont actuellement clonés et reconnus responsables de surdités. 50% des surdités autosomales récessives et non syndromiques sont associées à des anomalies du gène GJB2 codant pour la connexine 26 (CX26), et parmi les 50 mutations identifiées, quelques mutations sont retrouvées majoritairement dans une population donnée. Notre approche de diagnostic est basée sur l'analyse prioritaire du gène GJB2 par DHPLC / séquençage. Si dans 17,7 % des familles étudiées au laboratoire nous avons montré l'implication du gène GJB2, le reste de nos familles montre soit une hétérozygotie du gène GJB2 (12,9%) soit aucune mutation (69,4%), suggérant l'implication d'autres gènes avec un digénisme possible associé à GJB2. C'est pourquoi, nous étudions d'autres gènes impliqués dans les surdités. L'analyse du gène GJB6 nous a permis d'identifier une nouvelle mutation correspondant à une délétion de plus de 150 kb impliquant la région 5' du gène GJB6. Cette délétion, retrouvée dans plusieurs familles, a non seulement des

implications majeures dans notre approche diagnostic mais sa présence, en trans d'un allèle GJB2- déficient constitue un élément important dans la compréhension des mécanismes moléculaires à l'origine des surdités.

24. Génétique Oncologique

BUREL-VANDENBOS Fanny¹, Santucci-Darmanin Sabine¹, Michiels Jean-François², Paquis Philippe³, Wang Qing⁴, Puisieux Alain⁴, Courdi Abdel⁵, Paquis-Flucklinger Véronique¹

1 UMR CNRS/UNSA 6549, Faculté de Médecine Nice cedex 2 France

2 Laboratoire d'Anatomie Pathologique, Hôpital Pasteur, CHU de Nice

3 Service de Neurochirurgie, Hôpital Pasteur, CHU de Nice

4 Unité d'Oncologie Moléculaire, Centre Léon Bérard, Lyon

5 Service de Radiothérapie, Centre Antoine Lacassagne, Nice

MSH4 PARTENAIRE DE RAD51 ET DE P53 DANS LES TUMEURS GLIALES ?

Plusieurs gènes de la famille MSH, codant pour des protéines indispensables à la réparation des mésappariements de l'ADN, sont impliqués dans des cancers chez l'homme. Nous avons identifié le gène MSH4 humain. Dans des conditions normales, la protéine MSH4 n'a pas de rôle dans la réparation de l'ADN. Elle est exprimée uniquement dans les cellules germinales et participe à la recombinaison méiotique. Nous avons montré une interaction entre MSH4 et la recombinaison RAD51, protéine impliquée dans la recombinaison méiotique mais aussi dans la réparation des cassures double brin de l'ADN dans les cellules somatiques. Par ailleurs, nous avons trouvé une expression aberrante de MSH4 dans 50% des tumeurs gliales. Une des voies de progression de ces tumeurs est associée à une inactivation de p53. Nous avons cherché à savoir d'une part, si la présence de MSH4 influence l'activité de réparation de RAD51 dans les gliomes et d'autre part, si MSH4 peut intervenir dans la voie de développement de ces tumeurs impliquant p53. En utilisant notamment des lignées cellulaires établies à partir de glioblastomes exprimant MSH4, nous avons montré (i) que la protéine MSH4 est localisée dans la totalité des cellules au niveau de petits foyers nucléaires, (ii) que MSH4 est re-localisée avec RAD51 après création de cassures double brin par irradiation et (iii) que MSH4 interagit avec p53 *in vitro*. La mise en évidence d'une co-localisation de MSH4 et de RAD51 après irradiation suggère que, dans ces lignées, MSH4 pourrait influencer l'activité de réparation de RAD51 et donc la radiosensibilité de ces cellules. Les glioblastomes ayant un très mauvais pronostic, nous poursuivons les investigations afin de mieux comprendre notamment les mécanismes impliqués dans la résistance de ces tumeurs à la radiothérapie.

25. Bases Moléculaires des maladies Mendéliennes

BADENS Catherine¹, Mattei M.G², Imbert A.M³, Lapoumériou C⁴, Martini N⁵, Michel G⁶, Lena-Russo D⁵

1 Laboratoire de Génétique Moléculaire, Hôpital d'enfants de la Timone 13385 Marseille France

2 INSERM U 491, Marseille

3 Centre de Thérapie Cellulaire et génique, IPC, Marseille

4 INSERM U458, Paris

5 CERGM-hémoglobines, Faculté de Médecine, Marseille

6 Hématologie Pédiatrique, Hôpital d'enfants de la Timone, Marseille

THALASSEMIA INTERMEDIA CAUSED BY SOMATIC REDUCTION TO HEMIZYGOSITY

Thalassaemia intermedia is a moderate form of thalassaemia resulting from a variety of genetic defects of the globin genes. Here, we report a new molecular mechanism leading to this condition.

The patient was first seen at the age of 10, for anemia, hepatosplenomegaly and growth failure. He had typical thalassaemic face. The hemoglobin study showed HbA 71%, HbF 25%, HbA2 4%, *in vitro* globin chain synthesis a/b: 3,9. After

molecular study, we found the b- mutation for the father: NsCd39 but we failed to characterize any b+ mutations for the mother who do not present a thalassemic trait. Subsequently, using PCR to detect the NsCd 39 mutation, we noticed quantitative abnormalities between the bands, suggesting a ratio of paternal and maternal allele different from the expected 1. Using informative polymorphic sites elsewhere in the b-globin locus, we found the same quantitative abnormalities. FISH on metaphases from lymphocytes with a b-globin locus specific probe showed 56% of cells with a single signal. We checked for the mosaicism by PCR on BFU-Es obtained after culture of the patient's blood cells and found that 77% of the tested colonies were deleted. Using a polymorphic marker, we showed that the deletion extends to a region of frequent loss of heterozygosity, located close to the b-globin locus and involved in various cancers. In conclusion, the patient was constitutionally heterozygote for a b-thalassemic mutation and has undergone during development, a second hit mutation (deletion of the maternal allele) in one of the early precursors of the hematopoietic lineage. This deletion has led to a somatic reduction to hemizyosity and allows the phenotypic expression of the b-thalassaemia defect. This mechanism could explain some sporadic cases of TI where a single b-thalassemic mutation is apparent. Moreover, it is of particular interest with regard to gene therapy applications, because it shows that a single functional gene in a proportion of the erythroid cells is sufficient to produce a mild form of thalassaemia.

26. Bases Moléculaires des maladies Mendéliennes

RODRIGUEZ Diana¹, Gauthier F¹, Bertini E², Uziel G³, Surtees R⁴, N'Guyen⁵, Goizet C⁶, Gelot A⁷, Pedespan JM⁸, Troncoso M⁹, Ponsot G⁷, Pham Dinh D¹⁰, Dautigny A¹⁰, Boespflug-Tanguy O¹

¹Faculté de Médecine, Inserm U384, 28 place Henri Dunant Clermont-Ferrand France

²Ospitale Bambino Di Jesu, Roma, Italy

³Instituto Carlo Besta, Milano, Italy

⁴Institute of Child Health, University College, London, UK

⁵University Hospital Nantes, France

⁶University Hospital Bordeaux, France

⁷Hôpital Trousseau, Paris

⁸University Hospital Bordeaux, France

⁹Hospital Clinico San Borja Arriaran, Santiago, Chile

¹⁰URA CNRS 1488, Paris

MALADIE D'ALEXANDER ET MUTATIONS DU GÈNE DE LA GFAP

Le diagnostic de la maladie d'Alexander (leucoencéphalopathie) repose sur la mise en évidence de fibres de Rosenthal à l'analyse histologique du cerveau. Celles-ci sont des inclusions astrocytaires, intracytoplasmiques contenant en grande quantité la protéine constitutive des filaments intermédiaires gliaux, la Glial Fibrillary Acid Protein (GFAP). La découverte de ces fibres dans le cerveau de souris transgéniques hyperexprimant le gène GFAP, nous a amenés à tester ce gène dans la maladie d'Alexander. L'analyse de 13 cas, prouvés histologiquement, a permis de retrouver une mutation dans la séquence codante du gène de la GFAP dans 12 cas. Il s'agissait de mutation *de novo*, à l'état hétérozygote touchant des résidus arginines de la protéine. Afin d'évaluer la valeur diagnostique de cette anomalie moléculaire, nous avons sélectionné 15 enfants présentant une leucoencéphalopathie de début précoce avec des anomalies neuroradiologiques évocatrices d'une maladie d'Alexander. Dans 14 cas, des mutations faux sens, *de novo*, à l'état hétérozygote ont été retrouvées dans les exons 1 ou 4. La mutation affectait dans 12 cas un résidu arginine et dans 2 cas un autre acide aminé. Il existe une corrélation entre l'acide aminé muté et la sévérité de la maladie pour les résidus arginines le plus souvent touchés (R79 et R239).

La détection de mutations GFAP représente un excellent marqueur diagnostique de la maladie d'Alexander : positif dans 93% des cas sélectionnés sur des critères IRM. Cette recherche

doit être proposée en diagnostic prénatal afin de détecter les cas résultant d'un mosaïcisme germlinal.

27. Fœtopathologie

DEVISME Louise¹, Manouvrier S², Boute O², Laussel-Riera A³, Puech F⁴, Gosselin B³

¹Hôpital Calmette Bd du Pr. Leclerc CHRU – LILLE Cedex France

²Génétique Médicale, C.H.R.U. LILLE

³Service d'Anatomie Pathologique, C.H.R.U. LILLE

⁴Pathologie Maternelle et Fœtale, C.H.R.U. LILLE

INTERET DE L'EXAMEN FŒTOPATHOLOGIQUE DANS LE CADRE DES INTERRUPTIONS MÉDICALES DE GROSSESSE : A PROPOS DE 300 AUTOPSIES FŒTALES.

Cette étude rétrospective porte sur 300 fœtus autopsiés à la suite d'une interruption médicale de grossesse. Le but était de comparer le diagnostic prénatal et le diagnostic posé après l'examen Fœtopathologique. Les données suivantes ont été analysées : échographie, cytogénétique, biologie moléculaire, radiologie, conseil génétique ainsi que les différentes étapes de l'autopsie : examen externe, macroscopie, microscopie, temps cérébral et étude du placenta.

Les résultats ont été classés en quatre groupes. Le groupe A (7,7% des cas) est défini par l'absence de modification du diagnostic initial par l'autopsie. Le groupe B (31%) comporte les observations pour lesquelles le diagnostic final est inchangé par rapport au diagnostic initial, mais où l'autopsie met en évidence d'autres anomalies accessoires. Le groupe C (41%) correspond aux observations pour lesquelles l'autopsie apporte des arguments complémentaires formels pour le diagnostic. Le groupe D (20,3%) est défini par la modification du diagnostic anténatal par l'examen Fœtopathologique, entraînant des conséquences sur le conseil génétique qui n'est d'ailleurs réalisé que dans un nombre insuffisant de cas (43,7%).

Cette étude démontre l'importance de l'examen Fœtopathologique dans le cadre des interruptions médicales de grossesse. En effet, dans plus de la moitié des cas (61%), des anomalies importantes pour le diagnostic sont décelées à l'autopsie. Cet examen doit être complet pour aboutir à un diagnostic précis, indispensable au conseil génétique. La Fœtopathologie fait désormais partie de la constitution des centres pluridisciplinaires de diagnostic prénatal.

28. Fœtopathologie

MICHEL-CALEMARD Laurence¹, Attia-Sobol Jocelyne², Mathieu Michèle³, Flori Elisabeth⁴, Touraine Renaud⁵, Cordier Marie-Pierre⁶, Le Merrer Martine⁷, Toutain Annick⁸, Morel Yves¹

¹Laboratoire de Biochimie Endocrinienne et Moléculaire, Hôpital Debrousse 29 rue soeur Bouvier Lyon cedex 05 France

²Service de Génétique, Hotel-Dieu, Lyon

³Service de Génétique, CHU d'Amiens

⁴Service de Cytogénétique, Hôpital de Haute-pierre, Strasbourg

⁵Service de Génétique, Hôpital Nord, St Etienne

⁶Service de Génétique, Hôpital E. Herriot, Lyon

⁷Service de Génétique, Hôpital Necker, Paris

⁸Service de Génétique, CHU de Tours

IDENTIFICATION DE MUTATIONS DU GÈNE SOX9 DANS DES SYNDROMES CAMPOMÉLIQUES AVEC OU SANS REVERSION DE SEXE

La dysplasie campomélique est un syndrome rare, autosomique dominant, associant malformations du squelette et anomalies du développement. Environ 2/3 des fœtus XY présente un pseudohermaphrodisme masculin (PHM) avec phénotype féminin. Les nouveau-nés décèdent souvent rapidement après la naissance dans un tableau d'insuffisance respiratoire, mais des survies plus longues sont possibles. Le diagnostic est généralement fait lors de l'échographie morphologique du 2^e trimestre de la grossesse devant l'association d'un nanisme, d'anomalies osseuses et parfois d'un PHM.

Des mutations ponctuelles du gène SOX9, localisé sur le chromosome 17q24-25, sont le plus souvent responsables de ce syndrome. Il s'agit dans la majorité des cas de mutations *de novo*. Des réarrangements en amont du gène ainsi que des délétions complètes du gène, responsables d'haploinsuffisance ont également été décrits. Ce gène, appartenant à la famille des gènes SOX (SRY-related HMG box), est un facteur de transcription intervenant dans la chondrogénèse et la détermination sexuelle.

Le séquençage du gène SOX9 dans 6 familles ayant un fœtus présentant des signes échographiques d'appel a permis de mettre en évidence une mutation chez 5 des 6 fœtus : 3 fœtus 46, XY dont 2 avec PHM, 3 fœtus 46, XX.

Tous ces fœtus ont été avortés sauf un, décédé à un jour de vie dans un tableau de détresse respiratoire et d'insuffisance rénale.

Dans une des familles, la récurrence du syndrome chez le deuxième fœtus, s'explique par la présence d'une mosaïque somatique chez l'un des parents.

En conclusion, devant la suspicion d'un syndrome campomélique le séquençage du gène SOX9 permet de confirmer le diagnostic dans 83 % des cas.

29. Fœtopathologie

LEGER-RAVET Marie-Bénédicte¹, Gaston Véronique², Satge Daniel³, Joye Nicole⁴, Vidalo-Borderie Evelyne⁵, Gilbert Brigitte⁶, Gicquel Christine², Le Bouc Yves², Roume Joëlle⁴, Berkane Nadia⁷, Gonzales Marie⁴, Taillemite Jean-Louis⁸, Saint-Frison Marie-Hélène⁸

1 Laboratoire d'Anatomie pathologique CH Longjumeau 159, rue du Président François Mitterrand LONGJUMEAU

2 Laboratoire d'Explorations endocriniennes INSERM U 515 Hôpital Armand Trousseau Paris

3 Laboratoire d'Anatomie Pathologique CH Tulle

4 Laboratoire d'Embryologie Pathologique et de Cytogénétique Hôpital Saint-Antoine Paris

5 Centre d'Echographie Clinique Saint-Germain Brive

6 Unité de Génétique CHU Limoges

7 Service de Gynécologie-Obstétrique Hôpital Tenon

8 Laboratoire d'Anatomie Pathologique CH Argenteuil

DIAGNOSTIC FŒTOPATHOLOGIQUE DE SYNDROME DE WIEDEMANN -BECKWITH: INTERET POUR LE CONSEIL GENETIQUE

Nous rapportons deux observations de syndrome de Wiedemann-Beckwith (SWB), pour lesquels le diagnostic n'avait pas été porté *in utero* mais évoqué par l'examen Fœtopathologique. Il s'agit de deux expulsions spontanées, l'une à 23sa d'un fœtus en cours de bilan pour gros reins et hydramnios et l'autre, un fœtus de 20 sa.

L'examen du premier fœtus était évocateur, avec trois des quatre signes majeurs du syndrome (macrosomie à +2DS, macroglossie et viscéromégalie), associés à une tumeur épiploïque (angiofibrome). Seule manquait l'omphalocèle qui permet d'évoquer le diagnostic en anténatal.

L'examen du deuxième fœtus était moins typique (macroglossie et néphromégalie discrètes). L'étude histologique systématique a retrouvé une cytomégalie surrénalienne et un chorioangiome placentaire.

Les caryotypes pratiqués après culture de poumon pour l'un, de chorion pour l'autre se sont avérés normaux. Une étude en biologie moléculaire sur des prélèvements tissulaires congelés effectués à titre systématique a confirmé le diagnostic. Chez le premier fœtus, une isodisomie paternelle, observée dans 20% des SWB sporadiques, a été mise en évidence. Cette anomalie, retrouvée à l'état de mosaïque, est associée à un risque tumoral accru mais le risque de récurrence de ce syndrome est probablement très bas. Chez le second fœtus, une déméthylation isolée de KCNQ1OT a été trouvée. Cette anomalie est présente dans 38-55% des SWB sporadiques mais est également retrouvée dans des formes familiales. Ici, l'étude familiale n'a pas retrouvé d'antécédent particulier.

La biologie moléculaire permet de confirmer le diagnostic évoqué par l'examen Fœtopathologique et contribue pour une grande part à la qualité du conseil génétique.

30. Fœtopathologie

GONZALES Marie¹, Joye Nicole¹, Martin Jean-Gabriel², Benoist Thérèse³, Safar Elisabeth⁴, Carbonne Bruno⁴, Lejeune Véronique⁴, Lallaoui Hakima⁵, Portnoi Marie-France¹, Taillemite Jean-Louis¹, Vabres Pierre⁶, Munnich Arnold⁷, Smahi Asma⁷

1 Laboratoire d'Embryologie Pathologique et de Cytogénétique Hôpital Saint-Antoine Paris

2 Cabinet d'Echographie Orléans

3 Cabinet de Gynécologie-Obstétrique Orléans

4 Service de Gynécologie-Obstétrique Hôpital Saint-Antoine Paris

5 Laboratoire Mérieux Nice

6 Service de Dermatologie CHU Poitiers

7 Département de Génétique INSERM-U 393 Hôpital Necker-Enfants Malades Paris

DU FŒTUS AU GÈNE

L'examen Fœtopathologique est fondamental même dans les cas de Mort Fœtale *In utero* chez des fœtus du premier trimestre. Madame D. nous est adressée pour prise en charge d'une récurrence d'anasarque avec hygroma, hydrothorax sans ascite, dépistée précocement à 12sa. Cette patiente, âgée de 37 ans, non apparentée à son conjoint, a déjà fait une FCS précoce. Les examens complémentaires pratiqués sont normaux, le caryotype est 46, XY pour ces 2 fœtus qui sont décédés *in utero*. L'examen du deuxième fœtus n'a pas montré de malformation. La grossesse suivante est marquée par une FCS à 10 sa pouvant être en rapport avec une trisomie 21 confirmée. La cinquième grossesse se termine par une Interruption Médicale de Grossesse devant un nouveau tableau d'anasarque pour lequel l'examen Fœtopathologique macroscopique n'est pas réalisable. L'enquête génétique très orientée nous permet d'évoquer le diagnostic d'Incontinentia Pigmenti qui sera confirmé ultérieurement.

L'incontinentia pigmenti (IP) est une génodermatose transmise selon le mode dominant lié à l'X avec létalité masculine. La létalité chez le garçon se manifeste par un avortement spontané au cours du premier trimestre de la grossesse. Les fausses couches répétées observées dans cette famille ont conduit à l'hypothèse d'une IP. L'examen clinique de la mère a révélé des signes très discrets évoquant l'IP. L'inactivation du chromosome X biaisée chez cette femme a confirmé le diagnostic. Nous précisons que les symptômes cliniques observés chez cette patiente seraient passés inaperçus sans l'aide de l'examen Fœtopathologique. D'autre part l'étude des cellules fibroblastiques issues d'un des fœtus avortés de cette famille a contribué à l'isolement du gène NEMO responsable de l'IP.

31. Fœtopathologie

DOLLEY Marylise¹, Joye Nicole², Nizard Patrice², Brodaty Geneviève³, Aubry Marie-Cécile⁴, Stampf Françoise⁵, Hatem Ghada⁶, Roume Joëlle², Portnoi Marie-France², Fallet-Bianco Catherine⁷, Encha-Razavi Ferechte⁸, Carbone Bruno⁹, Taillemite Jean-Louis², Gonzales Marie², Nouchy Marc²

1 Service de gynécologie-Obstétrique CH de Courbevoie 30, rue Kilford Courbevoie cedex

2 Laboratoire d'Embryologie Pathologique et de Cytogénétique Hôpital Saint-Antoine Paris

3 Service de gynécologie-Obstétrique CH Courbevoie

4 Cabinet d'Echographie Paris

5 Service de gynécologie-Obstétrique CH Villeneuve-Saint-Georges

6 Service de gynécologie-Obstétrique Clinique des Bluets Paris

7 Laboratoire d'Anatomie Pathologique CH Sainte-Anne

8 Unité de génétique Hôpital Necker-Enfants Malades Paris

9 Service de gynécologie-Obstétrique Hôpital Saint-Antoine Paris

DIAGNOSTIC DE TRISOMIE 8 DANS LES AGENESIES DU CORPS CALLEUX : INTERET POUR LE CONSEIL GENETIQUE

L'agénésie du corps calleux est une anomalie cérébrale dépistée à l'échographie pour laquelle le conseil génétique est toujours difficile et le pronostic incertain. Nous rapportons les observations de trois fœtus présentant une agénésie du corps calleux pour lesquelles une trisomie 8 a été mise en évidence.

Dans les deux premiers cas, une trisomie 8 a été dépistée sur culture de peau et/ou chorion alors que le caryotype pratiqué sur culture de cellules amniotiques était normal. Pour le dernier cas, le caryotype pratiqué sur lymphocytes et sur cellules amniotiques a montré une trisomie 8 en mosaïque.

L'agénésie du corps calleux était associée dans les trois cas à une dilatation pyélocalicelle, une fois à une discordance de taille des cavités cardiaques ; chez un fœtus nous avons retrouvé une hypoplasie des rotules.

La présence d'une trisomie 8 en mosaïque permet d'étayer le conseil génétique. En effet, la présence de cette anomalie permet de donner un conseil génétique rassurant alors que la notion de caryotype normal chez ces fœtus devait proposer un conseil génétique prudent.

Il nous paraît utile de rechercher systématiquement une trisomie 8 en mosaïque devant une agénésie du corps calleux isolée ou associée à des anomalies urinaires, cardiaques, squelettiques en prénatal sur sang fœtal et en post-natal sur sang, (peau et/ou chorion, poumon si IMG).

32. Diagnostic Prénatal

AUDREZET Marie Pierre¹, Marcorelles Pascale², Chabaud Jean Jacques³, Le Bris Marie Josée⁴, Parent Philippe⁵, Ferec Claude¹

Laboratoire de Génétique Moléculaire - CHU BREST FRANCE

2 Service d'Anatomie pathologique - CHU BREST

3 Service de Gynécologie Obstétrique - CHU BREST

4 Service de Cytogénétique - CHU BREST

5 Service de Génétique Médicale - CHU BREST

MOLES HIDATIFORMES COMPLÈTES ASSOCIÉES À DES GROSSESSES ÉVOLUTIVES : PRÉSENTATION DE 4 CAS

La mole hidatiforme complète associée à une grossesse normale avec fœtus vivant est un phénomène rarissime avec une incidence rapportée qui varie entre 1/10 000 et 1/100 000 grossesses.

Il s'agit d'un produit de clonage d'un ovule vide, dépourvu de génome maternel et d'un spermatozoïde haploïde (22N+X ou 22N+Y) qui se duplique lors de la première mitose de l'ovocyte activé, ou par l'introduction d'une dispermie de génome paternel.

Le tableau clinique associe métorragies, augmentation du volume utérin, signes de pré-éclampsie et augmentation importante des taux plasmatiques et urinaires de h-hCG.

Le pronostic est lié aux complications maternelles et au mécanisme en cause. Trop peu d'observations ont été rapportées dans la littérature. Il semble que le risque de maladie trophoblastique persistante soit très supérieur à celui d'une mole complète isolée.

4 cas de moles hidatiformes complètes associées à des grossesses normales avec fœtus vivant sont rapportés dans cette étude. Dans deux cas, la grossesse a été poursuivie et a abouti à la naissance à terme de bébés présentant des retards de croissance. Une grossesse a été interrompue à la 17ème semaine pour signes majeurs de toxémie maternelle et la quatrième s'est terminée par une mort fœtale in-utero à la 24ème semaine.

Dans le but d'affirmer le caractère complet de la mole et de définir les mécanismes moléculaires en cause, les analyses de cytogénétique et de biologie moléculaire ont été réalisées. Dans les 4 cas, le caryotype molaire était 46 XX. L'analyse de 10 marqueurs microsatellites répartis de façon aléatoire sur le génome ont permis de déterminer qu'il s'agissait, dans l'ensemble des cas de la duplication compensatrice d'un jeu de génome paternel provenant d'un spermatozoïde haploïde 22N+X.

Le suivi à long terme et la compilation des données cliniques, anatomo-pathologiques, de cytogénétique et de génétique moléculaire devraient permettre de prédire les risques de maladie trophoblastique persistante et d'aboutir à une conduite thérapeutique dans les cas de moles hidatiformes complètes associées à des grossesses évolutives.

33. Diagnostic Prénatal

ROUX J-J¹, Froissard R², Roume J³, Gelot A⁴, Dieny A¹, L'Herminé-Coulomb A⁵, Menez F⁶, Bouvier R⁷

1 Service de Pathologie, Hôpital de Chambéry

2 Laboratoire de Biochimie Pédiatrique du Dr Maire, Hôpital Debrousse, Lyon

3 Unité de Fœtopathologie, Hôpital Saint-Antoine, Paris

4 Service d'Anatomie Pathologique, Hôpital Saint Vincent de Paul, Paris

5 Service d'Anatomie Pathologique, Hôpital Antoine Bécclère, Clamart

6 Cabinet d'Anatomie et de Cytologie Pathologiques, Versailles

7 Service d'Anatomie Pathologique, Hôpital Edouard Herriot, Lyon

GLYCOGENOSE TYPE IV (GSD IV) A REVELATION ANTENATALE. : ETUDE COLLABORATIVE DE LA SOFFËT DE 6 CAS

Objectif : A propos de 6 nouveaux cas (4 familles) de GSD IV anténatales nous précisons le spectre des manifestations cliniques, les caractéristiques morphologiques de la surcharge et rappelons les méthodes du diagnostic biochimique permettant d'affirmer le diagnostic et de proposer un diagnostic anténatal.

Résultats :

Présentation clinique : Hypokinésie avec hydramnios : 2 cas nés prématurés de parents consanguins, décès néonatal précoce. Hypokinésie avec anasarque : 1 cas né à 32 SA, décédé immédiatement. 1 cas de FCS à 9 SA. 1 cas de MFIU avec hygroma kystique et anasarque, suivi d'une IMG à 24 SA pour hygroma kystique et akinésie.

Etude fœtopathologique : L'examen histologique a suggéré le diagnostic dans tous les cas (rétrospectivement pour le premier fœtus dans les cas familiaux) devant des inclusions caractéristiques pâles, PAS + résistantes à l'amylase, biréfringentes en lumière polarisée, prédominant au niveau des cellules musculaires striées, myocardiques et hépatocytaires. 2 cas présentaient une surcharge inédite dans le placenta.

Diagnostic biochimique et moléculaire (I. Maire): détermination de l'activité de l'enzyme branchant, sur muscle fœtal congelé (1cas), sur fibroblastes en culture (1cas), sur fibroblastes en culture des 2 parents hétérozygotes dans tous les cas. Une nouvelle mutation a été détectée chez le couple consanguin. 2 familles ont bénéficié d'un diagnostic prénatal pour les grossesses ultérieures.

Conclusion : Avec la description de FCS du premier trimestre et de MFIU, notre étude élargit le spectre des manifestations anténatales de la GSD IV. Si l'aspect de la surcharge est suffisamment pathognomonique pour un fœtopathologiste averti et si sa valeur prédictive est excellente, elle peut passer inaperçue, en l'absence d'orientation clinique, chez un fœtus macéré.

34. Diagnostic Prénatal

RAHIL Haissam¹, Philippe Christophe¹, Solassol Jérôme², Lefort Geneviève², Jonveaux Philippe¹
1 Laboratoire de génétique médicale-EA 3441, CHU Nancy-Brabois, avenue du morvan - Vandoeuvre les Nancy France
2 Laboratoire de Cytogénétique, Hôpital Arnaud de Villeneuve, Montpellier

NOUVELLE APPROCHE PAR PCR SEMI-QUANTITATIVE POUR LE DIAGNOSTIC PRÉNATAL RAPIDE DES TRISOMIES 21, 18 ET 13.

Les aneuploïdies impliquant les chromosomes 21, 18 et 13 représentent environ 90% des anomalies chromosomiques retrouvées chez les fœtus. Actuellement, le diagnostic prénatal de ces anomalies repose sur l'analyse cytogénétique après mise en culture des cellules fœtales provenant du liquide amniotique. Il s'agit d'un examen de référence, donnant un résultat fiable sur l'ensemble des chromosomes, avec toutefois une période d'attente d'une dizaine de jours. Ce délai peut, dans certaines circonstances, être la source d'anxiété pour les parents et pour le médecin, de situations délicates dans la prise en charge de la grossesse. Nous proposons une nouvelle approche pour le diagnostic rapide et simultané des trisomies 21, 18 et 13 par la technique de réaction de polymérisation en chaîne (PCR). En une seule réaction de PCR, 3 régions conservées situées sur les chromosomes 21, 18 et 13 sont co-amplifiées. L'analyse des produits d'amplification permet l'établissement de ratio 21/18, 21/13 et 18/13. Les valeurs des ratio obtenues lors d'une étude prospective portant sur 350 liquides amniotiques montrent des résultats significativement différents entre les liquides amniotiques normaux et pathologiques. En effet, ces ratio sont respectivement de 1,00 +/-0.07, 0.91 +/-0.09 et 1.01 +/- 0.07 pour les liquides normaux alors que dans les liquides amniotiques provenant de 7 fœtus atteints de trisomie 21, ils sont de 1.67 +/- 0.07, 1.79 +/-0.12 et 1.07 +/-0.04. Des valeurs comparables ont été obtenus pour les fœtus porteurs de trisomie 18 ou 13. Cette nouvelle approche de PCR semi-quantitative à la fois simple et reproductible autorise la détection, en moins de 24 heures, des trisomies 21, 18 et 13 à partir d'un prélèvement (1.5ml) de liquide amniotique.

35. Cytogénétique

DOCO-FENZY Martine¹, Cornillet Pascale², Ploton Dominique³, Carre-Pigeon Frédérique⁴, Melin- Blocquaux Marie-Claude⁴, Delepine Béatrice⁴, Ullrich Evelyn¹, Gruson Nadine¹, Michel Nicole¹, Adnet Jean-Jacques⁵
1 Service de Génétique 45 rue Cognacq-Jay HMB - CHRU - REIMS - REIMS
2 Laboratoire d'hématologie - CHU - REIMS
3 INSERM U 314 - REIMS
4 Service de Génétique et de biologie de la reproduction-CHU REIMS
5 Laboratoire d'Histologie-Embryologie et Cytogénétique CHU-REIMS

DE L'ADN SATELLITE AUX SATELLITES CHROMOSOMIQUES : ETUDE DU POLYMORPHISME DES BRAS COURTS DES CHROMOSOMES ACROCENTRIQUES PAR LES TECHNIQUES AgNOR ET FISH.

A l'heure du grand séquençage, la structure polymorphe des bras court des chromosomes acrocentriques (13,14,15,21 et 22) reste méconnue. La séquence des ADN répétés en tandem (ADN satellites) qui composent ces bras est très variable d'un individu à l'autre. Nous avons étudié certaines de ces séquences sur des bras p variants assez longs après en avoir établi la fréquence sur une population de 400 sujets.

Nous avons montré que sur notre population, les chromosomes 21 ont un bras p significativement plus long que les autres paires d'acrocentriques. Nous avons ensuite étudié le polymorphisme du marquage AgNOR et de la composition en ADN répétés (béta-satellite, satellite III, ADNr28S et alpha-satellite) des bras p longs. Celles-ci résultent probablement de duplications de

segments de bras p ancestraux. Nous avons observé sur les bras p long, une meilleur concordance entre la localisation de l'ADN béta-satellite et le marquage AgNOR qu'entre l'ADNr28S et ce même marquage. Le marquage AgNOR n'occupe pas tout le volume de la constriction secondaire des bras p longs mais plutôt des zones de transition d'un type d'ADN répété à l'autre.

Nous avons appliqué ces observations à plusieurs cas cliniques impliquant des remaniement des bras p des acrocentriques. Nous corrèlerons ces résultats avec des hybridations réalisées avec de nouvelles sondes des régions NOR^a disponibles.

Une meilleure connaissance de la structures des bras p permettra une meilleure compréhension du fonctionnement de l'hétérochromatine et de l'euchromatine adjacente.

36. Cytogénétique

LAUMONNIER Frédéric¹, Ronce Nathalie^{1,2}, Giraudeau Fabienne³, Lespinasse James⁴, Doco-Fenzy Martine⁵, David Albert⁶, Blesson Sophie¹, Gilardi Jean-Louis¹, Moraine Claude^{1,2}, Briault Sylvain^{1,2}
1 Service de Génétique CHU Bretonneau - Tours France
2 INSERM U316, Tours, France
3 Institut de Génétique et Microbiologie, Orsay, France.
4 Laboratoire de Cytogénétique, Chambéry, France
5 Laboratoire de Cytogénétique, Reims, France
6 Service de Génétique, Nantes, France

PSEUDO-OSTEODYSTROPHIE HEREDITAIRE D'ALBRIGHT ET DELETION DE LA REGION 2Q37 : DEFINITION D'UN TERRITOIRE MINIMAL CRITIQUE.

L'observation de microremaniements des régions subtélomériques chez des sujets retardés a constitué une avancée certaine dans notre connaissance des causes génétiques des déficiences mentales humaines. Cependant, l'existence dans ces mêmes régions de délétions sans conséquences phénotypiques peut être la cause d'erreurs diagnostiques.

La région 2q37 semble être le siège fréquent de tels polymorphismes délétionnels.

Nous rapportons les résultats obtenus lors de l'étude de plusieurs sujets porteurs d'une microdélétion de la région 2q37. Ces patients présentaient soit un tableau de pseudo-ostéodystrophie d'Albright, soit un phénotype normal. L'analyse de marqueurs microsatellites à la recherche d'une perte d'allèles parentaux et l'utilisation en FISH de sondes BAC ou PAC de la région 2q37 nous ont permis de définir un territoire dont la délétion n'entraîne pas d'anomalies du phénotype et une région dont l'absence est responsable d'un retard mental.

Nous discutons de l'implication éventuelle dans la physiopathologie de la pseudo-ostéodystrophie d'Albright des différents gènes de ce territoire.

37. Cytogénétique

FAIVRE Laurence¹, Gosset Philippe¹, Cormier-Daire Valérie¹, Giurgia Irina¹, Odent Sylvie², Amiel Jeanne¹, Nassogne Marie-Cécile³, Pasquier Laurent², Munnich¹, Romana Serge¹, Prieur Marguerite¹, Vekemans Michel¹, De Blois Marie-Christine¹, Turleau Catherine¹
1 Département de Génétique Hôpital Necker-Enfants Malades 149, rue de Sèvres Paris France
2 Service de Génétique, Hôpital Pontchaillou, Rennes, France
3 Service de Métabolisme et Neurologie Pédiatrique, Hôpital Necker-Enfants Malades

AVANCE STATURALE ET TRISOMIE 15QTER COMPRENANT LE GÈNE DU RÉCEPTEUR À L'IGF1: DESCRIPTION DE DEUX FAMILLES ET REVUE DE LA LITTÉRATURE.

Les bases moléculaires des syndromes avec avance staturale sont encore mal élucidées. L'avance staturale est un signe rare dans les anomalies chromosomiques, mais leur étude peut orienter vers de potentiels gènes candidats. Nous rapportons ici 3 patients, issus de 2 familles différentes, présentant une avance staturale, une macrocéphalie et un retard psychomoteur. Une trisomie 15q25-q26->qter a été mise en évidence à l'aide

d'études cytogénétiques et moléculaires, provenant d'un déséquilibre d'une translocation équilibrée entre le chromosome 15qter et 13qter dans une famille, et entre le chromosome 15qter et 20pter dans l'autre famille. La revue de la littérature a permis de trouver 6 autres patients porteurs d'une trisomie 15q25-q26->qter, et 3 d'entre eux présentent une avance staturale avec macrocéphalie et retard psychomoteur. De façon intéressante, le fragment dupliqué contient le gène de l'Insulin-like Growth Factor 1 Receptor (IGF1R). Nous avons montré une triplification de ce gène par méthodes de FISH et biologie moléculaire. En revanche, un retard de croissance sévère est associé à une délétion terminale du chromosome 15q. Ces observations suggèrent donc qu'un effet de dosage du gène IGF1R peut expliquer l'avance staturale présentée chez ces patients. Ces observations soulignent également l'importance des analyses chromosomiques chez les patients présentant des avances staturales familiales ou sporadiques.

38. Diagnostic Prénatal

PIQUET Caroline¹, Hairion D², Liprandi A³, Figarella D³, Philip N¹, Moncla A¹

1 Département de génétique médicale Hôpital d'Enfants de la Timone 13385 Marseille cedex 05

2 Laboratoire Caparros-Giorgiotti, Marseille

3 Service d'anatomopathologie, Hôpital de la Timone, Marseille

ANEUPLOIDIES MULTIPLES EN MOSAÏQUE (MOSAIC VARIEGATED ANEUPLOIDY) : DIAGNOSTIC PRÉNATAL ET ANALYSE NEUROPATHOLOGIQUE.

Le syndrome d'anéuploïdies multiples en mosaïque ou mosaïque variegated aneuploidy (MVA) a été décrit chez moins de 15 patients dans la littérature. Il est caractérisé par l'existence chez un même patient d'anéuploïdies variées (trisomies, doubles ou triples trisomies, monosomies) portant sur différents chromosomes, évoquant une mutation d'un gène impliqué dans le contrôle de la division mitotique.

Nous rapportons une nouvelle famille avec une récurrence de ce syndrome rare. La première grossesse de ce couple non-apparenté d'origine vietnamienne a été marquée par la découverte d'une microcéphalie sévère avec anomalies de la fosse postérieure. L'analyse chromosomique des cellules amniotiques a mis en évidence des anomalies de nombre multiples dans 2/3 des cellules. Compte tenu de la gravité des malformations cérébrales, une interruption de grossesse a été proposée. L'examen neuropathologique a mis en évidence une microcéphalie extrême et des anomalies de la migration neuronale. Lors de la deuxième grossesse, le diagnostic de récurrence a été fait très précocement sur les constatations échographiques et confirmé par les résultats du caryotype fœtal. Les parents ont choisi de poursuivre la grossesse qui a abouti à la naissance à terme d'un enfant présentant un retard de croissance majeur (1500g), une microcéphalie (PC : 25,5 cm) et une hernie diaphragmatique gauche qui responsable du décès dans les premiers jours de vie. Le tableau clinique de ces deux cas est tout à fait superposable à celui des deux cas rapportés par Kajii et col (Am J Med 1998).

39. Cytogénétique

RAVISE Nicole¹, Dubourg O^{1,2}, Tardieu S^{1,3}, Aurias F³, Mercadiel M³, Coullin P⁴, Ruberg M¹, Catala M³, Lesourd S³, Brice A^{1,3}, LeGuern E^{1,3}

1 INSERM U289, Hôpital de la Salpêtrière, 47 Bd de l'Hôpital PARIS cedex 13 FRANCE

2 Unité fonctionnelle de pathologies neuromusculaires, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France.

3 Département de Génétique, Cytogénétique et Embryologie, Hôpital Pitié-Salpêtrière

4 UMR 1599, Institut Gustave Roussy, Villejuif, France

DÉTECTION RAPIDE DES RÉARRANGEMENTS EN 17P11.2 PAR UNE MÉTHODE DE FISH SANS CULTURE CELLULAIRE : (FISH DIRECT, FISHD) : UNE ÉTUDE PROSPECTIVE SUR 130 PATIENTS AVEC NEUROPATHIES PÉRIPHÉRIQUES HÉRÉDITAIRES

La maladie de Charcot-Marie-Tooth (CMT) et la neuropathie héréditaire avec hypersensibilité à la pression (NHHP) sont deux neuropathies héréditaires motrices et sensibles fréquentes. Le CMT est caractérisé par une atrophie et une faiblesse musculaire lentement progressives qui touchent initialement les muscles distaux des jambes. La forme la plus fréquente, le CMT1A est due, dans la plupart des cas, à une duplication d'une région de 1,5 Mb située en 17p11.2, qui contient le gène codant pour PMP22 (Peripheral Myelin Protein). Le phénotype semble résulter d'un dosage du gène PMP22. Cette hypothèse est renforcée par l'existence de la NHHP qui est cliniquement caractérisée par des épisodes récurrents de paralysies ou d'atteintes sensibles déclenchés par de petits traumatismes. En effet, la NHHP est due à une délétion de la même région d'1,5 Mb en 17p11.2. Au plan médical, la détection de la duplication ou de la délétion en 17p11.2, qui permet un diagnostic positif, est encore pratiquée en utilisant des méthodes lourdes et longues (Southern blot ou des combinaisons de différents outils moléculaires).

Nous avons développé une méthode rapide de détection des réarrangements en 17p11.2 en utilisant une méthode FISH directe qui ne nécessite aucune culture cellulaire. Dans une étude prospective comprenant 92 patients avec CMT et 38 avec suspicion de NHHP, nous avons comparé cette nouvelle technique aux stratégies classiques comme le Southern blot. Les résultats de cette étude démontrent la bonne sensibilité et spécificité de cette nouvelle technique FISH pour le diagnostic du CMT1A et de la NHHP. De plus, par sa simplicité et sa rapidité, cette technique est une alternative intéressante aux approches de biologie moléculaire pour le diagnostic des aneusomies segmentaires, spécialement les duplications qui sont souvent difficilement détectables.

40. Cytogénétique

PETIT Christophe^{1,2}, Bergere Marianne³, Jonveaux Philippe^{2,4}, Lombroso Raoul³, Monnier-Barbarino Patricia¹, Selva Jacqueline³, Gerard Hubert¹

Centre d'AMP-Maternité régionale et Laboratoire de génétique médicale, CHU Nancy - Nancy France

2 Laboratoire de génétique médicale

3 Centre d'AMP-CHI Poissy Saint-Germain

4 EA 3441, CHU Nancy-Brabois

PREMIÈRES GROSSESSES APRÈS BIOPSIE DU PREMIER GLOBULE POLAIRE ASSISTÉE PAR LASER ET DIAGNOSTIC PRÉCONCEPTIONNEL DES ANEUPLOÏDIES OVOCYTAIRES

La détection des anéuploïdies dans les étapes précédant l'implantation embryonnaire doit permettre d'augmenter le taux de succès des tentatives de FIV réalisées chez les femmes d'âge avancé. Ce type d'analyse a déjà été décrit sur des blastomères biopsiés au stade embryonnaire mais également sur le premier et /ou sur le deuxième globule polaire biopsiés au stade ovocytaire ou de deux pronucléi.

Le protocole que nous proposons aux femmes de plus de 38 ans devant bénéficier d'une tentative d'AMP par ICSI repose sur la

seule analyse du premier globule polaire car cette approche permet de détecter la grande majorité de ces anomalies avant la mise en fécondation des ovocytes et d'éviter ainsi une sélection au stade embryonnaire. Les techniques de biopsie du premier globule polaire décrites jusqu'à ce jour ont recours à une microdissection mécanique de la zone pellucide impliquant un traitement des ovocytes par une solution hyperosmotique de sucrose. L'alternative par la microdissection chimique n'étant pas possible puisque le tyrode acide est considéré comme toxique pour les ovocytes, nous avons adapté à l'ovocyte les systèmes de microdissection assistée par laser qui permettent une perforation plus aisée et plus discrète de la ZP déjà appliquée sur les embryons dans le cas du diagnostic préimplantatoire.

Sur les 5 premières patientes incluses dans ce protocole, une perforation dans la ZP a été réalisée à l'aide de 4 à 5 pulsations de 100 mW de 1 ms. Parmi 28 ovocytes, 26 GPI ont été biopsiés avec succès sans aucun phénomène de lyse de l'ovocyte. Deux GPI n'ont pu être biopsiés après microdissection de la ZP suite à la présence d'un pont cytoplasmique entre le GPI et l'ovocyte. Les GPI ont été analysés par la technique FISH à l'aide de sondes spécifiques des chromosomes 13, 16, 18, 21 et 22 (Multivision PB - VYSIS). Trois ovocytes ont présenté une anomalie et n'ont pas été microinjectés. L'anomalie a pu être confirmée sur deux ovocytes après fixation et étude par FISH. Vingt-et-un embryons de qualité correcte ont pu être obtenus et 9 embryons ont ainsi été transférés chez 5 patientes (2,2 embryons/transfert), permettant à l'heure à ce jour 3 grossesses. Ces résultats préliminaires ne permettent à l'heure actuelle aucune analyse statistique, notamment sur une éventuelle amélioration du taux de grossesses chez les femmes de plus de 38 ans ou sur le taux d'aneuploïdies, plus faible que ceux habituellement décrits dans la littérature. Cependant, ces premières grossesses montrent que les méthodes que nous avons développées pour la microdissection laser de la ZP et la biopsie du GPI apparaissent compatibles avec un développement de l'embryon et son implantation.

41. Cytogénétique Oncologique

SIRVENT Nicolas¹, Foa Cyril², Pedoutour Florence²

1 Service de Pédiatrie Hôpital de l'Archet 151 route de saint-Antoine de Ginestière Nice France

2 Laboratoire de Génétique, CHU de Nice

CARACTÉRISATION DES ANOMALIES CENTROMÉRIQUES DANS LES LIPOSARCOMES

Le liposarcome bien différencié (LBD) est une tumeur adipo-cytaire de malignité intermédiaire, dont le caryotype est caractérisé par la présence de chromosomes surnuméraires géants ou en anneaux, composés de séquences amplifiées de la région 12q14-15 associées à d'autres régions chromosomiques variables. Ces chromosomes surnuméraires, bien que stables, présentent de façon constante et spécifique une absence de séquences alpha-satellites centromériques.

Nous avons étudié 8 LBD par cytogénétique conventionnelle, FISH, et immunomarquage à l'aide d'anticorps dirigés contre des protéines centromériques.

Nos résultats portant sur l'étude des chromosomes surnuméraires des LBD :

1/ confirment l'absence de séquences alpha-satellites.

2/ montrent l'existence d'une activité centromérique, objectivée par la mise en évidence du kinétochore à l'aide d'anticorps spécifiques anti-CENP-C.

3) démontrent, à partir d'un cas unique de LBD ne présentant pas de chromosome surnuméraire géant ou en anneau, mais trois copies d'un chromosome surnuméraire de taille d'un chromosome du groupe C, que, plus que la taille ou la forme des chromosomes surnuméraires, ce sont la présence des séquences amplifiées de la région 12q associées à l'absence des séquences alpha-satellites centromériques qui constituent les éléments génétiques caractéristiques du LBD.

Les LBD représentent ainsi le premier exemple d'une classe de tumeurs dans laquelle la présence de chromosomes surnuméraires anaphoïdes stables est une anomalie constante et spécifique. La formation d'un néo-centromère fonctionnel

conférant stabilité aux chromosomes surnuméraires des LBD pourrait représenter un processus original conférant un avantage sélectif aux cellules néoplasiques. Le mécanisme de formation de ce néo-centromère pourrait résulter d'un mécanisme épigénétique en relation avec la structure chromatinière particulière de ces chromosomes complexes.

42. Cytogénétique Oncologique

ANDRIEUX Joris¹, Demory J-L², Dupriez B³, Plantier I⁴, Morel P³, Barouk-Simonet E⁵, Caulier M-T⁶, Bauters F⁶, Kerckaert J-P¹, Laë J-L⁵

1 INSERM U524 Institut de Recherche sur le Cancer de Lille Place de Verdun - Lille Cedex France

2 Service d'Hématologie CH St Vincent - Lille

3 Service d'Hématologie clinique - Lens

4 Service d'Hématologie clinique - Roubaix

5 Laboratoire de Génétique Médicale - Lille

6 Service d'Hématologie clinique - CHU Lille

FREQUENCE DES REMANIEMENTS DU CHROMOSOME 12 DANS LA SPLENOMEGALIE MYELOÏDE

Parmi les Syndromes Myélo-Prolifératifs (SMP), la Splénomégalie Myéloïde (SM) est une hémopathie rare (incidence estimée à 0.4-0.7/100 000/an) touchant la personne âgée (âge moyen de diagnostic de 60 ans), avec atteinte clonale de la cellule souche hématopoïétique myéloïde. L'évolution est moins stéréotypée que celle de la Leucémie Myéloïde Chronique (LMC), certaines formes s'aggravant rapidement, d'autres survivant plus de 10 ans. La cytogénétique permet de retrouver des anomalies clonales, de signification pronostique péjorative, dans un peu moins de 50% des cas, les plus fréquentes étant des délétions: del 13q et del 20q.

Depuis 1981 nous réalisons au CHU de Lille une étude cytogénétique systématique de chaque nouveau patient de la région Nord-Pas de Calais. 205 patients (pts) ont été étudiés: 110 pts ont montré un caryotype normal et 95 pts ont montré une anomalie cytogénétique (46%) isolée pour la plupart ou plus complexe: 29 pts ayant une délétion 20q (30.5% des patients avec anomalies), et 18 pts ayant une délétion 13q (18.9% des patients avec anomalies); ces 2 anomalies représentant à elles deux près de 50% des anomalies cytogénétiques.

Parmi les autres anomalies on retrouve chez 10 pts une anomalie structurale du chromosome 12 de type translocations: t(4;12)(q31;q21), t(5;12)(p14;q21), t(1;12)(p21;q12), t(12;17)(q24;q11), t(7;12)(p11;q24), t(12;13;17)(q12-q23;q21-q32;q22), der(12):t(12;?)(q24;?) ou délétion et inversion: inv(12)(p12q14), del(12)(q21q24) / t(1;12)(q22q24), del(12)(p11p12). Dans un cas au moins, elle semble primaire puisqu'au cours de l'évolution apparaît secondairement une del 13(q13q31).

En conclusion, ces anomalies sont importantes, elles représentent 8.5% des cas et plusieurs pts présentent des translocations ayant apparemment le même point de cassure en 12q21 ou 12q24 en cytogénétique conventionnelle. Néanmoins des études complémentaires de cytogénétique moléculaire sont en cours et permettront:

-I- de mieux préciser les points de cassure en 12q

-II- d'identifier puis de cloner ces gènes responsables de la prolifération chronique, potentiellement préleucémique, de la lignée myéloïde

-III- de mieux comprendre le mécanisme de la leucémogénèse dans ces SMP à évolution lente, autres que la LMC

43. Bioéthique

MALZAC Perrine^{1,2}, Despinoy Lidia³, Orsini Anne-Christine³, Bernard Rafaëlle¹, Sigaudy Sabine¹

1 Département de Génétique Médicale Enfants Boulevard Jean Moulin 13385 Marseille cedex 5 France

2 Espace Ethique Méditerranéen Hôpital de la Timone, Marseille

3 Centre d'Action Médico-Sociale Précoce. Marseille 13ème

MISE EN PLACE D'UN GROUPE DE TRAVAIL SUR LA PRATIQUE DU DIAGNOSTIC PRÉNATAL GÉNÉTIQUE, D'UN POINT DE VUE ETHIQUE ET PSYCHOLOGIQUE.

A l'initiative de médecins généticiens consultant au Centre de Diagnostic Prénatal de l'Hôpital de la Timone (Marseille), une cellule de réflexion autour des enjeux de la consultation de génétique prénatale s'est constituée. Trois médecins du service de Génétique, une psychiatre et une psychologue se réunissent depuis six mois de façon bi-mensuelle, pour des séances de deux heures.

METHODE DE TRAVAIL:

Les dossiers discutés sont choisis par les médecins généticiens consultants dès lors, qu'à l'issue de la consultation, apparaissent des difficultés de gestion de la situation en relation bien souvent avec des enjeux psychiques complexes de la part du demandeur articulés à des problèmes éthiques délicats.

Ces cas apparaissent comme exemplaires et, en ce sens, leur étude minutieuse et détaillée peut servir de point d'appui à des élaborations éthiques plus générales.

OBJECTIFS DU TRAVAIL:

Pour chaque situation étudiée, il est tenté de reconnaître la part d'anxiété voire de confusion qui entoure le problème génétique, de dégager les enjeux psychiques de la demande, de les articuler à la problématique singulière du demandeur et de son entourage familial. Ces éléments peuvent ensuite servir de point d'appui pour solliciter du staff une décision médicale, conforme aux exigences éthiques, qui prenne pleinement en compte la dimension individuelle, dans le souci du respect de la personne tout en évitant la dérive éthique de la banalisation. Il est apparu évident que la demande formulée par le couple se devait souvent d'être entendue et analysée sur plusieurs plans afin de définir, avec le recul nécessaire, ce qui est réellement du domaine du généticien. A partir de là, il est possible d'envisager une réponse mieux adaptée à la demande réelle et d'inscrire cette démarche comme un temps de la gestion d'une grossesse en cours ou à venir.

EN CONSEQUENCE:

C'est le devenir de l'enfant qui est au centre des préoccupations, inscrivant toute décision dans une perspective d'aide à la parentalité et à la vie, même si dans certains cas la réponse immédiate est une interruption de grossesse. Cette prise de conscience a aussi débouché sur une réflexion quant à l'organisation du centre pluridisciplinaire de diagnostic prénatal à Marseille, comme nous le montrons à travers des exemples de notre expérience.

44. Bioéthique

LESCA Gaetan¹, Goizet Cyril², Durr Alexandra³, Groupe Français de Neurogénétique Prédictive,

1 Service de Génétique Hôtel-Dieu 1 place de l'hôpital LYON cedex France

2 Service de Génétique Médicale, Hôpital Pellegrin-Enfants, Bordeaux

3 Département de Génétique, Cytogénétique et Embryologie, Hôpital de la Salpêtrière, Paris

LE TEST PRÉSYMPTOMATIQUE POUR LES AFFECTIONS NEUROGÉNÉTIQUES AUTOSOMIQUES DOMINANTES : L'INTÉRÊT D'UNE DÉMARCHE RESPECTANT L'ENCADREMENT MULTI-DISCIPLINAIRE

Avant même la faisabilité technique du test présymptomatique (TP), sa justification et son intérêt furent débattus. La controverse concernait essentiellement les affections au pronostic dramatique sans mesure préventive ni curative, comme

la maladie de Huntington (MH). Le bénéfice n'apparaissait pas clairement à certains et la crainte des conséquences directes du test sur le candidat et de ses retombées familiales et sociales était légitime. L'identification du gène de la MH conduisit, sous la pression des associations de malades, à mettre en place des protocoles multidisciplinaires pour minimiser les risques liés à l'annonce du résultat. La Fédération Mondiale de Neurologie et l'Association Internationale de la MH ont proposé des règles visant à encadrer la pratique du TP et à garantir le respect des principes éthiques essentiels.

Nous avons maintenant un recul suffisant pour évaluer le déroulement et les conséquences du TP. L'ensemble des demandeurs sur la période considérée ne dépasse pas 10% des personnes à risque et à peine plus de la moitié des candidats sont allés jusqu'à l'obtention du résultat. En dépit d'un taux de suivi élevé, peu d'événements défavorables ont été notés, le plus fréquent étant la survenue d'un épisode dépressif transitoire. Des constatations similaires ont été faites dans les autres pays. La démarche utilisée pour le TP dans la MH semble donc conforme aux principes éthiques. Son caractère non directif et le respect du temps de réflexion permettent une prise de décision autonome et mature. Il semble ainsi logique et justifié d'adapter cette démarche à d'autres maladies neurodégénératives de transmission dominante autosomique.

45. Conseil Génétique et Education

MITCHELL Grant A., Lambert Marie, Lemyre Emmanuelle, Michaud Jacques.

Service de génétique médicale, Hôpital Ste-Justine, Montréal.

LA GÉNÉTIQUE MÉDICALE AU QUÉBEC

À plusieurs titres, la pratique de la génétique médicale au Québec est distinctive. La population actuelle du Québec (7 M) est composée en majorité des descendants de 8000 immigrants français établis en Nouvelle-France avant 1759. Cet effet fondateur confère à la génétique médicale au Québec un caractère spécifique et d'une importance particulière. Certaines maladies, rares ailleurs, présentent une fréquence élevée au Québec, particulièrement dans certaines régions comme le Saguenay-Lac-St-Jean ou dans certaines communautés ethniques, autochtones ou autres. Cela pose des défis particuliers pour ceux s'intéressant à la génétique communautaire. La génétique médicale est reconnue comme spécialité aux niveaux national (depuis 1993) et québécois (depuis 1997). Le résidanat en génétique médicale est d'une durée de 5 ans partout au Canada. L'Hôpital Ste-Justine dirige l'unique programme de formation francophone en génétique médicale de l'Amérique du Nord. La pénurie de médecins généticiens a eu comme conséquence de favoriser la concentration des services de génétique médicale dans les centres universitaires tertiaires avec l'appui d'un réseau de support local à travers le Québec. Au Québec, la génétique médicale jouit d'un statut de spécialité clinique et de laboratoire (cytogénétique, génétique biochimique et génétique moléculaire). Cette double reconnaissance a permis l'émergence de Services de génétique regroupant toutes les activités cliniques et de laboratoire et permettant une prise en charge globale des malades. Alors que l'exercice de la médecine au Québec est similaire au reste de l'Amérique du Nord, elle se déroule dans un système de santé publique semblable à celui de la France. L'existence d'un système de santé intégré facilite la coordination d'initiatives pan-québécoises de recherche en génétique clinique. Un exemple de ce type d'intégration est le domaine du dépistage néonatal où le Québec a fait figure de pionnier et l'étude pan-québécoise du traitement de la tyrosinémie par le NTBC.

46. Diagnostic Prénatal

MORICHON-DELVALLEZ Nicole, Brun Catherine
Service de Cytogénétique Tour Pasteur Hôpital Necker-Enfants
Malades PARIS FRANCE

INTÉRÊT D'UN SUIVI À LONG TERME DE L'ÉVOLUTION PSYCHO-DYNAMIQUE DE L'ENFANT ET DE SA FAMILLE APRÈS DIAGNOSTIC D'UNE ANOMALIE DES GONOSOMES.

Les anomalies des chromosomes sexuels sont les anomalies les plus fréquentes à la naissance. La généralisation du diagnostic prénatal augmente la découverte fortuite de ces anomalies.

L'annonce aux parents en cours de grossesse des éventuelles difficultés liées à ces formules, essentiellement difficultés d'apprentissage, troubles psychologiques ou difficultés de reproduction, voire stérilité soulève plusieurs questions. Depuis deux ans, nous nous sommes proposées de reconvoquer systématiquement les familles que nous avons rencontrées en cours de grossesse et qui ont été confrontées à un tel diagnostic. Plus qu'une évaluation psychométrique du patient, nous sommes proposées de suivre l'évolution psychodynamique des membres de la constellation familiale pris dans les rets d'une annonce d'affection gonosomique, nouvelle donne dans le jeu de l'être faisant événement à des moments clés de la vie.

Que faire de cette annonce ?

Qu'en faire pour le patient et aussi pour le médecin qui est parfois dérouté par ces effets ambigus, ambivalents ?

47. Diagnostic Prénatal

BAUMANN Clarisse¹, Delagarde Rachel¹, Vuillard Edith², Oury Jean-François²

¹ Hôpital Robert Debré Génétique Médicale 48 boulevard Serrurier Paris France

² Service de Gynéco-Obstétrique Hôpital Robert Debré

ETUDE DU DEVENIR DES ENFANTS NÉS APRES UN DIAGNOSTIC DE PATHOLOGIE DE LA NUQUE A L'ECHOGRAPHIE DU 1ER OU DU 2EME TRIMESTRE

Le but de cette étude est de déterminer le devenir des enfants nés vivants, sans anomalie chromosomique diagnostiquée en prénatal, et dont la grossesse a été marquée par une anomalie de la nuque échographiquement visible, afin de distinguer les facteurs pronostiques permettant d'éclairer le conseil prénatal.

A la maternité Robert Debré, entre juin 1994 et juin 2001, une pathologie de la nuque a été dépistée 360 fois au cours d'une grossesse.

184 grossesses ont été interrompues, 151 nouveau-nés ont bénéficiés d'un suivi clinique comportant 4 examens pédiatriques au cours des 2ères années de vie :

* 115 enfants (76 %) ont une évolution normale

* 21 enfants sont porteurs d'une ou plusieurs malformations majeures (cardiaque, rénale, orthopédique) 12 fois isolée (8 %), 9 fois syndromique (6 %)

* 15 enfants (10 %) ont un retard de développement psychomoteur, non spécifique (7 fois) ou intégré dans un syndrome génétique identifié (8 fois)

L'hygroma est un facteur de mauvais pronostic. L'aspect de clarté nucale, statistiquement de meilleur pronostic, est cependant dans plusieurs cas associé à des pathologies syndromiques graves.

Les enfants ayant présenté une pathologie de la nuque au cours de la grossesse avec un caryotype normal restent une population à risque, tout particulièrement de retard de développement psychomoteur et de pathologie syndromique inconstamment diagnostiquée en période néonatale justifiant d'un suivi postnatal.

48. Diagnostic Prénatal

LEPORRIER Nathalie¹, Herrou Michel¹, Morello Rémi², Leymarie Pierre¹

¹ Département Génétique et Reproduction, CHU Caen Avenue côte de Nacre - Caen Cedex

² Service informatique

LE DEPISTAGE PRENATAL DE LA TRISOMIE 21 IDENTIFIE PREFERENTIELLEMENT LES FŒTUS DESTINES A AVORTER

Objectif : Au terme d'une étude prospective conduite pendant 10 ans en Basse Normandie et portant sur plus de 100,000 grossesses chez des femmes de moins de 38 ans, nous avons constaté que la diminution observée du nombre de naissances d'enfants atteints était significativement plus faible que celle attendue compte tenu de l'augmentation du nombre des cas dépistés en prénatal et des taux d'avortement spontanés.

Cette observation nous a suggéré que le taux d'avortement spontané pour les trisomies 21 dépistables pourrait être plus élevé que pour les trisomies 21 non dépistables.

Méthode : Notre étude est basée sur l'enregistrement exhaustif à la fois des cas détectés en prénatal après marqueurs sériques du second trimestre (hCG et estriol) et / ou la mesure de la clarté nucale au 1er trimestre et du nombre des naissances de trisomie 21. Le taux de pertes fœtales dans la population des trisomies 21 détectés en prénatal a été évalué en comparant l'augmentation de la détection en prénatal à la diminution de la prévalence à la naissance. Les résultats obtenus ont été comparés au taux de pertes fœtales attendues en fonction des données de la littérature concernant le taux de fausses couches pour l'ensemble des fœtus trisomiques 21 entre le 1er trimestre ou le 2nd trimestre et la naissance.

Résultats : Le dépistage prénatal entraîne une diminution significative (42%) ($p < 0.001$) de la prévalence à terme du syndrome de Down. Parmi les 53 fœtus trisomiques 21 détectés en prénatal durant les 3 dernières années de l'étude, environ 50% auraient apparemment avorté spontanément si la grossesse avait été poursuivie. Ce résultat est significativement différent ($p < 0.002$) du taux attendu de 29%, suggérant que le taux d'avortement spontané des fœtus trisomiques 21 dépistables en prénatal est plus élevé que celui des fœtus trisomiques 21 non dépistables.

Conclusions : Nos résultats suggèrent que l'efficacité du dépistage de la trisomie 21 basée sur la sélection des grossesses à risque est vraisemblablement surévaluée en raison d'une sous estimation du taux d'avortement des fœtus trisomiques 21 dépistables en prénatal.

49. Conseil Génétique et Education

CHARRON Philippe¹, Heron Delphine², Gargiulo Marcela², Richard Pascale³, Dubourg Olivier⁴, Desnos Michel⁵, Bouhour Jean Brieuc⁶, Feingold Josué⁷, Carrier Lucie⁸, Brice Alexis², Hainque Bernard³, Schwartz Ketty⁸, Komajda Michel¹

¹ Service de Cardiologie; CHU Pitié-Salpêtrière; 47 Bd de l'Hôpital - Paris France

² Département de Génétique, CHU Pitié-Salpêtrière, Paris

³ Département de Biochimie, CHU Pitié-Salpêtrière, Paris

⁴ Service de Cardiologie, CHU Boulogne

⁵ Service de Cardiologie, HEGP, Paris

⁶ Service de Cardiologie, CHU Nantes

⁷ INSERM U155, Paris

⁸ INSERM U523, Paris

CONSEIL GÉNÉTIQUE DANS LA CARDIOMYOPATHIE HYPERTROPHIQUE: EXPÉRIENCE PRÉLIMINAIRE DU RÉSEAU FRANÇAIS.

Objectifs. La cardiomyopathie Hypertrophique (CMH) est une cause majeure de mort subite chez l'enfant et l'adulte jeune. La maladie est habituellement familiale et la transmission autosomique dominante. Les avancées de la génétique moléculaire rendent maintenant possible l'utilisation du test génétique en pratique clinique. Ceci engendre de nouvelles questions quant à l'utilisation du test génétique dans cette

maladie et à l'organisation de la procédure. Le but était ici d'aborder les différents enjeux du test génétique dans la CMH, et de rapporter notre expérience préliminaire selon une approche pluri-disciplinaire.

Méthodes et résultats. Les questions le plus souvent posées par les consultants sont relatives au diagnostic présymptomatique et au conseil prénatal. La complexité des enjeux médicaux (incertitude du bénéfice) et psychologiques ont conduit le Réseau français à proposer une consultation pluri-disciplinaire (incluant un cardiologue, un généticien et une psychologue), et une procédure spécifique. Cinquante consultants ont été vus: 17 adultes pour un diagnostic présymptomatique (dont 5 ont abandonné la procédure), 7 couples de parents pour un diagnostic présymptomatique chez leurs enfants, 20 couples pour un conseil/diagnostic prénatal, 6 personnes pour un test diagnostique. Aucun test à visée pronostique n'a été réalisé.

Conclusions. (1) Cette expérience préliminaire confirme la complexité des situations et suggère l'utilité d'une approche spécifique et pluri-disciplinaire pour la réalisation du test génétique dans cette maladie. (2) Des recommandations propres aux différentes situations sont proposées par le Réseau français d'étude de la CMH.

50. Génétique Clinique et Dysmorphologie

PINSON Stéphane¹, Créange Alain², Barbarot Sébastien³, Stalder Jean-François³, Chaix Yves⁴, Rodriguez Diana⁵, Sanson Marc⁶, Berheim Alain⁷, d'Incan Michel⁸, Doz François⁹, Stoll Claude¹⁰, Combemale Patrick¹¹, Kalifa Chantal¹², Zeller Jacques¹³, Teillac-Hamel Dominique¹⁴, Lyonnet Stanislas¹⁵, Zerah Michel¹⁶, Lacour Jean-Philippe¹⁷, Wolkenstein Pierre¹³ pour le Réseau NF-France

¹ Génétique Moléculaire, Hôpital Edouard Herriot (Lyon)
² Neurologie, ¹³ Dermatologie, Hôpital Henri-Mondor (Créteil) ;
³ Dermatologie, Hôtel-Dieu (Nantes) ; ⁴ Neuropédiatrie, Hôpital des Enfants (Toulouse) ; ⁵ Neuropédiatrie, Hôpital Saint-Vincent-de-Paul (Paris) ; ⁶ Neurologie, Groupe Pitié-Salpêtrière (Paris) ;
⁷ Laboratoire de Génétique Cellulaire du Cancer, ¹² Pédiatrie, Institut Gustave Roussy (Villejuif) ; ⁸ Dermatologie, Hôtel-Dieu (Clermont-Ferrand) ; ⁹ Oncologie Pédiatrique, Institut Curie (Paris) ; ¹⁰ Génétique Médicale, Hôpital de Hautepierre (Strasbourg) ; ¹¹ Dermatologie, Hôpital Desgenettes (Lyon) ;
¹⁴ Dermatologie, ¹⁵ Génétique Médicale, ¹⁶ Neurochirurgie, Hôpital Necker-Enfants Malades (Paris) ; ¹⁷ Dermatologie, Hôpital de l'Archet (Nice).

NF FRANCE : RECOMMANDATIONS DE PRISE EN CHARGE DE LA NEUROFIBROMATOSE

La neurofibromatose de type 1, ou maladie de Recklinghausen, est une maladie génétique fréquente touchant de 1/4000 à 1/3000 individus. Le gène responsable de la maladie est localisé sur le chromosome 17 (17q11.2). Sa transmission est autosomique dominante, sa pénétrance est proche de 100% à l'adolescence et son expression phénotypique est très variable. Le gène NF1 dont les mutations entraînent la maladie a été identifié en 1990 chez l'homme. Il s'agit d'un gène suppresseur de tumeur, composé de 60 exons et codant pour une protéine cytoplasmique : la neurofibromine. Les mutations germinales délétères sont réparties sur l'ensemble du gène et généralement spécifiques de chaque famille. La fréquence des néomutations dans le gène est élevée, près de la moitié des patients NF1 étant victimes de l'apparition d'une mutation *de novo*.

La NF1 est caractérisée par des taches " café au lait " (TCL), des "éphélides" des grands plis, des hamartomes iriens (nodules de Lisch) et de multiples neurofibromes cutanés. Elle peut être associée à des gliomes des voies optiques, des neurofibromes spinaux ou des nerfs périphériques, une macrocéphalie, des troubles cognitifs et neurologiques, une scoliose et d'autres anomalies osseuses. La morbidité et la mortalité liées à la NF1 résultent de la survenue de complications multisystémiques.

La prise en charge des patients nécessite une surveillance régulière et implique souvent l'intervention de différents spécialistes. Le recours à une structure multidisciplinaire apparaît donc comme le mieux adapté dans cette maladie en cas de complications. Afin d'harmoniser la prise en charge de ces

patients le réseau NF-FRANCE, regroupant l'ensemble des structures françaises impliquées dans cette pathologie, a été créé au début de l'année 2001.

Le Réseau NF-France est une filière de soins monothématique qui a pour mission la prise en charge des malades atteints de NF1 en France. Un comité d'experts a développé des recommandations afin de donner aux malades une qualité de soins identiques dans les différents centres constituant le réseau et de diffuser un document pratique auprès des médecins amenés à prendre en charge la NF1 en dehors de ces structures.

50b. Bases moléculaires des maladies Mendéliennes

Gouya Laurent, Puy Herve, Robreau Anne-Marie, Bourgeois Monique, Lamoril Jérôme, Da Silva Vasco, Grandchamp Bernard & Deybach Jean-Charles
Centre Français des Porphyries, INSERM U 409, Faculté X. Bichat, Hôpital Louis Mourier, Colombes, France

THE PENETRANCE OF DOMINANT ERYTHROPOIETIC PROTOPORPHYRIA IS MODULATED BY STATEMENT OF WILD-TYPE FECH.

Genetic counseling in autosomal dominant disorders is often limited due to incomplete penetrance and variable clinical expressivity. It has been postulated that clinical phenotypes, even for simple Mendelian disorders, are complex traits under the control of modifier genes. Erythropoietic protoporphyria (EPP; MIM 177000) is an inherited disorder caused by a partial deficiency of ferrochelatase (FECH, protoheme ferrolyase, EC 4.99.1.1) which catalyses the chelation of iron into protoporphyrin to form heme. EPP is considered to be transmitted as an autosomal dominant disorder; related FECH gene defects are characterized by a high molecular heterogeneity and an incomplete penetrance. We suggested that the clinical penetrance of a FECH gene defect is modulated by the presence of a common wild-type low-expression FECH gene in *trans* to the mutation. We have now identified and demonstrated the role of an intronic SNP, IVS3-48C/T, responsible for the low-expression mechanism using a haplotype segregation strategy. The polymorphism modulates the use of a constitutive aberrant acceptor splice site. Aberrantly spliced mRNA degraded by nonsense mediated decay mechanism leads to an additional FECH enzyme deficiency necessary for EPP phenotypic expression. Interestingly, the prevalence of EPP in different human populations appears to be dependent upon the frequency of the SNP we report. Our results provide a dramatic improvement in risk prediction and patient management in EPP families, and shed new light on penetrance mechanism in dominantly inherited diseases.

Communications Affichées

51. Génétique Clinique et Dysmorphologie

DE LEERSNYDER HÉLÈNE¹, De Blois Mc¹, Bresson J.L.², Mogenet A², Souberbielle J.C³, Sidi D¹, Munnich A¹
1 Département de génétique Hôpital Necker 149 rue de Sèvres Paris cedex 15 France
2 Département de pédiatrie .Hop. Necker, Paris
3 Département de physiologie .Hop. Necker.Paris
4 Département de cardiologie .Hop. Necker.Paris

L'ASSOCIATION DES BÉTA-BLOQUANTS ET DE LA MÉLATONINE AMÉLIORE LE COMPORTEMENT DIURNE ET RESTAURE LE SOMMEIL NOCTURNE DANS LE SYNDROME DE SMITH-MAGENIS

Le syndrome de Smith-Magenis (del 17p11.2) associe dysmorphie faciale, retard mental, troubles du comportement et troubles du sommeil. Ce phénotype comportemental peut être en partie corrélé à une inversion circadienne de la mélatonine: hyperactivité, colères et siestes surviennent lors des pics diurnes de mélatonine tandis que les enfants présentent une avance de phase de sommeil, des réveils nocturnes et un réveil très matinal lorsque la mélatonine est basse pendant la nuit. Nous avons étudié 10 enfants SMS (consultations, agendas de sommeil, actimétrie, hospitalisations pour EEG et dosage sanguin de la mélatonine). Sachant que les bêta-bloquants diminuent la sécrétion de mélatonine en inhibant les récepteurs bêta-adrénergiques, les enfants ont reçu des bêta-bloquants (10mg/kg) le matin et de la mélatonine (6mg) le soir pendant 6 mois. Dans la journée, la mélatonine plasmatique est passée de 155pg/ml à 8pg/ml, les siestes et les attaques de sommeil ont disparu, l'hyperactivité a diminué, la concentration s'est accrue, le comportement familial et social s'est transformé. La nuit, la mélatonine a atteint 2190pg/ml à 24h puis a diminué progressivement (200pg/ml à 6h). L'actimétrie a confirmé l'amélioration du sommeil: endormissement plus tardif, disparition des réveils nocturnes, réveil matinal retardé. En conclusion, les enfants porteur de SMS ont une inversion de leur rythme circadien de la mélatonine. L'administration de bêta-bloquants le matin et de mélatonine le soir, traitement symptomatique du phénotype comportemental, restaure un rythme circadien de la mélatonine, améliore le comportement diurne et rétablit des habitudes de sommeil normales.

52. Génétique Clinique et Dysmorphologie

Dollfus Hélène¹, Kumaramanickave¹ Govindasamy², Biswas Partha³, Stoetzell Corinne¹, Quillet Renaud¹, Denton Michael⁴, Maw Marion⁴, Perrin-Schmitt Fabienne¹
1 LGME-CNRS U184 INSERM, Faculté de Médecine, 11 rue Humann Strasbourg Cedex France
2 Sankara Nethralaya Medical Research Foundation, Chennai, Inde
3 Anadalok, Calcutta, Inde
4 Biochemistry Department, University of Otago, Dunedin, Nouvelle-Zélande

SPECTRE CLINIQUE DE L'HAPLOINSUFFISANCE À TWIST : DU BPES AU SCS

Objectifs

Le but de ce travail était la caractérisation clinique et moléculaire d'une grande famille indienne dont le phénotype, autosomique dominant, était classé initialement comme un syndrome Blépharophimosis-Ptois-Epicanthus Inversus (BPES) et pour laquelle une liaison génétique avait été mise en évidence en 7p21 par une équipe néozélandaise (Maw *et al.*, 1995). Le gène TWIST, facteur de transcription de type b HLH et associé au syndrome de Saethre-Chotzen (SCS), a été considéré comme gène candidat.

Résultats

Une nouvelle mutation non-sens au niveau du codon 82 a été détectée par PCR-SSCP et confirmée par séquençage direct. L'analyse clinique a pu être détaillée pour 16 membres de la famille porteurs de la mutation. Un tableau clinique de SCS a pu être établi pour 4 patients (25%) porteurs d'une authentique oxycéphalie (75% des individus n'ayant aucun stigmate clinique ou radiologique de craniosténose). 75% des individus mutés avaient des manifestations palpébrales plus ou moins accentuées et pour certains proches du BPES. Un phénotype quasi-normal était noté pour 25% des individus

Conclusions

Cette famille est la plus grande famille porteuse d'une mutation dans TWIST rapportée à ce jour. Elle confirme la grande hétérogénéité phénotypique de l'haploinsuffisance à TWIST allant d'un tableau quasi-normal, de manifestations palpébrales accentuées voire isolées à un tableau typique de SCS. D'autre part, ces résultats suggèrent une homogénéité génétique du syndrome BPES puisque jusqu'à présent deux loci étaient connus un sur le chromosome 3 (gène identifié FOXL2, Crisponi *et al.*, 2001) et celui du chromosome 7 qui semble infirmé par notre étude.

53. Génétique Clinique et Dysmorphologie

Faivre Laurence¹, Le Merrer Martine¹, Odent Sylvie², Finidori Georges³, Munnich Arnold¹, Maroteaux Pierre¹, Cormier-Daire Valérie¹
1 Département de Génétique Hôpital Necker-Enfants Malades 149, rue de Sèvres Paris France
2 Service de Génétique, Hôpital Pontchaillou, Rennes
3 Service d'Orthopédie Pédiatrique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris

LE SYNDROME DE DESBUQUOIS

Le syndrome de Desbuquois est une ostéochondrodysplasie rare, d'hérédité autosomique récessive, caractérisé cliniquement par un retard de croissance pré et postnatal, une dysmorphie faciale caractéristique, et radiologiquement par un aspect en clef à molette; de l'extrémité supérieure du fémur, des anomalies caractéristiques des extrémités comprenant typiquement un centre d'ossification surnuméraire au niveau du 2ème métacarpe et une avance d'âge osseux. Nous rapportons ici 15 patients présentant un syndrome de Desbuquois et originaires de 7 pays différents. La taille de naissance est inférieure à 44 cm, la dysmorphie faciale et l'hyperlaxité sont constantes. Un retard mental est noté chez 6/10 patients âgés de plus de 1 an. Sur les 15 cas, 5 patients sont décédés entre 0 et 6 ans de détresse respiratoire. L'âge moyen des survivants est de 10 ans. Le suivi à long terme des patients adultes révèle un retard de croissance majeur, allant de -4 à -9 DS, des cyphoscolioses et une impotence fonctionnelle notable. L'un des patients a présenté un glaucome. L'aspect en clef à molette du fémur, le cotyle plat, le 1er métacarpe et métatarse court, l'avance d'âge osseux, les métaphyses larges et plates, les fentes vertébrales coronales et sagittales et l'hypoplasie de l'étage moyen sont des signes radiologiques constants. Par contre, les centres d'ossification surnuméraires et la phalange delta du pouce ne sont retrouvés que dans 5/15 observations seulement, et une polydactylie dans 1/15. Nous suggérons donc que ces dernières anomalies ne sont pas nécessaires pour retenir le diagnostic de syndrome de Desbuquois.

54. Génétique Clinique et Dysmorphologie

Collignon Patrick^{1,2}, Figarella Dominique³, Philip Nicole²
1 Service de Génétique Hôpital Font-Pré BP 1412 17520 TOULON FRANCE
2 Département de Génétique Médicale Hôpital d'Enfants de la Timone Marseille
3 Service d'Anatomopathologie, Hôpital de la Timone Marseille

APPORT DES TECHNIQUES IMMUNO-HISTOCHEMISTIQUES DANS LE DIAGNOSTIC DU SYNDROME DE MARFAN

Le syndrome de Marfan est une dysplasie héréditaire du tissu élastique, liée à une mutation du gène FBN1 localisé sur le chromosome 15. Son diagnostic moléculaire ne peut être proposé en pratique courante car il s'agit de rechercher des mutations privées sur un grand gène de 65 exons. Le score diagnostic de cette affection selon les critères établis par A. De Paepe et collaborateurs (1) permet d'identifier les cas typiques. Cependant les formes incomplètes posent question. Depuis 1997 nous avons établi un protocole d'étude de la protéine d'expression du gène, la fibrilline, par des techniques d'immunofluorescence sur biopsie cutanée. A partir de l'expérience de la consultation des dysplasies du tissu élastique du Département de Génétique Médicale de l'Hôpital de la Timone à Marseille, nous rapportons des observations qui illustrent la contribution de ces études histologiques. On peut distinguer les situations où la biopsie cutanée confirme un diagnostic déjà établi, celles où elle contribue à un diagnostic en suspens, celles où elle permet de le récuser, et les cas discordants. Nous discutons la notion de fibrillinopathie primaire et secondaire et les limites techniques de cet examen. L'immunofluorescence pourrait être un critère additionnel dans le score diagnostic après étude des corrélations avec le diagnostic moléculaire de cette affection.

(1) De Paepe et al(1996): Am J Med Genet 62:417-426

55. Génétique Clinique et Dysmorphologie

Pasquier Laurent¹, Lazaro L¹, Henry C², Blayau M³, Lemec F², David V³, Le Marec B¹, Odent S¹
1 Service de Génétique Médicale CHU Pontchaillou Rue Henri Le Guilloux - RENNES cedex 9 France
2 Laboratoire de Cytogénétique RENNES
3 Laboratoire de Biologie Moléculaire RENNES

BILAN DE LA CONSULTATION DE GÉNÉTIQUE DE RENNES POUR L'EXPLORATION D'UN RETARD MENTAL

Quelle peut être la contribution d'une consultation de génétique dans la recherche étiologique d'un retard psychomoteur ? Pour y répondre, nous avons étudié tous les dossiers des enfants, adressés à la consultation du CHU de Rennes sur ces cinq dernières années, pour un avis diagnostique devant un retard des acquisitions psychomotrices.

Sur les 200 dossiers pour lesquels aucun diagnostic n'avait été posé avant cette consultation, celui-ci a été fait dans 70 cas (35%). Des causes non génétiques ont été identifiées, notamment 9 cas de toxicité médicamenteuse et 1 cas de fœtopathie alcoolique. Parmi les causes génétiques, on retrouve des anomalies chromosomiques (14 cas), des anomalies moléculaires (6 cas) et des syndromes cliniquement identifiés (40 cas). Le sexe ratio est de 1.8 en faveur des garçons.

Dans cette présentation, nous détaillons les différents diagnostics. Nous discutons les biais de sélection (un seul cas de trisomie 21 par exemple), l'intérêt de réaliser des examens chromosomiques et moléculaires de façon systématique et la nécessité de revoir ces patients en consultation.

Cette analyse, réalisée dans la région de Rennes, ne peut pas être généralisée à d'autres centres de génétique, en raison notamment des biais de sélection. Cependant ce travail nous a amenés à une réflexion sur le bilan à réaliser devant un retard psychomoteur et l'organisation de sa prise en charge par les différents intervenants de la région rennaise.

56. Génétique Clinique et Dysmorphologie

Blanchet Patricia¹, Coubes Christine¹, Malzac Perrine², Levy Nicolas², Sarda Pierre¹
1 Service de Génétique Hôpital Arnaud de Villeneuve - MONTPELLIER Cedex 5 France
2 Département de Génétique Médicale, Hôpital la Timone Marseille

SYNDROME ALPHA-THALASSÉMIE RETARD MENTAL LIÉ À L'X : ATR-X. PRÉSENTATION DE 8 SUJETS ÂGÉS DE 3 À 28 ANS

Le syndrome ATR-X associe un retard mental sévère, une dysmorphie spécifique, une microcéphalie, des anomalies des organes génitaux externes. Ce syndrome se transmet sur un mode récessif lié au chromosome X. Des mutations du gène XNP (Xq13) sont responsables du phénotype observé. Nous rapportons les observations de 8 sujets âgés actuellement de 3 à 28 ans, issus de 4 familles, présentant un syndrome ATR-X.

Les 8 enfants naissent eutrophiques (PN moyen : 2 Kg 998, TN moyenne : 49, 3 cm) alors que le périmètre crânien (PC) moyen est à 32,5 cm (-2DS). L'évolution post-natale précoce est marquée par l'existence d'une hypotonie sévère (8/8) et de troubles de l'alimentation majeurs (reflux gastro oesophagien : 8/8 dont 4/8 opérés). La croissance staturo pondérale évolue vers un déficit pondéral (-2DS) et statural (-2DS). La microcéphalie s'aggrave après la naissance (-3,5DS). Trois enfants ont acquis la marche vers 4 ans, leur PC est à -2,5DS, trois autres de plus de 15 ans ne l'ont pas acquise, leur PC est à -4,5DS. Aucun des 8 sujets n'a pu acquérir de langage. Les malformations sont dominées par les anomalies des organes génitaux externes (5/8), cérébrales (atrophie cérébrale 4/5) et orthopédiques (8/8). Aucun sujet ne présente de déficit auditif profond, 2 ont un déficit auditif modéré. Le syndrome dysmorphique est caractéristique chez l'enfant, mais paraît moins spécifique chez l'adulte. La présence de corps de Heinz (0,05 % à 30 %) est retrouvée chez 7 sujets sur 8. Les mutations du gène XNP ont été retrouvées dans les 4 familles. Trois sont des mutations faux sens dans l'exon 9 (2 mutations R246C, 1 mutation L253S), pour la dernière il s'agit d'une mutation d'épissage entraînant une perte de l'exon 21 et l'introduction d'un codon stop prématuré. Cette étude tente de dégager des corrélations entre le phénotype et la sévérité du retard mental et permet d'apprécier l'évolution des sujets avec l'âge.

57. Génétique Clinique et Dysmorphologie

Genevieve David¹, Amiel J¹, Viot G², Le Merrer M¹, Urtizberea A³, Gerard M⁴, Munnich A¹, Cormier-Daire V¹, Lyonnet S¹
1 Département de Génétique, Hôpital Necker-Enfants Malades Paris France
2 Unité de Génétique/Maternité, hôpital Cochin Port-Royal
3 Institut de Myologie, Hôpital de la Pitié Salpêtrière
4 Unité de Génétique, Centre Inter Communal de Creteil

SYMPTÔMES ATYPIQUES DANS LE SYNDROME DE KABUKI : ANALYSE D'UNE SÉRIE DE 20 CAS ET REVUE DE LA LITTÉRATURE.

Le syndrome de Kabuki (SK, syndrome de Niikawa-Kuroki), est un syndrome rare caractérisé par l'association de malformations congénitales multiples et d'un retard mental. La fréquence du SK est estimée à 1/32000 au Japon et semble un peu plus élevée chez les caucasiens. Ce syndrome est défini par 5 critères majeurs : un retard staturo-pondéral post natal, des anomalies du squelette, un retard psychomoteur, des anomalies dermatoglyphiques et surtout, une dysmorphie faciale caractéristique.

Nous avons repris une série de 20 cas de SK dans notre service en s'intéressant particulièrement aux signes cliniques rares. Parmi ces 20 patients, 4 avaient une diarrhée chronique, 3 une hernie diaphragmatique, 2 une pseudarthrose de la clavicule, 2 un vitiligo et 2 des hypoglycémies persistantes (après 4 mois pour l'un et 4 ans pour l'autre). Par ailleurs, un patient présentait une thrombopénie auto-immune sévère et un autre une atrophie vermineuse et 1/20. Enfin, un patient avait un tableau myopathique avec un aspect histologique en faveur d'une cytopathie mitochondriale malgré une investigation enzymologique normale.

Il est intéressant de noter qu'un des patient présentait des signes évocateur d'un syndrome de CHARGE (colobome rétinien associé à une microphthalmie de l'œil droit, cardiopathie inter ventriculaire, retard de croissance staturo-pondéral et retard psychomoteur, cryptorchidie bilatérale, surdité sévère, hernie diaphragmatique et fente palatine) en plus des critères d'inclusion requis pour le SK.

En conclusion, nous proposons de rechercher systématiquement ces signes rares chez les patients atteint de SK afin de déterminer leur fréquence réelle et d'améliorer leur prise en charge.

58. Génétique Clinique et Dysmorphologie

Stoll Claude¹, Sauvage P²

1 Service de Génétique Médicale Hôpital de Haute-pierre Avenue Molière STRASBOURG France

2 Service de Chirurgie Infantile, CHU, Strasbourg

SYNDROME ORO-FACIO-DIGITAL DE TYPE I DU A UNE MUTATION DU GENE OFD 1, SUIVI PENDANT 24 ANS

Le syndrome oro-facio-digital est une affection héréditaire dominante liée à l'X. Il est subdivisé en au moins 9 types différents hérités selon des modes différents. Nous rapportons l'observation d'une fillette avec un syndrome OFD de type I suivi pendant 24 ans. Les parents et une jeune soeur sont indemnes. Un frère aîné a une hydrocéphalie.

A la naissance on note une fente palatine avec fente médiane de la lèvre supérieure, des freins de la langue anormaux, une langue lobulée, une hypoplasie du maxillaire et de la mandibule, une dysmorphie faciale, une brachydactylie et une syndactylie. Plusieurs interventions chirurgicales réparatrices ont été nécessaires. Le développement psychomoteur est normal.

A 19 ans est apparue une insuffisance rénale due à une néphropathie microkystique. Une transplantation rénale est réalisée avec succès.

Devant les risques élevés de récurrence, une demande de diagnostic prénatal est faite à l'âge de 24 ans au moment même où le gène est identifié. Une mutation du gène OFD I est mise en évidence, permettant d'accéder à cette demande. Un enfant normal, une fille, va naître.

Le syndrome OFD I se caractérise par des malformations faciales, orales et digitales. Une atteinte du système nerveux central est présente dans 40% des cas. L'atteinte rénale (kystes) est fréquente mais n'entraîne que rarement une insuffisance rénale comme chez cette patiente qui a pu être traitée avec succès par une transplantation rénale. L'affection est liée à l'X dominante avec létalité chez le garçon. La récente identification du gène permet de penser qu'il existe une hétérogénéité allélique.

59. Génétique Clinique et Dysmorphologie

Escande Fabienne¹, Holder-Espinasse Muriel², Boute-Benejean Odile¹, Dieux-Coeslier Anne², Porchet Nicole¹, Manouvrier-Hanu Sylvie²

1 Laboratoire de Biochimie Hôpital HURIEZ CHRU - LILLE FRANCE

2 Service de Génétique Clinique, CHRU, 59037 LILLE

SIGNES CLINIQUES RARES (DYSPLASIE DE HANCHE) ET INHABITUELS (ANOMALIES DENTAIRE) DANS UNE FAMILLE DE BRACHYDACTYLIE DE TYPE C AVEC MUTATION DE CDMP1

La brachydactylie de type C, de transmission autosomique dominante, est caractérisée par l'atteinte, prédominant au niveau des membres supérieurs, des phalanges médianes et proximales des 2ème, 3ème et à un moindre degré 5ème rayons. Le 4ème étant généralement respecté. Une obliquité de la base de la 1ère phalange du II est habituellement responsable de sa déviation cubitale, et un aspect de "poly" et/ou de "syn"-phalangie est souvent rencontré. Enfin il s'y associe fréquemment une taille un peu inférieure à la moyenne, et une dysplasie de hanche a parfois été décrite.

Le gène CDMP1, responsable de cette affection et de deux affections récessives : les dysplasies de GREBE et de HUNTER-THOMPSON, code pour une protéine de morphogénèse osseuse

(Cartilage Derived Morphogenetic Protein). Cdmpl contrôle la croissance et la différenciation épiphysaire jouant ainsi un rôle capital dans la croissance des segments osseux et le positionnement des articulations. Egalement exprimé dans la pulpe dentaire, il pourrait y jouer un rôle dans son développement et sa réparation.

Nous décrivons une mère et ses deux enfants atteints de brachydactylie de type C typique, avec une taille discrètement diminuée. Le fils présente une dysplasie de hanche asymptomatique mais radiologiquement sévère. Tous trois souffrent d'importantes caries.

Une mutation, encore non décrite, de CDMP1 a été identifiée dans cette famille (insertion d'une base C au niveau des codons 166-167, aboutissant par décalage du cadre de lecture à l'apparition prématurée d'un codon stop). Nous discuterons ce résultat et les signes cliniques un peu inhabituels observés.

60. Génétique Clinique et Dysmorphologie

Pasquier Laurent¹, Goldenberg A¹, Rio M¹, Edery P², Le Merrer M¹, Lyonnet S¹, Sarasin A³, Munnich A¹, Cormier-Daire V¹

1 Département de Génétique Hôpital Necker-Enfants Malades PARIS cedex 15 FRANCE

2 Service de Génétique Médicale Hôpital Hôtel-Dieu LYON

3 UPR 2169, CNRS IRC, Villejuif

VARIABILITÉ DES MANIFESTATIONS CLINIQUES DU SYNDROME DE COCKAYNE, À PROPOS DE 4 NOUVEAUX CAS.

Le syndrome de Cockayne (MIM 216400) se caractérise par un retard staturo-pondéral progressif (<-2DS) avec microcéphalie (<-4DS), un retard psychomoteur, une photosensibilité, une surdité et une dysmorphie. Nous rapportons 4 cas présentant ces symptômes associés à de nouveaux signes cliniques et biologiques. Le diagnostic a été confirmé par la mise en évidence d'un défaut de récupération de la synthèse d'ARN après irradiation aux UV.

Le diagnostic a été évoqué chez le premier patient (1), à 5 ans, devant une microcéphalie et une ataxie.

Deux patients ont un phénotype plus marqué avec notamment des manifestations anténatales (RCIU, cataracte congénitale et microcéphalie). Ils ont une atteinte cardiovasculaire non encore décrite: hypertension artérielle pour l'un (2) et cardiomyopathie de révélation anténatale pour l'autre (3). Les diagnostics ont été établis, respectivement, à 3,5 ans et 2 ans.

Un patient (4) a une forme modérée avec un retard intellectuel léger puisqu'il suit une scolarité quasi-normale. Le diagnostic a été évoqué, à 10 ans, devant la microcéphalie et l'énophtalmie.

On note également chez les patients (1) et (3) une hyperlactatémie modérée entre 2.50 et 2.80 mmol/l. De plus, on retrouve chez le patient (3) une hyperlactatorachie et une acidurie alpha-cétoglutarique. L'étude de la chaîne respiratoire sur fibroblastes est normale chez ces deux enfants.

Cette série illustre la grande variabilité de la symptomatologie du syndrome de Cockayne allant des manifestations anténatales sévères jusqu'à des signes modérés retardant le diagnostic. A tout âge le diagnostic différentiel se pose avec les mitochondriopathies y compris en anténatal devant une cardiomyopathie.

61. Génétique Clinique et Dysmorphologie

Milh Mathieu¹, Goldenberg A¹, Sonigo P², Mignot C¹, Godard G³, Munnich A¹, Lyonnet S, Encha-Revazi F¹

1 Département de Génétique Hôpital Necker-Enfants Malades 149, rue de Sèvres Paris cedex 15 FRANCE

2 Service de Radiologie Pédiatrique, Hôpital Necker-Enfants Malades

3 Maternité, Centre Hospitalier de Mantes La Jolie

FORME SEVERE DE SYNDROME D'ADAMS-OLIVER AVEC MALFORMATIONS CEREBRALES : ANALYSE D'UN CAS FAMILIAL ET D'UN CAS SPORADIQUE

Le syndrome d'Adams-Oliver (MIM 100300) est défini par l'association d'anomalies réductionnelles transverses des extrémités et d'une aplasie localisée du cuir chevelu. Peuvent s'y

associer un retard de croissance intra-utérin (RCIU), un cutis marmorata, des cardiopathies, plus rarement des malformations viscérales et neurologiques. Le mode de transmission est probablement autosomique dominant avec pénétrance incomplète, mais la majorité des cas est sporadique.

Le premier patient a été exploré à 3 ans pour une encéphalopathie fixée avec syndrome pyramidal et microcéphalie. Il présentait des anomalies transverses des extrémités et une aplasie du cuir chevelu. L'IRM cérébrale a révélé des zones d'hétérotopies sous-épendymaires et des calcifications périventriculaires. Son oncle paternel avait une atteinte limitée à des anomalies réductionnelles de la main gauche. La grossesse suivante a été marquée par la découverte d'un RCIU. L'IRM fœtale a montré des calcifications des parois ventriculaires et des anomalies de migration neuronale. A 34 SA, l'examen fœtopathologique a retrouvé les mêmes lésions cérébrales, associées à une aplasie du scalp et des anomalies transverses des extrémités.

Le deuxième patient est un nouveau-né avec RCIU associé à une aplasie étendue du cuir chevelu et lacis veineux nécrotique. Un cutis marmorata et des anomalies mineures des extrémités ont été observées. L'examen notait une grande hypotonie, l'IRM cérébrale a révélé des anomalies diffuses de la substance blanche et une hypoplasie vermienne.

Ces deux observations confirment le large spectre d'expression du syndrome d'Adams-Oliver avec la possibilité d'atteinte neurologique dysruptive, la grande variabilité intrafamiliale et les difficultés du conseil génétique face aux cas sporadiques.

62. Génétique Clinique et Dysmorphologie

Latour Patrick¹, Biraben Arnaud², De Grissac-Moriez Nathalie³, Taussig Delphine², Foletti Giovanni⁴, Seeck Margita⁵, Jallon Pierre⁵

1 Service de Neurologie CHU de la Cavale Blanche Bd Tanguy Prigent BREST France

2 Service de neurologie, CHU Pontchaillou Rennes

3 Centre de TOUL ar C'HOAT, Chateaulin

4 Centre de Lavigny, Suisse

5 Service de neurologie, Hôpital Universitaire de Genève, Suisse

EPILEPSIE ET MOSAÏQUE DE CHROMOSOME 20 EN ANNEAU

Un mosaïcisme de chromosome 20 en anneau associé à une épilepsie est une entité rare.

Objectif :

Il est présenté dans ce travail la plus grande série de patients avec la description de dix nouveaux cas. Nous comparons les données obtenues chez ces patients à une revue exhaustive des 44 cas décrits jusqu'à ce jour dans la littérature pour essayer de singulariser un phénotype électroclinique.

Résultats :

Cette étude a permis d'affiner la description du phénotype électroclinique : pas de syndrome dysmorphique ; crises se traduisant fréquemment par une altération de conscience pouvant être de longue durée, pluriquotidiennes ; anomalies EEG à type de dysrythmie lente, souvent ample, diffuse à prédominance antérieure, mêlée de pointes ; épilepsie pharmacorésistante ; IRM cérébrale normale.

Certains de nos patients présentent en imagerie fonctionnelle par tomographie à émissions de positons (TEP) une baisse bilatérale de la captation de la dopamine dans le système dopaminergique striatal.

Conclusions :

L'épilepsie associée à un mosaïcisme de chromosome 20 en anneau est une entité épileptique particulière au sein de la classification des épilepsies et des syndromes épileptiques.

Les anomalies du contenu dopaminergique striatal mises en évidence chez certains patients pourraient être le reflet indirect d'un mécanisme actif inhibiteur et/ou une exagération d'un phénomène activateur sous cortical. Une nouvelle mutation au niveau d'un des deux gènes de la partie distale du bras long du chromosome 20, dont des mutations connues sont impliquées dans deux épilepsies familiales (l'Epilepsie Frontale Nocturne Autosomique Dominante, les Convulsions Néonatales Familiales Bénignes), pourrait-elle en être responsable ?

63. Génétique Clinique et Dysmorphologie

VERLOES Alain¹, Maroteaux Pierre², Le Merrer Martine²

1 Unité de Génétique Clinique, Hôpital Robert Debré Paris France

2 Service de Génétique, Hôpital Necker-Enfants Malades

DYSPLASIE SPONDYLOMÉTAPHYSAIRE TYPE AFRIQUE DE L'EST : UNE NOUVELLE SMD AVEC VERTÈBRES ARRONDIE

Les dysplasies spondylométaphysaires (SMD) sont un ensemble hétérogène de dysplasies osseuses caractérisées par des altérations vertébrales et métaphysaires de sévérité variable. Nous décrivons 2 patients non apparentés d'origine est-africaine, souffrant d'une DSM caractérisée par 1) une atteinte métaphysaire sévère et précoce, épargnant les os de la main, avec des métaphyses larges se terminant par des éperons 2) une dysplasie pelvienne avec un rebord iliaque festonné et 3) des corps vertébraux ovales, sans platyspondylie, dont l'aspect tend à ne normaliser avec l'âge.

La classification des SMD demeure confuse, sauf pour les types Kozlowski et Schmidt. La plupart des observations sont des cas isolés, et dans la plupart des cas, le suivi à long terme n'est pas connu. Les 2 patients sont apparentés à la SMD type A4 selon la classification de Maroteaux et Spranger, tout en s'en distinguant par la forme des corps vertébraux. Ils représentent peut-être une "nouvelle" forme de SMD.

64. Génétique Clinique et Dysmorphologie

VIOT Géraldine¹, Fert Sandra², Munnich Arnold¹, Cormier Valérie¹

1 Département de Génétique Hôpital Necker 149, rue de Sèvres Paris France

2 Service de Cytogénétique, CH de Chambéry

DYSOSTOSE ACROFACIALE DE TYPE POSTAXIAL CHEZ 2 FRÈRES : SYNDROME DE MILLER OU NOUVELLE ENTITÉ ?

Différents syndromes ont été décrits associant une dysostose mandibulofaciale et des anomalies des extrémités. Leur classification a longtemps reposé sur le caractère pré ou postaxial de ces anomalies. Il apparaît aujourd'hui que cette distinction est trop restrictive tant la variabilité phénotypique au sein d'un même syndrome peut être grande.

Nous rapportons ici l'histoire de deux frères présentant un micrognathisme, une obliquité vers le bas et le dehors des fentes palpébrales, une hypoplasie malaire, un ectropion de la paupière inférieure, une dysplasie sévère des oreilles, une fente palatine ainsi qu'une surdité associée à une oligodactylie de type postaxial et un raccourcissement des avant-bras. Ces deux enfants ont présenté dans les premières semaines de vie des difficultés d'alimentation avec reflux gastro-oesophagien sévère compliqué d'une pneumopathie de déglutition responsable du décès de l'aîné à l'âge de un mois et demi. Le développement psychomoteur du second a été compatible avec une scolarité normale.

Le diagnostic porté chez cette famille a été celui d'un syndrome de MILLER, avec toutefois quelques discordances. L'hypothèse d'une nouvelle forme de dysostose acrofaciale de transmission autosomique récessive ou récessive liée à l'X ne peut être totalement écartée.

65. Génétique Clinique et Dysmorphologie

Gilbert Brigitte¹, Belin Valérie², Menetrey Céline², De Lumley Lionel², Fisher Alain³

1 Unité de Génétique Clinique CHRU Dupuytren 2 Avenue Martin Luther King Limoges France

2 Département de Pédiatrie, CHRU Dupuytren, Limoges

3 Unité d'Immunologie et d'Hématologie, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France

FORME FAMILIALE D'ASPLÉNIE CONGÉNITALE ISOLEE REVELEE PAR DES MENINGITES RECIDIVANTES A PNEUMOCOQUE.

L'asplénie congénitale est classiquement rapportée comme un défaut de latéralisation de cet organe. Dans le cadre des hétérotaxies, elle est associée à des malformations cardiaques et/ou digestives réalisant le syndrome d'Ivemark ou syndrome asplénie/poysplénie à transmission le plus souvent récessive autosomique. L'asplénie congénitale isolée est très rare. Elle pourrait correspondre à une forme allélique d'hétérotaxie ou à une anomalie de développement limité à la rate, d'autant que 2 cas de forme familiale d'asplénie congénitale isolée à transmission autosomique dominante père-fils ont été publiés.

Nous rapportons une 3ème forme familiale de cette affection. A la suite d'une seconde méningite à pneumocoque dont est décédée une petite fille de 11 mois et en raison d'antécédents de la même affection chez son père, le diagnostic d'asplénie congénitale est évoqué et confirmé chez le père et la fille. Aucun des 2 n'a de malformation associée. La recherche systématique de corps de Howell-Jolly sur la NFS et la réalisation d'une échographie abdominale devant toute infection grave à pneumocoque permettrait un diagnostic précoce de cette affection et l'institution d'un traitement prophylactique.

Une revue des cas publiés est présentée.

Le ou les gènes impliqués dans cette affection pourraient être, soit des gènes intervenant dans le développement de la rate dont certains ont été rapportés dans des modèles murins, soit des gènes impliqués dans les hétérotaxies.

66. Génétique Clinique et Dysmorphologie

TOUTAIN Annick¹, Moizard Marie-Pierre¹, Hommet Caroline², Renieri Alessandra³

1 Service de Génétique, CHU de Tours Hôpital Bretonneau 2 boulevard Tonnelé - Tours France

2 Service de Neurologie, CHU de Tours

3 Laboratoire de Biologie Moléculaire, Université de Sienne, Italie

PARAPLÉGIE SPASTIQUE, GLAUCOME ET RETARD MENTAL : UNE NOUVELLE ENTITÉ NON LIÉE AUX GÈNES LICAM, XNP, PLP ET MECP2.

Nous rapportons l'observation de trois frères âgés de 40, 37 et 24 ans, nés de parents algériens cousins-germains, et atteints d'une paraplégie spastique, d'un glaucome et d'un retard mental. L'IRM cérébrale, les explorations métaboliques et le caryotype sont normaux. Une liaison aux gènes XNP, PLP et LICAM, connus pour être impliqués dans des formes syndromiques de paraplégie spastique liée à l'X, a été exclue par analyse de marqueurs polymorphes. Le séquençage du gène MECP2 - dont l'implication a été rapportée dans une famille avec retard mental et paraplégie spastique - a mis en évidence chez les trois sujets atteints mais également chez leur frère sain, une variation de séquence non pathogène responsable d'une délétion en phase dans le domaine C-terminal de la protéine. Le tableau clinique dans cette famille est similaire à celui de deux familles publiées et confirme l'existence d'une entité génétique caractérisée par la triade, paraplégie spastique, retard mental et glaucome. Dans cette affection, la paraplégie spastique est reconnue dans la première année de vie mais est peu ou non progressive (les patients restant ambulatoires) et il n'y a pas de signes neurologiques associés. Le retard mental est léger ou modéré et le PC est normal. Le glaucome est reconnu à l'âge adulte ou en fin d'adolescence mais entraîne un handicap visuel sévère. La notion d'une consanguinité dans les trois familles, l'existence de femmes atteintes dans l'une d'elles et les résultats de l'étude

moléculaire présentée ici sont en faveur d'une hérédité récessive autosomique.

67. Génétique Clinique et Dysmorphologie

MOLINA-GOMES Denise¹, Vialard F¹, Narcy P², Lakaby M¹, Lebaïl V¹, Begin P³, Albert M¹, Selva J¹, Roume J¹

1 Laboratoire d'Histologie, Embryologie, Biologie de la Reproduction et Génétique CHI Poissy Saint Germain 10 rue du Champs Gaillard Poissy Cedex

2 Unité de Néonatalogie CHI Poissy Saint Germain

3 Clinique Louis XIV

A PROPOS D'UN DIAGNOSTIC DE DÉLÉTION 1P36

Il s'agit de la première fille d'un couple jeune non apparenté, née à terme par césarienne pour défaut de progression et anomalie du rythme cardiaque fœtal, après une grossesse d'évolution normale. L'indice d'Apgar et les mensurations sont normaux.

Elle est transférée en Unité de Néonatalogie à J3 pour une hypotonie et un syndrome discrètement dysmorphique dont une enophtalmie et une brachymétopie des V associée à une tuméfaction liquidienne postérieure qui s'est avérée être un céphalématome.

Cet enfant présente à l'âge de 2 mois et demi une prise de poids satisfaisante, la taille est moyenne et le périmètre crânien à +2DS. Le tonus est relativement satisfaisant et la tenue de la tête est acquise. Le suivi oculaire est difficile à obtenir. Elle présente toujours une dysmorphie faciale comportant : une brachycéphalie, un front étroit et plat, une enophtalmie marquée, des fentes palpébrales étroites orientées obliquement en bas et en dehors, un discret hypotélorisme et un rebord sus orbitaire plat. Le regard est "vide". L'ensellure nasale est absente. Le nez est étroit, à pointe tombante. La bouche est petite aux coins tombants et le lèvre sont fines. Les oreilles sont asymétriques et bas implantées.

Devant ce tableau clinique, le diagnostic de délétion 1p36 est suspecté. Le caryotype haute résolution met en évidence une délétion 1p36 -> pter. L'hybridation *in situ* avec la sonde du cosmide p58 (Oncor) confirme le diagnostic. Les caryotypes des parents sont normaux, suggérant une anomalie *de novo*. Il s'agit d'un remaniement rare, avec une fréquence estimée de 1/10.000 naissances.

Actuellement l'enfant est suivi en neuropédiatrie pour des spasmes en flexion qui persistent malgré le traitement par Sabril. Un traitement par hydrocortisone est en cours actuellement.

Ce cas montre l'importance d'une évaluation dysmorphologique périnatale, surtout lorsque la dysmorphie s'associe à des convulsions précoces.

68. Génétique Clinique et Dysmorphologie

Holder-Espinasse Muriel¹, Abadie Veronique², Cormier-Daire Valerie³, Beyler Constance², Manach Yves⁴, Munnich Arnold³, Lyonnet Stanislas³, Couly Gérard⁵, Amiel Jeanne³

1 Institute of child health clinical genetics 30 guilford street 11 LONDRES ANGLETERRE

2 Pédiatrie, Necker Enfants-Malades

3 Génétique, Necker Enfants-Malades

4 ORL, Necker Enfants-Malades

5 Chirurgie maxillo-faciale, Necker Enfants-Malades

SEQUENCE DE PIERRE ROBIN : ETUDE RETROSPECTIVE DE 117 PATIENTS

La séquence de Pierre Robin (rétrognathisme, fente palatine et glossoptose) est une triade fréquente et génétiquement hétérogène. Elle peut être isolée, syndromique ou associée à une ou plusieurs autres malformations. Nous avons réalisé une étude rétrospective sur une cohorte de 117 patients présentant une séquence de Pierre Robin et évalués à l'hôpital Necker Enfants-Malades de Janvier 1990 à Décembre 1999 dans l'objectif : i) d'évaluer les fréquences respectives des formes isolées, syndromiques et associées, ii) d'analyser les diagnostics retenus dans les formes syndromiques, et, iii) de préciser les malformations et le pronostic à long terme dans les formes associées. Dans cette série, 48% des patients ont une forme isolée, 35% une forme syndromique et 27% une forme associée. La fréquence des cas familiaux et la géométrie sont élevées dans

la forme isolée (13% et 9% respectivement). Le syndrome de Stickler, la délétion 22q11, le syndrome de Franceschetti et les fœtopathies à un tératogène connu sont les diagnostics cliniques de loin les plus fréquents puisqu'ils représentent plus de 50% des diagnostics retenus dans les formes syndromiques. Les malformations cardiaques et cérébrales sont particulièrement fréquentes dans les formes associées et le pronostic à long terme est réservé dans ce groupe de patientes.

En conclusion, cette étude confirme la nécessité d'une évaluation systématique et précoce de tous les patients présentant une séquence de Pierre Robin. La distinction entre formes isolées et associées est fondamentale à la fois pour estimer un pronostic à long terme et pour un conseil génétique adapté.

69. Génétique Clinique et Dysmorphologie

Priour Fabienne¹, Chabrier. S¹, Gay. C¹, Feasson. L¹, Touraine. R¹, Leturcq. F², Michel-Calemard. L³

CHU Génétique et Pédiatrie - SAINT ETIENNE CEDEX 2 France

2 HÔPITAL COCHIN PARIS

3 HÔPITAL DEBROUSSE LYON

COMMENT UN BILAN DE RETARD MENTAL PEUT CONDUIRE AU DIAGNOSTIC DE DYSTROPHIE MUSCULAIRE

Xavier, 4ans, troisième d'une fratrie de quatre, est adressé à la consultation pour retard des acquisitions et troubles du comportement.

Le frère aîné de Xavier, 7 ans, a été opéré pour cataracte congénitale bilatérale, il a présenté quelques difficultés motrices attribuées à sa gêne visuelle.

Xavier était aussi porteur d'une cataracte bilatérale. On constate précocement un retard des acquisitions (quatre pattes à 2 ans, marche à 3 ans, à 4 ans jargonne quelques mots, ne mange pas seul, n'est pas propre) mais surtout des troubles du comportement : instabilité, épisodes d'agitation stéréotypés, contact très difficile.

L'examen clinique est normal en dehors d'une plagiocéphalie.

Le bilan pratiqué : IRM cérébrale, EEG, l'étude de l'audition ne montre pas d'anomalie, le FO objective une atrophie chorio-rétinienne. Le bilan métabolique de base s'avère normal en dehors de CPK à 35 000 UI/l.

Une biopsie musculaire est réalisée bien que l'enfant ne présente aucun signe en rapport avec une atteinte musculaire. L'analyse par western-blot des protéines impliquées dans les dystrophies musculaires progressives, montre une dystrophine à l'état de trace. L'étude moléculaire du gène confirme la dystrophie musculaire en objectivant une mutation ponctuelle localisée dans l'exon 75, non décrite jusqu'à présent.

Cette observation est intrigante du fait de l'atteinte intellectuelle nettement prédominante chez cet enfant. Elle prouve l'intérêt d'un bilan systématique dans une telle situation. L'association à une cataracte doit-elle être reliée au problème musculaire (une seule observation rapportée dans la littérature) ? L'étude familiale prévue prochainement devrait permettre de répondre à cette question.

70. Génétique Clinique et Dysmorphologie

Bazin-Rigault Anne¹, Bertrand J², Lerailliez J², Merbouche S², Montagnon M¹, Kleinfinger P¹, Szpiro-Tapia S¹

1 Laboratoire Pasteur-Cerba Dept Génétique CERGY PONTOISE CX FRANCE

2 Unité de Médecine Néonatale CH R.DUBOS Pontoise

SYNDROME DE WILLI PRADER : PRESENTATION NEO-NATALE INHABITUELLE

Un nouveau né de sexe masculin prématuré, porteur d'une translocation déséquilibrée d'origine paternelle

46,XY,der(22)t(15;22)(q14;q12) pat présente un syndrome de Willi-Prader (SWP) atypique en raison de la sévérité de l'hypotonie réalisant un tableau pseudomyopathique et de l'association d'éléments dysmorphiques inhabituels. L'enfant décède à J6 de vie dans un tableau de détresse respiratoire.

Une maladie de Steinert est éliminée par étude en biologie moléculaire des triplets CTG au locus DMPK.

Le diagnostic de SWP évoqué devant cette hypotonie néonatale est confirmé par FISH et par étude de la méthylation du locus SNRPN qui démontre l'absence de contribution paternelle.

Le caryotype conventionnel est considéré normal (Bandes RHG, 400 bps)

En revanche, l'étude des caryotypes parentaux met en évidence une translocation réciproque paternelle entre le bras long d'un chromosome 15 et celui d'un chromosome 22 (Bandes RHG, GTG, FISH).

L'enfant, qui a hérité du der (22) présente donc une délétion 15q11-q13 et une trisomie partielle 22q11.

Nous discutons la participation de la trisomie 22 partielle à la gravité de la symptomatologie. L'association d'une translocation (15;22) à un SWP n'a que rarement été décrite, toujours dans le cadre d'un phénotype décrit comme sévère ou aggravé.

Cette observation souligne l'intérêt d'évoquer le syndrome de Willi-Prader devant une hypotonie néonatale même sévère ou associée à une dysmorphie inhabituelle.

71. Génétique Clinique et Dysmorphologie

BAUMANN Clarisse¹, Garel Catherine², Hassan Max², Verloes Alain¹

1 Unité de Génétique Médicale Hôpital Robert Debré Paris France

2 Service de Radiologie, Hôpital Robert Debré,

DYSPLASIE POLYÉPIPHYSIAIRE AVEC RETARD MAJEUR D'OSSIFICATION ÉPIPHYSIAIRE SANS RETENTISSEMENT STATURAL

Nous rapportons l'observation de deux garçons âgés de 5 ans, nés de parents cousins germains en bonne santé et de taille normale, issus d'une grossesse gémellaire dizygote, présentant un tableau clinique identique caractérisé par une croissance harmonieuse ; une taille évoluant depuis la naissance entre +1 et +2 DS ; des doigts longs et une hyperlaxité des petites articulations de petites déformations orthopédiques (déviation cubitale de la main, genu valgum.) Le développement intellectuel est normal et les seules plaintes concernent des douleurs diffuses dans les membres. Au niveau radiologique, les anomalies touchent le processus d'ossification et se caractérisent par un retard de maturation majeur et généralisé des noyaux des os du carpe (aucun point d'ossification à 5 ans) et du tarse ; des épiphyses des os longs et des branches ischiopubiennes et iliopubiennes. Les épiphyses cartilagineuses paraissent élargies et les noyaux épiphysaires, lorsqu'ils s'individualisent, sont discrètement dysmorphiques. Toutes les explorations endocriniennes et du métabolisme phosphocalcique sont normales. Cette dysplasie généralisée des épiphyses n'est comparable à aucune autre affection entraînant un retard de maturation squelettique, et pourrait donc représenter une nouvelle maladie récessive (autosomique ou liée à l'X.)

72. Génétique Clinique et Dysmorphologie

BAUMANN Clarisse¹, Garel Catherine², Verloes Alain¹

1 Unité de Génétique Médicale Hôpital Robert Debré Paris France

2 Service de Radiologie, Hôpital Robert Debré,

DYSPLASIE SQUELETTIQUE AVEC OS GRÊLES, APPPOSITIONS PÉRIOSTÉES, RETARD D'OSSIFICATION DE LA VOÛTE CRÂNIENNE ET RETARD MENTAL

Nous rapportons l'observation de 2 garçons issus d'un couple non consanguin en bonne santé, atteints de la même affection, caractérisée par une croissance intra-utérine normale, une dysmorphie faciale (hypertélorisme, proptose oculaire, narines antéversées, micrognathie), un retard majeur d'ossification de la voûte crânienne et une brachytéléphalangie. L'un des garçons présentait un hypospadias pénien. Le bilan morphologique postnatal a révélé une gracilité extrême du squelette avec un évaseement en haltère des régions métaphysaires, sans fracture ni déviation, et la présence de masses hyperéchogènes intrahépatiques dont la nature n'a pas pu être précisée (hémolympangiome ?). Ces images hépatiques étaient associées à une perturbation transitoire des tests hépatiques. L'évolution

radiologique s'est caractérisée par l'apparition dès les premières semaines d'appositions périostées généralisées des diaphyses et par l'ossification rapide de la voûte crânienne. Le premier enfant est décédé rapidement des séquelles d'un traumatisme obstétrical. A l'âge de 14 mois, le second présente un retard important du développement, une macrocéphalie (> +3 SD) avec hydrocéphalie non évolutive et une stagnation pondérale. La fonction hépatique est normale et les lésions parenchymateuses se calcifient progressivement. L'ensemble du bilan génétique et métabolique est négatif.

Ces 2 enfants présentent un tableau clinique inclassable. La dysmorphie faciale et les anomalies crâniennes rappellent l'ostéodysplasie de Melnick & Needles. Les anomalies périostées sont décrites dans la forme masculine létale de cette dernière. L'aspect gracile des os est identique, à la naissance, à celui de l'ostéocraniosténose, mais l'absence de craniosténose, l'évolution osseuse et les lésions hépatiques n'y sont pas connues. Cette dysplasie généralisée pourrait donc représenter une nouvelle maladie récessive (autosomique ou liée à l'X.)

73. *Génétique Clinique et Dysmorphologie*

VERLOES Alain¹, Elanko N², Kan S.-H², Wilkie A.O.M²

1 Unité de Génétique Médicale Hôpital Robert Debré Paris France

2 Weatherhall Institute of Molecular Medicine, J Radcliffe Hospital, Oxford, UK

MUTATION NOUVELLE DE FGFR2 DANS UNE CRANIOSTÉNOSE NON SYNDROMIQUE AVEC SCAPHOCÉPHALIE

Le patient index est une fillette d'origine belge, née de parents non atteints, porteuse d'une craniosténose complexe impliquant les sutures coronales et sagittales, conduisant à une scaphocéphalie, une rétraction bitemporale, une rétraction de l'étage moyen de la face et un nez busqué. Les extrémités sont normales. Le développement psychomoteur est légèrement en retard (marche à 22 mois, parle à 30 mois).

Le screening systématique du gène FGFR2 a montré une substitution 1977G>T (Lys659Asn) dans le domaine tyrosine-kinase intracellulaire TK2. Cette mutation n'est pas portée par les parents. Dans FGFR3, la lysine qui occupe une position homologue (Lys650) est un point chaud de mutation : la mutation identique Lys650Asn donne une hypochondroplasie, la mutation Lys650Glu un nanisme thanatophore de type 2. Ces diverses mutations entraînent une perte de l'auto-inhibition de l'activation dépendant de TK2. Cette mutation nouvelle découverte au cours d'un screening systématique illustre l'utilité d'une étude exhaustive des FGFRs dans les craniosténoses complexes, tant pour le conseil génétique que pour l'élucidation des mécanismes par lesquels les mutations de ces récepteurs interfèrent avec la biologie du développement des sutures.

74. *Génétique Clinique et Dysmorphologie*

Gerard Marion¹, Barrey Catherine², Girodon Emmanuelle³, Romana Claudia⁴, Amselem Serge³, Le Merrer Martine⁵

1 Génétique Médicale, Service de Néonatalogie, Intercommunal de Créteil.

2 Pédiatrie, Hôpital Sainte Camille, Bry sur Marne

3 Génétique Moléculaire, Laboratoire de biochimie et génétique, Hôpital Henri Mondor, Créteil

4 Chirurgie pédiatrique, Hôpital Trousseau, Paris

5 Génétique Médicale, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris

SYNDROME DE BARDET BIEDL OU SYNDROME DE MC KUSICK KAUFMAN ? CONFIRMATION D'UN NOUVEAU PHENOTYPE

Cet enfant est le cinquième enfant de parents cousins germains, il présente l'association d'un retard mental, d'un situs inversus et d'une polydactylie post-axiale des deux pieds, et centrale de la main gauche. Son frère aîné, premier enfant de la fratrie, a présenté les mêmes anomalies puis une cécité et une insuffisance rénale ayant entraîné le décès à 22 ans. Les trois autres enfants de la fratrie sont indemnes.

A l'examen clinique, on note un hypogénitalisme avec micropénis et des testicules petits, une polydactylie centrale de la

main gauche par duplication du troisième métacarpien, et une polydactylie post-axiale des deux pieds. Le situs inversus est complet, abdominal et cardiaque. La croissance est à la médiane en taille, à +4DS en poids, et à la médiane en PC. Le retard mental est modéré. Il existe une dysmorphie faciale avec des oreilles basses, une hypoplasie modérée de l'étage moyen, un nez court aux narines antéversées, une bouche en carpe. Il existe une dyschromatopsie, avec un ERG éteint.

L'hypothèse diagnostique initiale devant l'histoire de ces deux frères était celle d'un Bardet-Biedl, associant retard psychomoteur, obésité, hypogénitalisme, et pour le plus vieux d'une insuffisance rénale et d'une cécité. Le situs inversus a été rapporté à 3 reprises dans ce syndrome (Lorda-Sanchez *et al.*, 2000).

La polydactylie centrale par duplication du troisième métacarpien n'a jamais été décrite dans le syndrome de Bardet-Biedl (Rudling *et al.*, 1996, sur 43 cas). Elle est décrite dans celui de McKusick-Kaufman, dont la définition initiale comportait l'association d'un hémato-colpos (filles), d'une cardiopathie et d'une polydactylie postaxiale. Chez le garçon, c'est un hypogénitalisme, avec présence d'un raphé médian, qui permet d'orienter le diagnostic. Des formes de passage entre les syndrome de McKusick-Kaufman et de Bardet-Biedl ont été récemment rapportées (David *et al.*, 1999).

Le gène responsable du syndrome de McKusick-Kaufman (Stone *et al.*, 2000), gène MKKS1, a été démontré comme étant responsable du syndrome de Bardet-Biedl de type 6 (Katsanis *et al.*, 2000; Slavotinec *et al.*, 2000). Une analyse du gène est actuellement en cours.

75. *Génétique Clinique et Dysmorphologie*

Chassaing Nicolas¹, Mieusset R², Benahmed M³, Bienvenu J³, Nivelon A⁴, Hamel H⁴, Calvas P⁵, Lauque D⁶, Bieth E⁵

1 Service de génétique médicale Hôpital Purpan place du Dr Baylac Toulouse France

2 CECOS, hôpital La Grave, Toulouse

3 Inserm U407, faculté de médecine Lyon sud, Lyon

4 Centre hospitalo-universitaire de Dijon, Dijon

5 Service de génétique, hôpital Purpan, Toulouse

6 Service de pneumologie, hôpital Purpan, Toulouse

FIBROSE PLEURALE FAMILIALE AVEC TÉLANGIECTASIES OCULAIRES ET INFERTILITÉ MASCULINE : UN NOUVEAU SYNDROME ?

Nous rapportons un cas exceptionnel de fibrose pleurale familiale affectant trois sujets appartenant à une même fratrie. La consanguinité (parents cousins germains) ainsi que la grande similitude des symptômes et de l'évolution évoquent dans cette famille une transmission autosomique récessive. L'aîné, âgé de 30 ans, est le plus atteint présentant un syndrome respiratoire restrictif sévère (CPT<25%). La radiographie pulmonaire, ainsi que le scanner thoracique montrent un épaississement pleural apical bilatéral caractéristique. Comme ses deux sœurs, il présente des télangiectasies oculaires. Il souffre également d'une infertilité liée à une oligoasthénospermie sévère et inexplicite. Aucun facteur pouvant induire une fibrose pleurale ou pulmonaire n'a été retrouvé (médicaments, minéraux...). Le TGF- β étant connu pour être impliqué dans les maladies fibrosantes pulmonaires telles que l'asbestose et étant également un facteur angiogénique son étude nous a paru intéressante. Il est aussi fortement exprimé dans les tubes séminifères humains. Les dosages de TGF- β 1 dans le sérum, dans le surnageant des cultures de fibroblastes de peau et dans le liquide séminal se sont révélés normaux. Parallèlement, l'analyse de liaison de trois marqueurs polymorphes n'a pas permis de retrouver une homozygotie chez les trois patients, suggérant que le gène TGF- β 1 n'est pas directement impliqué. Dans une approche de type gène-candidat nous avons commencé à étudier les gènes impliqués dans la signalisation du TGF- β . Plusieurs gènes Smad ont ainsi fait l'objet d'une étude de liaison qui, à ce jour, est non concluante. D'autres gènes candidats sont en cours d'étude.

76. Génétique Clinique et Dysmorphologie

Genevieve David¹, Faivre L¹, Baumann C², Sanlaville D¹, Bodemer C³, Lyonnet S¹, Munnich A¹, Cormier-Daire V¹

1 Département de Génétique, Hôpital Necker Enfants Malades Paris France

2 Service de génétique, Hôpital Robert Debré, Paris

3 Service de Dermatologie, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris

CUTIS LAXA, DYSMORPHIE FACIALE, FENTE PALATINE ET RETARD PSYCHOMOTEUR: UN NOUVEAU SYNDROME?

Les syndromes avec cutis laxa (CL) sont des syndromes rares et génétiquement hétérogènes, classés selon leur mode d'hérédité et les signes cliniques d'accompagnement. Nous rapportons une nouvelle forme de CL associé à une dysmorphie faciale, une fente palatine et un retard psychomoteur modéré chez 2 sœurs et un frère issus de parents cousin germains. Les patients présentent un CL, une hyper laxité articulaire, une dysmorphie faciale (crâne plat et carré, nez très petit et fin, joues pendantes, sclérotiques bleues, hypertélorisme et micrognathie) et un retard psychomoteur (2/3). Les signes cliniques additionnels sont : un hygroma pendant la grossesse (2/3), une fente palatine (2/3) et une communication inter ventriculaire (2/3). 2 enfants sur 3 sont décédés d'emphysème pulmonaire à J 25 et 8 mois de vie. Le suivi de la seule survivante âgée de 10 ans, montre une disparition progressive du CL et la présence de difficultés scolaires. L'étude histologique sur biopsie de peau (1/3) révèle une absence partielle des fibres élastiques. Une étude en biologie moléculaire par microsatellites a permis d'exclure le gène de l'élastine.

Cette association syndromique ne semble pas similaire aux autres CL de mode de transmission autosomique récessif (CL de type I, de type II, wrinkly skin syndrome, syndrome de de Barys). Nous proposons que cette association est un nouveau type de CL autosomique récessif et proposons de l'appeler CL de type III.

77. Génétique Clinique et Dysmorphologie

Bonneau Dominique¹, Gelot Antoinette², Saugier-Verber Pascale³, Toutain Annick⁴

1 Service de Génétique CHU Angers, 4 rue Larrey - Angers France

2 Neuropathologie, St Vincent de Paul, Paris

3 Génétique, CHU Rouen

4 Génétique, CHU Tours

XLAG (LISSENCÉPHALIE, AGÉNÉSIE DU CORPS CALLEUX, ANOMALIES GÉNITALES): UN NOUVEAU SYNDROME DOMINANT LIÉ À L'X

XLAG est une entité clinique associant une lissencéphalie, une agénésie du corps calleux et des anomalies génitales. Nos rapportons ici trois nouvelles observations familiales confirmant le phénotype néonatal très sévère chez les garçons atteints, nous décrivons les bases neuropathologiques de l'affection et nous montrons que les femmes conductrices peuvent être symptomatiques et ont des anomalies du corps calleux à l'IRM. Chez les garçons atteints, le début de la maladie est néonatal et se fait par: une épilepsie rebelle au traitement, une grande hypotonie et des anomalies génitales (micropenis). L'affection entraîne un décès précoce. Sur l'IRM, il existe des anomalies de la giration cérébrale associant une pachygyrie antérieure, un agyrie postérieure, une augmentation modérée de l'épaisseur du cortex, une agénésie complète du corps calleux et une dysplasie des noyaux gris centraux. Sur le plan neuropathologique, les lésions sont très spécifiques et comportent: un cortex fait de 3 couches de neurones exclusivement pyramidaux, des anomalies de la migration neuronale, une désorganisation des noyaux gris centraux et une gliose de la substance blanche où il existe de nombreuses lacunes perivasculaires.

Les femmes apparentées aux garçons atteints peuvent avoir un retard mental, une épilepsie et ont souvent une agénésie du corps calleux à l'IRM. Ce dernier point donne des arguments majeurs en faveur d'une transmission dominante liée à l'X et peut permettre de dépister les femmes conductrices dans les familles.

78. Génétique Clinique et Dysmorphologie

Morin Gilles¹, Mathieu Michèle¹, Collet Louis-Michel², Strunski Vladimir³, Naepels Philippe⁴, Gondry Jean⁴

1 Unité de Génétique Clinique Département de Pédiatrie Hôpital Nord d'Amiens, Amiens France

2 Service de Chirurgie Pédiatrique - Département de Pédiatrie - CHU Amiens

3 Service d'ORL - CHU Amiens

4 Centre de Diagnostic Prénatal - CHU Amiens

PHOCOMELIE DES MEMBRES SUPERIEURS AVEC ABSENCE DE POUCE ET ATRESIE DES CHOANES CHEZ UNE MERE ET SON FILS

Une femme et son fils sont atteints d'une malformation sévère et asymétrique du rayon radial et d'une atrésie des choanes. La mère a une réduction des membres supérieurs plus sévère à gauche, trois doigts à chaque main et une absence de pouce. Elle a un strabisme convergent, un rein pelvien, un utérus bifide et une treizième côte à droite. Son intelligence est normale. Petite, elle a été opérée d'une atrésie des choanes. Son fils a une réduction de ses membres supérieurs prédominant à droite, 4 doigts par main, une absence bilatérale de pouce, une atrésie des choanes, une cardiopathie (CIV multiples et CIA), un strabisme convergent, un RCIU, 11 paires de côtes. Son caryotype est normal et son développement psychomoteur satisfaisant.

L'association atteinte du rayon radial - atrésie des choanes est exceptionnelle. Goldblatt et Viljoen (1987) la rapportent chez un père et ses deux filles associée à un strabisme. Meinecke et Pepper (1992) la décrivent chez un nouveau-né de sexe féminin atteint de malformations viscérales multiples. Elle est également rarement retrouvée dans plusieurs syndromes génétiques qui semblent très différents, soit par leur mode de transmission, soit par leur présentation clinique.

Nous discutons la ressemblance entre nos patients et ces deux observations, ainsi que la possibilité d'être en présence d'un syndrome génétique connu avec anomalie radiale, mais dans une forme particulière incluant l'atrésie des choanes et les malformations viscérales.

79. Génétique Clinique et Dysmorphologie

Giuliano Fabienne^{1,2}, Collignon Patrick², Bardot Jacques³, Philip Nicole²

1 Unité de Génétique Médicale et de Fœtopathologie Hôpital l'Archet II - Nice France

2 Département de Génétique Médicale, Hôpital La Timone Enfants, Marseille

3 Département de Chirurgie Infantile, Hôpital La Timone Enfants, Marseille

Dysplasie fronto-métaphysaire : premier cas de transmission d'un père à sa fille.

La dysplasie fronto-métaphysaire (DFM) est une entité rare, décrite pour la première fois par Gorlin et Cohen en 1969. Elle est caractérisée par une atteinte évolutive des os du massif crânio-facial et en particulier des rebords sus-orbitaires, une dysplasie osseuse généralisée et des manifestations extra-squelettiques. Le mode de transmission reste sujet à controverse : autosomique dominant ou dominant lié au chromosome X. Gorlin et Winter ont conclu, d'après l'analyse de plusieurs cas familiaux, en faveur de ce dernier mode de transmission. En effet, on observe une atteinte des deux sexes mais les manifestations, si elles sont d'intensité variable chez les hommes, sont toujours atténuées chez les femmes. Nous rapportons ici un cas familial de DFM avec trois individus atteints sur trois générations. On observe, en particulier, une transmission père-fille jamais décrite dans la littérature. L'analyse de cette observation ainsi qu'une revue des cas antérieurs nous permet d'apporter des arguments en faveur d'une transmission dominante liée à l'X en considérant les phénomènes de mosaïcisme somatique chez les hommes dont l'atteinte est modérée et d'inactivation préférentielle de l'X chez les femmes transmettrices présentant des signes discrets de la maladie.

80. Génétique Clinique et Dysmorphologie

Giuliano Fabienne^{1,2}, David Albert³, Sigaudy Sabine², Cormier-Daire Valérie⁴, Edery Patrick⁵, Philip Nicole²

1 Unité de Génétique Médicale et de Fœtopathologie Hôpital l'Archet II Nice France

2 Département de Génétique Médicale, Hôpital La Timone Enfants, Marseille

3 Service de Génétique Médicale, Hôpital Mère-Enfant, Nantes

4 Service de Génétique Médicale, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris

5 Service de Génétique Clinique, Hôpital de l'Hôtel-Dieu, Lyon

LE SYNDROME MACROCÉPHALIE-CUTIS MARMORATA TELANGIECTATICA CONGENITA. A PROPOS D'UNE SÉRIE DE 6 PATIENTS : DÉFINITION DES CRITÈRES DIAGNOSTIQUES.

Le syndrome "macrocéphalie-cutis marmorata telangiectatica congenita" (M-CMTC) a été défini, en 1997, par deux équipes indépendantes, comme une entité clinique associant à un syndrome de croissance excessive d'autres signes en particulier cutanés et neurologiques. Auparavant, ce syndrome s'inscrivait dans le cadre général des cutis marmorata dont il n'était qu'une variante dite "avec anomalies associées". Depuis, 39 cas ont été rapportés, témoignant d'une grande variabilité phénotypique. Nous en rapportons ici 6 observations. Leur analyse ainsi qu'une revue de la littérature nous a permis d'établir les critères cliniques et paracliniques présidant à son diagnostic. Nous distinguons ainsi des critères majeurs qui sont une hypotonie néonatale, une macrocéphalie très supérieure à +2DS, un cutis marmorata, un angiome plan médio-facial, une anomalie cérébrale et un hypertélorisme et des critères mineurs qui sont une syndactylie II/III des orteils, une asymétrie corporelle, une dysmorphie, une hypocéphalie et un angiome plan du philtrum et/ou de la lèvre supérieure. D'autre part, nous décrivons le premier cas de M-CMTC s'individualisant par la présence à la fois d'une dysplasie artérielle évoquant une maladie de Nishimoto (ou Moya-Moya) et de malformations cardiaques.

81. Génétique Clinique et Dysmorphologie

CANKI-KLAIN N¹, Lense S², Milicic D³, Richard P⁴, Niel F², Leturcq F², Deburgrave N², Demay L⁴, Kaplan J-C², Zurak N¹, Bonne G⁵, Recan D²

1 Department of Neurology, Zagreb University Medical School, Croatia

2 Département GDPM, Institut Cochin de Génétique Moléculaire, Hôpital Cochin, Paris, France

3 University Clinic for Cardiovascular Diseases, Zagreb, Croatia

4 Service de Biochimie B, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, 75 013 Paris, France

5 INSERM U523, Institut de Myologie, Hôpital de la Salpêtrière, Paris, France

DIAGNOSTIC DILEMMA IN AN ATYPICAL X-LINKED EMERY-DREIFUSS FAMILY

Emery-Dreifuss muscular dystrophies are characterized by early contractures, late humero-peroneal dystrophy and dilated cardiopathy with severe conduction defects leading to sudden death. They are caused by mutations affecting either the STA gene, in the X-linked form (XL-EDMD; OMIM 310300), or the LMNA gene, in the autosomal dominant form (AD-EDMD; OMIM 181350). Both genes code for nuclear membrane proteins, respectively, emerin and lamin A/C. Laminopathies are known to have a large clinical spectrum going from limb girdle muscular dystrophy (LGMD) to isolated cardiomyopathy.

We report a large four-generation Croatian family in which clinical and pedigree data have oriented us primarily to AD-EDMD because of atypical clinical symptoms and confusing pedigree data. The proband presented as a slowly progressive LGMD (onset at teens) with moderate rigid spine and cardiomyopathy demanding pacemaker implantation in the age of 31. His mother when first seen at 61 years had moderate LGMD with slightly elevated CPK, EMG within normal limits, as were ECG and echocardiography. Proband's two sons aged 11 and 12 years respectively experienced mild weakness of the legs and arms since 10 years and CPK was scarcely elevated in

younger son. An autosomal dominant inheritance was suspected, but the diagnosis of FSH and AD-EDMD were excluded by molecular analysis.

Further investigations showed that X-linked inheritance could not be rejected. Therefore, we carried out a western blot analysis of cultured lymphoblastoid cells from the proband which showed total absence of emerin. A large deletion in the exon 1 of the STA gene was characterized by sequencing, confirming the diagnosis of XL-EDMD. This deletion was also found in two other family's very differently affected males (one of them now 69 years old is ambulant, with classical but moderate symptoms of LGMD, and pacemaker implantation since the age of 41), in the proband's affected mother and in the asymptomatic mother of the third severely affected patient with early and prominent rigid spine and contractures.

This observation emphasizes the phenotypic heterogeneity of XL-EDMD, especially when female carriers are symptomatic, and the diagnostic value of western blot analysis in perplexing situation. In conclusion, in such difficult cases an extensive clinical and genetic investigations with emerin screening by western blot are needed.

82. Génétique Clinique et Dysmorphologie

LE MAREC B¹, Odent S¹, Pasquier L¹, Le Mee F², Lucas J²

1 Génétique Médicale, CHU de Rennes

2 Cytogénétique, CHU de Rennes

A partir d'un millier de données de trisomie 21 représentant l'ensemble de ma carrière et s'étendant donc sur plus de 30 ans, j'ai voulu essayer de reprendre les différents aspects de la trisomie 21 en particulier ce qui avait changé en 30 ans (et principalement l'abord du problème) et ce qui était immuable.

83. Génétique Clinique et Dysmorphologie

M'RAD Ridha, Maazoul, Faouzi, Ben Jemaa Lamia, Ksontini Mohamed, Chaabouni Mariam, Chaabouni Habiba Service des Maladies Congénitales et Héritaires - 1006 Tunis Tunisie

SYNDROME OSA : A PROPOS D'UN CAS FAMILIAL TUNISIEN

Nous rapportons l'observation de deux sœurs tunisiennes qui présentent l'association d'anomalies faciales, oculaires, squelettiques une hypoplasie des muscles de la paroi abdominale.

Ces deux patientes sont issues de deux parents sains dont le coefficient de parenté est de 1/16

Elles ont 2 sœurs en bonne santé et un frère aîné diabétique insulino-dépendant depuis l'âge de 7 ans. L'enquête génétique est sans particularités. Ces différents éléments sont en faveur d'une hérédité autosomique récessive.

L'association des malformations chez ces deux sœurs semblent représenter le syndrome O S A initialement rapporté par Minagrelli *et al* en 1996. D'après les données de la littérature, notre observation serait le deuxième cas décrit.

84. Génétique Clinique et Dysmorphologie

MAAZOUL Faouzi, Ksantini M, Chaabouni M, Mrad R, Jemaa LB, Chaabouni H Service Des Maladies Congénitales et Héritaires 1006 Tunis Tunisie

Le SYNDROME OCULO-CÉRÉBRO-CUTANÉ

Le syndrome oculo-cérébrocutané est décrit par Delleman et Oorthuys en 1981. Il associe une atteinte oculaire (anophtalmie, microphthalmie, kyste orbitaire), des lésions cutanées (appendices, hypoplasie dermique) et cérébrales (agénésie du corps calleux).

Il s'agit d'un syndrome rare, une trentaine de cas sont décrits, il atteint plus les garçons que les filles, le plus souvent il apparaît de façon sporadique, il est dû à un trouble précoce de l'embryogenèse, d'origine inconnue. Cette atteinte touche particulièrement la partie antérieure de la plaque neurale qui constitue l'ébauche commune du prosencéphale, de l'ectoderme facial, nasal et de la poche de Rathke. Ce syndrome est probablement lié à une mutation *de novo* d'un gène létal, les

enfants vivants atteints, présentent probablement un mosaïcisme.

Nous rapportons 2 observations de ce syndrome, un garçon et une fille appartenant à 2 familles différentes, âgés respectivement de 13 et 4 mois de vie, à la première consultation, issus de parents non apparentés, l'enquête génétique est négative, les mères sont jeunes, primigestes, primipares. Les 2 enfants sont nés à terme par césarienne, pour une souffrance fœtale aiguë, suite à une toxémie gravidique présentée par une mère et un bassin limite pour la deuxième. Ils présentent des lésions oculaires, cutanées et cérébrales évoquant le syndrome OCC. L'analyse cytogénétique est normale.

Le pronostic de ce syndrome est réservé, le retard psychomoteur est constant, l'épilepsie est fréquente.

Le diagnostic différentiel se pose avec le syndrome de Goltz, de Goldenhar, et la lipomatose encéphalo-craniocutanée.

Pour le conseil génétique, aucune récurrence familiale n'est décrite, cependant, un suivi échographique, (étude des cavités orbitaires et des structures cérébrales), s'impose pour les grossesses ultérieures.

85. Génétique Clinique et Dysmorphologie

Brun Catherine, Lyonnet Stanislas, Munnich Arnold

Service de Génétique Médicale Tour Lavoisier Hôpital Necker-Enfants Malades PARIS FRANCE

THE COMBINED PSYCHOANALYST-GENETICIST CONSULTATION : a 10 year experience

The time when an information is delivered by the geneticist to the patient is crucial and pathetic. The highly efficient diagnostic tools of the geneticist are usually regarded as magic by the patient. Since 1991 psychoanalysts attend the genetic consultations. We have noted that despite long explanations, those informations fall on deaf ears as the patient is scared, staggered by recent traumatic events or informations and he understands very little of the explanations. The psychoanalyst can play a major role at this point. Sitting beside the geneticist, the psychoanalyst can speak about what is written. This novel form of cooperation is particularly interesting as i) the psychoanalyst is requested by the geneticist at the time and place of the consultation, ii) the geneticist, facing the patients and the family's drama of transmission, is supposed to deliver a major information which not only refers to formal genetics but also to the personal history of the subject. The psychoanalyst listens to the patient's story, gives meaning to the process and therefore allows time to start again. During the genetic consultation, a recognition and reparation process is initiated. Because the present must become livable, his experience helps the patient or the parents facing their future. These combined consultations provide a time and a space for cross talks between the patient, the geneticist, and the family constellation and help facing the problem of the disease, of aging, death and of the succession of generations.

86. Génétique Clinique et Dysmorphologie

LAYET Valérie¹, Odent S², Chabrolle J-P³, Le Roux P⁴, Le Luyer B⁴

1 Unité de Génétique Hôpital Flaubert BP.24. LE HAVRE FRANCE

2 Génétique médicale. CHU Rennes

3 Néonatalogie. CH Le Havre

4 Pédiatrie. CH Le Havre

MUTATION Y158X DU GÈNE SONIC-HEDGEHOG : VARIABILITÉ D'EXPRESSION PHÉNOTYPIQUE AU SEIN D'UNE MÊME FAMILLE

Nous présentons une famille comportant dix sujets atteints de différentes anomalies de la ligne médiane, sur quatre générations, l'ancêtre commun remontant à la sixième génération.

Ces individus ont des anomalies de gravité variable, allant de la simple dysmorphie faciale (hypotélorisme) à la malformation craniofaciale léthale (arhinencéphalie et fente labiopalatine médiane). Certains individus ont des anomalies de gravité intermédiaire, toujours en rapport avec la ligne médiane: atrésie

des choanes, incisive supérieure unique, déficit partiel en hormone antidiurétique ou en hormone de croissance, hypoplasie vermineuse. Seuls les sujets simplement dysmorphiques ont une intelligence dans les limites de la normale.

La mutation Y158X du gène Sonic-Hedgehog a été mise en évidence chez tous les sujets vivants à phénotype évocateur.

87. Génétique Clinique et Dysmorphologie

Abert Blandine¹, Cloarec Sylvie², Paillet Christian³, Pisella Pierre Jean⁴, Perrotin Franck⁵, Annick Toutain¹

1 Service de Génétique, CHU de Tours Hôpital Bretonneau 2 boulevard Tonnellé - Tours France

2 Unité de Néphrologie de l'Enfant, CHU de Tours

3 Service des Ultrasons, CHU de Tours

4 Clinique Ophtalmologique, CHU de Tours

5 Département de Gynécologie-Obstétrique, CHU de Tours

DIAGNOSTIC PRÉNATAL ÉCHOGRAPHIQUE DU SYNDROME DE BARDET-BIEDL : À PROPOS D'UN CAS

Le syndrome de Bardet-Biedl (BBS) est une affection autosomique récessive, associant rétinite pigmentaire, obésité, hexadactylie post-axiale, retard mental modéré, hypogénitalisme et atteinte rénale (malformations réno-urinaires et/ou insuffisance rénale). Nous rapportons le cas d'un enfant chez lequel le diagnostic de BBS a été suspecté en période anténatale sur l'association de gros reins hyperéchogènes avec oligoamnios et d'une hexadactylie post-axiale des pieds. A la naissance, étaient notés de gros reins palpables, un reflux vésico-urétéral et un glaucome congénital ayant nécessité une trabéculotomie. Le diagnostic a été confirmé à l'âge de 2 ans. L'enfant présentait alors des petits reins différenciés avec une atteinte tubulaire modérée, un nystagmus, une surcharge pondérale, une cryptorchidie bilatérale avec hypoplasie scrotale et micropénis, des mains courtes et trapues, un visage rond joufflu, et un retard modéré des acquisitions. Cette observation montre que le diagnostic de BBS peut être évoqué en période anténatale. Trois observations de BBS avec des gros reins hyperéchogènes à l'échographie fœtale ont déjà été rapportées. Comme dans notre observation, l'aspect échographique était similaire à celui de la polykystose rénale infantile et a pu conduire à un diagnostic erroné. Or il est important de pouvoir différencier ces deux affections en raison d'un pronostic global bien différent. Compte tenu de la fréquence de l'atteinte rénale dans le BBS nous pensons que le diagnostic de cette affection devrait pouvoir être évoqué plus fréquemment sur les données échographiques anténatales.

88. Génétique Clinique et Dysmorphologie

Dieux-Coeslier Anne¹, Boute-Benejean Odile¹, David Albert², Moerman Alexandre¹, Holder-Espinasse Muriel¹, Manouvrier-Hanu Sylvie¹

1 Service de Génétique Clinique Hôpital Jeanne de Flandre CHRU de Lille - Lille France

2 Service de Génétique Médicale, Hôpital Mère-Enfant, CHU de Nantes

MANIFESTATIONS CLINIQUES RAREMENT RAPPORTÉES DANS LE SYNDROME DE COSTELLO, À PROPOS DE CINQ OBSERVATIONS.

Le syndrome de Costello, décrit en 1971, comporte un retard de croissance d'apparition postnatale, un retard psychomoteur, une dysmorphie faciale avec des traits grossiers, des plis palmaires et plantaires capitonés et des lésions papillomateuses péri-orificielles, souvent associés à une cardiomyopathie hypertrophique. La majorité des cas est sporadique, la cause de ce syndrome n'est pas connue.

Nous rapportons cinq observations de patients présentant un syndrome de Costello, avec des manifestations cliniques rarement mentionnées dans cette association malformative.

Le premier patient, de sexe féminin, présentait à la naissance des anomalies des organes génitaux externes (hypertrophie clitoridienne et imperforation hyménale). L'évolution a été marquée par des chylothorax récidivants liés à des lymphangectasies thoraciques, un retard statur pondéral sévère

et une cardiomyopathie hypertrophique aboutissant au décès à l'âge de 17 mois.

Les quatre autres patients (2 filles et 2 garçons) ont présenté des mouvements oculaires anormaux dès les premiers mois de vie. Le deuxième patient a développé un neuroblastome à l'âge de 2 mois avec un syndrome opso-myoclonique. Les opsoclonies ont persisté après le traitement du neuroblastome. Les trois autres avaient des mouvements oculaires nystagmiformes ou des opsoclonies, leur comportement visuel s'améliorant progressivement.

Les anomalies des organes génitaux externes féminins et les chylothorax n'ont pas, à notre connaissance, été rapportés dans le syndrome de Costello. Une revue récente de la littérature (Johnson *et al.*, 1998) ne mentionne la présence de mouvements oculaires anormaux que chez deux patients. Leur fréquence pourrait être sous-estimée, et ils pourraient constituer un signe supplémentaire du syndrome de Costello.

89. Génétique Clinique et Dysmorphologie

Boute-Benejean Odile¹, Dieux-Coeslier Anne¹, Moerman Alexandre¹, Lemaitre Marie Pierre², Vallee Louis², Manouvrier-Hanu Sylvie¹

1 Service de Génétique Hôpital Jeanne de Flandre - LILLE CEDEX FRANCE

2 Service de Neurologie Infantile - CHU LILLE

UNE NOUVELLE OBSERVATION D'HYPOTRASIE CÉRÉBELLEUSE AVEC SCLÉROSE ENDOSTALE

En 1991, Charrow et collaborateurs décrivent un nouveau syndrome récessif autosomique associant hypoplasie cérébelleuse et sclérose endostale chez trois patients. Une observation similaire avait été rapportée en 1986 par Stoll et coll. chez un enfant issu d'une union consanguine.

Nous rapportons la cinquième observation de ce syndrome. Il s'agit du troisième enfant, de sexe masculin, d'un couple non apparenté sans antécédent. Il est né à terme, eutrophique avec cinq dents néonatales. A 35 mois, on constate un retard global des acquisitions non progressif avec hypotonie, syndromes cérébelleux et tétrapyrmidal. Il est eutrophique, et ne présente pas de dysmorphie. L'IRMN cérébrale montre une atrophie du vermis et des hémisphères cérébelleux, un retard de myélinisation de la substance blanche et des hypersignaux des pallida. L'examen ophtalmologique est normal.

Le bilan métabolique et phosphocalcique est négatif, le caryotype haute résolution est normal, la recherche moléculaire d'un syndrome d'Angelman négative. Les radiographies de squelette retrouvent une sclérose endostale du bassin, des diaphyses fémorales, humérales et des vertèbres lombaires. L'échographie rénale est normale.

Cette observation correspond au syndrome récessif autosomique décrit par Charrow et coll. Les radiographies osseuses sont comparables à celles publiées par les auteurs. En association avec les signes neurologiques, les patients décrits présentent tous des agénésies ou dysplasies dentaires ; et pour un, des dents néonatales.

Cette observation illustre la nécessité de réaliser des radiographies de squelette complet dans le bilan étiologique des hypoplasies cérébelleuses congénitales ; *a fortiori* en présence d'anomalies dentaires.

90. Génétique Clinique et Dysmorphologie

MORTEMOUSQUE Isabelle, Guichet Agnès, Moraine Claude, Toutain Annick

Service de Génétique, CHU de Tours Hôpital Bretonneau 2 boulevard Tonnellé - Tours France

SYNDROME DE TURNER ET GROSSESSE : À PROPOS D'UNE FEMME AYANT EU TROIS ENFANTS.

Le syndrome de Turner, lié à une monosomie partielle ou complète du chromosome X, se caractérise par une grande variabilité phénotypique mais deux signes sont quasiment constants : la petite taille et la dysgénésie gonadique. Dans la forme classique, la dysgénésie gonadique est responsable d'un impubérisme et d'une stérilité. Cependant, une puberté spontanée est possible (10 à 15% des cas), en général liée à une mosaïque

45,X / 46,XX, mais une fertilité est rarement observée (1 à 2%). Nous rapportons l'observation d'une jeune femme atteinte d'un syndrome de Turner lié à une mosaïque 45,X / 46,XX. Elle présente un phénotype caractéristique avec un ensemble dysmorphique et une petite taille à - 4,7 DS (137 cm à l'âge adulte). Elle a eu une puberté spontanée, d'apparition retardée mais de déroulement normal, avec des ménarches à l'âge de 15 ans puis des cycles réguliers. Cette jeune femme a pu avoir (à 22, 24 et 28 ans) trois grossesses spontanées qui se sont déroulées sans problèmes et ont donné naissance à deux garçons et une fille de formule chromosomique normale. A la lumière de cette observation, nous discutons les difficultés soulevées par l'obtention ou le déroulement des grossesses chez les femmes atteintes de syndrome de Turner : possibilité de grossesse spontanée ou par les moyens de PMA, complications obstétricales propres à ces grossesses, et risque d'aneuploïdie dans la descendance en cas de grossesse spontanée.

91. Génétique Clinique et Dysmorphologie

VERLOES Alain¹, Jean-Paul Misson², Clarisse Baumann¹

1 Unité de Génétique Médicale, Hôpital Robert Debré Paris F

2 Neuropédiatrie, CHU Sart Tilman, Liège, Belgique

SYNDROME DE STILLING-TURK-DUANE ET SCOLIOSE SÉVÈRE CHEZ 2 SOEURS

Nous rapportons deux soeurs âgées de 10 et 7 ans, issues de parents non consanguins, présentant l'association d'un syndrome de Stilling-Turk-Duane de type 3 (réduction ou absence d'abduction et d'adduction), d'une hypotonie persistante d'origine inexpliquée (avec retard moteur mais sans retard intellectuel), de scoliose thoracolombaire sévère et précoce, et de petite taille à début postnatal (-2.5 à -3 DS).

Cette combinaison d'anomalies, probablement d'origine génétique, à transmission autosomique récessive, ne semble jamais avoir été rapportée. Le syndrome de Crisfield-Dretakis-Sharpe (ophtalmoplégie externe, ptosis, nystagmus pendulaire et scoliose progressive) présente certaines similitudes avec notre observation, mais les anomalies oculaires sont différentes et il n'existe pas d'hypotonie.

92. Génétique Clinique et Dysmorphologie

Hadj-Rabia Small¹, Bougeard Gaele², Amiel Jeanne¹, Lyonnet Stanilas¹, Munnich Arnold¹, Bodemer Christine¹, Cormier-Daire Valérie¹, Frébourg Thierry²

1 Service de Génétique, Unité INSERM-U393, Service de Dermatologie Hôpital Necker-Enfants Malades Paris

2 INSERM EMI-9906, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Rouen

SPECTRE PHÉNOTYPIQUE DES MUTATIONS DU GÈNE TP63

Les mutations du gène TP63, analogue du gène suppresseur TP53 ont été initialement identifiées dans la forme syndromique d'ectrodactylie avec fente palatine et dysplasie ectodermique (EEC3, MIM604292) puis détectées dans des familles atteintes d'ectrodactylie isolée, de syndromes ADULT (acro-dermatoungual-lacrimal-tooth) et AEC (Ankyloblépharon, Ectodermal Dysplasia, Cleft lip/palate, MIM106260). Nous rapportons l'identification de mutations de TP63 qui illustrent le large spectre phénotypique associé. Dans la famille 1, (mutation R204Q, exon 5) le cas index présentait une ectrodactylie des 4 membres sans fente labio-palatine ni dysplasie ectodermique, transmise selon un mode autosomique dominant sur 4 générations avec une pénétrance incomplète et une expressivité variable (syndactylie ou fente labio-palatine isolée. Dans la famille 2 (mutation N6H, exon 3), le cas index présentait une agénésie des mamelons, des orteils hypoplasiques avec syndactylie cutanée II-III et onychodysplasie, un pli palmaire unique bilatéral et une clinodactylie des auriculaires, une hypoplasie malaire, une microstomie, des freins multiples et des éphélides profuses, s'intégrant à un syndrome ADULT. La mutation était héritée du père asymptomatique. Dans la famille 3, (mutation F513V, exon 13), le cas index présentait une folliculite occipitale décalvante, une dysplasie ectodermique hypohidrotique sans ankyloblépharon et une fente palatine. Le

gène TP63, composé de 16 exons codent pour 6 isoformes distinctes. La seule isoforme altérée par toutes les mutations décrites et que nous rapportons est l'isoforme deltaNp53 alpha, capable *in vitro* d'inactiver la fonction transcriptionnelle de TP53. Cette observation pourrait suggérer que les anomalies du développement dues aux mutations de TP63 résultent d'une dérégulation de la voie TP53.

93. Génétique Clinique et Dysmorphologie

VIGNERON Jacqueline¹, Krier A²

1 Unité Fonctionnelle de Génétique MATERNITE REGIONALE - Nancy

2 Service de médecine et réanimation néonatales, Nancy

UN NOUVEAU CAS DE SYNDROME DE FINLAY-MARKS, OU SCALP-EAR-NIPPLE SYNDROME

L'association de trois anomalies mineures découvertes chez un nouveau-né de sexe féminin, comportant : un défaut cutané au niveau du scalp, une hypoplasie des mamelons et des oreilles dysplasiques est très évocatrice du Scalp-Ear-Nipple Syndrome (S.E.N.), décrit par Finlay et Marks en 1978.

Cette hypothèse est confirmée par l'existence d'anomalies associées : dysmorphie faciale, cheveux d'implantation particulière, syndactylie proximale des deuxième et troisième orteils, rein unique gauche.

Le défaut cutané a cicatrisé spontanément. A l'âge de 11 mois, le développement neuromoteur est normal.

Cette entité étant transmise sur le mode autosomique dominant, les parents sont examinés attentivement : la mère présente des mamelons très ombiliqués et une hypomastie.

En outre, dans la branche maternelle, on retrouve plusieurs apparentés porteurs d'une cataracte, anomalie fréquemment signalée dans cette séquence syndromique.

Ce syndrome, rare et d'expressivité variable, peut être méconnu, et nous soulignons l'importance qu'il faut accorder à certains signes au demeurant mineurs. Avant d'affirmer qu'il s'agit d'un cas sporadique, il est indispensable d'examiner les apparentés proches, qui ont souvent négligé de signaler certaines particularités.

Le diagnostic permettra de surveiller de façon adaptée les patients atteints, tant sur le plan rénal, en raison du risque d'hypertension artérielle, que sur le plan oculaire, pour détecter l'apparition d'une cataracte. Enfin, chez la fille, il sera nécessaire de préparer l'enfant et sa famille à l'éventualité d'une prothèse mammaire.

94. Génétique Clinique et Dysmorphologie

MIGNOT Cyril¹, Maire Irène², Gelot Antoinette³, Bessieres Bettina⁴, Daffos D⁵, Voyer M⁶, Odent Sylvie⁷, Hatem Gantzer G⁸, Roume Joëlle⁸, Le Duff D⁹, Billette De Villemeur Thierry¹

1 Neurologie Pédiatrique, Hôpital Trousseau, Paris 26, avenue du Dr A. Netter Paris

2 Biochimie pédiatrique, Hôpital Debrousse, Lyon

3 Neuropathologie et fœtopathologie, Hôpital Saint-Vincent-de-Paul, Paris

4 Fœtopathologie, Institut de puériculture, Paris

5 Diagnostic prénatal et médecine fœtale, Institut de puériculture, Paris

6 Néonatalogie, Institut de puériculture, Paris

7 Génétique, hôpital Pontchaillou, Rennes

8 Fœtopathologie, hôpital Saint Antoine, Paris

9 Radiologie, Quimper

MALADIE DE GAUCHER FŒTALE

La maladie de Gaucher (MG) est la plus fréquente des maladies lysosomales. Son phénotype est variable, allant de formes viscérales chroniques (type 1, MIM 23800) à des formes neurologiques aiguës (type 2, MIM 230900) ou subaiguës (type 3, MIM 231000). La forme fœtale de MG reste mal connue. Nous avons rassemblé 8 cas français de MG fœtale afin de les confronter aux 33 cas décrits dans la littérature.

Après analyse de ces 41 cas, il apparaît que les présentations de la MG fœtale sont : anasarque fœto-placentaire (AFP), mort fœtale *in utero* (MFIU), souffrance néonatale immédiate, détresse neurologique fatale de la première semaine de vie.

Quelle que soit l'histoire naturelle, les signes les plus fréquents sont l'hépatosplénomégalie (87%), l'ichtyose (39%), l'arthrogrypose et/ou l'akinésie fœtale (39%), et une dysmorphie faciale (37%). Ces signes ne sont jamais décrits dans les formes débutant après la naissance.

Le diagnostic a été porté sur l'étude anatomopathologique dans 59% des cas. De manière intéressante, dans 7/32 familles (22%), il y avait des antécédents d'AFP ou de MFIU, et le diagnostic peut être porté rétrospectivement. L'étude du gène de la glucocérébrosidase a permis l'identification de 41% des allèles mutants. Il ne se dessine pas clairement de corrélation phénotype-génotype.

Au total, cette étude permet d'affirmer qu'il existe une forme fœtale de MG probablement sous-diagnostiquées, phénotypiquement identifiable et différente des types antérieurement définis. Le diagnostic de MG fœtale doit être systématiquement évoqué devant toute AFP non immune et MFIU inexplicables. Ceci doit permettre un conseil génétique dans tous les cas.

95. Génétique Clinique et Dysmorphologie

HARLAND ELISE¹, Bauman C², David A³, Goizet C⁴, Moraine C⁵, Plessis G⁶, Sarda P⁷, Stoll C⁸, Verloes A⁹, Boileau C¹⁰, Plauchu H¹

1 Service de Génétique Médicale Hôtel Dieu LYON

2 Service de Génétique Clinique- Hôpital Robert Debré- Paris

3 Service de Génétique Médicale - Hôpital Mères-Enfants - Nantes

4 Service de Génétique Médicale - CHU Pellegrin Enfants - Bordeaux

5 Service de Génétique Médicale - CHU Bretonneau - Tours

6 Service de Génétique Médicale - CHU Clemenceau - Caen

7 Service de Génétique Pédiatrique - Hôpital Arnaud de Villeneuve - Montpellier

8 Service de Génétique Médicale - Hôpital de Haute-pierre - Strasbourg

9 Service de Génétique Clinique - Hôpital Robert Debré - Paris

10 Laboratoire de Génétique Moléculaire - Hôpital Ambroise Paré - Boulogne

LE SYNDROME DE SHPRINTZEN GOLDBERG : SEMIOLOGIE REVUE A LA LUMIERE DE 11 NOUVELLES OBSERVATIONS

Les consultations de génétique orientées sur les maladies du tissu conjonctif ou centrées sur les syndromes dysmorphiques, avec ou sans retard mental, ont permis au collectif d'auteurs de réunir 11 nouveaux cas français.

L'analyse confrontée à la revue de la littérature permet de dégager les critères diagnostiques et de les illustrer de façon comparative : scaphocéphalie, craniosténose, hypertélorisme, bosses frontales, retard psychomoteur ou mental, protrusion acétabulaire et strabisme font partie du syndrome dysmorphique ; arachnodactylie, déformation sternale, camptodactylie, pieds plats, signes cardiaques et oculaires de l'aspect marfanoidé ; hypotonie articulaire de type Ehlers Danlos.

L'identification de signes, peu observés jusqu'alors, permet de structurer leur recherche lors de la démarche diagnostique pour contribuer à une meilleure description du Shprintzen Goldberg : signes dysmorphiques cranio-faciaux, signes osseux, signes neurologiques notamment.

Enfin, la recherche de mutations du gène de la fibrilline effectuée sur une demi-douzaine d'entre eux est négative, mais permet de discuter la pathogénie de cette affection (développement, craniosténoses, FGF et Matrice Extracellulaire).

96. *Génétique Clinique et Dysmorphologie*

LIQUIER Alain¹, Goizet Cyril², Ruffie Marie¹, Lacombe Didier²

1 Service de Génétique, Laboratoire Ruffié et associés - Bordeaux France

2 Service de Génétique Médicale, Hôpital Pellegrin-Enfants, Bordeaux

LE SYNDROME DE LUJAN - FRYNS : UNE FIBRILLINOPATHIE DE TYPE 1 ? PRÉSENTATION DE DEUX CAS ET REVUE DE LA LITTÉRATURE.

Le retard mental lié au chromosome X concerne environ un garçon sur 600. Parmi les retards mentaux syndromiques, le syndrome de Lujan-Fryns (MIM 309520) est une entité dont l'incidence est probablement sous estimée et caractérisé par un habitus marfanode avec aspect longiligne, dysmorphie faciale (visage allongé, ensellure nasale haute, palais ogival, philtrum court, hypoplasie malaire), voix nasonnée et retard des acquisitions. Les troubles du comportement sont quasi constants (troubles de l'humeur, hyperactivité, timidité, troubles psychotiques).

Le patient 1, garçon de 17 ans, est timide et angoissé, avec retard précoce des acquisitions, aspect longiligne et dysmorphie faciale (front haut, oreilles de grande taille, hypertrophie des os propres, palais ogival, malpositions dentaires). Il n'a aucune anomalie cardiaque ni ophtalmologique. L'histologie cutanée montre une fragmentation du réseau élastique dermique. L'expression de fibrilline 1 sur fibroblastes est à 15% du témoin (Dr ZABOT, Lyon).

Le patient 2, fillette de 10 ans, présente un phénotype longiligne, une dysmorphie faciale et des troubles du comportement similaires au patient 1.

Nous comparons les caractéristiques cliniques de ces patients à celles de la littérature. Nous soulignons les difficultés du diagnostic différentiel et du conseil génétique.

La physiopathogénie de ce syndrome est inconnue. En raison d'une diminution d'expression de fibrilline 1, il est possible de proposer deux hypothèses. Il pourrait s'agir d'une hétérozygotie allélique du syndrome de Marfan. Il est également possible d'évoquer l'implication d'un facteur de transcription codé sur le chromosome X et modulant l'expression du gène de fibrilline 1 (FBN1, 15q21.1), voire d'autres gènes du développement neurologique.

97. *Génétique Clinique et Dysmorphologie*

BURGLEN LYDIE¹, Heron Delphine², Bachy Alain³, Carel Jean-Claude⁴, Cormier-Daire Valérie⁵, Gillerot Yves⁶, Verloes Alain^{7,8}

1 Hôpital Trousseau 26 avenue du Dr Arnold Netter Paris France

2 Département de Génétique, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris

3 Département de pédiatrie, Clinique Notre Dame, Charleroi, Belgique

4 Service d'Endocrinologie, Hôpital Saint Vincent de Paul, Paris

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

6 Institut de Pathologie et de Génétique, Lovreval, Belgique

7 Wallonia Center for Human Genetics, Université de Liège, Belgique

8 Unité de Génétique Clinique, Hôpital Robert Debré, Paris, France

SYNDROME DE MYHRE: 3 NOUVELLES OBSERVATIONS ET REVUE DE LA LITTÉRATURE

En 1980, Myhre *et al.* rapportent l'observation de 2 garçons présentant l'association retard mental, dysmorphie faciale (fentes palpébrales étroites, hypoplasie maxillaire, prognathisme, philtrum court, petite bouche), petite taille, brachydactylie, aspect musclé, ankylose articulaire, surdité mixte et fente labiopalatine chez l'un. Radiologiquement, on note une voûte crânienne épaisse, une hypoplasie des ailes iliaques, des côtes larges, de gros pédicules vertébraux. Cinq autres cas ont été publiés. Nous rapportons trois nouveaux patients présentant un tableau évocateur de syndrome de Myhre. Les signes majeurs sont la petite taille, la dysmorphie faciale, les mains courtes, l'aspect musclé, l'ankylose articulaire, la surdité mixte constante chez les

patients les plus âgés. Le retard mental est fréquent mais l'un de nos patients a une intelligence normale. Un comportement autistique ou des difficultés relationnelles sont retrouvées chez 2/3 patients ainsi que chez l'un des patients de la littérature. Nos trois patients et 3/7 patients publiés ont une peau très épaisse qui semble être un signe majeur. Quatre des patients les plus âgés ont une hypertension artérielle. Le syndrome de Moore-Federman et la dysplasie acromicrique sont les principaux diagnostics différentiels du syndrome de Myhre. La similitude avec le syndrome GOMBO, maintenant rapporté à une translocation cryptique, a été suggéré par l'un de nous. Le mode d'hérédité du syndrome de Myhre n'est pas connu: l'observation de 10/10 patients de sexe masculin évoque une transmission liée à l'X. Une mutation *de novo* d'un gène autosomique dominant est également discutée.

98. *Génétique Clinique et Dysmorphologie*

JULIA Sophie¹, De Mas Philippe¹, Perrier Anne Cécile², Vincent Marieclaire¹, Tricoire Joelle², Bourouillou Georges¹, Roland Michel², Calvas Patrick¹

1 Service de génétique, CHU Purpan, Toulouse

2 Service de neonatologie, CHU Purpan, Toulouse

DÉLÉTION (14)(Q24.2Q32.1) : UNE DYSMORPHIE CRANIO-FACIALE CARACTÉRISTIQUE

La délétion del(14)(q24.2q31) est un événement chromosomique rare.

Nous rapportons ici le cas d'un nouveau né porteur d'une délétion interstitielle *de novo* del(14)(q24.2q31) présentant un retard de croissance intra utérin, une dysmorphie faciale particulière, des malformations viscérales avec une cardiopathie congénitale, un rein en fer à cheval et un méésentère commun et des orteils se chevauchant.

La comparaison avec les cas précédemment décrits dans la littérature présentant une délétion interstitielle similaire nous permet de décrire un phénotype distinct aux délétions 14q24.2 à 14q32.1, avec une dysmorphie cranio-faciale caractéristique incluant une face ronde (7/7), une hypertrichose frontale (6/7), des sourcils épais et un synophris (6/7), des fentes palpébrales étroites et horizontales (7/7), un petit nez bulbeux avec des narines antéversées (7/7), un philtrum long et une micrognathie (7/7) ; des malformations viscérales inconstantes : cardiopathie congénitale (2/8), des anomalies génito urinaires (3/8), anomalies cérébrales (2/8), des anomalies squelettiques (3/8), des anomalies dentaires (2/8) et un handicap psychomoteur constant. En 1995 Byth *et al.* réduisait la région chromosomique d'intérêt à la bande 14q31 sans qu'il soit possible d'établir une corrélation génotype phénotype en fonction de la taille de la délétion. Cependant si les anomalies viscérales sont inconstantes la dysmorphie cranio-faciale semble être typique et fait poser l'intérêt d'analyser plus précisément la région 14q24q32 devant un patient présentant ce phénotype.

99. *Génétique et dysmorphologie*

Chaabouni Myriam, Kossentini Mohamed, Bayou Nadia, Ben Jemaa Lamia, Maazoul Faouzi, Mrad Ridha, Chaabouni Habiba
Service maladies héréditaires Hôpital Charles Nicolle 1006 Tunis Tunisie

ASSOCIATION SYNDROME DE TURNER ET KABUKI SYNDROME

Le syndrome de Kabuki (make-up syndrome) est une entité clinique rare, bien définie dont l'origine génétique n'est pas encore précisée. Certaines observations font état d'une association avec d'autres pathologies. Nous rapportons l'observation d'une petite fille de sept ans qui nous a été adressée pour retard de croissance et dysmorphie faciale. Le caryotype sanguin a montré une monosomie X homogène. Cependant l'examen clinique de l'enfant retrouve un aspect du visage tel que décrit dans le Kabuki syndrome avec en particulier l'aspect maquillé des yeux. D'autres signes dysmorphiques sont à rapporter comme un microrétrognathisme, un cou court avec cheveux bas implantés une acromirie, une hyperlaxité ligamentaire, une dysplasie des ongles. Le thorax, le cœur les membres inférieurs et les organes génitaux externes étaient

normaux. Le retard statural était à moins 3 DS. Le retard mental était modéré avec en particulier une insuffisance de la parole et l'enfant n'a pu être scolarisée dans une école normale. Les parents sont sains et non apparentés, elle a un frère normal et la mère est enceinte d'un fœtus féminin de formule chromosomique normale. L'association des deux syndromes dans cette observation montre une expression clinique plutôt du Kabuki, la monosomie X confirmée au niveau des cellules buccales par FISH a une manifestation clinique pauvre. L'association Kabuki syndrome et délétion partielle de l'X a déjà été rapportée et l'hypothèse d'une localisation du gène sur la région pseudo-autosomale de l'X a été avancée. L'observation que nous rapportons pourrait aider à mieux étudier la génétique du Kabuki syndrome.

100. Génétique clinique et dysmorphologie

LABAUGE Pierre¹, Brunereau Laurent², Laberge-Lecouteux Sophie¹, Enjolras Odile³, Tourmier-Lasserre Elisabeth¹, et la Société Française de Neurochirurgie.,

1 INSERM EMI 99-21 Faculté de Médecine Lariboisière Paris France

2 Service de Neuroradiologie CHU de Tours

3 Service de Neuroradiologie. Hôpital Lariboisière Paris

Les formes familiales de cavernomes. Caractéristiques cliniques, neuroradiologiques, évolutives et génétiques.

Introduction. Les cavernomes cérébraux sont des malformations vasculaires constituées de cavités sanguines sans interposition de tissus nerveux. La fréquence des formes familiales est estimée à 10 %.

Objectifs. Déterminer leurs caractéristiques à partir de l'étude homogène d'un grand nombre de familles.

Matériels et méthodes. Etude multicentrique incluant l'ensemble des centres français de Neurochirurgie et ayant permis d'étudier 57 familles (35 familles ayant au moins 2 apparentés connus comme affectés et 22 issus d'un cas index porteur de lésions multiples sans apparentés connus atteints), parmi un panel de 129 recensées. Ont été analysées les caractéristiques cliniques et neuroradiologiques des sujets symptomatiques (n=100) et asymptomatiques (n=164), les modalités évolutives des sujets affectés, les caractéristiques génétiques des familles explorées (transmission, pénétrance clinique et neuroradiologique...).

Résultats. i) Clinique. Sujets symptomatiques (n=100) : Age des 1ers symptômes: 32,6 ans (extr.5-74) ; symptômes révélateurs : crises d'épilepsie (n=45); hémorragies cérébrales (n=41), signes focaux (n=11), céphalées (n=3). Diagnostic de cavernomes (IRM) chez 73/164 sujets à risque asymptomatiques. Mise en évidence de localisations cutanées stéréotypées dans 4 familles (angiomes capillaro-veineux hyperkératotiques) et d'une localisation rétinienne dans une autre famille (cavernome rétinien) ii) Neuroradiologique. Multiplicité des lésions dans 83 % des sujets affectés (nombre moyen en séquences pondérées T2 : 7,3, extr. 1-51). Validation des séquences pondérées en echo de gradient (EG) : nombre moyen de lésions en EG 16 vs 5 en T2 (p<0,001). Parmi 16 patients ayant 1 lésion en T2, 3 ont des lésions en EG multiples en EG. Validation de l'EG pour porter un statut sain (absence d'EG : 5 % de statut sain par excès) iii) Evolution. Corrélation du nombre moyen de lésions avec l'âge. Suivi prospectif à 2 ans de 33 sujets cliniquement asymptomatiques. 2/33 vont présenter des manifestations cliniques. Apparition de nouvelles lésions dans la moitié des cas. iiiii) Génétique. Diagnostic par l'IRM d'une forme familiale dans 75 % (16/22) des sujets ayant des cavernomes multiples et se présentant de manière sporadique. Possibilité de néomutations dans les 6 autres patients index. Transmission de type autosomal dominant. Pénétrance clinique incomplète (50%), neuroradiologique élevée mais incomplète. Hétérogénéité clinique et neuroradiologique intra et interfamiliale.

Conclusions et perspectives. Malformation vasculaire à forte expression cérébrale, mais également s'exprimant en dehors du système nerveux central (cutanée, rétine). Caractère évolutif dans le temps et l'espace prouvée par le suivi en IRM. Nécessité d'une étude à long terme pour en déterminer le devenir qui est inconnu pour le moment.

101. Génétique clinique et dysmorphologie

PHILIPPE Anne, de Blois MC, Picq M, Prieur M, Colleaux L, Vekemans M, Munnich A

Département de Génétique Hôpital Necker-Enfants Malades 149, rue de Sèvres Paris France

AUTISME CHEZ UN ENFANT PORTEUR D'UNE DELETION CHROMOSOMIQUE EN 2q37

L'autisme (MIM no.209850) est caractérisé par une altération qualitative du développement des interactions sociales et des capacités de communication, ainsi que par des activités et des intérêts répétitifs. Les anomalies chromosomiques représentent l'étiologie la plus fréquente, estimée à 5 %. Cependant, ces anomalies sont extrêmement diverses, affectant tous les chromosomes et en dehors de la région q11-13 du chromosome 15 où plusieurs publications rapportent des tableaux autistiques accompagnés de signes neurologiques, quasiment aucune autre n'a été identifiée à plusieurs reprises à une même position chromosomique.

Récemment, Ghaziuddin *et al.*(1999) ont rapporté deux observations de co-occurrence de trouble autistique et de délétion terminale du bras long du chromosome 2 et ont proposé que la délétion 2q37 corresponde à un tableau spécifique d'autisme.

D'un autre côté, plus d'une quarantaine de publications de délétion 2q37 ont permis d'identifier une entité cliniquement reconnaissable. Les troubles comportementaux sont mentionnés dans un tiers des cas et recouvrent une gamme variée de symptômes pouvant être évocateur de trouble autistique (hyperactivité, communication pauvre, comportements répétitifs, stéréotypies, rituels, automutilations) mais sans poser de façon explicite ce diagnostic selon les critères du DSM IV.

Nous présentons l'histoire médicale, le développement et l'évaluation psychométrique et comportementale d'un garçon de 6 ans 1/2, autiste et porteur d'une délétion 2q37 dont la symptomatologie autistique est identique aux cas déjà décrits, associant un retard mental sévère, une indifférence aux autres, un contact visuel très fugace et des comportements d'auto-stimulation visuelle au premier plan.

Ghaziuddin M. & Burmeister M. Deletion of chromosome 2q37 and autism : a distinct subtype? Journal of Autism and Developmental Disorders. 1999, 29 : 259-263

102. Génétique clinique et dysmorphologie

MATHIEU Michèle¹, Morin G¹, Leclercq F², Senouci L³, Vincent-Delorme C⁴, Delezoide AL⁵, Romero N⁶, Gontier MF²

1 Pédiatrie I Hôpital Nord CHU Amiens - Amiens

2- Service d'Anatomie et de Cytologie Pathologiques - CHU d'Amiens

3- Service de Réanimation - Département de Pédiatrie - CHU d'Amiens

4- Génétique Clinique - Service de Néonatalogie - CHG d'Arras

5- Unité de fœtoplacentologie - Hôpital Robert Debré

6- U. 523 - Institut de myologie - Hôpital Pitié Salpêtrière

GRACILITE DU SQUELETTE, FRACTURES PERINATALES ET PATHOLOGIE MUSCULAIRE

La gracilité congénitale des os longs avec présence de fractures diaphysaires dès la naissance a été rapportée par Maroteaux et ses collaborateurs en 1988 comme étant une entité létale différente de l'ostéogénèse imparfaite et possiblement de transmission récessive autosomique.

Des cas de fractures périnatales multiples ont également été rapportés dans le cadre des immobilités fœtales avec arthrogrypose distale inconstante (Harold Chen *et al.*, 1995). Il s'agit d'un groupe hétérogène dans lequel les pathologies neuromusculaires prédominent (amyotrophies spinales antérieures, myopathies congénitales, dystrophies musculaires). L'immobilité fœtale est responsable d'une hypominéralisation se traduisant par une gracilité des os longs et des côtes, les vertèbres et la voûte crânienne étant généralement respectées.

Nous rapportons l'observation d'un premier enfant de parents jeunes, non consanguins et en bonne santé. La grossesse s'est déroulée normalement. Il n'y avait pas d'hydramnios, ni

d'absence de mouvements fœtaux. L'enfant, de sexe féminin, présentait dès la naissance une pathologie grave avec détresse respiratoire nécessitant l'intubation, des fractures osseuses diaphysaires des deux avant-bras et du fémur gauche avec gracilité importante des os longs et des côtes sans atteinte rachidienne ni de la voûte crânienne et sans sclérotiques bleutées, une arthrogrypose distale des doigts qui étaient longs et fins, sans pli de flexion, et une microrétrognathie sans que l'on puisse parler de véritable dysmorphie faciale. La mobilité spontanée était très réduite. Il n'y avait pas de malformations viscérales. Les bilans métabolique et phosphocalcique sont restés normaux. Le caryotype était 46 XX. L'EEG et l'IRM cérébrale n'étaient pas évocateurs d'une atteinte neurologique centrale. L'enfant devait décéder à 30 jours de vie. L'examen post-mortem confirmait l'absence de pathologie osseuse, si ce n'est un discret retard d'ossification diaphysaire et la normalité des cellules de la corne antérieure de la moelle. Il révélait une pathologie musculaire sévère avec complète désorganisation de la structure interne des fibres musculaires et importante augmentation du tissu conjonctif interstitiel, sans lésions évocatrices d'une myopathie mitochondriale.

103. Génétique clinique et dysmorphologie

DEL RUE Marie-Ange, Lacombe D

Service de Génétique Hôpital Pellegrin-Enfants - Bordeaux

RISQUE TUMORAL DANS LE SYNDROME DE COSTELLO :

Depuis la description initiale de Costello en 1971, près de 100 patients ont été rapportés. L'anamnèse et le suivi de ces patients ont montré un risque significativement augmenté de développer des tumeurs malignes solides. Ce risque tumoral avoisine les 15%, comme ce qui est observé dans le syndrome de Beckwith-Wiedemann.

Les tumeurs rapportées correspondent à des neuroblastomes (3 cas), apparus avant l'âge de 5 ans ; des cancers de la vessie (2 cas), diagnostiqués devant une hématurie chez des enfants de plus de 10 ans ; 1 cas d'épithélioma de la région cervicale ; 1 cas de schwannome vestibulaire ; et surtout des rhabdomyosarcomes (8 cas), le plus souvent de type embryonnaire et de localisation pelvienne, apparaissant généralement avant 5 ans. Dans ces cas, il faut signaler que le diagnostic de syndrome de Costello a été porté après celui de rhabdomyosarcome chez 5 sujets.

Ces constatations rendent nécessaire une surveillance clinique régulière, tout particulièrement neurologique, et paraclinique afin de dépister précocément ces tumeurs. Le protocole de surveillance suivant pourrait être proposé :

-avant l'âge de 5 ans :

- dosage des catécholamines plasmatiques et leurs métabolites urinaires tous les 6 mois
- échographie abdomino-pelvienne, tous les ans jusqu'à 5 ans, puis tous les 3 à 4 mois jusqu'à la puberté

-à partir de 10 ans : recherche d'hématurie tous les ans.

Finalement, l'observation de ces tumeurs et leur fréquence élevée peut faire évoquer la possibilité d'un gène du développement ayant une fonction de suppresseur de tumeur dans le déterminisme du syndrome de Costello

104. Erreurs Innées du Métabolisme

BENIT Paule¹, Corral-Debrinsky Marisol², de Lonlay Pascale¹, Beugnot Réjane³, Issartel Jean-Paul³, Chretien Dominique¹, Munnich Arnold¹, Rustin Pierre¹, Rôtig Agnès¹

1 INSERM U393, Hôpital Necker-Enfants Malades Paris France
2 UMR 8541, Ecole Normale Supérieure, Paris

3 Laboratoire de BioEnergétique Cellulaire et Pathologique, Département de Biologie Moléculaire et Structurale, CEA, Grenoble Cedex 9

MUTATIONS DU GÈNE NDUFV2 DANS UN DÉFICIT DU COMPLEXE I DE LA CHAÎNE RESPIRATOIRE.

Le complexe I est le plus grand complexe de la chaîne respiratoire mitochondriale et les déficits de ce complexe représentent la cause la plus fréquente de maladies mitochondriales. Les protéines de ce complexe sont codées par 7 gènes mitochondriaux et plus de 35 gènes nucléaires. NDUFV2 code une sous-unité de 24 kDa contenant un centre fer-soufre. Dans le but d'identifier les bases moléculaires des déficits du complexe I, nous avons étudié le gène NDUFV2 dans une série de 40 patients avec un déficit isolé en complexe I. La séquence codante de NDUFV2 a été amplifiée après reverse transcription à partir d'ARN extraits de fibroblastes en culture puis analysée par D-HPLC. Les fragments présentant un profil d'éluion anormal ont été ensuite séquencés. Nous avons identifié une mutation de NDUFV2 chez un patient, né de parents consanguins, et présentant une cardiomyopathie, une hypotonie et un retard de croissance. La séquence de l'ADNc et du gène de NDUFV2 a montré l'existence d'une délétion de l'exon 2 due à une délétion de 4 paires de bases dans l'intron 2 au niveau du site d'épissage. La protéine résultante perd les acides aminés 19 à 40 qui constituent une partie de la séquence d'adressage mitochondriale. L'analyse par western blot des mitochondries de fibroblastes du patient a montré une réduction de 30-40% de la protéine NDUFV2 par rapport au contrôle. Ce cas est le premier exemple de mutation de NDUFV2 dans un déficit du complexe I associé à une cardiomyopathie.

105. Erreurs Innées du Métabolisme

GOBIN Stéphanie^{1,2}, BONNEFONT Jean-Paul^{1,2}, PRIP-BUUS Carina³, FERREC Magali¹, DEMAUGRE France⁴, SAUDUBRAY Jean-Marie⁵, ROSTANE Hidayeth¹, DJOUADI Fatima², THUILLIER Laure^{1,2}

1 Laboratoire de biologie moléculaire, Biochimie B Hôpital Necker-Enfants Malades Paris

2 INSERM U393, tour Lavoisier 4ème étage Hôpital Necker-Enfants Malades Paris

3 CNRS UPR1524, Hôpital Cochin, Paris

4 INSERM U370, Hôpital Necker, Paris

5 Département de pédiatrie, Hôpital Necker

CARACTÉRISATION DE L'ORGANISATION DU GÈNE HUMAIN DE LA CPT1A: CONTRIBUTION À L'ANALYSE MOLÉCULAIRE DES PATIENTS DÉFICITAIRES.

La CPT1 est une enzyme clé du transport des acides gras à longue chaîne vers la matrice mitochondriale, siège de la b-oxydation. Elle comporte deux isoformes, les CPT1A (foie-spécifique) et CPT1B (muscle-spécifique). En pathologie humaine, le déficit en CPT1A se caractérise par des accès d'hypoglycémie hypocétotique de jeûne chez l'enfant. L'identification des mutations, qui permet d'orienter la prise en charge thérapeutique des patients, contribue aussi à dépister les apparentés en vue d'un conseil génétique. Jusqu'à présent, cette analyse moléculaire était effectuée à partir de l'ADNc, dont seule la séquence était connue. Cependant, afin de pouvoir identifier certaines mutations au niveau génomique, nous avons établi l'organisation du gène de la CPT1A. Ce gène, d'une taille supérieure à 60 kb, est composé de 19 exons. Deux sites d'initiation de la transcription ont été définis au niveau de l'exon 1. Un signal de polyadénylation fonctionnel a été caractérisé 950 pb en aval du codon stop, et nos résultats suggèrent l'existence d'un deuxième signal 900 pb en aval du premier. Trois promoteurs putatifs comportant de nombreux facteurs transcriptionnels ainsi que des sites consensus PPRE et TRE

impliqués dans la régulation de l'expression de gènes du métabolisme ont été identifiés. L'analyse moléculaire de quatre patients déficitaires en CPT1A nous a permis d'identifier six nouvelles mutations: Q100X, A414V, Y498C, 1876-1G>A, IVS13+85 et une large délétion de 8 kb. Ainsi, la caractérisation de l'organisation du gène contribue d'une part à favoriser l'identification de nouvelles mutations, et d'autre part à analyser les mécanismes impliqués dans l'expression du gène.

106. Erreurs Innées du Métabolisme

HOLDER-ESPINASSE Muriel¹, VUILLAUMIER Sandrine², DIB Anne³, BRUNELLE Francis³, THIBAUD Elisabeth³, GOLDENBERG Alice³, Arnold MUNNICH³, Nathalie SETA², Valerie CORMIER-DAIRE³

¹ Institute of Child Health 30Guilford Street 13 Londres Angleterre

² Hôpital Bichat, Paris

³ Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris

ASPECTS CLINIQUES, BIOCHIMIQUES ET MOLÉCULAIRES CHEZ 3 ADULTES PRÉSENTANT UN SYNDROME CDG DE TYPE IA

Le syndrome CDG (Congenital Disorder of Glycosylation) est une nouvelle classe d'erreurs innées du métabolisme affectant la synthèse des glycanes des glycoprotéines. Différents groupes sont décrits (I a-f, II a-b) en fonction de l'anomalie de glycosylation. Le type Ia est le plus fréquent (80%), et correspond à un déficit en phosphomannomutase (PMM2, 16p13).

Nous décrivons les aspects cliniques, biochimiques et moléculaires chez 3 patientes présentant un syndrome CDG de type Ia diagnostiqué après l'âge de 15 ans. Toutes présentaient un retard des acquisitions, un strabisme, une absence de signe pubertaire secondaire à une insuffisance ovarienne primitive et une hypoplasie du cervelet. Le retard mental était constant mais modéré; l'une des patientes a suivi une scolarité normale mais a présenté une décompensation psychiatrique à type de bouffée délirante aiguë à l'âge de 26 ans. Deux patientes présentaient des signes d'ataxie cérébelleuse ainsi qu'une rétinite pigmentaire avec altération de l'électrorétinogramme. Aucun signe systémique n'était observé (diarrhée, tubulopathie, péricardite) et les mensurations étaient normales. Le profil de la transferrine était anormal en Western Blot chez 2/3 patientes et le déficit en phosphomannomutase était profond dans les 3 cas. Au niveau moléculaire, nos 3 patientes étaient hétérozygotes composites (R162W/T237R; R162W/IVS3+1 G>A; R141H/T226S).

En conclusion, l'association d'un strabisme, d'un retard mental modéré, et d'une aménorrhée primaire chez une adolescente doit faire évoquer le diagnostic de syndrome CDG de type Ia, et conduire au dosage enzymatique de la phosphomannomutase.

107. Erreurs Innées du Métabolisme

DJOUADI Fatima, BONNEFONT J.P, MUNNICH A, BASTIN J

INSERM U393 Hôpital Necker-Enfants Malades, Tour Lavoisier 129 rue de Sèvres - Paris France

MYOPATHIES MÉTABOLIQUES ET DÉFICITS DE B-OXYDATION DES ACIDES GRAS: NOUVELLES APPROCHES DIAGNOSTIQUES

Les déficits héréditaires de la bêta-oxydation mitochondriale des acides gras (OAG) se traduisent fréquemment par des atteintes musculaires, pouvant varier d'une simple intolérance à l'effort chez l'adulte, à des atteintes cardiaques sévères avec hypotonie survenant dès la naissance, éventuellement accompagnées d'autres atteintes systémiques. Compte tenu de l'hétérogénéité clinique des déficits de l'OAG, il apparaît vraisemblable que leur incidence réelle reste sous-estimée, ceci d'autant plus que les outils diagnostiques actuels ne permettent pas d'évaluer l'hypothèse d'un déficit spécifiquement musculaire d'enzymes de l'OAG. Pour palier à ce problème, nous développons une méthodologie permettant d'évaluer les capacités d'oxydation des acides gras à chaîne longue dans des mitochondries et dans des cellules satellites isolées à partir d'une biopsie musculaire standard. Nous avons ainsi pu établir les conditions de mesure

polarographique de la respiration mitochondriale en présence de palmitoylCoA (PCoA), substrat de la CPT1-M (isoforme musculaire de la carnitine palmitoyl transférase de type 1), ainsi qu'en présence de palmitoyl-L-carnitine (Pcar), substrat de la CPT2 (carnitine palmitoyl transférase de type 2). Les moyennes SD (n=10 biopsies) sont de 22,2±7,5 et de 24,3±5,9 nanomoles d'oxygène/minute/mg protéines en présence de PCoA et de Pcar, respectivement, avec un rapport Pcar/PCoA stable (1,3±0,2). La Vmax d'oxydation du palmitate tritié (9,10(n)-3H) par les cellules musculaires en culture primaire, obtenue uniquement en présence de carnitine, ressort à 5±0,5 nanomol 3H2O/h/mg prot. Cette étude des capacités mitochondriales et cellulaires d'OAG fournit un nouveau test pour l'exploration des myopathies métaboliques d'origine inconnue.

108. Génétique du Développement

GORRY Philippe¹, BOUTET Nathalie¹, CHARTIER Gaël¹, LAFON Delfine¹, DROUIN-GARRAUD Valérie², SARDA Pierre³, GRIFFITHS Didier⁴, LONGY Michel¹, LACOMBE Didier⁴

¹ Laboratoire de Génétique Oncologique Institut Bergonié 180 rue St-Genès - Bordeaux France

² Unité de Génétique Clinique, CHU de Rouen

³ Unité de Génétique Médicale, CHU de Montpellier

⁴ Service de Génétique Médicale, CHU de Bordeaux

PATHOLOGIE MOLÉCULAIRE DES GÈNES DE LA VOIE DE SIGNALISATION HEDGEHOG.

Les Hedgehogopathies réunissent un ensemble de syndromes dysmorphiques héréditaires se caractérisant par une altération de la voie de signalisation Hedgehog chez les vertébrés. De nombreux acteurs de cette voie de transmission ont été identifiés par des études génétiques chez la Drosophile; leurs homologues chez l'homme sont autant de gènes candidats impliqués dans des syndromes dysmorphiques.

Chez l'homme, Sonic Hedgehog est muté dans l'Holoprosencéphalie, Patched dans le syndrome de Gorlin, et GLI-3, homologue du gène Cubitus interruptus de Drosophile est à l'origine du syndrome de Greig, et du syndrome de Pallister-Hall. Son co-activateur, le facteur de transcription CBP est muté dans le syndrome de Rubinstein-Taybi. Enfin l'un des gènes cibles de shh, Pitx2, est responsable du Syndrome de Rieger.

Ainsi nous avons mis en place le diagnostic génétique du syndrome de Gorlin (OMIM 180500), du syndrome de Greig (OMIM 175700) et Pallister-Hall (OMIM 146510) ainsi que du syndrome de Rieger (OMIM 180500). Ce travail nous a amené à considérer les relations phénotypes-génotypes de ces différentes maladies héréditaires. Nous rapportons 9 nouvelles mutations du gène Patched, 4 nouvelles mutations du gène Gli3 et 1 nouvelle mutation du gène Pitx2. Alors qu'il existe une corrélation entre le spectre de mutations du gène Gli3 et les syndromes de Greig et Pallister-Hall, aucune corrélation n'est retrouvée dans le syndrome de Gorlin. Enfin le syndrome de Rieger se caractérise par une importante hétérogénéité génétique. Données cliniques et résultats moléculaires seront discutés en fonction de nos connaissances de la voie de signalisation Hedgehog acquises chez les vertébrés.

109. Génétique du Développement

BITOUN Pierre¹, Gaudelus Joel², Benzacken Brigitte³ 1 Hôpital Jean Verdier, Génétique Médicale C.H.U. Paris-Nord ave du 14 Juillet - BONDY France

² Pédiatrie

³ Embryo Cytogénétique et Biologie de La reproduction

CATARACTES ET GLAUCOME: LES FACTEURS DE TRANSCRIPTION IMPLIQUÉS DANS LE DÉVELOPPEMENT DU SEGMENT ANTERIEUR OCULAIRE

Un certain nombre de facteurs de transcriptions comme PITX2, PITX3, FOXC3 etc.. ont été récemment impliqués dans le développement du segment antérieur de l'œil mais aussi du cerveau, de l'hypophyse ou du cœur chez l'animal et chez l'homme.

Ces gènes peuvent être le site non seulement de mutations mais de délétions et ou de duplications qui mettent en lumière l'importance du dosage génique de ces facteurs de transcription pour le bon fonctionnement d'un développement oculaire harmonieux.

Un résumé des gènes connus et de leur mutations identifiées sera présenté ainsi que l'implication de ces données en pathologie humaine et pour le conseil génétique.

110. Cytogénétique

RIO Marlene¹, MOREL F¹, PIGNOT V¹, MOLINARI F¹, HEUERTZ S¹, TURLEAU C¹, de BLOIS MC², RAOUL O², PRIEUR M², ROMANA S², VEKEMANS M², MUNNICH A¹, COLLEAUX L¹

1 INSERM U393 Hôpital Necker-Enfants Malades 149 rue de sevrès - PARIS FRANCE

2 Service de Cytogénétique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France

RETARD MENTAL ET ANOMALIES DES TELOMERES: LECONS D'UNE ETUDE PILOTE DE GENOTYPAGE AUTOMATIQUE

Le retard mental (RM) est un handicap fréquent qui touche 2 à 3% de la population générale. Malgré les récents progrès de la cytogénétique, de la biochimie et de la biologie moléculaire, 40 % des RM sévères et la grande majorité des RM légers demeurent encore inexpliqués, on parle alors de RM idiopathiques.

Plusieurs études récentes ont montré que des remaniements de petite taille, intéressant l'extrémité télomérique des chromosomes et indétectable par les techniques classiques de cytogénétiques, étaient à l'origine d'un nombre significatif de RM idiopathiques. Nous avons récemment développé une nouvelle technique de détection de ces anomalies basée sur le génotypage automatique pour identifier des cas de ségrégation anormale de marqueurs télomériques. Les résultats d'une étude pilote ont confirmé l'efficacité et la sensibilité de cette approche qui offre de plus un outil unique pour détecter les disomies uniparentales.

Nous présentons ici les résultats d'une étude plus complète portant sur 135 enfants. 14 anomalies télomériques ont été caractérisées (12 duplications et délétions et 2 disomies uniparentales), confirmant l'efficacité de cette approche. Nos résultats suggèrent également la prévalence des anomalies d'origine paternelle. Enfin, ils illustrent les difficultés rencontrées dans certains cas pour démontrer la pathogénicité du remaniement ainsi que la variabilité phénotypique des signes cliniques associées à des remaniements intéressants les mêmes extrémités chromosomiques.

111. Cytogénétique

FARRA Chantal¹, Higgins AW^{1,2}, Lemyre E³, Bruns GAP¹, Gusella JF¹, Korf BR¹, Herrick SR¹, Ligon AH¹, Lewis J¹, Maas RL¹, McDonald ME¹, Michelson AM¹, Quade BJ¹, Morton CC¹

1 Harvard Medical School BOSTON USA

2 Brigham and Women's hospital

3 Hôpital Ste Justine Montreal

DEVELOPMENTAL GENOME ANATOMY PROJECT (DGAP): PROJET DE LOCALISATION ET D'IDENTIFICATION DE GENES IMPLIQUES DANS LE DEVELOPPEMENT HUMAIN À PARTIR DES REMANIEMENTS CHROMOSOMIQUES ÉQUILIBRÉS

Les remaniements chromosomiques équilibrés concernent un nouveau-né sur 2000. Dans 6.1% des cas, il existe des manifestations phénotypiques associées. Le Developmental Genome Anatomy Project (DGAP), a pour but de localiser et d'identifier des gènes impliqués dans le développement humain qui sont interrompus ou dérégulés par des réarrangements chromosomiques équilibrés chez des patients porteurs d'une ou de plusieurs anomalies congénitales.

La première étape de DGAP consiste à localiser le plus précisément possible les points de cassure au niveau des réarrangements chromosomiques par la méthode de FISH, en utilisant des sondes d'une librairie de BACs distants de ~ 1 Mb.

La deuxième étape comprend une analyse de séquence et une identification des gènes candidats dans la région de cassure chromosomique. Les gènes candidats ainsi identifiés, sont ensuite étudiés à l'aide de modèles animaux (souris ou drosophiles).

Depuis le début de DGAP en 1998, un réseau de collaboration dont l'activité est sans cesse croissante a été établi avec des cytogénéticiens, des généticiens cliniciens et des conseillers génétiques à travers les Etats-Unis et ailleurs.

Jusqu'à présent, plus de 90 cas ont été recueillis et nous avons pu localiser 11 points de cassure, tous compris dans un intervalle de ~1 Mb. Trois de ces points de cassure ont été localisés à l'intérieur d'une sonde BAC unique. Ces cas sont en cours d'analyse moléculaire. Et trois autres ont été localisés entre 2 sondes BACs distantes de ~ 90 kb, ~ 100 kb, et ~ 200 kb. Avec les développements rapides qui accompagnent le projet Genome Humain, nous estimons que notre projet DGAP est une ressource importante pour les scientifiques dans les domaines de la génétique et de la biologie du développement.

112. Cytogénétique

BENZACKEN Brigitte Hôpital Jean Verdier Laboratoire de cytogénétique et biologie de la reproduction - Bondy France
Pipiras E, Siffroi JP, Moiro H, Bauman C, Bitoun P, Burglen L, Heron D, Billette de Villemeur T, Wolf JP

APPLICATION DES SONDES TELOMERIQUES DANS LES BILANS DE FCS ET LES RETARDS MENTAUX : COMPARAISON AVEC LA CGH EN HAUTE RESOLUTION

OBJECTIFS : Les remaniements chromosomiques déséquilibrés impliquant les télomères apparaissent comme une cause fréquente de retards mentaux, particulièrement si ces derniers sont associés à une dysmorphie. Certains auteurs ont suggéré qu'ils pourraient être également responsables de fausses couches spontanées à répétition. Le but de cette étude a été de mesurer l'incidence des anomalies chromosomiques cryptiques dans deux populations différentes en utilisant la FISH sur télomères et la CGH a) des enfants présentant un retard mental idiopathique associé à une dysmorphie b) des couples ayant présenté au moins trois FCS inexpliquées.

RESULTATS : L'analyse en FISH télomérique a été réalisée chez 140 enfants atteints chez lesquels 12 anomalies (8,5%) ont été détectées dont seulement 3 avaient été suspectées lors de l'établissement du caryotype en haute résolution. Parmi les anomalies cryptiques, cinq impliquaient le télomère 22q et au moins trois étaient héritées, présentant un risque de récurrence important. Dans cette population, 50 sujets ont été testés en aveugle par CGH. Notre étude a aussi porté sur 114 patients (57 couples) présentant des FCS à répétition inexpliquées. 7 couples dans cette population présentaient une anomalie visible au caryotype, mais aucune anomalie cryptique n'a été retrouvée en FISH sur télomères.

CONCLUSION : La FISH sur télomères présente un intérêt diagnostique dans les retards mentaux mais n'est pas un examen approprié dans les bilans de FCS. L'apport de la CGH sur haute résolution est discutée.

113. Cytogénétique

SANLAVILLE Damien¹, VIALARD F¹, GEKAS J², VUEDROIT L³, CORRE A⁴, DEVAUCHELLE B⁵, MARTINDENAVIT T¹, NIZARD P¹, THEPOT F², TAILLEMITE JL¹, PORTNOI MF¹

1 Laboratoire de cytogénétique Hôpital Saint Antoine 184 rue du Faubourg Saint-Antoine PARIS CEDEX 12 FRANCE

2 Laboratoire de cytogénétique, CHU d'Amiens

3 Service de pédiatrie, CHU de Saint Quentin

4 Service d'ORL, hôpital Trousseau, Paris 12

5 Service de chirurgie maxillo-faciale, CHU d'Amiens

RÉVERSION SEXUELLE COMPLÈTE SECONDAIRE À UNE DISOMIE FONCTIONNELLE XP INCLUANT LE GÈNE DAX1 PAR T(X;Y)(P21.2;P11.3)

Les translocations impliquant les bras courts des chromosomes X et Y sont extrêmement rares. Une des conséquences les plus connues correspond aux hommes XX et beaucoup plus rarement

aux femmes XY, secondaire à une translocation du gène SRY responsable d'une réversion sexuelle complète. Ces translocations peuvent se traduire par des remaniements plus importants, avec disomie fonctionnelle du bras court de l'X, incluant le locus DSS et se manifestant alors par une réversion sexuelle associée à un phénotype anormal. Nous rapportons l'observation d'une petite fille âgée de 7 mois ayant un retard psychomoteur sévère, une hypotrophie modérée, une dysmorphie faciale et des malformations : fente palatine, insuffisance mitrale avec foramen ovale perméable, dilatation ventriculaire cérébrale bilatérale, agénésie du corps calleux, et anomalies des vertèbres cervicales. Les organes génitaux externes sont de type féminin normaux. L'analyse cytogénétique montre un caryotype avec 46,X,+mar. Le caryotype des parents est normal. Les techniques de FISH avec des sondes de peinture, de centromères de l'X et de l'Y ont permis d'identifier le marqueur chromosomique comme un der(Y)t(Xp;Yp). Des études complémentaires avec des sondes de séquence unique de l'X et de l'Y ont précisé les points de cassure et démontré la présence de deux copies de DAX1 dont une sur le der(Y). Le der(Y) est constitué d'un chromosome Y en entier avec SRY présent et sur lequel est transloqué un segment Xp. La formule chromosomique peut donc s'écrire : 46,X,der(Y)t(X;Y)(p21.2;p11.3). Le tableau clinique de l'enfant résulte donc d'une disomie fonctionnelle Xp21.2-pter, avec réversion sexuelle complète liée à la présence de deux copies actives du gène DAX1 localisé en Xp21. Une vingtaine de cas de disomie Xp avec réversion sexuelle ont été rapportées, essentiellement liées à des duplications Xp ou plus rarement par translocation Xp;Yq. Il s'agit, à notre connaissance du deuxième cas décrit de t(Xp;Yp) avec réversion sexuelle liée à l'expression à double dose du gène DAX1. Cette observation nous amène à discuter les gènes impliqués dans la détermination du sexe ainsi que le tableau clinique des disomies fonctionnelles Xp.

114. Cytogénétique

MARTIN DENAVIT Tanguy¹, SANLAVILLE Damien¹, GRILLON Christophe², NIZARD Patrice¹, BURGLÉN Lydie³, TAILLEMITE Jean Louis¹, PORTNOI Marie France¹

¹ Laboratoire de Cytogénétique et d'Embryologie pathologique Hôpital Saint Antoine PARIS France

² Service de Néonatalogie Hôpital A. Trousseau PARIS 12

³ Service de Génétique Médicale Hôpital A. Trousseau PARIS 12

UNE OBSERVATION RARE DE SYNDROME DE CAT-EYE AVEC UN PHENOTYPE SEVERE

Le syndrome de Cat Eye est un syndrome polymalformatif rare caractérisé par une grande variabilité phénotypique, le plus souvent modéré. Les principales anomalies décrites sont un colobome oculaire, des anomalies préauriculaires, des anomalies anales, des malformations cardiaques et rénales et un retard mental léger à modéré. Il est lié à la présence d'un chromosome surnuméraire dicentrique et bisatellisé dérivé du chromosome 22 (duplication inversée du chromosome 22) réalisant une tétrasomie 22q11 proximale.

Nous présentons l'observation d'un syndrome de Cat eye avec un phénotype sévère. Il s'agit d'une petite fille née à terme avec une hypotrophie (poids <10e p) et une microcéphalie (<5ep). Aucun signe particulier n'a été noté en anténatal en dehors de l'hypotrophie à 22 SA.

Ce nouveau-né, 2ième de la fratrie sans histoire familiale connue, a présenté d'emblée une détresse respiratoire importante avec apnées-bradycardie. Il existe une hypotonie et une importante dysmorphie craniofaciale avec une agénésie complète et bilatérale de l'oreille externe, un colobome de l'iris et chorioretinien bilatéral, un hypertélorisme, des fentes palpébrales orientées en bas et en dehors. L'examen retrouve la persistance d'un canal artériel, une petite sténose aortale, ainsi qu'une souffrance hépatique avec cholestase et cytolysse d'installation progressive. L'évolution a été marquée par la survenue d'une septicémie avec méningite à E. Coli K1, responsable de convulsions. Le décès est survenu à 1 mois de vie lors d'accès d'apnées-bradycardie répétées. L'étude cytogénétique standard montre sur l'ensemble des métaphases observées un caryotype à 47 chromosomes avec présence d'un

petit chromosome surnuméraire bisatellisé et dicentrique. Une étude en hybridation *in situ* en fluorescence à l'aide de sondes centromériques 14/22 et de sondes de peinture du 22 confirme l'origine du marqueur surnuméraire. Il est constitué d'une inversion duplication du bras court et de la région proximale du bras long d'un chromosome 22. Le caryotype des parents est normal.

Il s'agit donc d'une forme sévère de syndrome de Cat Eye. Elle confirme la grande variabilité phénotypique non expliquée de cette pathologie. Ceci doit être pris en compte lors du conseil génétique surtout si l'anomalie est découverte en anténatal.

115. Cytogénétique

SANLAVILLE Damien, PRIEUR M, De BLOIS MC, LAPIERRE JM, OZILOU C, ESTRADE C, GOSSET P, MUNNICH A, CORMIER-DAIRE V, ROMANA SP, VEKEMANS M, TURLEAU C

Département de Génétique Hôpital Necker Enfants Malades 149 rue de Sèvres PARIS FRANCE

DEUX CAS DE DISOMIE FONCTIONNELLE XQ28 DÉTECTÉES À L'AIDE DES SONDES SUBTÉLOMÉRIQUES.

Un segment Xq28 additionnel transloqué sur le bras long d'un autosome a été observé chez deux patients. Le premier patient est un garçon présentant un retard mental inexpliqué et un caryotype normal (550 bandes). L'exploration en CGH a détecté un gain de la bande Xq28. L'utilisation de peintures et de sondes subtélomériques a permis de montrer la présence d'un segment Xq28 additionnel en 10qter. Le point de cassure est distal à la sonde subtélomérique 10q qui n'est pas déléetée. Cette translocation déséquilibrée der(10)t(X;10)(q28;qter) est apparue *de novo*. Le deuxième patient est une fille pour qui un remaniement télomérique en 4q a été suspecté sur le caryotype haute-résolution. Un seul signal d'hybridation est visible avec la sonde subtélomérique 4q. L'utilisation des 41 sondes subtélomériques a montré la présence d'un signal en 4q avec la sonde Xq. Cette translocation déséquilibrée der(4)t(X;4) est apparue *de novo*. Dans les deux cas la translocation déséquilibrée est responsable d'une disomie fonctionnelle pour le segment Xq28 pouvant expliquer les manifestations cliniques observées chez les deux patients. Dix garçons avec une duplication du segment Xq terminal ont été décrit dans la littérature, mais, à notre connaissance, il s'agit de la première observation de disomie fonctionnelle homogène Xq28 rapportée chez une fille. La comparaison des phénotypes des deux patients avec ceux préalablement rapportés permet de décrire une dysmorphie faciale comportant une face large et une microstomie associée à un retard mental sévère. Il est probable que l'utilisation des sondes subtélomériques conduira à une détection plus fréquente de ce type rare de réarrangement.

116. Cytogénétique

FRANCES Anne Marie¹, RABOURDIN Sylvaine¹, MISSIRIAN Chantal², LAMBERT Jean Claude³, MATTEI Marie Geneviève⁴, MONCLA Anne²

¹ Service de Génétique C.H.I.T.S. B.P.1412 TOULON FRANCE

² Département de Génétique Médicale Hôpital d'Enfants de la Timone Marseille

³ Service de Génétique Hôpital l'Archet, Nice

⁴ INSERM U491, Marseille

TRANSLOCATION CRYPTIQUE ET DEMARCHE DIAGNOSTIQUE GLOBALE: A PROPOS D'UNE OBSERVATION ORIGINALE D'UNE TRISOMIE 19q

Les trisomies subtélomériques des bras longs du chromosome 19 ont rarement été rapportées en pathologie humaine. Le déséquilibre de cette région, riche en gènes, est susceptible d'entraîner des tableaux polymalformatifs très sévères.

Nous présentons l'observation originale d'une enfant porteuse d'une trisomie 19q distale, résultant d'une malségrégation d'une micro-translocation paternelle. Cette enfant, décédée à J3, présentait un tableau évoquant un syndrome de Brachman De Lange. Son caryotype avait été interprété comme normal.

La grossesse suivante a été interrompue par une Mort Fœtale *In utero*. L'examen fœtopathologique révélait un syndrome polymalformatif. Dans un tel contexte, une étude critique du dossier clinique nous conduit d'une part à remettre en cause le diagnostic syndromique, d'autre part à envisager l'hypothèse d'une anomalie chromosomique cryptique.

L'étude cytogénétique parentale, réalisée avec des méthodes conventionnelles, a permis de suspecter un microremaniement impliquant un des télomères du chromosome 19 chez le père. La Haute résolution et la cytogénétique moléculaire, ont confirmé cette hypothèse avec identification d'une micro-translocation cryptique: 46,Xy,t(9;19)(q34.2;q13.3)

La mise en évidence de ce remaniement équilibré a permis :

*un diagnostic étiologique à posteriori pour l'enfant décédé à J3, de trisomie 19q et Monosomie 9q, à partir d'une culture fibroblastique conservée.

*un diagnostic de récurrence d'un déséquilibre pour le fœtus décédé *in utero*,

*un Conseil Génétique parental avec possibilité de DPN.

Cette observation souligne parfaitement la nécessité d'une démarche diagnostique globale intégrant l'ensemble des données cliniques, anatomiques (fœtopathologie), et cytogénétiques.

117. Cytogénétique

VIALARD François¹, SANLAVILLE Damien¹, MARTIN-DENAVIT Tanguy¹, CHRISTIN-MAITRE Sophie², ESTEVA B³, NOUCHY¹, NIZARD Patrice¹, TAILLEMITE Jean-Louis¹, PORTNOI Marie France¹

1 Laboratoire de Cytogénétique CHU Saint Antoine 184 Rue du Faubourg Saint Antoine Paris

2 Service d'endocrinologie CHU Saint Antoine

3 Service d'endocrinologie Hôpital Trousseau

LOCALISATION DE 3 POINTS DE CASSURES AU LOCUS POF2 CHEZ DES PATIENTES AVEC TRANSLOCATIONS X-AUTOSOME ET INSUFFISANCE OVARIENNE PRÉMATURÉE.

Les translocations équilibrées X-autosome chez la femme peuvent avoir des conséquences phénotypiques variées, fonction en grande partie de la position des points de cassure sur l'X et du mode de réplication des chromosomes X. Elles peuvent en particulier s'accompagner d'un dysfonctionnement ovarien. Il s'agit habituellement d'une insuffisance ovarienne prématurée (IOP) caractérisée par une absence d'ovulation avec élévation des gonadotrophines sériques avant l'âge de 40 ans. Dans la majorité des cas, les points de cassures sur l'X sont situés dans la région critique impliquée dans le développement ovarien Xq13-q26. Deux locus ont été identifiés: POF1 (Xq26-q27) et POF2 (Xq13-q21).

Nous rapportons trois nouvelles observations d'IOP avec translocation X-autosome. Deux patientes ont une ménopause précoce, l'une à l'âge de 31 ans, l'autre à 35 ans après avoir eu un enfant normal. La troisième patiente est âgée de 17 ans et a consulté pour aménorrhée primaire avec retard pubertaire.

Il s'agit respectivement des translocations: 46,X,t(X;9)(q21.1;q21.2), 46,X,t(X;7)(q13.3;q32), 46,X,t(X;1)(q13.3;q21.1). L'étude de la réplication des chromosomes X sur les lymphocytes est typique des translocations X-autosome équilibrées. Elle montre une réplication tardive de l'X normal et une réplication précoce de l'X transloqué. Les points de cassure sur l'X sont proches dans la région proximale de la région critique, au niveau du locus POF2. Les premiers résultats, de l'étude de la localisation fine par FISH, montrent 3 points de cassures différents sur le chromosome X. Ils confirment l'hypothèse de l'existence de plusieurs gènes candidats impliqués dans le développement ovarien au locus POF2.

118. Cytogénétique

MOREL Frédéric¹, Bernicot Izabel¹, Le Bris Marie-Josée¹, Herry Angèle¹, Amice Jean¹, Amice Véronique¹, Le Martelot Marie-Thérèse², CHU Brest, Roche Sylvie², Parent Philippe³, De Braekeleer Marc¹

1 Service de cytogénétique, cytologie et biologie de la reproduction, UBO Faculté de médecine 22, avenue Camille Desmoulins - Brest cedex France

2 Service de gynécologie, obstétrique et médecine de la reproduction

3 Département de pédiatrie et génétique médicale, CHU Brest

RISQUE D'ANEUPLOIDIE DANS LA DESCENDANCE D'UN HOMME PRESENTANT UN SYNDROME DE KLINEFELTER

Le but de ce travail est d'étudier, par hybridation *in situ* fluorescente, la ségrégation méiotique des chromosomes 7, 9, 13, 18, 21 et des gonosomes chez un homme présentant un caryotype somatique 47,XXY.

L'examen du sperme révèle chez le patient une oligoasthénospermie (OAT). Ses spermatozoïdes et ceux d'un homme 46,XY (contrôle) ont été analysés en triple FISH X-Y-18, double FISH 7-9 et double FISH 13-21. Un minimum de 5000 spermatozoïdes a été étudié pour chaque hybridation.

Les fréquences de disomies gonosomiques sont de 2,06% (XY : 1,02%, XX : 0,63% et YY : 0,41%) pour le patient, soit un taux d'anomalies des chromosomes sexuels 6 fois supérieur à celui du témoin. Par ailleurs, nous avons trouvé également une augmentation significative des fréquences de diploïdies (0,92% chez notre patient vs 0,08% chez le contrôle) et de disomies 13, 18 et 21 (0,78%, 0,47%, 0,98% chez notre patient vs 0,26%, 0,12%, 0,38% chez le contrôle).

Selon nos résultats, le risque d'aneuploïdies gonosomiques mais aussi autosomiques pourrait être supérieur dans la descendance des hommes présentant un syndrome de Klinefelter à celui observé dans la population générale. Cependant, de nombreuses études ont montré une augmentation des fréquences des aneuploïdies dans le sperme de sujets avec une OAT ayant recours à l'ICSI, et dont le caryotype somatique est normal. Cette observation peut être rapprochée de la mise en évidence d'une augmentation des fréquences des anomalies chromosomiques chez les enfants nés après ICSI.

En conclusion, l'augmentation du risque d'engendrer un enfant aneuploïde serait plutôt associée à l'OAT qu'au syndrome de Klinefelter.

119. Cytogénétique

RIO Marlène, Sanlaville D., Cormier-Daire V., C.Turleau C., Viot G., Prieur M., de Blois MC., Vekemans M, Munnich A., Colleaux L., Raoul O.

Département de Génétique tour Lavoisier Hôpital Necker-Enfants Malades - Paris cedex 15 France

DÉLÉTIONS SUBTÉLOMÉRIQUES 1P36 : PHÉNOTYPE ET CARACTÉRISATION MOLÉCULAIRE D'UN NOUVEAU SYNDROME MICRODÉLÉTIONNEL

La délétion subtélomérique du bras court du chromosome 1 (1p36) est un syndrome microdélétionnel fréquent caractérisé par un retard mental et une dysmorphie faciale.

Au cours des deux dernières années, à l'occasion du bilan étiologique d'un retard psychomoteur, nous avons diagnostiqué une délétion 1p36 *de novo* chez 4 patients âgés de 7 mois à 15 ans. La délétion était visible cytogénétiquement chez deux patients. En revanche, seule l'analyse de polymorphismes de l'ADN et/ou des techniques de FISH ont permis de détecter la délétion pour les deux autres enfants.

L'anamnèse et l'expertise clinique de ces patients ont révélé des caractéristiques communes : souffrance fœtale aigüe (4/4), retard de croissance intra-utérin (3/4), microcéphalie post-natale (3/4), absence de contact oculaire/regard fuyant (4/4), nystagmus (2/4), retard moteur (4/4), retard de langage (4/4), ataxie (3/3), convulsions (3/4), cardiopathie (2/4), dysmorphie faciale (4/4). Cette dysmorphie se caractérise par une ophtalmie (4/4), des sourcils horizontaux et bas implantés (4/4), des fentes palpébrales courtes (4/4), une racine du nez déprimée dans

l'enfance (3/3), une hypoplasie de l'étage moyen (4/4), une petite bouche (4/4), des oreilles dysplasiques (4/4), un menton pointu dans l'enfance (3/3). Cette dysmorphie évolue avec l'âge des patients : le menton devient proéminent (2/2) et la racine du nez saillante (2/2).

L'analyse de microsatellites télomériques chez les patients et leurs parents a permis de montrer que le phénotype clinique des patients est identique quelque soit la taille de la délétion (9 n18 cM) et son origine parentale (2 délétions paternelles /1 maternelle).

120. Cytogénétique

SANLAVILLE Damien¹, Romana SP¹, Lapierre JM¹, Genevieve D¹, Amiel J¹, Ozilou C¹, Le Lorch M¹, Brisset S¹, Gosset P¹, Baumann C², Lyonnet S¹, Turleau C¹, Vekemans M¹

1 Département de Génétique Hôpital Necker Enfants Malades 149 rue de Sèvres - PARIS France

2 Unité de génétique Hôpital Robert Debré, Paris

RECHERCHE D'ANOMALIES DANS L'ASSOCIATION CHARGE PAR CYTOGÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE

L'association CHARGE désigne un ensemble de malformations congénitales comprenant un colobome, une cardiopathie, une atrésie des choanes, un retard mental et/ou staturopondéral, des anomalies génitales et une dysplasie des oreilles accompagnée ou non de surdité. Actuellement, aucune étiologie n'a pu être mise en évidence. Plusieurs éléments sont en faveur d'une origine génétique, en particulier la concordance clinique chez des jumeaux monozygotes. L'hypothèse d'un remaniement chromosomique subtil a été proposée en raison des caractéristiques cliniques de l'association CHARGE. Les techniques de cytogénétique ayant rapidement évolué ces dernières années, nous avons étudié une cohorte de 27 patients présentant une association CHARGE et un caryotype normal, au moyen de deux techniques de cytogénétique moléculaire : l'hybridation génomique comparative et l'étude des extrémités subtélomériques par hybridation *in situ* fluorescente. Nous avons ainsi pu mettre en évidence 2 anomalies chromosomiques bona fide non récurrentes et non encore décrites, à savoir : un der(9) d'une t(9 ;13) ; un der(6) d'une t(4 ;6). Par ailleurs ont été notées une trisomie 3p par insertion dans un chromosome 22 et des anomalies du chromosome 9p dont la signification reste à explorer. Ces anomalies diverses sont en faveur d'une hétérogénéité génétique de l'association et vont même jusqu'à poser la question d'une base étiologique génique unique pour l'association CHARGE. L'utilisation de critères diagnostiques plus stricts permettra peut-être d'individualiser, au sein de cette association, des sous-groupes dont la nature causale sera mieux définie. En conclusion, une étude en cytogénétique classique et moléculaire apparaît aujourd'hui indispensable chez tout patient présentant une association CHARGE.

121. Cytogénétique

GUILLIER-GENCİK Zuzana¹, Coullin P², Zoorob R³, Meunier-Rotival M⁴, Crosnier C⁴, Bed'Hom B³, Bernheim A²

1 IGR 39 avenue Camille Desmoulins - Villejuif France

2 UMR 1599, IGR, Villejuif

3 FRE 2376, CNRS, Villejuif

4 INSERM U 347, Le Kremlin-Bicêtre

CONSERVATION DE LA SYNTÉNIE AU SEIN DE LA RÉGION CHROMOSOMIQUE IMPLIQUÉE DANS LE SYNDROME D'ALAGILLE SUR 300 MILLIONS D'ANNÉES.

La cartographie comparative est un outil puissant pour la compréhension de l'organisation, de la fonction et de l'évolution des génomes. Burt et coll. (Nature, 402-411; 1999) ont rapporté que l'organisation du génome humain était plus proche de celle du poulet que de la souris.

Nous avons utilisé la carte physique humaine de la région du syndrome d'Alagille, pour tester la possibilité que la synténie soit conservée dans cette région entre l'homme et le poulet. Deux gènes ont été choisis, JAGGED1 et SNAP25, pour deux raisons: ils sont localisés à une distance de 200 à 250 kb dans la région d'Alagille sur le bras court du chromosome 20 et ils sont

bien conservés entre les deux espèces. JAGGED1 est un des ligands du récepteur transmembranaire NOTCH. SNAP25 est un gène spécifique des neurones qui joue un rôle important dans la formation et la fusion des vésicules synaptiques.

Une banque génomique des BAC de l'ADN du poulet (Zoorob *et al.* ISAG 1996) a été criblée sur les filtres de haute densité avec une sonde JAGGED1 correspondant au gène humain et avec un oligonucléotide dérivé du dernier exon du gène SNAP25 du poulet. Deux BAC ont été sélectionnés avec la sonde JAGGED1 et deux autres avec la sonde SNAP25. Par hybridation *in situ* fluorescente sur des métaphases du poulet nous avons constaté la superposition des signaux des BAC positifs pour le gène SNAP25 et JAGGED1. Par Southern blot nous avons démontré que les BAC contenant JAGGED1 et les BAC contenant SNAP25 sont chevauchants.

L'existence probable de cette synténie conservée depuis 300 millions d'années est renforcée par la présence d'un autre gène BMP2 présent dans la région du 20p12 humain (à la distance de 3150 kb tel du Snap25) et co-localisée sur le 3q proximal du caryotype du poulet.

Le nombre élevé (environ 130) des régions de synténie avec les mammifères et la compacité du génome aviaire (1/3 de la taille des génomes des mammifères, peu d'ADN répété et donc une grande densité des gènes) en font un modèle intéressant pour l'étude comparative des pathologies.

122. Cytogénétique

123. Cytogénétique

TOURAINÉ Renaud¹, ADOUARD Véronique¹, DE FREMINVILLE Bénédicte¹, TILL Marianne², PESTRE Sandra¹, PRIEUR Fabienne¹, LAURAS Benoît¹

1 CHU-Hôpital Nord Service de Génétique - SAINT ETIENNE FRANCE

2 Service de Génétique, Hôpital Debrousse, LYON

UTILISATION DE LA PCR QUANTITATIVE EN TEMPS RÉEL POUR DÉTECTER UNE DÉLÉTION 1P36: UNE NOUVELLE STRATÉGIE DE DÉPISTAGE DES DÉLÉTIONS SOUS-TÉLOMÉRIQUES ?

Les réarrangements chromosomiques sous-télomériques semblent rendre compte de 5-10% des déficiences intellectuelles modérées ou sévères et de 0.5-1% des déficiences légères. Deux techniques sont principalement utilisées pour les dépister: la FISH et l'étude de microsatellites. L'utilisation de la FISH multitélomères est limitée par son coût. L'analyse des microsatellites n'est pas toujours informative et nécessite l'étude de l'ADN des parents.

Nous avons souhaité tester, sur un exemple de délétion 1p36, une approche différente, basée sur l'analyse quantitative en temps réel de la PCR.

Le sujet étudié est un jeune homme porteur d'une déficience intellectuelle légère à modérée et de quelques signes dysmorphiques (mains larges avec brachydactylie du 5ème, petites fentes palpébrales, yeux enfoncés, racine du nez plate et menton pointu). Une délétion *de novo*, en 1p36 a été mise en évidence sur un caryotype en prométaphase, et confirmée par FISH.

L'étude de PCR quantitative en temps réel est effectuée sur un LightCycler (Roche) avec du SYBRGreen. La quantification se fait en 2 loci différents, à l'extrémité 1pter et 1qter respectivement.

La quantification effectuée permet de révéler une haploinsuffisance en 1p36 chez notre sujet ainsi qu'un dosage génique normal en 1qter. L'inverse fut trouvé chez un patient porteur d'une délétion cytogénétiquement visible de l'extrémité 1q.

Cette étude préliminaire montre la faisabilité de cette approche par PCR quantitative en temps réel pour dépister les aneuploïdies sous-télomériques. Cette analyse est toutefois délicate et nous discuterons des améliorations possibles de cette approche, en particulier par l'utilisation des sondes d'hybridations (technique de FRET).

124. Cytogénétique

BRISSET Sophie, OZILLOU Catherine, JOLY Géraldine, LAPIERRE Jean-Michel, GOSSET Philippe, LELORCH Marc, RAOUL Odile, TURLEAU Catherine, VEKEMANS Michel, ROMANA Serge-Pierrick
Département de Génétique Hôpital Necker-Enfants Malades 149, Rue de Sèvres - Paris France

TRISOMIE 16Q24. DESCRIPTION D'UN CAS ET SUGGESTION D'UNE CARTE PHÉNOTYPIQUE DES TRISOMIES 16Q.

Nous rapportons l'observation d'un enfant de 3 ans 1/2 ayant un retard psycho-moteur et une dysmorphie cranio-faciale qui comprend un front haut avec rétraction temporale, une racine du nez et un nez larges, des fentes palpébrales obliques en bas et en dehors, des oreilles anormales. Elle présente également une cardiopathie, des anomalies vertébrales, une hypoplasie génitale et une anomalie anorectale. Son caryotype (550 bandes) n'a pas décelé d'anomalie. La combinaison de plusieurs techniques de cytogénétique moléculaire (CGH, peinture et sondes subtélomériques) a permis de montrer que cette enfant est porteuse d'un chromosome 7 anormal dérivé d'une translocation cryptique. Sa formule chromosomique est donc : 46,XX,der(7)t(7;16)(p22.3;q24.1). Ce remaniement est apparu *de novo*, il entraîne une trisomie 16q24.1qter et une monosomie 7p22.3pter. L'utilisation d'une série de sondes spécifiques du 16q et du 7p a permis de localiser précisément les points de cassure sur le 16 et sur le 7. La comparaison de notre observation avec les données de la littérature permet de proposer la carte phénotypique suivante pour les trisomies 16q : retard mental sévère en 16q12.1-q13, anomalies intestinales en 16q13, malposition des pieds en 16q22, flexion des doigts et contractures articulaires en 16q23, dysmorphie faciale évocatrice (front haut et saillant, étroitesse temporale, œdème périorbitaire en période néonatale), anomalies vertébrales et anorectales et petit poids de naissance en 16q24.

125. Cytogénétique

THAUVIN-ROBINET Christel¹, Faivre Laurence¹, Khau Van Kien Philippe¹, Semama Denis², Nadal Nathalie³, Nivelon-Chevallier Annie¹, Favre Bernardine³, Parker K.L.⁴, Fellous Marc⁵ Mugneret Francine²

1 Centre de Génétique Hôpital d'Enfants 10 Bd Maréchal Delattre de Tassigny - Dijon France

2 Service de Pédiatrie 2, Hôpital d'Enfants, Dijon, France

3 Laboratoire de Cytogénétique, Hôpital Le Bocage, Dijon, France

4 Departments of Internal Medicine and Pharmacology, University of Texas Southwestern Medical Center, Dallas, Texas, USA

5 Service d'Immunogénétique Humaine, Institut Pasteur, France

EXTROPHIE CLOACALE CHEZ UN ENFANT PRÉSENTANT UNE DÉLÉTION 9Q34-QTER RÉSULTANT D'UNE TRANSLOCATION DÉSÉQUILBRÉE DE NOVO ENTRE LES CHROMOSOME 9Q ET YQ.

L'extrophie cloacale est une malformation rare, appartenant à un spectre de malformations congénitales, incluant, par ordre de sévérité, l'épispadias, le diastasis pubien, l'extrophie vésicale et le complexe OEIS (O = omphalocele, E = exstrophy, I = imperforate anus, S = spinal defects). La pathogénie de l'extrophie cloacale est actuellement inconnue. Nous rapportons un enfant de sexe masculin présentant une extrophie cloacale, un prolapsus rectal, une agénésie vésicale, une ambiguïté génitale externe et une hypotonie axiale. Les analyses cytogénétiques en technique standard et FISH ont montré une translocation déséquilibrée *de novo* entre le bras long du chromosome 9 et le bras long du chromosome Y, entraînant une délétion 9q34-qter (46,XY,der 9,t(Y;9)(q12;q34). Une revue de la littérature n'a trouvé aucune observation d'extrophie cloacale associée à une anomalie chromosomique de structure. Le gène SF1 (Steroidogenic Factor 1) était un bon gène candidat par sa position mais aucune mutation n'a été détectée par séquençage direct. Nous suggérons la localisation d'un autre gène présent

dans la région 9q34-qter, précocement exprimé dans l'embryogenèse et responsable d'exstrophie cloacale.

126. Cytogénétique

VIOT Géraldine¹, DESPORTES Vincent², CHOISSET Agnès³, GIRARD Sylvie³, MUNNICH Arnold⁴, PRIEUR Marguerite⁴, OZILLOU Catherine⁴, ROMANA Serge-Pierrick⁴, VEKEMANS Michel⁴, TURLEAU Catherine⁴

1 Génétique Médicale Hôpital Saint Vincent de Paul 74-82, av Denfert-Rochereau - PARIS France

2 Service de Neuro-Pédiatrie, Hôpital Saint Vincent de Paul, Paris

3 Laboratoire de Cytogénétique, Hôpital Saint Vincent de Paul, Paris

4 Département de Génétique, Hôpital Necker, Paris

DE LA GÉNÉTIQUE MENDÉLIENNE AUX TÉLOMÈRES

L'utilisation des sondes subtélomériques a permis d'expliquer la récurrence de retard mental/malformations congénitales multiples dans deux grandes familles suivies respectivement depuis 40 et 20 ans, et ayant fait l'objet de caryotypes itératifs en haute résolution. Dans la première famille, l'observation de deux garçons atteints apparentés par les femmes avait fait conclure à une hérédité récessive liée au sexe. La naissance récente d'une petite fille présentant la même pathologie a fait pratiquer une étude de tous les télomères qui a révélé une translocation cryptique familiale t(17;22)(q25;q13.3). Le déséquilibre observé correspond dans tous les cas au der(22). En reprenant l'arbre généalogique il est possible de suivre cette translocation sur quatre générations. Pour la deuxième famille, un remaniement familial est suggéré par des malformations et des morts périnatales sur plusieurs générations. Deux cousins, un garçon et une fille, présentant un tableau clinique similaire sont décédés en bas âge. Récemment, à l'occasion d'une demande de conseil génétique, une réévaluation de la dysmorphie des deux enfants fait évoquer une délétion 2q distale, confirmée par hybridation *in situ* subtélomérique, et dérivée d'une translocation cryptique familiale t(2;17)(q37.3;q25).

Ces deux histoires exemplaires illustrent l'intérêt de reprendre des dossiers anciens en s'aidant des outils de cytogénétique moléculaire mais aussi de la connaissance de nouveaux syndromes cliniques. Elles montrent l'importance d'une étude des télomères devant un arbre généalogique avec récurrence de tableaux cliniques identiques dans des branches collatérales d'une même famille. Il est désormais possible de répondre dans ces deux grandes familles à la demande de conseil génétique et, si nécessaire, de diagnostic prénatal.

127. Cytogénétique

BRISSET Sophie, RAOUL Odile, CORMIER-DAIRE Valérie, OZILLOU Catherine, DE BLOIS Marie-Christine, GOSSET Philippe, PRIEUR Marguerite, TURLEAU Catherine, VEKEMANS Michel, ROMANA Serge-Pierrick, GOLDENBERG Alice

Département de Génétique Hôpital Necker-Enfants Malades 149, Rue de Sèvres - Paris France

ETUDE CLINIQUE ET CYTOGÉNÉTIQUE DE 4 CAS DE SYNDROME DE CAT-EYE.

Le syndrome de Cat-Eye (MIM#115470) est caractérisé cytogénétiquement par la présence d'un chromosome surnuméraire dicentrique et bisatellisé dérivé du chromosome 22 (duplication inversée). Les principaux signes cliniques comprennent un colobome irien, une imperforation anale, des fistules ou diverticules prétragiens et des cardiopathies. Nous rapportons quatre cas de syndrome de Cat-Eye, âgés de 8 mois, 9 mois, 10 mois et 17 ans. Tous ont une imperforation anale et une cardiopathie, aucun n'est porteur de colobome irien mais 3/4 ont des anomalies de l'oculomotricité (Duane, strabisme sévère). Tous ont des anomalies préauriculaires. Les autres signes cliniques sont la dysmorphie faciale (2) l'atrésie des voies biliaires (1), le retard de croissance sévère avec microcéphalie (1). Un retard modéré des acquisitions motrices est constant, mais la patiente de 17 ans a une scolarité quasi normale.

Dans tous les cas, le caryotype montre 47 chromosomes avec un petit surnuméraire bisatellisé. La FISH confirme qu'il dérive d'un 22 et qu'il est porteur de NORs à chaque extrémité. Les sondes correspondant au locus DiGeorge et Cat-Eye mettent en évidence les deux types de remaniement précédemment décrits dans la littérature sans qu'il y ait de différence phénotypique : le type I (3 cas) avec un point de cassure proximal au locus *Tuple 1*, et le type II (1 cas) avec un point de cassure plus distal. L'imperforation anale, les anomalies préauriculaires et la cardiopathie sont constantes chez nos 4 patients; l'absence de retard mental sévère et de colobome suggère que ce syndrome est probablement sous diagnostiqué.

128. Cytogénétique

DE MAS Philippe¹, Valton L², Chassaing N¹, Julia S¹, Vincent MC¹, Calvas P¹, BOURROUILLOU G¹

1 Service de Génétique Médicale, Hôpital Purpan Place du Docteur Baylac Pavillon Ch. Lefèbvre - Toulouse France

2 Service de Neurologie et d'Exploration Fonctionnelles du Système Nerveux, Hôpital Rangueil, Toulouse

INTÉGRITÉ DU CHROMOSOME 20 EN ANNEAU DANS L'ÉTAT ÉPILEPTIQUE NON CONVULSIF?

Le syndrome épileptique associé à un chromosome 20 en anneau, le plus souvent en mosaïque, est une entité rare, d'individualisation récente et relativement caractéristique sur le plan électroclinique. Trois gènes, *CHRNA4*, *KCNQ2* et *MC3R* localisés en 20q13.2-q13.3 et associés à d'autres formes d'épilepsie, pourraient être impliqués dans ce syndrome. Cependant, les résultats rapportés dans la littérature sur l'étude en cytogénétique moléculaire (FISH) de chromosomes 20 en anneau sont contradictoires, révélant diversement, la présence ou l'absence de délétion d'une région télomérique. Nous rapportons le cas d'une patiente âgée de 27 ans, sans antécédents familiaux particuliers, dont l'épilepsie pharmacorésistante a débuté à l'âge de 7 ans, par des absences avec hallucinations terrorisantes. Actuellement les crises sont quotidiennes et se caractérisent par un état d'obnubilation se prolongeant pendant 10 à 60 minutes. Sur l'électroencéphalogramme (EEG) on observe le remplacement progressif de l'activité de fond par des paroxysmes bilatéraux, diffus, d'ondes lentes, prédominant sur les régions frontales. En période intercritique, sont retrouvées des bouffées paroxystiques à prédominance frontale. Les examens neurologique et neuropsychologique sont normaux (QI =95). La proposante n'est pas dysmorphique et son caryotype est le suivant : 6,XX/46,XX,r(20)(50%) *de novo*. Une première étude en FISH utilisant des sondes subtélomériques (AmpliTech Cytocell Inc, Compiègne) ne retrouve pas de délétions aux extrémités distales des bras p et q du chromosome 20 en anneau. L'analyse de ces régions télomériques est poursuivie afin d'orienter les hypothèses physiopathologiques.

129. Cytogénétique

MILLER Konstantin¹, SHOUMAN N², PABST B², ARSLAN-KIRCHNER A², ECKARDT A³, SCHONWEILER R⁴, SCHMIDTKE J²

1 Institute of Human Genetics, MHH - HANNOVER ALLEMAGNE

2 Institute of Human Genetics, Hannover Medical University, Germany

3 Dept. of Oral and Maxillofacial Surgery, Hannover Medical University, Germany

4 Dept. of Phoniatrics, Hannover Medical University, Germany

NOUVELLE APPROCHE POUR LE DIAGNOSTIC DE LA DÉLÉTION 22Q11.2 SUR NOYAUX INTERPHASIQUES DE LA MUQUEUSE BUCCALE DE PATIENTS AVEC FENTE PALATINE APPAREMMENT ISOLÉE.

Une nouvelle méthode pour la détection de la délétion chromosomique 22q11.2 sur noyaux interphasiques de la muqueuse buccale obtenus par une procédure non-invasive est rapportée. Les investigations ont été effectuées sur des échantillons d'un groupe de 110 enfants (69 de sexe masculin, 41 de sexe féminin, âge moyen 12,1 ans) venus consulter pour logothérapie et/ou pour correction chirurgicale d'une fente

palatine. Des cellules épithéliales de la muqueuse buccale ont été recueillies en raclant avec une spatule la face interne de la joue. Les noyaux ont été préparés selon les méthodes classiques en cytogénétique. La microdélétion 22q11.2 a été recherchée par la méthode FISH avec la sonde N25 spécifique pour la région du syndrome de Di George (marquage direct, Appligene Oncor). Chez 107 patients, on n'a pas observé de délétion; une délétion 22q11.2 a été identifiée chez trois enfants, dont un avec comme seule malformation que la fente palatine. Chez les patients avec fente palatine isolée où une insuffisance velopharyngée, l'analyse par FISH sur cellules épithéliales buccales obtenues par une méthode non-invasive peut être facilement utilisée pour un dépistage rapide de la microdélétion 22q11.2.

130. Cytogénétique

LAUMONNIER Frédéric^{1,2}, LESPINASSE James³, PARINGAUX Christine^{1,2}, MORAINÉ Claude^{1,2}, BRIAULT Sylvain^{1,2}

1 Service de Génétique - CHU Bretonneau - TOURS France

2 INSERM U316, Tours, France

3 Laboratoire de Cytogénétique, Chambéry, France

ETUDE D'UNE INVERSION EQUILIBREE DU CHROMOSOME X CHEZ UNE FILLE RETARDEE : UN NOUVEAU CAS D'IMPLICATION DU GENE ILIRAPL ?

Les retards mentaux liés au chromosome X (MRX) constituent un groupe de pathologies fréquentes et hétérogènes tant sur le plan clinique que génétique. Des études épidémiologiques ont permis d'estimer leur prévalence à 1/300 à 1/600 garçons. Ces MRX sont classés soit en retards mentaux spécifiques, où le retard mental n'est qu'un des signes de la pathologie, soit en retards mentaux non spécifiques dans lesquels aucun signe clinique ou biologique autre que la déficience mentale n'est observé.

L'hétérogénéité génétique des retards mentaux non spécifiques rend difficile la localisation des gènes correspondants par étude de liaison. En revanche, l'étude de remaniements chromosomiques équilibrés a permis d'isoler de tels gènes.

Une inversion péricentrique du chromosome X [46, X, inv(X)(p21q27)] a été mise en évidence chez une patiente qui présente un retard mental non spécifique. L'hypothèse selon laquelle l'un des deux points de cassure rompt le gène impliqué dans la maladie nous a conduit à entreprendre la cartographie physique des points de cassure de ce remaniement. L'analyse par hybridation *in situ* fluorescente a permis de localiser les deux points de cassure en Xp21.3 et Xq27.1. La localisation dans la région du point de cassure Xp21.3 d'un gène de retard mental (ILIRAPL) suggère l'implication de ce gène dans la physiopathologie de la déficience mentale de notre patiente. Cependant, comme le suggère l'étude de la littérature, l'implication de la région Xq27 n'est pas exclue.

131. Cytogénétique

LAUMONNIER Frédéric^{1,2}, GUERIN Pascaline³, BLESSON Sophie¹, MORAINÉ Claude^{1,2}, BRIAULT Sylvain^{1,2}

1 Service de Génétique - CHU Bretonneau - TOURS France

2 INSERM U316, Tours, France

3 Service de Psychiatrie infanto-juvénile, Chartres, France

TRANSLOCATION RECIPROQUE EQUILIBREE [46, XY, T(9 ;10)(Q22.32 ;Q23.31)] ASSOCIEE A UN SYNDROME AUTISTIQUE : CARTOGRAPHIE PHYSIQUE DES POINTS DE CASSURE.

L'autisme est un trouble précoce du développement dont les anomalies se manifestent essentiellement au niveau des interactions sociales, de la communication et du comportement. Les causes de l'autisme sont encore mal connues. Cependant des arguments épidémiologiques plaident en faveur d'une importante participation génétique.

Nous rapportons l'observation d'un garçon de six ans. Le tableau clinique observé lors du bilan d'évaluation permet de conclure à l'existence d'un trouble autistique selon les critères du DSM IV. En effet, les trois critères cardinaux requis par le DSM IV sont vérifiés, à savoir : 1- Altération qualitative des interactions sociales avec les adultes et les enfants, 2- Altération qualitative

de la communication verbale et non verbale, 3- Restriction des intérêts et de la fréquence des comportements stéréotypés. Le diagnostic de trouble autistique est confirmé par le score obtenu à l'échelle diagnostique CARS (40), score qui correspond à la limite inférieure de l'intervalle définissant l'autisme sévère. Le score de n14 au questionnaire de RIMLAND rempli par les parents permet de parler d'autisme associé.

L'analyse cytogénétique effectuée chez ce patient a objectivé l'existence d'une translocation réciproque équilibrée *de novo* 46, XY, t(9;10)(q22.32;q23.31).

L'hypothèse selon laquelle l'un des deux points de cassure rompt un gène impliqué dans l'autisme nous a conduit à entreprendre la cartographie physique de ce remaniement.

Nous rapportons ici les résultats de cette étude.

132. Cytogénétique

ADDOR Marie-Claude¹, Perrin Yannick¹, Sekarski N², Theintz G², Gehri M², Munier FL¹, Schorderet DF¹

¹ Division de génétique médicale, CHUV, Lausanne

² Département de pédiatrie, CHUV, Lausanne

TRISOMIE PARTIELLE 14Q24->QTER : À PROPOS D'UN CAS

Objectif: investigations d'un nouveau-né avec dysmorphies multiples.

Patient: nous rapportons le cas d'un nouveau-né de sexe féminin né à terme, PN 2830g, de parents non consanguins, La dysmorphie faciale consiste en une microcéphalie, une fontanelle antérieure élargie, un hypertélorisme, une racine du nez élargie, un palais ogival, des oreilles bas implantées, un cou court. Il existe un chevauchement des doigts et des pieds en flexion sur la jambe. On note également des signes de virilisation avec une hypertrophie des petites et grandes lèvres, non fusionnées postérieurement ainsi qu'une hypertrophie du clitoris. Un bilan endocrinologique met en évidence une hyperprolactinémie. Une IRM cérébrale permet d'exclure un adénome hypophysaire. Une malformation cardiaque de type fenêtre aorto-pulmonaire et CIA nécessiteront une correction chirurgicale à un mois de vie. Par ailleurs, on note une hypotonie axiale, un port de tête en hyperextension, une atteinte auditive modérée à gauche, et une épithéliopathie cornéenne suite à une lagophthalmie.

Résultats: les analyses cytogénétiques effectuées montrent un excédent de matériel chromosomique sur un chromosome 3. Par technique de painting, il a été possible de déterminer qu'il s'agissait d'une partie du bras long d'un chromosome 14. Le caryotype est le suivant : 46,XX, der(3)t(3;14)(p25;q24). L'analyse du caryotype des parents a révélé une translocation balancée chez le père entre un chromosome 3 et un chromosome 14.

Nous comparons ce cas avec les 6 autres cas publiées de trisomie partielle 14q24->qter.

133. Cytogénétique

MISSIRIAN Chantal¹, Malzac P¹, Arfi J¹, Vo Van C¹, Chauve X¹, Voelckel MA¹, Mattei MG², Moncla A¹

¹ Département de Génétique Médicale CHU Timone enfants 264 rue saint Pierre - Marseille cedex 05 France

² Unité INSERM 491. Marseille

MALSÉGRÉGATION D'UNE TRANSLOCATION CRYPTIQUE À L'ORIGINE D'UN SYNDROME D'ANGELMAN: IMPLICATION POUR LE CONSEIL GÉNÉTIQUE

Le syndrome d'Angelman, entité clinique actuellement bien caractérisée, est lié à des anomalies de la région 15q11-q12, de mécanismes différents (délétion 15q11-q12 maternelle, disomie paternelle, défaut d'empreinte et mutations dans le gène UBE3A). L'évaluation du risque de récurrence pour les couples ayant eu un enfant atteint de ce syndrome ne peut être établi que lorsque le mécanisme moléculaire est identifié. L'anomalie la plus fréquemment retrouvée (70% des cas) est la délétion 15q11-q12 d'origine maternelle, survenant le plus souvent *de novo*. Son mécanisme d'apparition est lié à la particularité structurale de cette région du génome, constituée de régions d'ADN répété de type duplicon, expliquant son caractère accidentel. Cependant,

une publication rapportant une inversion péricentrique chez deux mères d'enfants atteints d'un syndrome d'Angelman, nous a incité, par précaution, à vérifier minutieusement et systématiquement la structure du chromosome 15 maternel par différentes méthodes qui ont évolué dans le temps (haute résolution, FISH).

Cette stratégie nous a permis d'identifier une délétion 15q11-q12 chez une patiente liée à la malségrégation d'une translocation cryptique d'origine maternelle : 46, XX, t(15;22)(q12;q11.2).

Cette observation illustre la difficulté d'identification de ce type remaniement chromosomique et la nécessité de les rechercher systématiquement compte tenu du très haut risque de récurrence. Seules les techniques de cytogénétique moléculaire et surtout le choix de la sonde utilisée ont été déterminant pour identifier ce microremaniement.

134. Cytogénétique

DEVICTOR Monique¹, Missirian C¹, Lehoucq J¹, Voelckel MA¹, P. Masson², Philip N¹, Moncla A¹

¹ Département de génétique médicale CHU Timone enfants 264 rue saint Pierre - Marseille cedex 05 France

² Service de pédiatrie. CHR Avignon

LA TRIPLOÏDIE EN MOSAÏQUE: UN DIAGNOSTIC QU'IL FAUT SAVOIR ÉVOQUER

De rares cas de triploïdies en mosaïque ont été publiés. Contrairement aux cas de triploïdies homogènes, cette anomalie peut être viable plusieurs années.

Nous présentons deux observations qui soulignent la difficulté du diagnostic cytogénétique s'il n'est pas orienté.

Cas n°1: C.A est née à 34 semaines de grossesse. Elle présente un retard de croissance majeur, une dysmorphie faciale et des syndactylies II-III et III-IV. Le caryotype sanguin est normal sur 200 mitoses étudiées, par contre sur biopsie cutanée une formule 69, XXX [58] / 46, XX [42] est décelée.

Cas n°2: L.T est examiné à l'âge de 5 mois pour un retard de croissance depuis la naissance, une hypotonie, des syndactylies II-III et III-IV, et une discrète asymétrie corporelle. Bien qu'un caryotype standard à la naissance ait montré une formule chromosomique normale 46, XY, devant les similitudes cliniques de ces observations, un caryotype de contrôle sur lymphocytes et fibroblastes cutanés sont réalisés. De très rares cellules 69, XXY sont observées sur lymphocytes (moins de 1%). Sur la culture de fibroblastes, une formule 69, XXY [38] / 46, XY [12] est présente.

Ces observations concordent avec les travaux publiés où le clone triploïde est rarement mis en évidence sur lymphocytes. A la naissance, devant un retard de croissance majeur associé à des syndactylies, un caryotype sur fibroblastes cutanés doit donc être demandé.

Cette anomalie chromosomique de nombre doit également être recherchée avec attention sur le liquide amniotique devant un retard de croissance intra utérin sévère.

Deux mécanismes à l'origine de cette anomalie ont été évoqués: la fusion d'un zygote diploïde et d'un zygote triploïde (chimère), ou la fécondation différée d'un blastomère diploïde par un deuxième spermatozoïde. Une étude en biologie moléculaire est en cours pour préciser le mécanisme en cause.

135. Cytogénétique

MARGUERAT Philippe¹, Perrin Y¹, Gaide AC¹, Maillard C², Meagher-Villemure K³, Schorderet DF¹

¹ Division de génétique médicale CHUV 1011 Lausanne Suisse

² Département d'obstétrique et gynécologie, CHUV, Lausanne

³ Institut universitaire de pathologie, Lausanne

HYGROMA COLLI ET CONSTITUTION TRIPLO-X : COÏNCIDENCE OU ASSOCIATION ?

Objectif : investigation prénatale d'un hygroma colli. Une patient secondigeste, nullipare de 39 ans nous est adressée pour chorio-centèse à 10 semaines de gestation en raison de son âge. L'échographie révèle un hygroma colli d'une épaisseur de 6 mm. Un prélèvement de villosités choriales par voie transcervicale ou transabdominale est impossible. Une amniocentèse est pratiquée à la 15ème semaine de gestation. L'analyse FISH interphasique

met en évidence 3 signaux du chromosome X dans le 87% des noyaux examinés (CEPÆ X, VYSIS). L'analyse cytogénétique de 8 colonies pour un total de 13 métaphases confirme une constitution chromosomique 47, XXX. La grossesse est alors interrompue. Hormis l'hygroma colli, le fœtus présente un hypertélorisme, des oreilles bas implantées, une clinodactylie des 5ème doigts ainsi qu'une ébauche de syndactylie entre le 4ème et le 5ème doigt à droite. Il n'a pas de malformation viscérale.

Une séquence obstructive des lymphatiques jugulaires fœtaux s'observe dans de nombreuses aberrations chromosomiques (45,X ; 47,XXY ; trisomies 13, 18 et 21...). A notre connaissance toutefois, une seule observation d'hygroma colli a été rapportée dans une constitution triplo-X (Witters et coll 2000). En revanche, la malformation a quelques fois été signalée dans des syndromes chromosomiques de type poly-X. Une telle constitution en mosaïque n'a cependant pas été identifiée parmi les fibroblastes et les cellules trophoblastiques que nous avons pu examiner.

136. Cytogénétique

GEFFROY Sandrine¹, SAVARY Jean-Bernard¹, LEFEBVRE-MAUNOURY Catherine², de MARTINVILLE Bérengère¹

1 Laboratoire de Génétique Médicale - CHRU de LILLE Hôpital Jeanne de Flandre 2 Avenue Oscar Lambret - LILLE Cedex France

2 Pathologie de la reproduction, Service d'AMP, CHRU de LILLE)

INVERSION DU CHROMOSOME X, RETARD MENTAL ET INFERTILITE : A PROPOS D'UNE OBSERVATION AVEC TRANSMISSION SUR DEUX GENERATIONS SANS CO-SEGREGATION

Les inversions péricentriques du chromosome X sont des événements rares (1/30000 naissances) qui en général ne s'accompagnent pas de retard mental ni d'infertilité. Il existe quelques observations dans la littérature où l'inversion est associée à un retard mental, ce qui a conduit Villard *et al.* (J.Med.Genet 36:754-758,1999), et Sloan *et al.* (J.Med.Genet 35:146-150, 1998) à postuler qu'il existerait un ou plusieurs gène(s) de retard mental (MRX) aux points de cassure.

Au cours d'un bilan d'infertilité pour oligoasthénospermie, une large inversion péricentrique inv(X)(p11.2q26.3) a été observée chez un sujet phénotypiquement normal. L'étude familiale retrouve la même inversion chez au moins cinq autres personnes : la mère et deux sœurs du patient qui sont phénotypiquement normales avec une descendance masculine normale, un oncle avec un retard mental sévère et une autre soeur avec un retard mental modéré. L'oncle est également porteur d'un chromosome surnuméraire (inversion-duplication d'un chromosome 15, ne contenant pas de séquences dérivées de la partie proximale du chromosome 15). L'analyse en biologie moléculaire (10 microsatellites localisés de 15q11.1 à 15q21.1) permet de montrer que les chromosomes 15 des deux sujets porteurs d'un handicap mental ne sont pas de même origine parentale.

Bien que l'on ne puisse pas exclure dans cette famille que le retard mental et l'infertilité relèvent de mécanismes autres que chromosomiques, l'hypothèse d'une inactivation non aléatoire du chromosome X anormal et la possibilité d'une transmission déséquilibrée de l'inversion avec réarrangement additionnel ne peuvent être écartées. Seule la caractérisation moléculaire des points de cassure permettra d'évaluer ces hypothèses.

137. Cytogénétique

LEJEUNE-DUMOULIN Sophie¹, GEFFROY Sandrine¹, DIEUX-COESLIER Anne², STORME Laurent³, BREVIERE GM⁴, de MARTINVILLE Bérengère¹

1 Laboratoire de Génétique Médicale - CHRU de LILLE Hôpital Jeanne de Flandre 2 Avenue Oscar Lambret - LILLE France

2 Service de Génétique Clinique - Faculté de Médecine et CHRU de LILLE

3 Service de Réanimation Néonatale - Faculté de Médecine et CHRU de LILLE

4 Service de Cardiologie Infantile - CHRU de LILLE

SYNDROME DE JACOBSEN PAR TRANSMISSION DESEQUILIBREE D'UNE TRANSLOCATION SUBMICROSCOPIQUE AVEC POINT DE CASSURE EN 11Q24.2 DANS UNE REGION APPAREMMENT SANS BLOC CONNU DE SEQUENCES RICHES EN CCG.

Le syndrome de Jacobsen est une entité rare (fréquence < 1/100000) définie cytogénétiquement par une délétion terminale du chromosome 11q, et cliniquement par l'existence d'un retard de croissance avec retard psychomoteur, associé à un syndrome dysmorphique avec trigonocéphalie, anomalies ophtalmologiques, cardiopathie et pancytopenie ou thrombopénie. La grande majorité des 70 cas publiés sont des délétions terminales *de novo* de taille variable, pouvant expliquer la variabilité phénotypique. Aucun gène candidat n'est encore identifié.

C.P. est la seule enfant de parents non consanguins, sans antécédent. Elle est née à 34SA avec un RCIU dysharmonieux, une cardiopathie complexe (ventricule droit à double issue avec sténose infundibulaire serrée), un syndrome dysmorphique, et une pancytopenie. Elle décédera avant l'âge de 2 mois de sa cardiopathie sévère non-opérée en raison de la thrombopénie extrême. L'évaluation cytogénétique (bandes GTG, HR) et en FISH (WCP5, WCP11, tel11p/11q, tel5p/5q, MLL) met en évidence un réarrangement télomérique (délétion 11q23.3-11qter), par malségrégation d'une translocation paternelle [t(5;11)(qter;q23.3)]. L'étude moléculaire (D11S925, D11S1353, D11S933, D11S934, D11S4150, D11S4131, D11S4125) positionne le point de cassure en 11q24.2 dans un intervalle de 1,73Mbases entre D11S1353 et D11S933.

Jones *et al.* (Hum.Mol.Genet 2000:1201-1208) ont postulé que d'éventuels sites fragiles (blocs de séquences répétées riches en CCG) seraient à l'origine du mécanisme délétionnel, en démontrant que les points de cassure de 14 patients y survenaient préférentiellement. Dans notre observation, le point de cassure n'est apparemment pas dans un des blocs décrits, soit parce que tous les blocs de séquences répétées ne sont pas encore identifiés, soit parce qu'il existe d'autres mécanismes.

138. Cytogénétique

DOCO-FENZY Martine¹, STRUSKI Stéphanie¹, LEBRUN Jean-Marie², MAURAN Pierre³, COUCHOT M⁴, SABOURAUD Pascal³, BEDNAREK Nathalie³, CHUDOBA Ilse², MOTTE Jacques³, GAILLARDDominique¹

1 Service de génétique 45, rue Cognacq-Jay HMB-CHRU-REIMS - REIMS France

2 Service de pédiatrie - CHG de SOISSONS

3 Service de Pédiatrie A - CHU REIMS

4 Service de Pédiatrie B - Hôpital Manchester - CHARLEVILLE

5 Metasystems - Althusseim - Allemagne

IDENTIFICATION PAR C.G.H. ET M-FISH DE DUPLICATIONS PARTIELLES DES CHROMOSOMES 12, 16 ET X CHEZ 3 ENFANTS PORTEURS DE RETARD GLOBAL DES ACQUISITIONS.

Nous rapportons 2 observations d'enfants analysées par C.G.H.

Cas N°1 : Il s'agit d'une enfant de 1 an (PN : 2770g, TN : 44.5cm, PC : 32cm), née avec un syndrome polymalformatif comportant une CIV, une hypoplasie du corps calleux, et un lipome cérébral. Elle présente un retard psychomoteur modéré et une dysmorphie faciale. Nous avons diagnostiqué en 12q une bande supplémentaire confirmée en FISH avec la peinture du 12 : ish dup(12)(WCP 12+). Cette duplication partielle *de novo* du

12 à été identifiée plus précisément par la technique de CGH : Rev ish enh(12)(q23.3q24.1)

Cette duplication fine d'un petit segment du bras q du 12 contenant le locus 12q24.1. a rarement été rapportée dans la littérature.

Cas N°2 : Il s'agit d'un garçon de 5 ans (PN : 2960g, TN : 49cm, PC : 34,5cm) porteur d'un retard de développement psycho-moteur, et de l'absence de langage. Nous avons observé un segment supplémentaire en Xq sur les bandes R. La technique de FISH avec la peinture du X a prouvé l'origine du segment dupliqué : 46, XX, dup(X)(q25-q26). ish dup(X)(WCP X+). L'analyse en C.G.H. nous a permis de confirmer les points de cassure de la duplication : Rev ish enh (X)(q25q26). L'enfant a hérité de la duplication de sa maman elle-même porteuse d'un retard mental léger .

Nous rapportons une observation d'enfant analysé en M-FISH

Cas N°3 : Cet enfant de 12 mois a été adressé pour l'association d'une atrophie optique bilatérale, d'une surdité de perception bilatérale et d'une dysmorphie faciale avec une petite bouche, un nez retroussé et un retard psychomoteur modéré.

L'analyse cytogénétique classique a montré la présence d'un marqueur dans 50% des mitoses. L'analyse en M-FISH avec les sondes 24Xcyte mFISH metasystem probe a donné pour origine du marqueur le chromosome 16. Nous avons confirmé par FISH que le marqueur est un segment de bras p du 16 : ish (mar)(WCP 16+, inv(16)DNA probe +)

L'association atrophie optique et surdité n'est pas classiquement associée au chromosome 16.

Conclusion : La technique de M-FISH nous a aidé dans l'identification du chromosome d'origine et la technique de CGH nous a permis de préciser l'origine exacte des segments dupliqués non précisée par la peinture ou les bandes.

139. Cytogénétique

JOLY-HELAS Géraldine¹, LABADIE Gérard², PATRIER Sophie³, LAQUERRIERE Annie³, MOIROT Hélène¹, MACE Bertrand¹

1 Laboratoire de Cytogénétique Pavillon Derocque 1, rue de Germont - Rouen

2 Unité de Diagnostic Prénatal - Centre Hospitalier du Belvédère, Rouen

3 Service d'Anatomie et de Cytologie Pathologique- C.H.U.- Rouen

DÉCOUVERTE PRÉNATALE D'UN DER(6)T(6;8)(P22;P23)MAT

Madame D. est âgée de 27 ans. C'est une troisième geste, sans antécédent particulier, mère de deux enfants bien portants. L'échographie de 12 semaines d'aménorrhée (SA) identifie un fœtus présentant une dilatation kystique du quatrième ventricule. Une amniocentèse pour caryotype fœtal est alors pratiquée au terme de 16 SA. Celle-ci est précédée d'une nouvelle échographie qui identifie un fœtus de sexe féminin présentant une hydrocéphalie tri ventriculaire associée à une hypoplasie ventriculaire gauche, un microrétrognatisme et une fente labiale bilatérale.

Le caryotype fœtal réalisé *in situ* sur 16 clones en bandes R.H.G. et R.T.B.G. met en évidence la formule chromosomique : 46,XX,del(6)(p22).

Cette monosomie 6p est confirmée par technique d'hybridation *in situ* en fluorescence (FISH) à l'aide d'une sonde juxtatéomérique de bras court de chromosome 6.

Une interruption médicale de grossesse est alors décidée. Celle-ci est pratiquée au terme de 17 SA.

L'examen fœtopathologique retrouve :

-Une dysmorphie faciale avec fente labio-narinaire bilatérale, une asymétrie oculaire avec une fente palpébrale droite supérieure à la gauche, des oreilles bas implantées,

-Un cr.,ne turricéphale, un cou épais, une main gauche botte, un pouce adductus à droite,

-Un double uretère droit, un utérus en T.

-Une fontanelle postérieure anormalement large, une hypoplasie cérébelleuse prédominant sur le vermis, un quatrième ventricule dilaté, une malformation de Dandy Walker,

-Une hypoplasie mitrale et ventriculaire gauche, une valve mitrale perméable et un ventricule gauche d'hypoplasie ventriculaire gauche, une hypoplasie aortique peu importante sauf au niveau de l'isthme.

-Treize paires de côtes.

Afin d'ajuster le conseil cytogénétique les caryotypes parentaux sont réalisés en bandes R.H.G. et R.T.B.G. Est ainsi mise en évidence une translocation réciproque maternelle 46,XX,t(6;8)(p22;p23).

Une nouvelles technique de F.I.S.H. est alors réalisée sur les préparations cytogénétiques du liquide amniotique à l'aide des sondes juxtatéomériques de bras courts de chromosomes 6 et 8. Est ainsi confirmée l'association d'une monosomie 6p partielle associée à une trisomie 8p partielle. La formule chromosomique fœtale est donc : 46,XX,der(6)t(6;8)(p22;p23)mat.

Il s'agit donc d'une monosomie 6p22-pter associée à une trisomie 8p23-pter de découverte prénatale. Chez ce fœtus, le phénotype prédominant semble correspondre à la monosomie 6p partielle. Il est à noter que le gène FKHL7 situé en 6p25 a un homologue murin, le gène SCA1 dont la mutaton nulle est responsable, comme chez ce fetus, d'hydrocéphalie.

140. Cytogénétique

DUPONT Jean-Michel¹, Kerjean Antoine^{2,3}, Guérin Carine⁴, Rabineau Didier¹, Ferré Françoise⁴, Jeanpierre Marc^{3,5}

1 Laboratoire d'Histologie Embryologie Cytogénétique, Centre Hospitalier Universitaire Cochin, 123 Bd Port Royal - Paris France

2 INSERM U 257, Centre Hospitalier Universitaire Cochin, Paris

3 Institut Cochin de Génétique Moléculaire (ICGM), Centre Hospitalier Universitaire Cochin, Paris

4 INSERM U 361, Centre Hospitalier Universitaire Cochin, Paris

5 INSERM U 129, Centre Hospitalier Universitaire Cochin, Paris

ETUDE DU PROFIL DE MÉTHYLATION DU SATELLITE 2 DANS LE PLACENTA : IMPLICATIONS POUR UN RÔLE DE L'HÉTÉROCHROMATINE DANS LE CONTRÔLE DE L'EXPRESSION DES GÈNES

Le placenta est un tissu extra-embryonnaire qui dérive des cellules trophoblastiques, première lignée cellulaire à se différencier au cours du développement. Les tissus extra-embryonnaires ont un épigénotype particulier caractérisé par une hypométhylation globale des régions euchromatiques et hétérochromatiques du génome. Des études de la méthylation de l'ADN par Southern blot utilisant des enzymes sensibles à la méthylation ont montré que les séquences répétées centromériques et péricentromériques de l'hétérochromatine sont hyperméthylées dans les tissus somatiques, et largement déméthylées au niveau du sperme ainsi que dans la lignée extra-embryonnaire. Cependant, ces techniques sont limitées par le nombre de sites de restriction utilisables (qui doivent contenir un doublet CpG) et la nécessité de digestion complète de l'ADN pour obtenir des résultats interprétables. Le séquençage après traitement au bisulfite de sodium et amplification permet de s'affranchir des désavantages associés aux digestions par les enzymes de restriction et d'étudier toutes les cytosines d'une séquence d'intérêt

Nous avons utilisé ce traitement par le Bisulfite pour étudier la méthylation d'une séquence péricentromérique de satellite 2 dans des tissus extra-embryonnaires humains et obtenir une estimation précise du pourcentage de doublets CpG méthylés.

Nos résultats montrent que 40 à 50 % des cytosines sont déméthylées dans le trophoblaste et que cette proportion est constante pendant toute la grossesse. Par ailleurs, une répartition non aléatoire des cytosines méthylées au sein de la séquence a été observée, caractérisée par une alternance de groupes de CpG méthylés et déméthylés.

Nos observations suggèrent une relation positive entre la densité en CpG et l'état de méthylation des cytosines et que ces profils de méthylation particuliers du satellite 2 pourraient jouer un rôle dans l'organisation de l'hétérochromatine et la régulation de l'expression des gènes au niveau des tissus extra-embryonnaires.

141. Cytogénétique

LEBBAR Aziza¹, BAVEREL Françoise¹, VIOT Géraldine², BENAYOUN Emmanuel¹, RABINEAU Didier¹, DUPONT Jean-Michel¹

¹ Laboratoire d'Histologie Embryologie Cytogénétique, Centre Hospitalier Universitaire Cochin, 123 Bd Port Royal, 75014 Paris PARIS FRANCE

² Service de Gynécologie Obstétrique, Centre Hospitalier Universitaire Cochin, Paris

A PROPOS D'UN CAS FAMILIAL DE DEL 18Q

La délétion 18qter est l'une des aneusomies segmentaires les plus fréquentes, avec une fréquence estimée à 1/40 000 naissances. Cette délétion survient majoritairement *de novo*, mais quelques cas familiaux ont été décrits dans la littérature.

Nous rapportons ici l'observation d'un enfant âgé de 21 mois présentant un retard des acquisitions, une dysmorphie faciale ainsi que des anomalies des organes génitaux externes, motivant la réalisation d'un caryotype constitutionnel. L'analyse cytogénétique a révélé à un niveau de résolution de 500 bandes une délétion de l'extrémité du bras long du chromosome 18 : 46,XY,del(18)(q22). Devant ce résultat, le caryotype des parents a été réalisé permettant de retrouver une anomalie similaire chez la maman. Cette jeune femme, issue d'une famille nombreuse, a été la seule de sa fratrie à présenter des difficultés d'apprentissage. Elle est actuellement prise en charge dans un CAT. Par ailleurs, on note chez elle une dysmorphie faciale modérée, une insuffisance thyroïdienne, un vitiligo, un diabète insulino-dépendant ainsi qu'une voix rauque comme cela est classiquement rapporté dans ce type de remaniement chromosomique.

Cette observation confirme la variabilité phénotypique rencontrée en cas de délétion de l'extrémité du bras long du chromosome 18, y compris en intra-familial et justifie la recherche de la même délétion chez les parents.

142. Cytogénétique

BAYOU Nadia, M Chaabouni, L Hila, L ben Jemaa, R Mokhtar, F Zardoum, H Chaabouni
Service des Maladies Congénitales et Héritaires 1006 Tunis Tunisie

MISE AU POINT D'UNE TECHNIQUE D'HYBRIDATION *IN SITU* FLUORESCENTE SUR LES CELLULES EPITHELIALES BUCCALES

La FISH ou hybridation *in situ* fluorescente constitue un outil précieux pour la détection des anomalies chromosomiques de nombre et structurales.

Elle s'applique non seulement sur les chromosomes métaphasiques mais encore sur les noyaux interphasiques. Elle présente un complément de valeur à la cytogénétique conventionnelle notamment pour la mise en évidence des mosaïques tissulaires.

Le but de ce travail est de mettre au point une technique de diagnostic rapide et fiable des anomalies de nombre et de structure des chromosomes sexuels par Hybridation *In situ* Fluorescente sur les cellules épithéliales buccales.

Nous avons utilisé pour ce travail des sondes centromériques de l'X (en Xp11) et de l'Y (région hétérochromatique) que nous avons testé sur 120 individus.

L'efficacité de l'hybridation (nombre de noyaux hybridés / nombre total des noyaux) avec ce type de sondes est de 100%.

Cette technique a été également appliquée pour les tests de féminité pour les athlètes lors des derniers jeux méditerranéens qui ont eu lieu à Tunis.

143. Cytogénétique

BEN JEMAA Lamia¹, HILA L², KAMOUN H³, BAYOU N², MRAD R¹, MAZZOUL F¹, CHAABOUNI M¹, CHAABOUNI H¹

¹ Service des Maladies Congénitales et Héritaires EPS Charles Nicolle 1006 Tunis Tunisie

² Faculté de médecine de Tunis

³ Faculté de médecine de Sfax

HETEROGENEITE CLINIQUE CHEZ 3 PATIENTS TUNISIENS AVEC UNE MICRODELETION 22q11.2

La microdélétion 22q11.2 est un syndrome malformatif comportant une cardiopathie cono-troncale, une aplasie ou une hypoplasie du thymus et des glandes parathyroïdes, une fente palatine, et une dysmorphie faciale. Les anomalies cardiaques sont le plus souvent des interruptions de l'arc aortique, un truncus arteriosus et une tétralogie de Fallot. Un retard psychomoteur est souvent associé.

Nous décrivons ici 3 cas de patients présentant une microdélétion 22q11.2 : Le premier cas est un garçon présentant un syndrome de Cayler, à l'examen clinique on note une asymétrie faciale surtout aux pleurs, un rétrognatisme, des oreilles mal ourlées, une cryptorchidie bilatérale, une CIV avec anévrysme septal, et un retard psychomoteur.

Le second cas est une fille présentant un retard psychomoteur, des oreilles mal ourlées, un nez bulbeux, une micrognathie, une cardiopathie congénitale et une arachnodactylie

Le troisième cas est une fille présentant une tétralogie de Fallot, un ptosis de l'œil droit, un épicanthus, un hypertélorisme et un déficit de l'immunité cellulaire

Dans les trois cas, l'étude par FISH utilisant la sonde D22S75 (DGCR) en 22q11.2 et D22S39 (sonde contrôle) en 22q13.3 a montré une microdélétion de la région 22q11.2

Cette délétion a déjà été décrite dans le syndrome de Cayler inclut dans le groupe du CATCH 22. Les autres cas font partie du groupe CATCH 22 avec des signes cliniques différents et font poser la question suivante : quand doit-on rechercher la microdélétion 22?

La recherche de la délétion devrait se faire systématiquement chez les parents pour l'établissement du conseil génétique.

144. Cytogénétique

MOIROT Hélène¹, Benzacken B¹, Joly G¹, Hannequin D², Cormary P³, Carves C⁴, Macé B¹

¹ Laboratoire de Cytogénétique ROUEN FRANCE

² Neurologie

³ Psychiatrie

⁴ Pédiatrie génétique

RÉARRANGEMENT CRYPTIQUE TÉLOMÉRIQUE 9;22 ET RETARD FAMILIAL.

Les anomalies cryptiques télomériques peuvent être observées dans 8% des retards mentaux sévères. Elles peuvent également être retrouvées chez des retards mentaux modérés familiaux.

Ludovic âgé de 10 ans et sa soeur Kelly âgée de 9ans qui ont un retard mental et un comportement autistique sont adressés en consultation de Génétique;

L'étude des antécédents familiaux révèle du côté paternel l'existence sur quatre générations de 10 cas de retard mental, 2 étant porteurs de malformations et 8 étant décédés.

Le caryotype en haute résolution réalisé chez les 2 enfants et les parents sont normaux. En FISH, l'utilisation du kit Chromoprobe-Multiprobe TM T Système (Cytocell) et de la sonde du syndrome de Di-George contenant un contrôle ARSA situé en 22q13.3 met en évidence chez les 2 enfants une trisomie de la région subtélomérique d'un bras long de chromosome 9 et une délétion de la région subtélomérique d'un bras long de chromosome 22. Ce déséquilibre est hérité du père qui est porteur de la translocation réciproque équilibrée: 46,XY,ish t(9;22) (q34.2;q13.3) (D9S2168-, D22S1726+, ARSA+ ; D9S2168+, D22S1726-, ARSA+)

Le caryotype de Kelly est: 46,XX,ish der(22)t(9;22)(q34.2;q13.3)pat(D9S2168+,D22S1726-,ARSA+),

La translocation 9;22 est retrouvée chez la grand mère maternelle. La grand tante maternelle retardée mentale et dysmorphique qui présente des anomalies des mains est porteuse du déséquilibre inverse de Ludovic et et Kelly .

Cette observation illustre l'intérêt de la recherche d'anomalies télomériques dans les retards mentaux, inexpliqués lorsqu'il existe des antécédents familiaux de retard mental. La délétion 22q13.3 a été rapportée dans des cas d'autisme.

145. Cytogénétique

TILL Marianne¹, THEUIL Giannina¹, OLLAGNON Elisabeth², RUDIGOZ René Charles³, MAGAUD Jean Pierre¹

1 Laboratoire de Cytogénétique Hôpital E Herriot place d'Arsonval - LYON cedex 03 France

2 Consultation de génétique Maternité Croix Rouse LYON

3 Maternité Croix Rouse LYON

MISE EN EVIDENCE D'UNE TRANSLOCATION CRYPTIQUE DESEQUILIBREE IMPLIQUANT 11qter DEVANT UNE RECIDIVE DE SYNDROME MALFORMATIF AVEC HYPOPLASIE DU CŒUR GAUCHE

Nous rapportons l'observation d'une récurrence d'un syndrome malformatif complexe avec hypoplasie du cœur gauche et décès néonatal pour un couple non apparenté.

L'étude cytogénétique et cytogénétique moléculaire orientée vers le chromosome 11q en raison de l'hypoplasie du cœur gauche permettra de trouver une translocation cryptique paternelle t(7p;11q), déséquilibrée chez les deux fœtus avec délétion 11q dans la région où est localisé le gène de l'hypoplasie du cœur gauche.

Nous rappelons l'importance de l'étude clinique pour orienter la recherche d'anomalies cytogénétiques cryptiques et l'utilisation de la cytogénétique moléculaire

146. Cytogénétique

YARDIN Catherine¹, ESCLAIRE Françoise¹, LAROCHE Cécile², TERRO Faraj¹, ROYER-LEGRAIN Ghislaine³, BARTHE Dominique¹, BONNEFONT Jean-Paul³, GILBERT Brigitte¹

1 Laboratoire de Cytogénétique Faculté de Médecine 2 rue du Dr Marcland - Limoges France

2 Service de Pédiatrie – Limoges

3 Service de Génétique (Necker)- Paris

FAUT-IL REALISER SYSTEMATIQUEMENT UNE FISH DE LA REGION 15Q11Q13 EN CAS DE SYNDROME AUTISTIQUE: A PROPOS D'UN CAS

Nous rapportons le cas d'un jeune garçon de 6 ans qui présente un retard mental avec un syndrome autistique sans dysmorphie évidente. Une duplication interstitielle dans la région 15q11q13 a été découverte à l'analyse cytogénétique en bandes R et confirmée en FISH (Hybridation Fluorescente *In situ*). L'analyse des microsatellites a montré que cette duplication s'est produite *de novo* et qu'elle est d'origine maternelle. Ceci confirme ce qui est habituellement écrit dans la littérature : la transmission paternelle s'accompagne en effet habituellement d'un phénotype normal contrairement à la transmission maternelle. Les signes cliniques les plus fréquemment rencontrés dans les duplications de la zone du PWS/AS (Prader Willi Syndrome/Angelman Syndrome) d'origine maternelle comprennent un retard mental, un autisme ou un syndrome autistique. Ces duplications peuvent être cryptiques. Au regard de notre cas et de ceux déjà publiés, nous proposons de tester systématiquement la région 15q11q13 en FISH chez les patients ayant une présentation clinique atypique, notamment si le tableau clinique comprend des traits psychiatriques pouvant évoquer un syndrome autistique.

147. Cytogénétique

DAHOUN Sophie¹, GLASER Bronwyn², ANTONARAKIS Stylianos¹, MORRIS Michael¹, MONSO- HINARD Christine¹, REISS Allan³, ELIEZ Stephan²

1 Division de Génétique Médicale, Hôpital Cantonal Universitaire - Genève Suisse

2 Service de Psychiatrie de l'enfant et de l'adolescent, HUG, 1206 Genève

3 Depart Of Psychiatry and Behavioral Sciences, Stanford University School of Medicine

CAPACITÉS LANGAGIÈRES DE SUJETS AFFECTÉS DE SYNDROME VELO-CARDIO-FACIAL: RÔLE DE L'ORIGINE PARENTALE DE LA DÉLÉTION 22Q11.2.

Objectifs: Le retard psychomoteur du VCF est associé à des difficultés cognitives caractérisées par un retard du langage. Les buts de l'étude étaient:

1) l'évaluation des déficits de la compréhension ou de l'expression.

2) la mesure de différences du fonctionnement cérébral, en mesurant la réponse hémodynamique par résonance magnétique fonctionnelle (RMF) durant un épreuve de langage sémantique.

Protocoles: Le profil langagier de 27 sujets VCF a été comparé à 27 sujets contrôles. L'origine parentale de la délétion *de novo* a été déterminée chez 21 sujets. Deux séries d'épreuves de niveaux de difficultés différentes

portant sur la sémantique du langage ont été suivies par RMF.

Résultats: Les compétences des VCF sont inférieures pour la compréhension que pour l'expression. Ce déficit est moindre si la délétion est d'origine paternelle. En RMF, le recrutement des aires du langage se fait de façon bilatérale. De plus, on observe une activation cérébrale plus importante du gyrus angulaire et du cervelet dans l'épreuve sémantique simple.

Conclusions: Le retard de langage des sujets VCF se caractérise par un décalage entre le langage réceptif et expressif. La présence d'un déficit du langage réceptif suggère un trouble sévère caractérisé par l'activation précoce et étendue des aires du langage. Ces résultats sont en accord avec des études qui décrivent une altération structurelle du lobe pariétal et du cervelet chez les sujets affectés. Enfin, les compétences verbales seraient différentes selon l'origine parentale de la délétion 22 suggérant un phénomène d'empreinte génomique.

148. Cytogénétique

LOHMANN Laurence¹, TAPIA Sylvie², ZABUKOVEC Eric³, GAUTIER Evelyne¹

1 Hôpital Américain de Paris 63 Bvd Victor Hugo - NEUILLY S/SEINE FRANCE

2 Lab.de Cytogénétique CERBA, Cergy Pontoise

3 Gynécologue Obstétricien, SARCELLES

MÉFIONS NOUS DES DIAGNOSTICS FACILES COMME LA TRISOMIE 21...

Madame S., 30 ans, nous a été adressée pour un caryotype fœtal à 25 SA en raison de la découverte d'un fémur court < 3^{ème} percentile à l'échographie morphologique de 24 SA. Le diagnostic chromosomique évoqué sur les premières cellules examinées, sur le point d'être transmis à l'obstétricien, a été une trisomie 21 fœtale, libre et homogène. La poursuite de l'analyse au microscope a révélé, grâce à l'œil expérimenté d'une technicienne de cytogénétique, l'aspect très discrètement inhabituel du chromosome 21 supplémentaire. Une partie de bras court de chromosome 12 a alors été suspectée puis confirmée par une technique de peinture chromosomique du chromosome 12 par hybridation *in situ*. Par la suite, le caryotype des parents a retrouvé une translocation réciproque équilibrée t(2 ;12)(p25 ; q12) chez la maman.

Cette histoire illustre parfaitement l'importance de visualiser et de vérifier toute anomalie chromosomique au microscope. Dans notre cas, la rectification du premier diagnostic nous a permis de donner un conseil génétique aux parents autrement différent que celui d'une simple trisomie 21 libre, puisque Madame S., bénéficiera pour ses prochaines grossesses d'un diagnostic prénatal par villosités chorales à 11 SA, étant donné le risque

important de déséquilibre de sa translocation, en plus d'une enquête familiale.

149. Cytogénétique

LOHMANN Laurence¹, CAVE Hélène², ROPERT Jean-Claude³, LETOURNEAU Sylvia¹, GAUTIER Evelyne¹

1 Hôpital Américain de Paris Laboratoire de Cytogénétique 63 Bvd Victor Hugo Neuilly s/Seine FRANCE

2 Biochimie Génétique, hôpital Robert Debré, Paris

3 Pédiatrie, CH de Neuilly s/Seine

DISOMIE UNIPARENTALE DU CHROMOSOME 14 : IMPORTANCE D'UN DIAGNOSTIC PRÉCOCE

Nous rapportons ici le cas d'une petite fille, Elodie, issue d'une grossesse bichoriale, biamniotique, adressée dans notre service à l'âge de 14 mois pour un caryotype sanguin en raison d'un retard d'acquisitions globales, en particulier d'un retard statural à -3DS et d'une légère dysmorphie faciale. L'examen chromosomique retrouve une translocation roberstonnienne (13q; 14q), *de novo*. Une recherche de disomie uniparentale du chromosome 14 met en évidence effectivement une hétérodisomie du chromosome 14 d'origine maternelle. Le phénotype d'Elodie est en corrélation avec les aspects cliniques habituellement décrits dans les disomies du chromosome 14 d'origine maternelle.

L'intérêt de ce cas souligne l'importance d'une collaboration étroite entre pédiatres et cytogénéticiens, notamment de la nécessité d'effectuer un caryotype sanguin pour le moindre retard d'acquisitions observé chez un enfant, car il conduit, en particulier dans les cas de disomie uniparentale du chromosome 14, à une meilleure prise en charge, car précoce, de l'enfant particulièrement sur le plan psychomoteur, orthopédique, diététique, et endocrinologique.

150. Cytogénétique

MIGNON-RAVIX Cécile¹, DEPETRIS Danielle¹, DELOBEL Bruno², CROQUETTE Marie-Françoise², GILSON Eric³, MATTEI Jean-François¹, MATTEI Marie-Geneviève¹

1 INSERM U491-Faculté Médecine Timone - MARSEILLE France

2 Hop. St Antoine, Lille, France

3 ENS, Lyon, France

HUMAN INTERSTITIAL TELOMERES ASSOCIATE *IN VIVO* WITH TRF1 AND TRF2 PROTEINS.

Les télomères sont des complexes nucléoprotéiques qui permettent d'assurer la protection et la réplication des extrémités des chromosomes.

Chez l'homme, l'ADN télomérique est composé d'hexamères TTAGGG double-brin répétés un grand nombre de fois, terminés en 3' par une queue d'ADN simple-brin riche en Guanine.

Différentes protéines ont été localisées au niveau des télomères humains: Certaines, comme TRF1 et TRF2, sont spécifiquement liées à l'ADN télomérique; D'autres sont associées aux télomères par interaction avec TRF1, comme TIN2 ou Tankyrase, ou avec TRF2, comme hRAP1. D'autres encore, comme l'hétérodimère Ku, sont capables d'interagir aussi bien avec l'ADN télomérique qu'avec les protéines associées. Cependant, le rôle précis de ces différentes protéines dans la prévention des fusions télomériques n'a pas encore été élucidé *in vivo*.

Dans le but de mieux comprendre le rôle spécifique des protéines TRF1 et TRF2 dans l'organisation des télomères, nous avons étudié un réarrangement chromosomique rare se traduisant par la localisation interstitielle de motifs télomériques TTAGGG, et donc par une perte de la fonction télomérique à ce niveau. Par immuno-FISH sur des préparations chromosomiques non-fixées, nous avons recherché, au niveau des séquences TTAGGG double-brin intrachromosomiques, la présence éventuelle de protéines spécifiques des télomères, comme TRF1 (interagissant avec TIN2) et TRF2.

Nos résultats montrent que les motifs télomériques interstitiels, bien qu'étant associés aux protéines télomériques spécifiques TIN2/TRF1 et TRF2, n'ont pas la capacité de former un télomère fonctionnel. Dans cette observation, la présence de

protéines associées aux motifs TTAGGG interstitiels pourrait contribuer à leur stabilité.

151. Cytogénétique

BAAJ Nawal¹, NORTH Marie-Odile¹, GELOT Antoinette¹, LEPEULE Sophie², CESBRON Paul³, GIRARD-ORGEOLET Sylvie¹, CHOISSET Agnès¹

1 Hôpital Saint-Vincent-de-Paul Service d'Histologie Embryologie Cytogénétique et Anatomie Pathologique 82 avenue Denfert-Rochereau - Paris France

2 Service de Pédiatrie générale Hôpital Saint-Vincent-de-Paul

3 Centre hospitalier Laennec, Creil

DÉLÉTIONS 15Q DISTALES *DE NOVO* : À PROPOS DE DEUX CAS

Les observations de patients avec une délétion de la région 15q25-26 sont rares, surtout si on exclut les translocations déséquilibrées et les anneaux du 15.

Le retard de croissance, débutant dès la vie intra-utérine, est constant. Il a été imputé à l'haplo-insuffisance du gène du récepteur à IGF-1. Dans environ la moitié des cas, il existe une hernie diaphragmatique qui suggère la présence de gène(s) ayant un rôle important dans le développement du diaphragme.

Nous rapportons deux cas de délétion 15q distale pure, *de novo*.

Le premier est celui d'un enfant de 1 an, peu dysmorphique, avec un retard staturo-pondéral à -4DS, une microcéphalie, une hypotonie axiale ; le caryotype est :46,XY,del(15)(q25.3q26.1).

Le deuxième est un diagnostic anténatal : l'échographie morphologique fœtale à 28 semaines d'aménorrhée, montre un retard de croissance intra-utérin, une hernie diaphragmatique, une ascite, une artère ombilicale unique ; le caryotype sur cellules amniotiques est : 46, XX,del(15)(q25). Le fœtus est mort *in utero* à 36 semaines d'aménorrhée ; l'examen fœtopathologique a révélé, en plus, une agénésie des quatrièmes orteils et une communication interauriculaire.

Les études en hybridation *in situ* et en biologie moléculaire ont essayé de préciser les régions délétées.

Ces cas sont analysés et comparés aux données de la littérature.

152. Cytogénétique

CARVES Céline¹, JOLY G², LE MERRER M³, BALGUERIE X⁴, MACE B², MOIROT H²

1 Service de Génétique Moléculaire Faculté de Médecine et de Pharmacie - Rouen FRANCE

2 Laboratoire de Cytogénétique, CHU de Rouen

3 Service de Génétique Médicale, Necker enfants malades, Paris

4 Service de Dermatologie, CHU de Rouen

HÉMI-ATROPHIE CORPORELLE ET TRISOMIE 22 EN MOSAÏQUE

Nous rapportons l'observation d'un enfant présentant à la naissance une dysmorphie faciale avec une hypoplasie de l'hémi-massif facial droit et une agénésie du pavillon de l'oreille droite, associée à une hémi-atrophie corporelle droite. Le caryotype sanguin standard est normal 46, XX.

A l'âge de 7 et 10 mois, l'évolution confirme l'hémi-atrophie corporelle droite, documentée par les radiographies osseuses. Un scanner cérébral révèle une hypoplasie et le comblement de la caisse du tympan droit. L'évolution psychomotrice est normale à ce jour malgré un déficit de 60dB à droite.

L'apparition de plages pigmentées hétérogènes et bilatérales dès l'âge de 6 mois et l'asymétrie corporelle ont fait pratiquer deux caryotypes sur culture de fibroblastes cutanés révélant une trisomie 22 en mosaïque confirmée par peinture chromosomique. La recherche de disomie uniparentale sur lymphocytes sanguins est négative.

Dans la littérature, 9 cas de trisomie 22 en mosaïque cutanée, à caryotype sanguin normal et phénotype anormal ont été rapportés, au moins deux cas présentaient une hémi-atrophie corporelle, des anomalies de pigmentation et un retard mental. En anténatal, le caryotype sur amniocytes et les échographies répétées semblent les meilleurs moyens de prédiction du phénotype d'une trisomie 22 en mosaïque. Le caryotype sur sang fœtal a toujours été retrouvé normal.

153. Cytogénétique

DE FREMINVILLE Bénédicte, PRIEUR Fabienne, TOURAINE Renaud, ADOUARD Véronique, LAURAS Benoit
Service de Génétique-CHU St Etienne Hôpital Nord - St Etienne
Cedex 2 France

Intérêt de l'étude en hybridation *in situ* par des systèmes multiprobes, dans des cas d'anomalies chromosomiques déséquilibrées *de novo*

Nous avons récemment mis en évidence dans le cadre de bilans de retards mentaux et de syndromes polymalformatifs inexplicables, des anomalies chromosomiques de structure déséquilibrées. L'analyse cytogénétique conventionnelle, même avec étude en prométaphases ne nous permettait pas d'aller plus loin dans la caractérisation de ces anomalies.

Nous avons donc étudié ces différents cas en hybridation *in situ* avec des systèmes multiprobes de sondes télomériques ou de peintures chromosomiques.

Nous rapportons un cas de remaniement des bras longs du chromosome 18 chez un enfant présentant un retard psychomoteur, un syndrome dysmorphique et une cardiopathie et un autre cas de remaniement de structure des bras longs du chromosome 2 chez un nourrisson adressé pour un syndrome polymalformatif.

L'étude en hybridation *in situ* par les systèmes multiprobes a permis dans les deux cas de caractériser de façon plus précise l'anomalie et de montrer, pour chacune d'elle, la contribution d'un autre chromosome.

D'autres cas d'anomalies chromosomiques déséquilibrées du laboratoire sont en cours d'étude et seront présentés également en fonction des résultats.

Ces études complémentaires ont donc l'intérêt de permettre de mieux caractériser les anomalies cytogénétiques déséquilibrées *de novo*, mais peuvent aussi être une aide à la compréhension des liens génotype-phénotype.

154. Cytogénétique

NORUZINIA Mehrdad¹, CHAZE Anne Marie², BLANCHET Patricia¹, SARDA Pierre¹, DEMAILLE Jacques², PELLESTOR Franck³, LEFORT Geneviève²

¹ Service de Génétique CHU de Montpellier Hôpital Arnaud de Villeneuve - MONTPELLIER FRANCE

² Génétique Moléculaire et Chromosomique CHU de Montpellier

³ IGH-CNRS, UPR1142 Montpellier

TRISOMIE PARTIELLE 16P PURE CHEZ 3 PATIENTS

Nous rapportons trois cas de duplication proximale pure du bras court du chromosome 16. Les 2 premiers cas correspondent à des duplications *de novo*.

Le premier patient, un garçon de 7 ans, présente une hypotonie, un retard de développement psychomoteur sévère, une dysmorphie faciale avec un front bombé, un hypertélorisme, un filtrum long, une rétrogathie, des oreilles dysplasiques et une cardiopathie (CIV). L'IRM cérébrale révèle une atrophie cérébrale. Le second patient, une fille de 18 ans présente un retard mental sévère, une dysmorphie faciale avec scaphocéphalie, un hypertélorisme, une pointe du nez étalée, un filtrum long, une micrognathie et de grandes oreilles. Chez ces deux patients, le caryotype métaphasique en bandes RHG montre un chromosome 16 avec un bras court anormalement allongé. Les caryotypes des parents sont normaux. Les analyses par FISH (peinture chromosomique, sonde subtélomérique 16p) sont en faveur d'une duplication proximale 16p *de novo*. Le premier patient présente aussi un chromosome 4 satellisé hérité de son père. Le troisième patient, un garçon âgé de 12 ans présente des troubles psychoaffectifs à type d'anxiété et de dépression, un retard mental léger, aucune dysmorphie en dehors d'un visage long et d'un strabisme. L'analyse chromosomique de ce sujet est en faveur d'une duplication euchromatique de la région proximale 16p héritée de sa mère. La relation entre le réarrangement chromosomique et le phénotype de ce dernier patient n'est pas claire.

La comparaison de nos patients avec ceux rapportés dans la littérature nous permet de définir trois groupes de trisomies

partielles du bras court du chromosome 16 et un phénotype particulier des sujets avec duplications interstitielles 16p incluant la région p11-p13.

155. Cytogénétique

MARLE Nathalie, TEXIER Isabelle, MARTINOVIC Jelena, GOSSET Philippe, RAZAVI Féreché, ROMANA Serge, VEKEMANS Michel, MORICHON-DELVALLEZ Nicole
Laboratoire de Cytogénétique Hôpital Necker-Enfants Malades
149, rue de Sèvres - Paris FRANCE

DIAGNOSTIC PRÉNATAL D'UNE TRISOMIE 14Q DISTALE PURE

Les cas de Trisomie 14q distale pure sont rares.

Nous rapportons ici le cas d'un fœtus pour lequel un caryotype sur liquide amniotique a été réalisé après découverte échographique d'une hernie diaphragmatique gauche, à 32 semaines d'aménorrhée. Toutes les cellules étudiées montrent un fragment chromosomique supplémentaire à l'extrémité du bras court d'un chromosome 21. Les caryotypes parentaux sont normaux. L'étude du caryotype spectral et l'hybridation *in situ* en fluorescence permettent d'identifier le fragment surnuméraire comme étant l'extrémité distale du bras long d'un chromosome 14.

Une interruption médicale de grossesse est réalisée.

A l'examen anatomo-pathologique, le fœtus de sexe masculin, polymalformé, présente un retard de croissance staturo-pondéral, une dysmorphie crânio-faciale, une volumineuse hernie postérieure de la coupole gauche, une hépatomégalie et un nodule splénique accessoire. L'examen neuropathologique met en évidence une hypoplasie des pôles frontaux avec atypies du corps calleux.

A la lumière des quelques cas publiés et de notre observation, nous précisons le phénotype de la trisomie 14q distale et l'implication de régions soumises à empreinte dans l'apparition des signes phénotypiques.

156. Cytogénétique

GINGLINGER Emmanuelle¹, LAGIER-TOURENNE Clotilde², ALEMBIK Yves³, de SAINT-MARTIN Anne⁴, FLORI Elisabeth⁵, GIRARD-LEMAIRE Françoise⁵, JEANDIDIER Eric²

¹ Hôpital du Munchberg laboratoire de cytogénétique 20, rue du Dr Laennec BP 1370 - Mulhouse France

² Laboratoire de génétique, CH de Mulhouse

³ Service de génétique médicale, CHU de Strasbourg

⁴ Service de pédiatrie, CHU de Strasbourg

⁵ Service de cytogénétique, CHU de Strasbourg

INVESTIGATIONS CYTOGÉNÉTIQUES PARENTALES COMPLÉMENTAIRES ET DÉCOUVERTE RÉTROSPECTIVE D'UNE TRISOMIE 3P ET D'UNE MONOSOMIE 5P PARTIELLES PAR DÉSÉQUILIBRE D'UNE TRANSLOCATION MATERNELLE T(3;5)(P23;P14).

L'identification de remaniements sub-télomériques en cytogénétique conventionnelle est souvent difficile en résolution standard.

Nous rapportons l'observation d'une translocation familiale t(3;5)(p23;p14) transmise sur plusieurs générations, sans notion préalable d'épisode de déséquilibre, ayant abouti à la naissance de deux enfants (frère et soeur) polymalformés. Les caryotypes réalisés initialement chez ces enfants ne mettaient pas en évidence d'anomalie particulière. Le premier enfant de sexe féminin est décédé rapidement après la naissance. Son frère actuellement âgé de 6 ans présente un tableau polymalformatif et un retard psychomoteur.

Une étude cytogénétique pratiquée en haute résolution chez les parents a permis de mettre en évidence une translocation maternelle et de retrouver le déséquilibre chez l'enfant vivant. Le phénotype est donc l'expression d'une trisomie 3p et d'une monosomie 5p par malségrégation 3:1.

L'évolution des techniques de cytogénétique vers une meilleure résolution doit conduire à renouveler la réalisation d'un

caryotype devant un tableau clinique évocateur d'une anomalie chromosomique.

Devant la récurrence d'un syndrome polymalformatif à caryotype non contributif, notre observation insiste sur l'importance de la réalisation des caryotypes parentaux, à la recherche d'un remaniement "semi-cryptique" afin d'assurer un conseil génétique adapté.

157. *Cytogénétique*

LE DU-ROGINE Nathalie¹, **LEBBAR Aziza¹**, **DUPONT Jean-Michel¹**, **GIRARD Sylvie²**, **CHOISET Agnès²**

1 Histologie Embryologie Cytogénétique Hôpital Cochin, 123 Bd Port Royal - PARIS

2 Histologie Embryologie Cytogénétique, Hôpital St Vincent de Paul, PARIS

DIAGNOSTIC PRÉNATAL DE TRISOMIE 22 : À PROPOS DE 17 CAS DIAGNOSTIQUÉS DANS 13 LABORATOIRES FRANÇAIS DE CYTOGÉNÉTIQUE

La trisomie 22 homogène est la trisomie la plus fréquemment retrouvée lors des fausses couches spontanées du premier trimestre, après celle du 16. Quelques rares cas ont été décrits en période néonatale, mais le décès est précoce à cause d'anomalies congénitales multiples.

En mosaïque, la trisomie 22 semble compatible avec une survie prolongée, associant dans tous les cas rapportés à ce jour, un retard mental et une dysmorphie.

Nous avons recensé 17 nouveaux cas de trisomies 22 dépistées lors d'un examen prénatal (10 en mosaïque et 7 homogènes) grâce à la collaboration de 13 laboratoires français de cytogénétique. L'analyse des données échographiques, cliniques, cytogénétiques et fœtopathologiques permet de décrire plus précisément les caractéristiques de ce syndrome et de comparer les phénotypes de la trisomie homogène et des mosaïques.

Ces observations peuvent aider à évaluer le pronostic d'une trisomie 22 en mosaïque découverte fortuitement lors d'un diagnostic prénatal, plus particulièrement en orientant l'examen échographique.

158. *Cytogénétique*

CANDELIER Jean-Jacques¹, **Mollicone R²**, **Groenen MAM³**, **Crooijmans R³**, **Morin V⁴**, **Zoorob R⁴**, **Oriol R²**, **Coullin UMR⁵**

1 16 avenue P. V. Couturier - Villejuif France

2 INSERM U 504

3 Wageningen Agricultural University

4 ERS 1984 CNRS

5 1599 CNRS

EVOLUTION DE LA CARTE CYTOGÉNÉTIQUE DES GÈNES DES FUCOSYLTRANSFÉRASES: COMPARAISON HOMME/GALLIFORMES

Neuf fucosyltransférases ont été clonées chez l'homme (FUT1-->9). Ces gènes sont responsables de l'expression des antigènes A, B, H et Lewis. Ces dernières molécules apparentées aux groupes sanguins sont impliquées dans les phénomènes de reconnaissance cellulaire. Ces gènes sont localisés sur 5 chromosomes différents et certains d'entre eux sont disposés par groupes de liaison. Certains de ces gènes sont monomorphes et apparaissent très tôt au cours du développement humain (36 jours). Les identités de séquences et les motifs protéiques conservés nous ont conduit à classer ces gènes en 3 grands groupes évolutifs. Associé au fait que des gènes FUT ont été identifiés tout au long du règne animal, mais aussi chez certaines plantes, cette famille est un très bon modèle pour une étude phylogénétique des gènes qui la constituent et leur séquençage. Ces gènes sont aussi d'excellents marqueurs pour analyser l'évolution des caryotypes.

Dans cette optique, nous nous sommes intéressés aux galliformes dont le génome organisé en macro et micro chromosomes, est évalué à 1/3 environ de celui de l'homme pour un nombre approximativement identique de gènes. Cette simplification (diminution du nombre d'introns et des séquences répétées) devrait se révéler avantageuse pour l'étude des mécanismes génétiques qui orchestrent le spectre d'expression très complexe des gènes FUT.

Nous avons pu amplifier chez le poulet 3 gènes FUT. Le criblage de banques d'ADN génomique de poulet (BACs) nous a permis d'obtenir des clones correspondant à chacun de ces gènes, dont la localisation cytogénétique par hybridation *in situ* (FISH) est en cours. Deux BACs portant l'équivalent aviaire du gène FUT4 ont été localisés en 1q42-44 ce qui, associé à la localisation de deux autres marqueurs (PGK, FUT4, TYR), correspondrait à la région humaine 11q21-22 où nous avions précédemment assigné le gène FUT4. La synténie de ce segment serait ainsi préservée des oiseaux à l'homme. Ces deux BACs ont une localisation en 1qter chez tous les galliformes éprouvés. Cette zone 1qter ne semble pas avoir fait l'objet d'un remaniement chromosomique tel que translocation sur un autre chromosome ou d'une inversion consécutive, cette région chromosomique serait donc conservée à travers ces espèces.

Les résultats en cours avec les autres gènes des FT, nous permettront d'approfondir ces comparaisons chez les galliformes et entre ce groupe d'oiseaux et l'homme.

159. *Cytogénétique*

DROUIN-GARRAUD Valérie¹, **Michel C²**, **Schneider P²**, **Bastard C³**, **Frebourg T¹**, **Vannier JP²**

1 Service de Génétique Hôpital Charles Nicolle 1 rue de germont Rouen

2 Département d'Hématologie et Oncologie Pédiatriques, CHU de Rouen

3 Laboratoire de Cytogénétique, Centre Henri Bequerel, Rouen

DÉLÉTION DE LA RÉGION 3Q27-QTER ASSOCIÉE À UNE ANÉMIE DYSÉRYTHROPOIÉTIQUE CONGÉNITALE

Les anémies dysérythropoïétiques congénitales (Congenital Dyserythropoietic Anemia, CDAN) sont secondaires à des troubles de l'érythropoïèse entraînant un défaut quantitatif et qualitatif des hématies. Trois types sont bien caractérisés : CDAN1 (MIM 224120) CDAN2 (MIM 224100) et CDAN3 (MIM 105600). Les CDAN1 et 2 ont une transmission autosomique récessive alors que la CDAN3 a une transmission autosomique dominante. Les gènes impliqués ont été localisés respectivement en 15q15.1-q15.3, 20q11.2 et 15q21. D'autres formes, exceptionnelles, de CDAN ont été rapportés. Nous rapportons l'observation d'une patiente âgée de dix sept ans présentant un retard mental, un retard de croissance, une dysmorphie faciale et une CDAN associée à une neutropénie, un déficit sélectif en immunoglobulines et une thrombocytose. Le caryotype de cette patiente et l'analyse par FISH ont révélé une délétion de la région 3q27-qter. Cette observation suggère la localisation d'un autre gène impliqué dans les CDAN dans la région 3q27-qter.

160. *Cytogénétique*

JOLY-HELAS Géraldine^{1,2}, **Labadie Gérard³**, **Laquerriere Annie⁴**, **Saugier-Verber Pascale²**, **Barre Véronique³**, **Moïrot Hélène^{1,2}**, **Frebourg Thierry²**, **Mace Bertrand¹**

1 Laboratoire de Cytogénétique Hôpital Charles Nicolle - Rouen

2 Service de Génétique Hôpital Charles Nicolle - Rouen

3 Unité de Diagnostic Prénatal, Centre Hospitalier du Belvédère, Rouen

4 Service d'Anatomie et de Cytologie Pathologique, CHU de Rouen

Diagnostic de trisomie 22 en mosaïque chez un fœtus

Nous rapportons l'identification fortuite d'une trisomie 22 en mosaïque chez un fœtus sans anomalie morphologique après réalisation d'une amniocentèse à 17 SA pour âge maternel. Le caryotype fœtal étudié en bandes R.H.G. sur 21 clones a mis en évidence la formule chromosomique suivante : mos 47,XY,+22[7]/46,XY[14]. Les caryotypes parentaux étaient normaux. La grossesse a été interrompue au terme de 22 SA. L'examen fœto-pathologique a mis en évidence un retard de croissance, une dysmorphie crânio-faciale et une hypoplasie du pénis. Un nouveau caryotype a été réalisé sur liquide amniotique qui confirme la trisomie 22 en mosaïque : 47,XY,+22[1]/46,XY[16], sur fibroblastes fœtaux où la trisomie 22 a été retrouvée homogène dans les 33 métaphases étudiées, et

sur lymphocytes fœtaux où les 100 métaphases examinées ne présentaient pas de trisomie 22. L'étude de 5 marqueurs microsatellites aux locus D22S420, D22S427, D22S944, D22S283 et D22S1171 a permis d'affirmer l'existence d'une disomie uniparentale maternelle. Les marqueurs les plus centromériques signaient une hétérodisomie uniparentale, témoignant d'une non-disjonction en première division de méiose. Ainsi, une trisomie 22 est survenue par non-disjonction en première division méiotique maternelle chez une femme âgée de 38 ans. La correction partielle post-zygotique de cette trisomie 22 a conduit à l'apparition d'une mosaïque, la trisomie 22 homogène étant létale. En raison probablement d'une forte pression de sélection contre les cellules aneuploïdes dans certains tissus comme les organes hématopoïétiques, l'élimination du chromosome 22 excédentaire d'origine paternel a provoqué l'apparition d'une disomie uniparentale maternelle.

161. Cytogénétique

LE CAIGNEC Cédric¹, Bocéno Michelle¹, Aubron Françoise², Joubert Madeleine³, Winer Norbert⁴, Fallet-Bianco Catherine⁵, Rival Jean-Marie¹

1 Institut de biologie Service de Génétique Médicale 9, quai Moncoussu - NANTES FRANCE

2 Centre d'échographie de l'Île Gloriette, Nantes, France

3 Service d'anatomie pathologique, CHU Nantes, France

4 Service de gynécologie obstétrique, CHU Nantes, France

5 Service d'anatomie pathologique, CH Sainte Anne, France

DIAGNOSTIC PRÉNATAL D'UN MARQUEUR SURNUMÉRAIRE EN MOSAÏQUE, DE NOVO, XIST-NÉGATIF, IDENTIFIÉ PAR FISH CHEZ UN FŒTUS MASCULIN AVEC MALFORMATIONS CÉRÉBRALES

Des marqueurs et anneaux de l'X de taille variable sont mis en évidence chez 5% des patients atteints du syndrome de Turner. Le phénotype de ces patients est également variable : certains ont un syndrome de Turner classique tandis que d'autres ont un phénotype plus sévère associant un retard mental à d'autres anomalies. C'est le cas des très petits marqueurs de l'X n'incluant pas XIST, locus responsable de l'inactivation du chromosome X conduisant donc à une disomie fonctionnelle des régions chromosomiques de l'X dupliqué. Les marqueurs de l'X chez des enfants masculins sont rares et n'ont été rapportés que dans 5 observations antérieures. Nous rapportons l'identification d'un marqueur de l'X chez un fœtus de sexe masculin.

Le prélèvement de villosités choriales est réalisé chez une femme devant la découverte d'une clarté nucale fœtale à 4 mm à 12 SA. Un caryotype en bandes RTG permet la mise en évidence d'un marqueur en mosaïque 46,XY[4]/47,XY,+r(X)[10]/48,XY,+r(X),r(X)[6]. Le caryotype des parents est normal précisant le caractère *de novo* du marqueur. L'utilisation d'une sonde spécifique du centromère de l'X (DXZ1) a permis de montrer que le marqueur dérive d'un chromosome X. Une deuxième technique de FISH a permis de préciser que le locus spécifique XIST (sonde Oncor) n'est pas présent sur le marqueur. Une seconde échographie est réalisée à 20 SA et permet la mise en évidence d'une malformation de Dandy-Walker avec agénésie du corps calleux et du septum lucidum et hypoplasie du vermis cérébelleux. Après consultation de génétique le couple décide d'interrompre la grossesse. L'autopsie a confirmé les malformations cérébrales. A notre connaissance, nous rapportons le premier cas de diagnostic anténatal d'un marqueur surnuméraire en mosaïque, *de novo*, XIST-négatif, chez un fœtus de sexe masculin.

162. Cytogénétique

JAMAR Mauricette¹, HERENS Christian¹, GODIN Pierre-Arnaud²

1 Centre de Génétique Humaine Université de Liège CHU Sart Tilman - LIEGE BELGIQUE

2 Centre de P.M.A. - CHR Citadelle - LIEGE

A propos d'une translocation t(19;22) chez un homme azoospermique

Nous rapportons le cas d'un homme de 32 ans présentant une azoospermie. Ses antécédents médicaux sont sans particularité. A l'examen clinique, les volumes et consistances des deux testicules sont normaux, les canaux déférents sont palpés des deux côtés. L'analyse du sperme (pratiquée à deux reprises) montre un volume de 2 millilitres, des dosages de L-carnitine libre, phosphatases acides et fructose normaux, et une azoospermie, confirmée au lavage test. La spermoculture est négative. Les taux d'hormones circulantes (FSH, LH, testostérone, Oestradiol) sont normaux.

Le caryotype en Q-banding révèle une translocation t(19;22)(q13.2;p11.2). L'hybridation *in situ* fluorescente (FISH) avec une sonde de peinture chromosomique spécifique du 19 (Coatasome 19, Oncor_) confirme la présence de matériel chromosomique provenant du 19 sur le bras court d'un des deux chromosomes 22.

Notre observation illustre différentes caractéristiques :

1. Les patients mâles porteurs d'une remaniement chromosomique équilibré impliquant des autosomes sont le plus souvent porteurs d'une oligo(asthén)(térato)zoospermie. Lorsqu'ils présentent une azoospermie, celle-ci est de type sécrétoire : c'est le cas chez notre patient, ainsi qu'en témoignent notamment un examen clinique et une biochimie séminale normaux.
2. La participation d'un chromosome acrocentrique dans la translocation entraîne plus fréquemment une azoospermie qu'en l'absence de chromosome acrocentrique impliqué. Ceci a déjà été rapporté dans la littérature pour les chromosomes 15, 21 et 22.
3. Une étude complémentaire en FISH a permis d'affirmer le diagnostic, vu la petite taille des fragments impliqués et la similitude morphologique des paires 19 et 22 en Q-banding.

163. Cytogénétique

VALDUGA Mylène¹, MARCHAL Claude², PHILIPPE Christophe¹, ROUSSELET Florence¹, RAGAGE-Noel Christiane³, JONVEAUX Philippe¹

1 Laboratoire de génétique médicale-EA 3441, CHU Nancy-Brabois, avenue du morvan - Vandoeuvre France

2 Département de Pédiatrie et de Néonatalogie, Hôpital Bel-Air, Thionville

3 Département d'imagerie médicale, Hôpital Sainte-Croix, Metz

CARACTÉRISATION MOLÉCULAIRE D'UNE INVERSION PÉRICENTRIQUE DU CHROMOSOME 6, INV(6)(P12Q16), ASSOCIÉE À UN SYNDROME DE CHAR.

Le syndrome de CHAR, de transmission autosomique dominante, associe une dysmorphie faciale, des anomalies discrètes des extrémités et une persistance du canal artériel. La dysmorphie faciale semble être un critère majeur du diagnostic avec une bouche large, un philtrum court et des lèvres épaisses, un front haut, une racine du nez large et plate avec une pointe aplatie et large. La pénétrance de l'anomalie cardiaque est en revanche incomplète. Des mutations faux-sens à effet dominant négatif du gène TFAP2B, localisé en 6p12 ont été récemment identifiées. TFAP2B code un facteur de transcription impliqué dans la différenciation des cellules dérivées du neur ectoderme avec chez la souris une expression spécifique dans le mésenchyme facial, la cornée et la rétine.

Nous rapportons l'observation d'une femme de 23 ans chez laquelle la dysmorphie faciale est évocatrice du syndrome de CHAR avec toutefois une absence d'anomalie cardiaque. Le caryotype constitutionnel révèle une inversion péricentrique du chromosome 6, inv(6)(p12q16), survenue *de novo*. L'hybridation *in situ* en fluorescence à l'aide d'un PAC contenant le gène

TFAP2B sur les chromosomes métaphasiques précise le point de cassure avec un double signal en 6p12 et 6q16. Cette jeune femme bénéficie d'un diagnostic prénatal chromosomique lors de sa première grossesse. Le fœtus a hérité de l'inversion équilibrée maternelle et le suivi échographique fœtal révèle la dysmorphie caractéristique déjà décrite chez la mère, sans anomalie cardiaque associée. La technique d'électrophorèse en champ pulsé est réalisée afin de mieux cibler le point de cassure en 6p12 et tout particulièrement de mieux appréhender le mécanisme de dérégulation du gène TFAP2B responsable du syndrome dans cette famille.

164. Cytogénétique

LAGIER-TOURENNE Clotilde¹, GINGLINGER Emmanuelle¹, PETER Marie-Odile², FLORI Elisabeth³, GIRARD-LEMAIRE Françoise³, JEANDIDIER Eric¹

¹ Service de génétique Hôpital Emille Muller 20 rue du Dr Laennec Mulhouse France

² Service de pédiatrie, CH de Mulhouse

³ Service de cytogénétique, CHU de Strasbourg

TRISOMIE PARTIELLE 3P24-PTER ASSOCIÉE À UNE DÉLÉTION SUBTÉLOMÉRIQUE DU BRAS COURT DU CHROMOSOME 5 : CORRÉLATION GÉNOTYPE-PHÉNOTYPE.

La trisomie partielle 3p2 est définie par l'association d'une dysmorphie caractéristique, d'un retard psychomoteur et occasionnellement de malformations cardiaques, urogénitales ou digestives. Quelques formes graves avec holoprosencéphalie ou cyclopie ont également été décrites.

Nous présentons un enfant porteur de cette aneusomie partielle associée à une délétion 5p subtélomérique. Une étiologie chromosomique est évoquée dès la naissance devant une hypotonie majeure, un syndrome oedémateux et une dysmorphie. Le développement staturo-pondéral est bon, mais un retard des acquisitions est observé à l'âge de 5 mois.

L'étude cytogénétique conventionnelle et moléculaire permet la mise en évidence d'un réarrangement déséquilibré entre les chromosomes 3 et 5, survenu *de novo* : 46,XX,der(5)t(3;5)(p24;p15.3). La sonde spécifique du syndrome du cri du chat (Vysis), hybridant en 5p15.2, n'est pas impliquée dans le remaniement contrairement à la sonde subtélomérique 5p (Vysis).

Des études de corrélation génotype-phénotype dans le syndrome du cri du chat ont permis de définir 3 régions critiques respectivement responsables de la dysmorphie (5p15.2), du cri caractéristique (région proximale de 5p15.3) et des troubles du langage (partie distale de 5p15.3). Le retard psychomoteur semble être plus modéré, voire absent, dans les délétions les plus distales. La corrélation du phénotype de notre patiente aux résultats de cytogénétique moléculaire, nous amène à relier ce phénotype à la seule trisomie 3p. Cette observation permet de confirmer l'absence d'implication de la région subtélomérique 5p dans la dysmorphie et le cri caractéristiques du syndrome du cri du chat.

165. Cytogénétique

GIRARD-LEMAIRE Françoise¹, DORAY Bérénice¹, VIGNERON Jacqueline², FLORI Elisabeth¹

¹ Laboratoire de Cytogénétique Hôpital de Haute-pierre Avenue Molière STRASBOURG Cedex FRANCE

² Service de Médecine et de Réanimation Néonatales - Génétique Maternité Pinard NANCY

TRANSLOCATION DÉSÉQUILIBRÉE EN MOSAÏQUE CHEZ UN ENFANT PRÉSENTANT UN SYNDROME POLYMALFORMATIF

Nous rapportons l'observation d'une fillette de 6 mois atteinte d'un syndrome polymalformatif comportant une hypotonie généralisée, un blépharophimosis, une microphthalmie droite avec un kyste colobomateux, une asymétrie de longueur des membres, une hypotonie généralisée, une bifidité des vertèbres, une hypoplasie vermienne inférieure et une myélinisation cérébelleuse incomplète. Le tableau clinique évoquant une anomalie chromosomique, un premier caryotype sanguin en technique standard est effectué chez l'enfant puis un second sur

100 mitoses avec une résolution de 550 bandes ; des caryotypes sanguins sont également réalisés chez les parents. Malgré des résultats en apparence normaux, un caryotype sur fibroblastes est effectué chez l'enfant : il met en évidence une mosaïque chromosomique associant, sur une mitose, une lignée cellulaire normale 46,XX et sur 90 mitoses, une lignée comportant un allongement du bras long d'un chromosome 13 identifié secondairement par hybridation *in situ* comme une trisomie partielle du bras long d'un chromosome 17 en 17q11-17qter. Une nouvelle analyse des 100 mitoses observées sur le caryotype sanguin de l'enfant permet de retrouver 4 mitoses comportant un allongement du chromosome 13.

Nous envisageons ensuite différentes hypothèses susceptibles d'expliquer le mécanisme de formation de cette mosaïque chromosomique très rare, associant une lignée cellulaire normale et une lignée présentant une translocation déséquilibrée.

Cette observation souligne la nécessité de mettre en oeuvre tous les outils cytogénétiques disponibles quand une anomalie chromosomique est fortement suggérée par la clinique, dans la perspective d'un conseil génétique ultérieur et de rechercher systématiquement une mosaïque chromosomique, en particulier par un caryotype sur fibroblastes, lorsqu'il existe une asymétrie corporelle.

166. Cytogénétique

LAPIERRE Jean-Michel, JOLY Géraldine, PRIEUR Marguerite, RAOUL Odile, de BLOIS Marie-Christine, MORICHON-DELVALLEZ Nicole, GOSSET Philippe, VEKEMANS Michel, ROMANA Serge, TURLEAU Catherine
Laboratoire de Cytogénétique. Hôpital Necker-Enfants Malades. 149, rue de Sèvres - Paris France

APPORT DE LA CGH AU DIAGNOSTIC CYTOGÉNÉTIQUE

La CGH est une technique capable d'identifier l'origine d'un segment chromosomique en plus ou en moins lorsque la cytogénétique conventionnelle est mise en échec par la petite taille du fragment et/ou un patron de bandes non discriminatif. Elle est potentiellement capable de détecter des remaniements cryptiques terminaux et interstitiels. La taille minimale des déséquilibres identifiables reste un sujet de discussion et dépend de nombreux facteurs comme la localisation de l'anomalie et la qualité de la technique. Nous rapportons ici 12 exemples d'anomalies étudiées par CGH dans le laboratoire. Dans la majorité des cas il s'agissait de préciser un remaniement vu en cytogénétique conventionnelle (550 à 850 bandes) : identification d'un segment manquant ou en excès, confirmation de la nature non équilibrée d'une translocation, aide à la détermination des points de cassure. Dans tous ces exemples l'apport de la CGH a été déterminant. Dans d'autres cas, la cytogénétique conventionnelle (550 à 850 bandes) ne détectait aucune anomalie. La CGH a permis la mise en évidence d'une anomalie cryptique dans 8 cas. Tous les résultats anormaux ont été confirmés par peinture chromosomique et sondes spécifiques. Au total la CGH est le moyen le plus direct pour préciser un remaniement déséquilibré visible mais non caractérisable par les bandes chromosomiques. Lorsque le caryotype est normal, la CGH est une alternative possible à l'étude par FISH-multiprobe de l'ensemble des régions subtélomériques, en considérant qu'elle peut détecter aussi des anomalies interstitielles. En pratique, son utilisation systématique est limitée par la difficulté d'obtenir des préparations chromosomiques permettant d'obtenir de façon constante la qualité d'hybridation nécessaire.

167. Cytogénétique

GREGOIRE Marie-José¹, LEHEUP Bruno², VIGNERON Jacqueline³, BOURDON Violaine¹, ROUSSELET Florence¹, JONVEAUX Philippe¹

1 Laboratoire de génétique médicale-EA 3441, CHU Nancy-Brabois, avenue du Morvan - Vandoeuvre France

2 Service de médecine Infantile et génétique clinique, Hôpital des enfants, CHU Nancy

3 Service de Néonatalogie, Maternité Régionale de Nancy

LA RECHERCHE D'ANOMALIES CHROMOSOMIQUES CRYPTIQUES SUBTÉLOMÉRIQUES : UNE APPROCHE CLINIQUE ET CYTOGÉNÉTIQUE INDISSOCIABLE

L'implication récente d'anomalies chromosomiques cryptiques subtélomériques dans l'étiologie de 7 à 10% des retards mentaux sévères a ouvert un nouveau champ d'exploration diagnostique dans le conseil génétique de ces affections. La mise à disposition de sondes commerciales autorise le criblage des régions subtélomériques par la technique d'hybridation *in situ* en fluorescence (FISH). Il s'agit toutefois d'une étude longue et coûteuse, dont les

indications doivent être appréciées avec discernement. Nous rapportons l'expérience de l'équipe de génétique médicale du CHU de Nancy quant à l'utilisation, depuis le début de l'année 2000, de ce nouvel outil diagnostique dans une série de 34 patients porteurs d'un retard mental sévère associé plus ou moins à une dysmorphie crânio-faciale, avec ou sans antécédents familiaux. Parmi les 34 patients, l'étude en FISH des régions subtélomériques a révélé une anomalie chez 10 d'entre eux (30%). Parmi ces 10 cas, l'un d'entre eux aurait pu être identifié grâce à l'étude du caryotype parental, un autre grâce à la réalisation d'un caryotype en haute résolution. A noter que parmi les deux cas de délétion 1pter, la présentation clinique typique chez l'un d'entre eux a permis d'orienter d'emblée la recherche vers la région chromosomique d'intérêt. Les résultats sur cette série confirment tout à fait l'importance de ce criblage subtélomérique en réponse à des critères cliniques dont certains

avec le recoupement progressif de diverses observations pourraient devenir spécifiques.

168. Cytogénétique

BOCENO Michelle¹, David A², Le Caignec C¹, Rival JM¹

1 Labo Cytogénétique Service de génétique Médicale institut de biologie CHU 9, quai Moncoussu - NANTES Cedex

2 UF de génétique clinique, service de génétique Médicale, institut de biologie, CHU, Nantes

ANNEAU DU 8 HÉRITÉ, CHEZ UN ENFANT EXPLORÉ POUR RETARD DES ACQUISITIONS ET MICROCÉPHALIE

Depuis la première description d'un chromosome 8 en anneau en 1973 par Pfeiffer, seulement 5 cas ont été décrits. Aucun n'a été spécifié comme hérité. Hormis dans un cas cet anneau est présent de manière homogène au moins sur les lymphocytes. Cliniquement la microcéphalie est constamment retrouvée et s'y associent un retard mental plutôt modéré et un retard de croissance. La particularité du dossier présenté ici est la notion de transmission maternelle de cet anneau.

L'enfant est âgé de 7 ans lorsqu'il consulte pour la première fois dans le service de génétique médicale pour retard des acquisitions. Il est né prématurément à 31,5 SA (PN 1Kg350- T 38,5cm- PC 27,5cm). La marche autonome a été acquise à l'âge de 13 mois. L'acquisition du langage a justifié une prise en charge spécialisée et les apprentissages scolaires se sont avérés difficiles. Le retard de croissance se situe à -3DS et le PC est à -5DS. Le syndrome dysmorphique est discret. Le retard intellectuel s'associe à un comportement hyperactif; Enfin l'enfant est également suivi pour une amblyopie bilatérale. Le caryotype a pour formule: 46,XY,r(8)(p23q24.2)[26]. Cette homogénéité s'accompagne d'une taille et d'une morphologie constante de l'anneau.

La mère de cet enfant avec des antécédents de difficultés d'apprentissage scolaire, également microcéphale présente un

caryotype dont la formule est: 46,XX,r(8)(p23q24)[22]/ 45,XX,-8 [2]/ 47,XX,r(8)(p23q24),+r(8)(p23q24)[1]/46,XX[2].

L'Hybridation *in situ* confirme la présence de séquences télomériques p et q contigues.

Un essai de "caractérisation" de cet anneau est réalisé ainsi qu'une comparaison génotype/phénotype mère/enfant.

169. Cytogénétique

SCHAFF Jean-Luc¹, GREGOIRE Marie-José², ROUSSELET Florence², JONVEAUX Philippe²

1 Service de Neurologie, CHU de Nancy, Hôpital Central - Vandoeuvre

2 Laboratoire de Génétique médicale-EA 3441, CHU Nancy-Brabois

EPILEPSIE SYNDROMIQUE ET CHROMOSOME 20 EN ANNEAU

Si certaines aberrations chromosomiques sont associées de façon significative à une épilepsie, celle ci est le plus souvent inconstante, et les syndromes épileptiques observés y sont peu spécifiques. Le chromosome 20 en anneau associée en l'absence de dysmorphie, une déficience mentale modérée, des troubles du comportement (impulsivité et agressivité) et une épilepsie. Les crises débutent entre 3 et 8 ans avec des pertes de contact de durée variable pouvant réaliser des états confusionnels prolongés. Ces crises sont déclenchées par des facteurs favorisants émotionnels. Les enregistrements électroencéphalographiques au cours des états confusionnels montrent des séquences prolongées d'ondes lentes de grande amplitude mêlées à des pointes, à maximum frontal. Cette épilepsie est caractérisée par sa pharmacorésistance. Nous rapportons l'observation d'une enfant née à terme en 1986, après une grossesse normale. Décrite initialement comme un bébé calme, dormeur et lent, une tendance à l'isolement et à l'agressivité est notée en classe de maternelle. Des difficultés de scolarisation s'associent à la survenue de stéréotypies verbales et gestuelles. A l'âge de 12 ans (scolarisée alors en 6ème) apparaissent une désorientation avec des épisodes de raideur du tronc, agitation violente des membres, regard fixe effrayé, cris. Ces épisodes sont fréquents de courte durée, couplés à des terreurs nocturnes. Les explorations

complémentaires révèlent un état de mal épileptique (pointes-ondes bifrontales continues) avec une imagerie cérébrale normale. Il n'y a pas de malformation associée, ni de dysmorphie crânio-faciale. Le QI est estimé à 83 (WISC). Le caryotype constitutionnel sanguin révèle un chromosome 20 en anneau en mosaïque (40% des métaphases). L'adaptation du traitement réduit les crises à une par mois environ avec une très nette amélioration sur le plan psychique et une rescolarisation en milieu ordinaire. La spécificité des aspects clinique et électroencéphalographique de cette épilepsie semble acquise pour orienter les examens complémentaires vers l'étude cytogénétique voire dans certains cas une étude en hybridation *in situ* en fluorescence à l'aide de sondes subtélomériques du chromosome 20 dans le contexte d'un mosaïcisme à minima au niveau sanguin.

170. Cytogénétique

LESPINASSE James¹, Fert-Ferrer S¹, Lundsteen C², Paravy C¹, Brunel MJ¹, Curtaud MF¹, Revel L¹, Rethoré MO³, Kirchhoff M, Romana S⁴, Guzzo N¹, Chazalet S¹, Favre A¹, Quack B¹, Bugge M⁵

1 Laboratoire de Génétique Chromosomique Centre hospitalier de Chambéry Chambéry France

2 Laboratoire de cytogénétique, Département de génétique clinique, Rigshospitalet, Danemark

3 Centre médical J. Lejeune, Hôpital Notre-Dame du Bon-Secours, Paris, France

4 Laboratoire de cytogénétique, Hôpital Necker-Enfant-Malades, Paris, France

5 Mendelian cytogenetic network, Université de Copenhague, Copenhague N, Danemark

REMANIEMENTS CHROMOSOMIQUES COMPLEXES (5 NOUVEAUX CAS) ET REMANIEMENT CHROMOSOMIQUE MULTIPLE (1 NOUVEAU CAS) : L'APPORT DES OUTILS DE LA GÉNÉTIQUE CHROMOSOMIQUE MOLÉCULAIRE ET CONSÉQUENCES SUR L

Les remaniements chromosomiques complexes ou multiples d'apparence équilibrée sont rares. Nous rapportons cinq cas de remaniement chromosomique complexe et un cas de remaniement chromosomique multiple d'apparence équilibrée.

Cas n°1 : Patiente enceinte, G2-P1, consulte du fait d'un enfant de 30 mois présentant une dysmorphie faciale avec retard des acquisitions. La formule chromosomique maternelle est: 46, XX, ins(13;1)(q32;q23q24), t(15;20)(q15;p12).

Cas n°2 : Patiente, G8-P0, consulte à sa troisième fausse-couche spontanée. La formule chromosomique est:

45, XX, dic(13;14)(p11;p11) t(14;22)(q32.32;q11.2), der(22)t(14;22)(q32.33;q11.1).

Ce réarrangement d'origine familiale probable est transmis équilibrée en totalité ou partiellement et de façon aléatoire au sein de sa fratrie.

Cas n°3 : Patiente, G1-P1, consulte du fait d'un enfant de 12 ans avec un retard mental modéré et des troubles du comportement. La formule chromosomique maternelle est: 46, XX, t(4;13;22)(q32;q12;q11.2).

Cas n°4 : Patiente présentant des troubles psychotiques sans dysmorphie. La formule chromosomique est: 46, XX, t(1;6;5)(p13;q12;p13).

Cas n°5 : Patiente, G2-P0, dont le conjoint (46,XY) a une oligo-asthénospermie consulte dans le cadre d'un bilan pré-ICSI. La formule chromosomique de la patiente est: 46, XX, der(1)t(1;11)(p13.3;q14.3), der(7)t(1;7)(p21;q31.1) ins(7;8)(q31.1;p11.2p11.1), der(8)t(7;8)(q31.2;p11.1), der(11)t(8;11)(p11.2;q14.2).

Cas n°6 : Enfant présentant un autisme infantile. La formule chromosomique est: 46, XY, t(3;6;9;10;14)(p24;q21;p21;p14;q12).

Nous discutons

- les techniques de cytogénétique moléculaire indispensables pour identifier précisément ce type de remaniement d'apparence équilibrée,
- les différentes spécificités du conseil génétique pour chacun de ces cas,
- les mécanismes de survenus et classifications de ce type d'aberration chromosomique.

171. Cytogénétique

CHELLOUG Nora¹, Lefrançois P², Lespinasse J³, Fert-Ferrer S³, Pages M-P⁴, Becker M⁴

1 19, avenue Tony Garnier - Lyon France

2 Service de génétique médicale, centre hospitalier d'Annecy

3 Laboratoire de génétique, centre hospitalier de Chambéry

4 Laboratoire Marcel Mérieux de Lyon

CAS D'UN RETARD MENTAL ASSOCIÉ À UNE DUPLICATION DE LA BANDE XP22.3 DU CHROMOSOME X.

Nous rapportons l'observation d'un patient de sexe masculin présentant un retard mental associé à une dysmorphie faciale.

Dans le cadre du bilan de cette déficience mentale, l'étude cytogénétique en bandes R et G montre la présence d'un matériel additionnel dans les bras courts du chromosome X.

L'utilisation de la sonde locus spécifique en hybridation *in situ* en fluorescence (LSI KAL Xp22.3, Vysis) nous a permis de caractériser cette anomalie comme étant une duplication de la bande Xp22.3.

Ce chromosome X remanié a été transmis par la mère chez laquelle il est préférentiellement inactivé.

Le caryotype de la grand-mère maternelle du patient est normal alors que le remaniement est présent chez l'une des deux sœurs en âge de procréer.

Afin de tenter d'établir une corrélation phénotype-génotype nous comparons cette observation avec ce qui a été décrits dans la littérature.

22 polymalformations sont associés à une duplication Xp, mais à notre connaissance, il s'agit du premier cas de retard psychomoteur associé, lié à une duplication isolée et héritée de la bande Xp22.3.

En outre nous insistons sur l'intérêt des anomalies chromosomiques afin d'améliorer la cartographie physique et transcriptionnelle d'une région définie particulièrement dans le cadre de l'identification de gènes de retard mental.

172. Cytogénétique

METZLER-GUILLEMAIN Catherine^{1,2}, BUENDIA B³, DEPETRIS D¹, GUICHAOUA MR², MATTEI MG¹

1 Inserm U491 Faculté de médecine de la Timone, Marseille

2 Dpt de Biologie de la Reproduction - MARSEILLE

3 Institut Jacques Monod, Paris),

DISTRIBUTION SUBNUCLÉAIRE DES ISOFORMES DE LA PROTÉINE HP1 DANS LES SPERMATOCYTES HUMAINS, AU STADE PACHYTÈNE.

Au cours de la méiose mâle humaine, au stade pachytène, les chromosomes sexuels forment une petite structure ovoïde, attachée à la membrane nucléaire, appelée vésicule sexuelle (VS). Dans la VS, les chromosomes X et Y sont transcriptionnellement inactifs en raison d'une hétérochromatinisation facultative dont l'origine est mal définie.

Il a été proposé que le gène XIST soit impliqué dans la formation de la VS, comme il est impliqué dans l'inactivation d'un des chromosomes X, dans les cellules somatiques des femelles de mammifères. Un certain nombre d'éléments vont cependant à l'encontre de cette hypothèse, notamment le moment d'expression du gène XIST et son faible niveau d'expression au cours de la méiose mâle. De plus, la chromatine constituant la VS ne présente pas les mêmes propriétés que celle de l'X inactif chez la femelle des mammifères.

L'inactivation des chromosomes sexuels dans la VS pourrait mettre en jeu d'autres facteurs comme des protéines connues pour jouer un rôle dans l'hétérochromatinisation. Les protéines HP1a, HP1b, HP1g, sont les isoformes humaines de la protéine HP1 de Drosophile, connue pour s'associer spécifiquement à l'hétérochromatine et à l'euchromatine réprimée par effet de position. Le niveau élevé de conservation structurale entre la protéine HP1 de Drosophile et les isoformes humaines laisse penser qu'elles ont des propriétés semblables. Nous avons donc recherché la présence des trois isoformes HP1 dans les spermatozoïdes humains au stade pachytène, par l'utilisation conjointe de l'immunocytochimie et de la FISH. Les résultats obtenus suggèrent un rôle possible des protéines HP1 dans l'hétérochromatinisation des chromosomes sexuels durant la méiose mâle.

173. Cytogénétique Oncologique

HURET Jean Loup¹ DESSEN Philippe², BERNHEIM Alain²
1 Genetics, Dept Medical Information, UMR 1599 CNRS-IGR, University Hospital, Poitiers, France
2 Genetics and Oncology UMR 1599 CNRS-IGR, 94805 Villejuif, France

ATLAS DE GÉNÉTIQUE DES CANCERS, BANQUE DE DONNÉES EXPERTISÉE SUR INTERNET : HTTP://WWW.INFOBIOGEN.FR/SERVICES/CHROMCANCER

Le savoir en génétique des cancers est maintenant trop vaste et évolue trop vite pour être appréhendé. Par exemple, plus de 1000 gènes sont impliqués dans le cancer, et plus de 400 différents types de leucémie peuvent être classés en fonction de l'anomalie cytogénétique présente; or, l'anomalie chromosomique est un facteur pronostique (inv(3): médiane de survie à 3 mois versus taux de survie à 5 ans de 95% dans la leucémie à dic(9;12)). Cette connaissance nécessite un effort collectif facilité par les outils informatiques du Web qui permettent leur consultation interactive. L' Atlas of Genetics and Cytogenetics in Oncology and Haematology <http://www.infobiogen.fr/services/chromcancer> est une banque de données expertisée sur Internet qui comporte 1- une information résumée et mise à jour sur les gènes, les anomalies chromosomiques, les entités cliniques en onco-hématologie, 2- un portail sur les grandes bases de données en génétique et/ou en cancérologie, 3- un corpus d'enseignements en génétique, et 4- une 'case reports section'. Notre lectorat est formé de chercheurs, de cliniciens, d'enseignants, et d'étudiants. Environ 600 articles, écrit par plus de 160 collaborateurs sont lus par environ 10000 machines individuelles chaque mois. L'Atlas est indexé par les Current Contents, comme tout journal scientifique de niveau international, et référencé par HUGO (Human Genome Project). L'Atlas est partie prenante du 'genome project' et participe aux recherches en épidémiologie des cancers. L'Atlas est au croisement de la recherche, de l'enseignement post-universitaire interactif (Université Médicale Virtuelle Francophone), et de la télémédecine. Votre collaboration est bienvenue.

174. Cytogénétique Oncologique

VIGUIE Franck^{1,2}, Abourra A¹, Bouscary D³, Tachdjian G⁴, Kelaidi C³, Morariu R⁵, Ramond S¹, Delmer A⁶, Dreyfus F³, Casadevall N²

1 Laboratoire de cytogénétique
2 Service hématologie biologique Hôpital Hôtel-Dieu - Paris France
3 Service Hématologie Hôpital Cochin Paris
4 Lab Cytogénétique Hôpital Antoine Bécclère Clamart
5 Service Hématologie Clinique Hôpital Hôtel-Dieu Paris

REMANIEMENT 4q DANS 3 CAS DE LEUCEMIE AIGUE MYELOÏDE / MYELOYDYPASIE: ANOMALIE CLONALE OU CONSTITUTIONNELLE EN MOSAÏQUE?

Chez trois patientes, âgées de 56 (cas 1), 53 (cas 2) et 52 ans (cas 3) ayant présenté respectivement, une leucémie aigue myéloïde (LAM) de type M4, une myéloydypasie (MDS) et une LAM de type M1, le caryotype médullaire était 46, XX, t(3;4)(q26;q25) pour le cas 1, 46, XX, t(4;5)(q25;p15) pour le cas 2 et 46, XX, del(4)(q24-q26) / 47, idem, +4 pour le cas 3. Dans les trois cas, le remaniement chromosomique a été retrouvé dans une proportion variable des mitoses des lymphocytes T stimulés par PHA et des lymphocytes B stimulés par TPA/LPS. L'analyse en FISH, avec des sondes BAC et YAC étagées entre 4q27 et 4q24, montre que les séquences testées entre 4q27 et 4q25 sont présentes et distales par rapport aux points de cassure en 4q des deux translocations et de la délétion. Par contre on observe, dans les 3 cas, une délétion de la sonde BAC / 4q24 testée (ba642P17). Les patientes 1 et 2 ont développé un lymphome non hodgkinien, respectivement B et T, en même temps que leur prolifération myéloïde, et le cas 3 a présenté, dans ses antécédents, un astrocytome cérébral traité par chirurgie uniquement.

Au stade actuel des investigations, deux questions se posent pour ces 3 observations: 1- S'agit-il d'un remaniement

chromosomique clonal atteignant une cellule souche très précoce ou constitutionnel en mosaïque? En faveur de la deuxième hypothèse, on retient que le remaniement est présent dans toutes les lignées hématopoïétiques testées, qu'il persiste dans la moelle osseuse en phase de rémission et qu'une lignée lymphoblastoïde, établie par infection EBV chez la patiente 1, est porteuse de la translocation t(3;4) 2- Y a t'il un lien entre la délétion observée, en première analyse, dans une région commune chez les 3 patientes, et les différentes proliférations malignes développées et un même locus est-il impliqué en 4q dans les 3 cas ?

175. Cytogénétique Oncologique

MOREL Frédéric¹, Ka Chandran¹, Guéganic Nadia¹, Scoazec Marie-Françoise¹, Herry Angèle¹, Le Bris Marie-Josée¹, Abgrall Jean-François², Berthou Christian³, De Braekeleer Marc¹

1 Service de cytogénétique, cytologie et biologie de la reproduction, UBO Faculté de Médecine 22, avenue Camille Desmoulins - Brest cedex France
2 Service d'hématologie biologique, CHU Brest
3 Institut de cancérologie et d'hématologie, CHU Brest

DELETION DE LA REGION 5' DU GENE ABL DANS LA LEUCEMIE MYELOÏDE CHRONIQUE : FREQUENCE, ORIGINE ET PRONOSTIC

Le but de ce travail est d'estimer la fréquence d'une délétion en 5' du gène Abelson (abl) chez 105 patients atteints d'une leucémie myéloïde chronique (LMC) avec chromosome Philadelphie (Ph), huit d'entre eux présentant une translocation complexe. Nous voulons aussi rechercher si cette délétion est concomitante à la formation du chromosome Ph ou si elle signe un caractère évolutif de la maladie, et enfin évaluer le facteur pronostique de cette anomalie.

Depuis 1995, tous les prélèvements préalablement traités ont été conservés à -20°C. Pour chaque patient nous avons réalisé une hybridation *in situ* fluorescente, avec la sonde bcr/abl extra signal de Vysis, au diagnostic lorsque c'était possible ou, le cas échéant, sur un prélèvement avec un fort taux de métaphases Ph+ évaluées par cytogénétique conventionnelle. Lorsque la délétion était mise en évidence chez un patient, nous avons pratiqué une hybridation sur tous les prélèvements effectués lors du suivi ; 25 métaphases et 300 noyaux ont été analysés.

La délétion a été détectée chez 9 patients, soit 8,6% (2/8 avec translocation complexe et 7/97 avec une t(9;22)). Elle est présente dans toutes les métaphases et noyaux Ph+, et ceci dans tous les prélèvements au cours du suivi. Par ailleurs, aucun des patients ayant la délétion n'a eu de réponse cytogénétique majeure au traitement à l'interféron.

En conclusion, cette délétion, présente dans environ 9% des LMC, apparaît lors de la formation de la translocation (9;22) et semble de mauvais pronostic.

176. Cytogénétique Oncologique

ANDRIEUX Joris¹, DEMORY J-L², LEJEUNE-DUMOULIN S¹, DUPRIEZ B³, PLANTIER⁴, MOREL P³, BAROUK-SIMONET E¹, CAULIER M-T⁵, BAUTERS F⁵, LAË J-L¹

Laboratoire de génétique médicale Hôpital Jeanne de Flandres CHRU de Lille - Lille France

2 Service d'Hématologie CH St Vincent - Lille
3 Service d'Hématologie clinique - Lens
4 Service d'Hématologie clinique - Roubaix
5 Service des Maladies du Sang - CHRU Lille

ETUDE COMPARATIVE DES ANOMALIES CHROMOSOMIQUES DES SPLÉNOMÉGALIES MYÉLOÏDES PRIMITIVES ET POST POLYGLOBULIE DE VAQUEZ

La Splénomégalie myéloïde (SM) est une hémopathie rare (incidence 0.4 à 0.7 p100.000/an) associant une atteinte clonale de la cellule souche myéloïde et une myélofibrose. Elle peut être primitive ou compliquer une polyglobulie de Vaquez après plusieurs années d'évolution.

Depuis 20 ans, au CHRU de Lille, l'étude cytogénétique systématique des patients a permis de caractériser les anomalies chromosomiques liées à ces pathologies.

Sur 205 patients (pts) adressés pour SM primitive, le caryotype initial montre au moins une anomalie cytogénétique chez 95 (46%). Dans la SM post-Vaquez, le caryotype, réalisé plus tardivement à l'occasion du tournant évolutif, est anormal 29 fois/33 soit 88% ($p < 10^{-5}$).

La comparaison des deux séries montre des différences de répartition mais aussi des anomalies communes permettant sans doute d'exclure un rôle étiologique des traitements.

La délétion 13q et la trisomie 8 ne sont associées qu'à la SM primitive, avec des fréquences respectives de 18.9% ($p = 0.0054$) et 13.7% ($p = 0.0254$). La trisomie 1q est retrouvée dans 44.8% des cas de SM post-Vaquez contre 3.2% des cas de SM primitive ($p < 10^{-6}$).

La fréquence de la délétion 20q est similaire dans les 2 pathologies (1 cas/3); la trisomie 9 accompagne 11.6% des SM primitives et 6.9% des SM post-Vaquez (différence non significative).

Parmi les régions chromosomiques impliquées dans les translocations équilibrées des SM primitives, le bras long du chromosome 12 est concerné dans 21% des cas, et les anomalies structurales en 12q représentent 8.5% de l'ensemble des anomalies.

En conclusion, il existe des disparités entre les anomalies chromosomiques de la SM selon qu'elle soit primitive ou post-Vaquez. Le bras long du chromosome 12 et la délétion 13q semblent plus impliqués dans la SM primitive, alors que la trisomie 1q est plus spécifique des SM post-Vaquez.

177. Cytogénétique Oncologique

ANDRIEUX Joris¹, PATTE J-H², BAROUK-SIMONET E¹, COPIN M-C², GRARDEL-DUFLOS N³, PREUDHOMME C³, LAË J-L¹

1 Laboratoire de génétique médicale 2 Av Oscar Lambret CHRU de Lille - Lille France

2 Laboratoire d'Anatomo-Pathologie - CHRU Lille

3 Service d'Hématologie A - CHRU Lille

LA STIMULATION PAR LE TPA FAVORISE LA MISE EN ÉVIDENCE DE LA TRANSLOCATION (11;14) DANS LE LYMPHOME DU MANTEAU: À PROPOS DE 18 CAS.

La mise en évidence de la translocation (11;14)(q13;q32) apporte une aide précieuse à l'anatomo-pathologiste ou au clinicien pour établir un diagnostic de lymphome à cellules du manteau (LM). L'étude cytogénétique est souvent difficile: index mitotique faible, fragments trop petits, coexistence de cellules normales.

Nous avons récemment constaté que la stimulation au TPA (phorbol 12-myristate 13 acetate) facilitait la mise en évidence de la t(11;14) (ACLF 2000). Nous avons poursuivi cette étude: 17 prélèvements (16 patients) ont été cultivés comparativement en 24h (non stimulés) et en 4 jours (stimulation TPA); pour les 2 autres patients, le fragment insuffisant n'a permis de réaliser qu'une seule culture stimulée TPA.

La translocation est observée dans toutes les cultures stimulées par le TPA. La culture de 24h est un échec dans 12 cas (absence de pousse cellulaire), trois fois elle montre un caryotype normal, et 2 fois elle montre la translocation (11;14). Nous avons étudié parallèlement l'index de prolifération par l'anticorps anti-Ki67 sur coupes tissulaires afin de déterminer s'il existe un lien avec la mise en évidence d'une t(11;14) après ou sans stimulation. Sur 6 biopsies ayant permis la détection d'une t(11;14) après stimulation, l'index de prolifération est évalué entre 12 et 30% (moyenne 21%). Dans le groupe de patients où la t(11;14) est mise en évidence en 24h (2 patients), l'index de prolifération est évalué entre 60 et 80% (moyenne 65%). Il s'agissait dans tous les cas de variantes blastiques ou à grandes cellules. Pour 2 autres cas où la t(11;14) n'a pas été mise en évidence malgré une hyperexpression de la cycline D1 par RT-PCR, l'index de prolifération était respectivement de 15 et 18%.

En conclusion, nous confirmons qu'il est nécessaire de réaliser systématiquement les 2 types de culture (stimulée TPA / non stimulée), lorsque le prélèvement le permet, pour réaliser un diagnostic cytogénétique de LM et cela quelque soit le type de prélèvement (ganglion, rate, sang ou moëlle). En effet, la détection de la t(11;14) sans stimulation est seulement possible

dans les variantes plus rares de LM (blastiques ou à grandes cellules), associées à un indice de prolifération >30%.

178. Cytogénétique Oncologique

COULLIN Philippe¹, CHANGLONG Li², ZOOROB Rima³, ZIERCHER Léa¹, AUFRAY Charles³, BERNHEIM Alain¹, PERBAL Bernard²

1 UMR 1599, Cytogénétique et génomique des cancers, IGR, Villejuif, France

e-mail : pcoullin@igr.fr

2 UFR de Biochimie, Université Paris 7, Paris, France

3 CNRS UPR 420 Villejuif, France

LOCALISATION CYTOGÉNÉTIQUE DES SITES D'INTÉGRATION DU MAV SUR LE POULET ET COMPARAISON GÉNOMIQUE : UNE STRATÉGIE POUR RECHERCHER DES GÈNES POTENTIELLEMENT IMPLIQUÉS DANS LE NÉPHROBLASTOME HUMAIN.

Les néphroblastomes induits par l'intégration du MAV (avian myeloblastosis-associated virus) dans le génome de poulet, représentent un modèle animal très attractif pour l'étude des cancers rénaux pédiatriques humains comme la tumeur de Wilms. (1). L'étude cytogénétique que nous avons entreprise, se propose de documenter la question : cette intégration s'effectue-t-elle au hasard ou sur des sites préférentiels en liaison avec la proximité de gènes potentiellement impliqués dans un processus tumoral ?

L'utilisation de la sonde MAV(N)U3 sur l'ADN fragmenté de plusieurs tumeurs choisies à différents stades, avait déjà permis de montrer qu'ils étaient peu nombreux. À partir de ces clones, 23 sondes ont été réalisées pour trier une banque génomique de poulet permettant l'isolation de 23 familles de BACs (78 en tout) contenant les sites d'intégration. La localisation cytogénétique par hybridation *in situ* fluorescente (FISH) de ces BACs (actuellement un par famille) montre que leur distribution n'est pas aléatoire. Un des BACs montré contenir l'oncogène *nov* (nephroblastoma overexpressed) précédemment décrit (2), a été localisé sur le grand bras du chromosome 2. Les études récentes tendent à montrer qu'à l'échelle d'une ou plusieurs bandes cytogénétiques, la synténie des gènes est conservée entre l'homme et le poulet (3). La bande 2q34-36 par exemple sur laquelle nous venons de localiser *nov* a son équivalent humain dans la région 8q24 où avait précédemment été assigné *nov* H l'homologue humain de *nov* (4). L'analyse de la localisation des sites d'intégration du MAV, sur le poulet, conduite dans cette stratégie de comparaison des génomes aviaire et humain vise la recherche et l'identification de gènes candidats pour leur implication dans la genèse et l'évolution du néphroblastome. Les BACs de cette série sont par ailleurs systématiquement testés par FISH sur d'autres galliformes. Très généralement, des signaux d'hybridation sont clairement observés témoignant d'une bonne conservation des zones cibles à travers ces espèces. Leur localisation apporte parallèlement une contribution à l'étude de l'évolution phylogénétique du caryotype des galliformes.

(1) Perbal (1995). Crit Rev Oncog 5 :589-613

(2) Pour revue voir Perbal (2001) Mol. Pathol. 54 :57-79

(3) Voir rapport : Cytogenet Cell Genet (2000) 90 : 169-218

(4) Martinierie (1992) Oncogene 7 :2529-2534

179. Cytogénétique Oncologique

FOA Cyril¹, Maiguené Claire², Coindre Jean-Michel³, Forus Anne⁴, Pedeutour Florence¹

1 Service de Génétique, Hôpital de l'Archet II, CHU de Nice France

2 Service d'Anatomie Pathologique, Centre Hospitalier Princesse Grace, Monaco

3 Laboratoire d'Anatomie Pathologique, Institut Bergonié, Bordeaux

4 Radium Hospital, Oslo, Norvège

Caractérisation de nouvelles anomalies chromosomiques dans les tumeurs adipo-cytaires bénignes

Les tumeurs adipo-cytaires sont des proliférations bénignes ou malignes du tissu adipeux. Le diagnostic différentiel entre les formes bénignes et malignes peut être difficile et les données cytogénétiques et moléculaires sont un complément précieux des techniques de caractérisation morphologique et immunohistochimique. Alors que certaines anomalies, telles que la fusion HMGIC-LPP dans les t(3;12) des lipomes superficiels ou de DDIT3-FUS dans les t(12;16) des liposarcomes myxoides sont désormais bien caractérisées, il persiste de vastes zones d'ombre dans le profil génétique des tumeurs adipo-cytaires. Notamment, le diagnostic différentiel entre certains lipomes de localisation profonde ou inhabituelle et les liposarcomes de type bien-différencié est délicat. L'objectif de notre travail est de contribuer à l'identification de ces anomalies. Nous avons observé un nouveau type de remaniement entre les chromosomes 1 et 8 dans un lipome rétro-péritonéal et montré que le point de cassure sur le chromosome 8 se situait en 8q22-23 entre les gènes COX6C et CBFA2T1, à plus de 10 Mb de PLAG1, gène impliqué dans les lipoblastomes. Les hibernomes sont des tumeurs adipo-cytaires bénignes rares et mal connues à type de prolifération de graisse brune. Seules dix études cytogénétiques avaient été décrites. Nous avons caractérisé les anomalies complexes impliquant le chromosome 11 dans deux nouveaux cas. Nos résultats i) apportent des éléments nouveaux à la caractérisation de la région de délétion en 11q13, montrant qu'elle s'étend de PYGM à D11S533, ii) identifient un point de cassure récurrent entre AR1X et D11S533 iii) suggèrent un remaniement non aléatoire sur le bras long du chromosome 5 en association avec le remaniement de 11q13.

180. Cytogénétique Oncologique

CHANTOT-BASTARAUD Sandra¹, Terré Christine³, Radford-Weiss Isabelle³, Romana Serge³, Bastard Christian⁴

1 Laboratoire de cytogénétique, Hôpital Tenon

2 Laboratoire de cytogénétique, Hôpital Mignot, Versailles,, Paris,

3 Laboratoire de cytogénétique hématologique et moléculaire ,Hôpital Necker

4 Laboratoire de cytogénétique de l'Institut Becquerel, Rouen

ETUDE PAR ANALYSE SPECTRALE ET CARYOTYPE EN BANDES R DE 20 LYMPHOMES B DIFFUS A GRANDES CELLULES

Les lymphomes B diffus à grandes cellules (DLBCL) forment le sous-groupe le plus fréquent de lymphomes non Hodgkiniens. Ils sont bien définis histologiquement mais sont cliniquement et génétiquement hétérogènes. Les caryotypes des DLBCL sont le plus souvent complexes, avec des anomalies chromosomiques partiellement caractérisées par les techniques de cytogénétique classique. Dans environ 50% des cas, aucune translocation récurrente n'est retrouvée

Nous rapportons ici les résultats de l'étude du caryotype en bandes R et par analyse spectrale de 20 DLBCL qui ne présentent pas de translocation récurrente connue: t(3;14), t(11;14), et t(14;18) et leurs variants.

Un seul caryotype était pseudodiploïde, les 19 autres présentant un nombre modal différent de 46. 1 était hypodiploïde (43 chromosomes par perte d'un Y, d'un 10 et d'un 17), 12 étaient hyperdiploïdes (47 à 53 chromosomes), 1 était hypotriploïde (59 chromosomes), 2 étaient hypertriploïdes (78 chromosomes), 1 était hypotétraploïde (83 chromosomes) et 2 étaient hypertétraploïdes (94 et 95 chromosomes). Les caryotypes les

plus fréquents sont donc les hyperdiploïdes puisqu'ils représentent 60% des caryotypes.

La trisomie 3 est l'anomalie de nombre la plus fréquemment rencontrée (6 fois). Les 6 cas se retrouvent dans les 13 cas de DLBCL dont le nombre de chromosomes est compris entre 47 et 59 chromosomes. En particulier, les 4 cas où le nombre modal de chromosome est compris entre 50 et 59 ont tous une trisomie 3. Aucun des 5 cas dont le nombre de chromosomes est supérieur à 60 chromosomes ne présente de trisomie ou tétrasomie 3. Malgré le petit nombre de cas étudiés ici, ces résultats semblent indiquer l'existence d'au moins deux groupes de DLBCL différents du point de vue génétique. La trisomie 18 est l'autre événement génétique le plus souvent présent (dans 5 cas). A l'inverse du chromosome 3, elle est retrouvée dans les cas d'hyperdiploïdies comme dans les pseudotétraploïdies. Il est à signaler que, contrairement à ce qui est décrit dans la littérature, nous ne retrouvons que peu de cas de trisomies 7 et 12 (respectivement 1 et 2 cas) En tenant compte des trisomies partielles, 13 patients sur 20 soit 65% présentaient une trisomie 3q partielle dont la région commune était 3q25-q29. L'oncogène BCL6, situé en 3q27 pourrait être de ce fait surexprimé par dosage génique.

Des monosomies complètes pour les chromosomes 6, 10 et 12 sont retrouvées dans 2 cas chacune. Outre, les délétions partielles du bras court d'un 1 (1p36), du bras court du 17, déjà décrites et péjoratives, et celles en 6q25-27, nous décrivons 4 nouvelles régions communes délétées (RCD): 2 sur le 6 en 6p22 et 6q13-14 retrouvées chacune chez 4 patients, 1 en 4p16 et 1 en 15q12-21 chacune chez 3 patients. Ces RCD pourraient contenir un gène suppresseur de tumeur et avoir un rôle pronostique.

Nous avons décrit 75 translocations dont 53 (70%) étaient déséquilibrées et 3 inversions. Nous n'avons pas mis en évidence de translocation récurrente, mais sur les 131 points de cassure impliqués, 5 points de cassure ont une récurrence supérieure ou égale à 3 : 1p36, 4p16, 8p21, 9cen et 14q32. 14q32, où est localisé le gène de la chaîne lourde d'immunoglobuline (IgH), est la bande la plus souvent impliquée. Sur les 5 translocations mises en évidence, la région chromosomique partenaire a été précisée pour 3 d'elles en 1p32, 4q21 et 9q22 et est en cours d'identification sur les chromosomes 3 et 6. Nous sommes en train de vérifier l'implication d'IgH dans ces translocations. Nous avons également localisé un nouveau partenaire de BCL6 en 9p21.

Au total sur les 20 caryotypes étudiés, 1 seul avait été complètement et correctement interprété par la cytogénétique conventionnelle. Mais ce caryotype ne comportait que 2 anomalies de nombre (+15 et +19) et pas d'anomalie de structure. Pour les 19 autres, le SKY a permis d'identifier de nouvelles translocations grâce à la caractérisation des marqueurs et du matériel surnuméraire rendu en add, de corriger des anomalies mal interprétées, et de détecter des anomalies sur des chromosomes rendus normaux. Sur un total de 202 anomalies chromosomiques, 76 avaient été correctement interprétées par la cytogénétique classique (38%), 79 ont été précisées (39%), 33 ont été corrigées (16%) et 14 étaient passées inaperçues (7%)

181. Cytogénétique Oncologique

HENRY Catherine, BOUET F, THOMAS DE LA PINTIERE C, MOULINOUX J-Ph, CATROS-QUEMENER V
Laboratoire de Cytogénétique et Biologie Cellulaire CHU Pontchaillou - RENNES

CARACTERISATION CYTOGÉNÉTIQUE D'UNE NOUVELLE LIGNEE DE CANCER DU SEIN

La lignée cellulaire S68 a été établie dans notre laboratoire à partir d'un épanchement pleural d'un patient présentant un cancer du sein.

Sa culture a été réalisée dans le cadre d'un programme de thérapie cellulaire afin notamment de caractériser les antigènes de tumeurs dans le cancer du sein.

Nous avons réalisé des caryotypes itératifs à différents passages de la culture pour vérifier la stabilité de la lignée.

Le nombre modal de chromosomes est de 49 avec de nombreuses anomalies.

L'hybridation *in situ* de sondes spécifiques a mis en évidence un nombre de copies normal pour Her2Neu (deux spots), une délétion de p53 (un spot) et la présence de quatre copies de CMyc.

Les nombreux remaniements chromosomiques ont été précisés par des techniques de multiFISH et d'hybridation génomique comparative (C.G.H.).

Les lignées humaines de cancer du sein sont rares. Une étude cytogénétique associant des techniques de FISH qui sont complémentaires permet de bien caractériser leurs remaniements chromosomiques.

182. Cytogénétique Oncologique

ROLL Patrice¹, ZATTARA-CANNONI Hélène¹, MARCY Myriam¹, BOUVIER Corinne², JOUVE Jean-Luc³, CAPODANO Anne-Marie¹

1 Laboratoire de Cytogénétique Oncologique CHU Timone MARSEILLE FRANCE

2 Laboratoire de Neuropathologie, Hôpital de la Timone, Marseille

3 Service de Chirurgie Orthopédique Infantile, Hôpital d'enfants de la Timone, Marseille

RÉARRANGEMENT CHROMOSOMIQUE ATYPIQUE DÉCELÉ EN CYTOGÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE DANS UN CAS DE LIPOBLASTOME

Le lipoblastome est une tumeur adipeuse rare survenant chez le jeune enfant, avant l'âge de 3 ans. Chez certains patients, il est difficile de différencier cette tumeur aussi bien histologiquement que cliniquement, du liposarcome myxoïde, sarcome de bas grade habituellement rencontré chez l'adulte.

L'analyse cytogénétique peut permettre de distinguer ces deux tumeurs. Le liposarcome myxoïde est caractérisé par la translocation (12;16)(q13;q11), alors que le réarrangement de 8q11-13 est habituellement retrouvé dans la majorité des lipoblastomes.

Nous rapportons ici, le cas d'un enfant de 10 ans présentant une tumeur des tissus mous de la jambe gauche. Un examen IRM a révélé un signal de type graisseux. Le diagnostic de lipoblastome a été porté par l'examen histologique de la pièce d'exérèse. L'analyse cytogénétique de cette tumeur a montré la présence d'un remaniement entre un chromosome 2 et un chromosome 8. Les techniques d'hybridation *in situ* en fluorescence avec des sondes WCP ont confirmé ce réarrangement. L'hybridation avec deux sondes spécifiques C-MYC (8q24) et ETO (8q22) a permis d'objectiver un mécanisme plus complexe, associant une translocation (2;8) et une inversion péracentrique du chromosome 2 avec des points de cassure localisés en 8q11-13 et 8q24.

Une analyse moléculaire est en cours afin de déterminer les gènes impliqués dans ce remaniement.

183. Cytogénétique Oncologique

ZATTARA-CANNONI Hélène¹, ROLL Patrice¹, QUILICHINI Benoît¹, BOUVIER Corinne², DUFOUR Henry³, CAPODANO Anne-Marie¹

1 Laboratoire de Cytogénétique Oncologique CHU Timone MARSEILLE FRANCE

2 Laboratoire de Neuropathologie

3 Service de Neurochirurgie

ANALYSE DES ANOMALIES GENOMIQUES DANS LES MENINGIOMES BENINS, ATYPIQUES ET ANAPLASIQUES

27 méningiomes sporadiques ont été étudiés par hybridation comparative génomique pour la mise en évidence d'anomalies chromosomiques. Tous ces cas avaient été analysés en cytogénétique et deux d'entre eux ont été étudiés par multi-FISH.

Dans 10 cas, l'étude en CGH a confirmé les anomalies quantitatives observées en cytogénétique. Dans 2 cas à caryotype normal, l'étude en CGH a mis en évidence des pertes de matériel chromosomique. Dans 5 cas où le caryotype n'avait pu être obtenu, des anomalies quantitatives ont été décelées en CGH. Dans tous les autres cas où le caryotype avait mis en évidence

certaines anomalies chromosomiques, la CGH a montré des anomalies chromosomiques supplémentaires.

L'approche combinée de la cytogénétique et de la cytogénétique moléculaire (CGH et multi-FISH) apporte une meilleure compréhension des altérations génomiques dans les différents types histologiques de méningiomes.

184. Diagnostic Prénatal

GILBERT Brigitte¹, YARDIN C², BRIAULT S³, BELIN, LIENHARDT A⁴, AUBARD Y⁵, BATTIN J⁶, SERVAUD M⁵, GICQUEL C⁷, PHILIPPE H.J⁵, LACOMBE D⁶

1 Unité de Génétique Clinique CHRU Dupuytren 2 Avenue Martin Luther Kingg - Limoges France

2 Laboratoire de Cytogénétique, CHRU, Limoges

3 Service de Génétique Médicale, Hôpital Bretonneau, Tours

4 Département de Pédiatrie, CHRU, Limoges

5 Service de Gynécologie, CHRU, Limoges

6 Service de Génétique Médicale, Hôpital Pellegrin, Bordeaux

7 Unité de Biologie Moléculaire, Hôpital Trousseau, Paris

DIAGNOSTIC PRÉNATAL DE JUMELLES MONOZYGOTES DISCORDANTES POUR LE SYNDROME DE TURNER : CONDUITE A TENIR POUR LE CONSEIL GÉNÉTIQUE PRÉNATAL.

Nous rapportons le cas de jumelles monozygotes (MZ) dont l'une présente une forme sévère de syndrome de Turner (TS) et l'autre, un phénotype normal. L'échographie fœtale à 27 semaines d'aménorrhée montrait une grossesse gémellaire monochoriale diamniotique. La jumelle A présentait un hygroma et un retard de croissance alors que la jumelle B ne présentait aucune anomalie. Les caryotypes sur sang du cordon révélaient une mosaïque 46XX/45X (23/2) chez la jumelle A et une formule 46/XX normale chez la jumelle B. Le contrôle post-natal des caryotypes sur lymphocytes circulant montrait une mosaïque équivalente chez les 2 nouveaux-nés. A l'âge de 10 mois, la jumelle A atteinte présentait toujours une mosaïque sur lymphocytes alors que 100% des fibroblastes montrait une formule monosomique 45/X ; la jumelle B à phénotype normal avait un caryotype sanguin normal, 46/XX, et une faible mosaïque sur fibroblastes. Le caractère monozygote de la gémeauté était confirmé en biologie moléculaire.

A notre connaissance, il s'agit du premier cas de diagnostic prénatal de jumelles MZ discordantes pour le ST. Dans la littérature, nous avons retrouvé 8 cas de jumelles et un cas de triplées MZ discordantes pour le ST diagnostiquées en post-natal. Comme dans notre cas, le phénotype est plus en rapport avec la distribution du mosaïcisme dans les fibroblastes que dans les lymphocytes. Dans le sang des jumelles MZ, le chimérisme des lignées sanguines des 2 fœtus peut modifier la répartition initiale du mosaïcisme chez chacune des 2 jumelles.

Ceci suggère, qu'en cas de diagnostic prénatal de jumelles MZ discordantes pour le ST, le phénotype de chacune d'elles pourrait être mieux évalué selon le résultat du caryotype sur liquide amniotique plutôt que sur sang du cordon.

185. Diagnostic Prénatal

NORTH Marie-Odile¹, CAILLAT Stéphanie¹, de SAINT BASILE Geneviève², GOSSET Philippe¹, DOMMERGUES Marc³, BONNEFONT Jean-Paul¹, VEKEMANS Michel¹, MORICHON-DELVALLEZ Nicole¹

1 Service de Cytogénétique Tour Pasteur Hôpital Necker-Enfants Malades - PARIS FRANCE

2 INSERM U-429 - Paris

3 Maternité, Hôpital Necker - Enfants malades, Paris

DIAGNOSTIC PRÉNATAL D'UNE TRANSLOCATION ROBERTSONNIENNE SAUTEUSE ET DISCORDANCE FÉTOPLACENTAIRE

Une discordance fœtoplacentaire est retrouvée dans 1 à 2% des cas de diagnostic prénatal sur prélèvement de villosités choriales (PVC). Dans la majorité des cas, les anomalies chromosomiques sont confinées au placenta et peuvent être associées à un mauvais pronostic périnatal.

Les translocations sauteuses sont définies comme étant le repositionnement d'un même segment chromosomique sur

plusieurs chromosomes receveurs. De nombreux cas rapportés en période post natale concernent les translocations Robertsoniennes.

Nous rapportons ici un cas de discordance fœtoplacentaire avec translocation Robertsonienne sauteuse. Une patiente âgée de 28 ans a eu une PVC pour diagnostic d'agammaglobulinémie de Bruton. Le bébé est sain mais le caryotype réalisé par la technique directe est : 45,XY,der(14,15)(q10;q10). Les caryotypes des parents sont normaux 46,XX et 46,XY,14stk,-ps-. Le caryotype fœtal de contrôle étudié sur les cellules amniotiques est : 46,XY,cen-psk-ps-. Nous avons pu exclure l'unidémie uniparentale pour les chromosomes 14 et 15. A la naissance, la culture de cellules placentaires met en évidence une translocation Robertsonienne différente : 45,XY,der(14,21)(q10,q10) alors que le caryotype sur sang de cordon est 46,XY,cen-psk-ps-.

A la lumière de nos résultats et la revue de la littérature, nous proposons une hypothèse sur la genèse des différentes formules chromosomiques décrites ici.

186. Diagnostic Prénatal

PESCIA Graziano, SILACCI Charlotte
Pl. Navigation 10 Lausanne Suisse 1006

DÉTECTION DES ANEUPLOÏDIES FŒTALES DANS LE SANG MATERNEL

Objectif : tester la possibilité d'identifier les cellules fœtales dans le sang maternel.

Collectif : échantillons de sang EDTA prélevés chez 15 patientes après diagnostic cytogénétique prénatal entre 13 et 18 semaines de gestation. Le collectif concerne 8 caryotypes masculin normaux, 6 avec trisomie 21 et une triploïdie.

Méthode : 3 ml de sang maternel sur EDTA sont traités selon la méthode décrite par Lo *et al* (Lancet, 356, 1819-1820, 2000). Entre 200 et 700 noyaux sont examinés en fluorescence après hybridation *in situ* avec les sondes Aneuvision (Vysis).

Résultats : Dans chaque cas de trisomie 21 fœtale 3 signaux pour le chromosome 21 ont été observés dans 0.28% à 1.36% des noyaux examinés. Dans le cas de triploïdie 1.36% des noyaux présentent 3 signaux pour chaque chromosome hybridé. La présence d'un chromosome Y est détectée dans 0.28% à 1.5% des noyaux chez les 8 fœtus 46,XY.

Conclusion : Dans chaque cas nous avons détecté la présence de cellules d'origine fœtale dans le sang maternel avec des proportions de 0.28% à 1.5% des noyaux. Cette méthode relativement simple pourrait être intégrée dans les stratégies de diagnostic prénatal.

187. Diagnostic Prénatal

STOLL Claude, ALEMBIK Y, DOTT B, ROTH M.P
Service de Génétique Médicale Hôpital de Hautepierre Avenue Molière - STRASBOURG France

IMPACT DU DIAGNOSTIC PRÉNATAL SUR LE PREVALENCE DES MALFORMATIONS CONGÉNITALES A LA NAISSANCE

Les objectifs de cette étude sont d'étudier l'impact du diagnostic prénatal (DPN) sur la prévalence des malformations congénitales dans une population bien définie pendant 20 ans.

Méthodes : L'évaluation du DPN de routine dans 256.858 grossesses consécutives dont l'issue est connue a été faite pendant 3 périodes 1979-1988, 1989-1993 et 1994-1998.

Résultats : Au total 8280 malformés ont été recensés. Le pourcentage des interruptions médicales de grossesse (IMG) chez les malformés sans anomalie chromosomique est passée de 4,8 à 7,3 et à 10,2 pendant les 3 périodes d'étude alors que ces chiffres sont respectivement de 21,7 ; 43,9 et 64,0 pour les malformés avec aberration chromosomique (16,2 ; 38,7 et 68,3 pour la trisomie 21), de 3,2 ; 5,7 et 9,4 pour les cardiopathies congénitales, de 31,8 ; 55,3 et 63,1 pour les malformations du système nerveux central, de 5,6 ; 10,1 et 22,2 pour les malformations digestives, de 8,4 ; 10,9 et 16,6 pour les malformations urinaires et de 5,0 ; 11,3 et 23,4 pour les malformations squelettiques. L'impact du DPN est plus

important pour les polymalformés que pour les malformations isolées.

Conclusions : Cette étude démontre que le nombre d'IMG après DPN a augmenté au cours du temps. Pour l'ensemble, ce nombre a doublé ou triplé entre 1979-1988 et 1994-1998. Il apparaît une grande variation de l'impact du DPN selon les malformations fœtales. Cet impact est nettement plus élevé pour les anomalies chromosomiques que pour les autres malformations congénitales. Parmi ces dernières, l'impact du DPN est plus important pour les malformations du système nerveux central et pour les malformations urinaires que pour les autres malformations.

188. Diagnostic Prénatal

BERNARD Rafaëlle¹, Boyer Amandine¹, Nègre Philippe¹, Thouveny Cécile¹, Philip Nicole², Malzac Perrine¹, Lévy Nicolas¹

1 Département de Génétique Médicale Laboratoire de Génétique Moléculaire Hôpital d'enfants de la Timone - Marseille France

2 Département de Génétique Médicale unité de génétique clinique, Marseille

PRENATAL DETECTION OF THE 17P11.2 DUPLICATION IN CHARCOT-MARIE-TOOTH DISEASE : NECESSITY OF A MULTIDISCIPLINARY APPROACH FOR HETEROGENEOUS DISORDERS

CMT disease is a typical example of a dominant non-lethal disease with a wide spectrum of severity ranging from asymptomatic to severe motor and sensory disability. Since molecular diagnosis is available, prenatal diagnosis is required by many at risk families. Our laboratory has to face frequent requests for CMT prenatal diagnosis. Here, we present our experience in developing molecular procedures as well as genetic counselling and psychological issues for at risk parents. Oppositely from adult testing, results delay, severity's prediction, and the elements of the final decision regarding a possible pregnancy termination are crucial. We thus developed a multidisciplinary approach including clinical and molecular geneticists, obstetricians, psychiatrists, neurologists and patients associations. In order to optimize the safety as well as the delay of the results, we designed technical molecular procedures potentially allowing a very short result's delay. The ability to use these approaches will be compared to classical methods. We insist on the heaviness of the process engaged for the parents when considering the very high risk pregnancy, compared to the questions and doubts regarding the phenotype's severity in case of positive diagnosis. Paradoxically, the unpredictable degree of severity is also the reason why prenatal diagnosis is required and must be ethically addressed. Ethical questions raised by prenatal diagnosis in CMT evidence that molecular diagnosis in non-lethal genetic diseases can not be standardized, and should be actively and multidisciplinary considered. Eventually, the accessibility of preimplantation embryo diagnosis that our approach should make feasible will also be discussed.

189. Diagnostic Prénatal

ATTIA-SOBOL Jocelyne¹, GUIBAUD Laurent², CHAMPION Fabienne³, VITREY Daniele⁴, KOPP Nicolas⁵, PLAUCHU Henri¹

1 Service de Génétique Clinique Hôtel-Dieu - LYON FRANCE

2 Service de Radiologie - Hôpital Debrousse - Lyon),

3 Centre Pluridisciplinaire de Diagnostic Anténatal - Hôtel-Dieu - Lyon

4 Service d'Anatomopathologie - Hôtel-Dieu - Lyon

5 Service d'Anatomopathologie - Hôpital Neurologique - Lyon

DIAGNOSTIC ANTÉNATAL D'UNE HOLOPROSENCÉPHALIE INAUGURALE ET CONFIRMÉE PAR LA BIOLOGIE MOLÉCULAIRE

Nous avons trouvé à l'échographie morphologique de 22 semaines, une anomalie de la ligne médiane à type d'holoprosencéphalie semi-lobaire associée à une microcéphalie et une hypotélorisme. l'examen fœtopathologique confirmait la cébocéphalie, l'hypotélorisme et la narine unique avec une fente

palatine bilatérale. Etant donné la normalité du caryotype, le fœtus a été classé dans les holoprosencéphalies isolées.

L'enquête familiale a permis d'établir que le père était certainement porteur d'une forme mineure de la maladie. Il présente une fente labiale, un faciès plat et un discret hypotélorisme. Entre temps, le couple a eu un second enfant avec suivi anténatal échographique et IRM fœtale à 30 semaines, sans anomalie. L'enfant, maintenant âgé de deux ans, présente une maladie de type Recklinghausen.

L'ADN fœtal avait été conservé en banque lors de l'interruption médicale de grossesse. Une étude familiale a pu être entreprise. La mutation TGIF a été retrouvée chez le fœtus ainsi que chez le père par l'équipe du docteur S.ODENT. Le conseil génétique a donc été très prudent pour cette famille.

L'holoprosencéphalie isolée non syndromique peut être familiale ou sporadique. Dans les formes familiales, une hérédité autosomique dominante a été retrouvée avec une forte pénétrance et une expressivité variable. En théorie, le diagnostic anténatal est possible. L'intérêt de ce diagnostic serait de ne pas retrouver la mutation chez le fœtus. Dans le cas contraire, un suivi échographique par un opérateur référent et/ou une IRM fœtale sont nécessaires. La malformation mineure imposera une décision pluridisciplinaire.

190. Diagnostic Prénatal

LARCHER Marie Estelle¹, VALDUGA M², RAGAGE-NOEL C³, MENZIES D⁴, MARDIROSIAN A³, JONVEAUX P², VIBERT M³

1 LABM STAHL KUNTZEL WASELS 21 Place du QUARTEAU - METZ FRANCE

2 Laboratoire de Génétique CHU de NANCY

3 Hôpital Maternité Sainte-Croix METZ

4 Laboratoire d'anatomie pathologique METZ

TRISOMIE PARTIELLE 14Q22-QTER DE SURVENUE DE NOVO: À PROPOS D'UNE OBSERVATION DIAGNOSTIQUÉE EN PÉRIODE PRÉNATALE ET REVUE DE LA LITTÉRATURE.

Nous présentons l'observation d'une femme de 30 ans chez laquelle, au décours du suivi échographique de sa deuxième grossesse, est diagnostiqué à 12SA, un hygroma de 4mm associé à une hyperéchogénicité de l'intestin grêle et à la présence de brides amniotiques. Une amniocentèse précoce est réalisée à 13.5 SA. La recherche par FISH des principales aneuploïdies (Aneuvysion, Vysis), montre que le fœtus de sexe chromosomique féminin est indemne de trisomie 21, 13 et 18. A 15SA, le second contrôle échographique met en évidence une cardiopathie, une nuque épaisse, un petit estomac, un intestin grêle hyperéchogène, une clinodactylie. Le caryotype standard sur amniocytes révèle la formule chromosomique : 46,XX,add(4)(p16). Le caryotype parental est normal. Le matériel surnuméraire est identifié par hybridation génomique comparative comme étant issu du chromosome 14, correspondant plus précisément aux régions 14q22-qter. L'hybridation *in situ* sur les chromosomes métaphasiques du fœtus à l'aide de la sonde spécifique du locus 4p16.3 (Wolf Hirshhorn syndrome, Vysis) de détecte pas de délétion. Il s'agit donc, a priori, au seuil de résolution étudié, d'une trisomie partielle 14q22-qter pure. L'examen fœto-pathologique effectué à la suite de l'interruption médicale de grossesse (18SA) retrouve les différentes malformations décrites aux échographies, la nuque épaisse, la clinodactylie bilatérale, la cardiopathie de type CIV d'admission (CAV), l'iléus méconial mais aussi révèle une dysmorphie crano-faciale et des anomalies cérébrales. Les données de la littérature concernant la trisomie 14q22-qter sont rares et réanalysées à la lumière de cette observation.

191. Diagnostic Prénatal

COSTA Jean-Marc¹, Giovangrandi Yves², Ernault Pauline¹, Lohmann Laurence¹, Nataf Valérie¹, El Halali Najua³, Gautier Evelyne¹

1 Hôpital Américain de Paris Centre de Diagnostic Prénatal Neuilly France

2 Maternité Hôpital NB de Bon Secours Paris

3 Laboratoire Hôpital ND de Bon Secours Paris

FETAL RHD GENOTYPING IN MATERNAL SERUM DURING THE FIRST TRIMESTER OF PREGNANCY

Among clinical applications, fetal RHD genotyping using polymerase chain reaction (PCR) is a significant advance. Fetal RHD status can be ascertained after chorionic villus sampling (CVS) or amniocentesis. However, these sampling procedures are invasive, resulting both in an increased risk of fetal loss and in an increased severity of immunization due to fetomaternal hemorrhage. Therefore, a reliable non invasive approach to determine fetal RHD genotype would be interesting because it could be offered to the general RhD-negative obstetric population, whether or not fetal tissue sampling is performed. Furthermore, this approach would be especially advantageous during the first trimester of pregnancy to plan for further investigation or treatment in obstetrical situations such as miscarriage, antenatal hemorrhage or pregnancy termination. One hundred and six RhD-negative pregnant women were recruited. The concordance of newborn RHD status determined by serology and fetal RHD genotyping on maternal serum was analyzed. All sera from women carrying a RhD-positive fetus (n=62) gave positive results for RHD gene detection. All sera from women carrying a RhD-negative fetus (n=40) gave negative results. Among the 106 pregnant women tested for RHD gene presence in their serum, 77 underwent amniocentesis later in pregnancy and amniotic fluid could thus be analyzed for the presence of RHD gene; results for RHD gene detection in these samples were in good agreement with those obtained with the corresponding sera. This study demonstrates that reliable fetal RHD genotype determination can be achieved with 100% sensitivity and specificity in maternal serum during the first trimester of pregnancy.

192. Diagnostic Prénatal

MARTIN-DENAVIT Tanguy¹, SANLAVILLE Damien¹, NIZARD Patrice¹, NOUCHY Marc¹, PORTNOI Marie-France¹, GONZALES Marie¹, BURGLIN Lydie², GREBILLE Anne-Gaëlle³, TAILLEMITE Jean-Louis¹, JOYE Nicole¹

1 Laboratoire d'Embryologie Pathologique et de Cytogénétique Hôpital Saint-Antoine Paris

2 Unité de Génétique Hôpital Armand Trousseau Paris

3 Service de Gynécologie-Obstétrique Hôpital Rothschild Paris

DÉCOUVERTE ANTENATALE D'UNE TRISOMIE 13 EN MOSAÏQUE

Mme L nous est adressée pour âge maternel à 42 ans. Il s'agit de la première grossesse évolutive d'un couple non apparenté, après trois fausses-couches précoces. La patiente a un caryotype normal, son conjoint, d'origine Antillaise est hétérozygote A/S pour la drépanocytose et présente un caryotype normal. Le début de grossesse s'est déroulé normalement. La nuque fœtale mesurait 0,9 mm à 11SA 1/2. (Il n'a pas été réalisé de dosage pour les marqueurs sériques maternels).

Une amniocentèse est réalisée à 18 SA pour étude du caryotype fœtal. L'examen chromosomique révèle une trisomie 13 en mosaïque (4 cellules trisomiques 13 sur 44 examinées provenant de 3 cultures différentes). L'hybridation *in situ* en fluorescence (FISH) a montré 5 % de cellules trisomiques 13. De ce fait, un nouveau prélèvement est demandé, afin de réaliser un caryotype sur sang fœtal, ainsi qu'un second caryotype sur liquide amniotique. Une échographie morphologique et une échographie cardiaque sont effectuées et ne révèlent aucune anomalie. Le caryotype standard sur sang fœtal ainsi que l'analyse par FISH (sondes centromériques 13/21) n'a retrouvé aucune cellule trisomique 13 (131 mitoses analysées). En revanche le caryotype réalisé sur le second prélèvement de liquide amniotique a retrouvé 5 cellules trisomiques 13 sur 31 examinées. Ce résultat

a été confirmé par la FISH qui a trouvé 26 % de cellules trisomiques 13.

Le couple a souhaité la poursuite de la grossesse et à 34 sa est née une petite fille cliniquement normale. Un contrôle du caryotype sanguin s'est avéré normal, alors que la culture d'amnios a permis de retrouver 1 cellule trisomique 13 sur 55 examinées.

193. Diagnostic Prénatal

Bérénice DORAY¹, Françoise GIRARD-LEMAIRE¹, Bernard GASSER², Jean-Jacques BALDAUF³, Bernard de GEETER⁴, Michèle SPIZZO⁵, Charles ZEIDAN⁶, Elisabeth FLORI¹

¹ Laboratoire de Cytogénétique, Hôpital de Haute-pierre, STRASBOURG, FRANCE

² Service d'Anatomie Pathologique, Hôpital Civil, STRASBOURG, FRANCE

³ Service de Gynécologie I, Hôpital de Haute-pierre, STRASBOURG, FRANCE

⁴ Service de Cardiologie pédiatrique, Clinique Saint-Odile, STRASBOURG, FRANCE

⁵ Service de Gynécologie-Obstétrique, CMCO-SIHCUS, SCHILTIGHEIM, FRANCE

⁶ Cabinet de Gynécologie, ILLKIRCH-GRAFFENSTADEN, FRANCE

LE SYNDROME DE PALLISTER-KILLIAN : DIFFICULTÉS DU DIAGNOSTIC PRÉNATAL

Le premier diagnostic anténatal de syndrome de Pallister-Killian a été rapporté par Gilgenkrantz *et al* en 1985. Depuis, une soixantaine d'observations anténatales ont été rapportées mais le diagnostic, tant échographique que cytogénétique, n'en reste pas moins difficile. En effet, si les anomalies échographiques telles que la hernie diaphragmatique, l'hydramnios ou la micromélie rhizomélique chez un fœtus normotrophe voire macrosome sont très évocatrices, elles sont souvent inconstantes, parfois même absentes. De plus, le diagnostic cytogénétique est également incertain en raison de la distribution tissulaire aléatoire de l'isochromosome 12p surnuméraire rencontré dans cette pathologie. Ce mosaïcisme est à l'origine du défaut de sensibilité de toutes les techniques de cytogénétique prénatale, quelles qu'elles soient ; ainsi, plusieurs faux-négatifs ont été rapportés, que ce soit après prélèvement de sang fœtal, biopsie de trophoblaste ou amniocentèse.

Dans cette étude, nous rapportons tout d'abord deux observations anténatales de syndrome de Pallister-Killian qui illustrent la grande variabilité du phénotype fœtal ainsi que les difficultés du diagnostic cytogénétique. Puis, à partir de l'analyse de 62 observations prénatales de la littérature, nous essayons de mettre en évidence des signes d'appel échographiques caractéristiques de ce syndrome et de proposer une stratégie pour le diagnostic cytogénétique. Ainsi, en présence de signes échographiques évocateurs, nous proposons de réaliser en première intention une biopsie de trophoblaste ou de placenta complétée, si le résultat est normal, par une amniocentèse. Dans cette stratégie, l'utilisation de l'hybridation *in situ* sur noyaux interphasiques est tout particulièrement intéressante car elle permet de s'affranchir des cultures et d'augmenter la probabilité de mise en évidence de l'isochromosome. Un prélèvement de sang fœtal est moins indiqué du fait de la fréquence plus faible et plus aléatoire de l'isochromosome dans les lymphocytes sanguins.

Le risque de méconnaître le diagnostic demeure toutefois inchangé en l'absence d'examen échographique contributif et la recherche de nouveaux signes échographiques, même minimes, doit rester une préoccupation constante étant donné le pronostic du syndrome de Pallister-Killian.

194. Diagnostic Prénatal

CENS Steven¹, GEKAS JEAN¹, GONDRIY Jean¹, NAEPELS Philippe¹, MAINGOURD Yves², MATHIEU Michèle¹, MORIN Gilles¹, MARZEC Jean-Claude³, THEPOT François¹

¹ Multidisciplinary Prenatal Medical Care Centre, University Hospital of Amiens 124 rue camille Desmoulins - AMIENS CEDEX 1 FRANCE

² Department of Cardiopaediatrics, University Hospital of Amiens

³ Department of Obstetrics and Gynaecology, Hospital of Doullens

IMPLICATIONS OF PRENATAL MOLECULAR ANALYSIS OF 22q11 DELETION IN GENETIC COUNSELLING: 5 PREGNANCIES IN THE SAME FAMILY.

Introduction:

22q11 deletion is one of the most common genetic defects with an estimated incidence of 1 in 4,000. Moreover, up to 25% of this deletion is inherited. These figures underline the interest in proposing a prenatal diagnosis and in the eventuality of a therapeutic abortion approach. 22q11 deletion is possibly associated with a variable phenotypic expression which complicates genetic counselling. Common manifestations are mental delay, conotruncal heart disease, characteristic facial features and hypoplasia of the thymus and the parathyroid glands.

Clinical report:

We report 8 cases of the 22q11 deletion in the same family. The mother and her three daughters were concerned by the disease. The three women faced several pregnancies, each time resulting in an individual decision regarding prenatal diagnosis. All pregnancies were given a thorough echocardiographic examination. Three out of five pregnancies benefited from Fluorescent *in situ* hybridisation (FISH) with 22q11 specific probes.

Discussion:

The three pregnancies investigated had the deletion. Two out of three ended in therapeutic abortions because of a reserved cardiac surgical prognosis. No demand occurred from the parents for the third one who had the deletion. Thus, echography was the decisive argument in making their choice. Several reasons can explain this decision after genetic counselling. However, prenatal diagnosis by FISH of 22q11 appears to be useful concerning post natal care and in planning the immediate neonatal medical stabilization. Moreover, the wide range of phenotypes observed in such a family demonstrates the crucial need for a closer look at the parents.

Conclusion:

Therefore, this family highlights the major difficulties in prenatal counselling. Indeed, the choice of a therapeutic abortion stems from both the social and the cultural backgrounds of the family.

195. Diagnostic Prénatal

SOULIER Marie¹, Sigaudy Sabine¹, Chau Cécile², Philip Nicole¹

¹Département de Génétique Médicale Hôpital d'Enfants de la Timone, Marseille France

² Service Obstétrique Hôpital Nord Marseille

HYDRAMNIOS RÉVÉLATEUR D'UN SYNDROME DE STICKLER

Le syndrome de Stickler ou ophtalmo arthropathie progressive héréditaire est une affection de transmission autosomique dominante caractérisée par des manifestations oculaires, articulaires, une dysmorphie faciale et une surdité. Il existe une grande variabilité clinique intra et extra familiale. Une partie de cette variabilité peut être expliquée par une hétérogénéité génétique en relation avec des mutations dans des gènes différents. Nous rapportons le premier cas de diagnostic prénatal de syndrome de Stickler chez un fœtus présentant une séquence de Pierre Robin responsable d'un hydramnios. Le diagnostic fœtal a été évoqué devant l'existence d'une pathologie familiale

associant une myopie, une surdité, et des manifestations rhumatologiques chez la grand mère maternelle. En l'absence de cause immunologique, métabolique, infectieuse, ou neurologique devant un hydramnios isolé il faut penser à évoquer des troubles de la déglutition en rapport avec une séquence de Pierre Robin. Il s'agit d'une séquence malformative aux étiologies multiples conditionnant le pronostic. L'enquête génétique en mettant en évidence une pathologie familiale de transmission autosomique dominante qui peut se manifester en période néonatale par une séquence de Pierre Robin a permis de donner un conseil génétique rassurant au couple et de mettre en place dès la naissance une prise en charge des troubles respiratoires éventuels.

196. Diagnostic Prénatal

PINSON Lucile¹, Audrézet Marie Pierre², Le Bris Marie José³, De Braekeeler Marc³, Chabaud Jean-Jacques⁴, Parent Philippe⁵, Férec Claude²

1 23 rue Nollet Paris France

2 Laboratoire de Génétique Moléculaire-CHU Brest

3 Cytogénétique-CHU Brest

4 Gynécologue-Obstétrique-CHU Brest

5 Génétique Médicale-CHU Brest

EVALUATION DE LA PCR QUANTITATIVE POUR LE DIAGNOSTIC DE LA TRISOMIE 21. ETUDE RÉTROSPECTIVE À PARTIR DE 252 LIQUIDES AMNIOTIQUES

La Trisomie 21 est l'aneuploidie viable la plus fréquente et représente un problème majeur de santé publique. Le diagnostic prénatal de cette anomalie chromosomique repose classiquement sur l'analyse du caryotype fœtal et nécessite un délai de 10/12 jours. Le travail que nous reportons ici avait pour objectif d'évaluer la performance et la faisabilité de la technique de PCR quantitative en tant que test diagnostic de trisomie 21.

252 liquides amniotiques de femmes à haut risque de trisomie 21 ont été étudiés par PCR quantitative à l'aide de quatre marqueurs microsatellites. L'analyse qualitative et quantitative génotypique de chaque locus polymorphe permet de définir trois situations. La présence de trois allèles distincts signe la trisomie 21 de même que celle de deux allèles distincts dont l'un des signaux a une intensité double par rapport à l'autre. Une intensité équivalente pour deux allèles exclut la trisomie 21. En présence d'un seul allèle il n'est pas possible de conclure. La technique est donc limitée par l'informativité des marqueurs étudiés.

Dans notre série, elle varie de 77,6% à 66,22%. Il existe une informativité pour quatre marqueurs dans 21,36% des cas contre 48,95% pour trois marqueurs et 26,19% pour deux marqueurs.

En prenant en compte les prélèvements informatifs pour au moins deux marqueurs, l'euploidie ou l'aneuploidie (7 liquides sur 252) a pu être affirmé dans 91,7% des cas. Tous les prélèvements étaient positivement corrélés avec le caryotype cytogénétique. Le pourcentage élevé de non-réponse (8,7%) s'explique en partie par une étude restreinte à seulement deux marqueurs pour plusieurs liquides de la série.

L'étude simultanée de quatre marqueurs ou plus devrait permettre le diagnostic en 48 heures de trisomie 21 chez des femmes à haut risque dans près de 100% des cas.

197. Diagnostic Prénatal

LE CAIGNEC Cédric¹, Winer Norbert², Aubron Françoise³, Joubert Madeleine⁴, France, Fallet-Bianco Catherine⁵, Quéré Marie-Pierre⁶, David Albert⁷, Rival Jean-Marie⁷ 1 Institut de biologie Service de Génétique Médicale 9, quai Moncoussu NANTES FRANCE

2 Service de gynécologie obstétrique, CHU Nantes, France

3 Centre d'échographie de l'Ile Gloriette, Nantes, France

4 Service d'anatomie pathologique, CHU Nantes

5 Service d'anatomie pathologique, CH Sainte Anne, France

6 Service de radiologie, CHU Nantes, France

7 Service de génétique médicale, CHU Nantes, France

DIAGNOSTIC PRÉNATAL D'UNE AFFECTION OSSEUSE ÉVOQUANT UNE DYSPLASIE CLÉIDO-CRÂNIENNE ASSOCIÉE À UNE TRANSLOCATION RÉCIPROQUE DE NOVO T(2Q;6Q) (Q36;Q16)

La dysplasie cléido-crânienne (CCD) est une dysplasie squelettique caractérisée par un retard d'ossification intéressant non seulement le crâne (absence de fermeture des fontanelles, os wormiens), la clavicule (absence ou hypoplasie), le bassin (symphyse pubienne large) mais aussi d'autres pièces squelettiques (vertèbres, côtes, membres) ainsi que les dents. La taille est également réduite. Le mode de transmission est autosomique dominant et un gène est localisé en 6p21. Récemment, le gène CBFA1 a été identifié comme un gène majeur de la dysplasie cléido-crânienne. Plusieurs observations de patients atteints de CCD classique ou atypique avec anomalies cytogénétiques n'intéressant pas la région 6p21 ont été rapportées suggérant l'existence d'un ou plusieurs autres gènes. Le diagnostic prénatal de CCD a été décrit lors de grossesses avec une notion familiale de CCD. Dans une observation les auteurs rapportent le diagnostic prénatal d'une CCD chez une femme atteinte dont le diagnostic n'a été posé qu'après la découverte des anomalies fœtales.

Nous rapportons le diagnostic prénatal d'une dysplasie squelettique associant des clavicules hypoplasiques, une absence d'ossification des os pariétaux du crâne, une discrète ossification des os frontaux, occipitaux et de la symphyse pubienne. Un retard de croissance touchant les os longs est également noté. Le diagnostic de CCD a été évoqué en anténatal uniquement devant l'association des anomalies squelettiques. Un caryotype fœtal réalisé sur cellules du liquide amniotique a permis de mettre en évidence une translocation réciproque *de novo* t(2q;6q) (q36;q16) en apparence équilibrée. Classiquement, la dysplasie cléido-crânienne n'est pas une indication d'interruption de grossesse, le pronostic de la maladie étant en général favorable, en particulier le développement intellectuel et psychomoteur. Le diagnostic probable mais non certain de CCD, en particulier du fait de l'absence d'antécédents familiaux ainsi que la présence d'une translocation *de novo* en apparence équilibrée, a conduit les parents à demander une interruption de grossesse. Les mutations *de novo* impliquant le gène CBFA1 sont fréquentes et pourraient expliquer le tableau observé. Cependant, la présence de la translocation réciproque *de novo* dont les points de cassure n'impliquent pas le locus 6p21 suggère la présence d'un autre gène, différent de CBFA1, responsable d'un tableau proche de la dysplasie cléido-crânienne.

198. Diagnostic Prénatal

TABET Anne-Claude, Gosset P, Elghezal H, Fontaine S, Martinovic J, Razavi F, Romana S, Vekemans M, Morichon-Delvallez N

Département de génétique hôpital Necker - Paris

DIAGNOSTIC PRÉNATAL D'UNE TRISOMIE 16Q TOTALE ET IDENTIFICATION D'UN MARQUEUR CHROMOSOMIQUE SURNUMÉRAIRE PAR CARYOTYPE SPECTRAL

Les marqueurs chromosomiques surnuméraires survenant *de novo* et découverts en diagnostic prénatal sont souvent d'identification et de conseil génétique difficiles.

Nous rapportons ici le cas d'un fœtus pour lequel un caryotype sur liquide amniotique a été réalisé après découverte échographique d'une cardiopathie et d'un retard de croissance

intra-utérin à 35 semaines d'aménorrhées. Toutes les cellules étudiées montrent une formule : 47,XY,i(16)(q10),+mar. Les caryotypes des parents sont normaux. L'étude du caryotype spectral permet d'identifier le chromosome surnuméraire comme étant un anneau du bras court du chromosome 16. Une étude en FISH utilisant des sondes subtélomériques du chromosome 16 montrent : un chromosome 16 normal, un dérivé portant le signal du 16q aux deux extrémités (iso 16q) et un anneau portant un signal 16p. Après conseil génétique, une interruption médicale de grossesse est réalisée à 36 SA. L'examen fœtopathologique montre un fœtus de sexe masculin avec ambiguïté des organes génitaux externes ; une dysmorphie craniofaciale ; une cardiopathie associant une hypoplasie majeure des branches de l'artère pulmonaire, une malposition artérielle et une large CIV d'admission ; une mégavésicite et des anomalies des extrémités. L'examen neuropathologique montre une hypoplasie des bulbes olfactifs et du vermis inférieur.

La comparaison de cette observation avec les données de la littérature permet de préciser la carte phénotypique de la trisomie 16q.

199. Diagnostic Prénatal

PELLISSIER Marie-Christine¹, MISSIRIAN C¹, LIPRANDI A², FREDOUILLE C², PHILIP N¹, MONCLA A¹

1 Département de génétique Médicale Hôpital d'Enfants de la Timone - Marseille France

2 Service d'Anatomie pathologique, Hôpital de la Timone

DIAGNOSTIC PRÉNATAL D'UNE DÉLÉTION 20P11-P12

La délétion interstitielle du bras court du chromosome 20 (20p11-p12) est une anomalie peu fréquemment rapportée dans la littérature. Elle a cependant permis de localiser la région génomique impliquée dans le syndrome d'Alagille, dysplasie artério-hépatique. Il a finalement été récemment démontré que ce syndrome est lié à des anomalies du gène JAG1, localisé en 20p12. Nous rapportons la première observation de délétion 20p11-p12 diagnostiquée sur un caryotype fœtal. L'indication de ce diagnostic prénatal chromosomique, réalisée à partir d'un prélèvement de cellules amniotiques, était un âge maternel élevé. Le couple ne présentait aucun antécédent particulier. La grossesse évoluait normalement. Cette délétion a été confirmée par l'hybridation *in situ* d'un marqueur de type YAC, contenant le gène JAG1. Le couple a choisi d'interrompre la grossesse. L'examen anatomo-pathologique du fœtus à 24 semaines d'aménorrhée montrait un retard de croissance discret et une dysmorphie craniofaciale avec une fente palatine et un ptérygium colli. Un examen histologique des viscères est en cours à la recherche des signes spécifiques de la dysplasie artério-hépatique.

200. Diagnostic Prénatal

FREDOUILLE Catherine¹, Liprandi A¹, M-D. Piercecchi-Marti², M. Duyme³, M.Gonzales⁴, N. Bigi⁵, F.Rouault⁶, J.F.Pellissier²

1 Unité de Fœtopathologie Hôpital de la Timone - Marseille France

2 Service d'Anatomie-pathologie. Hop de la Timone, Marseille

3 C.N.R.S. Centre Hospitalier de Montpellier

4 Unité de Fœto-pathologie, Service de Cytogénétique, Hop Dt Antoine, Paris

5 Unité de Fœto-pathologie, Centre Hospitalier de Montpellier

6 Centre de Cardiopédiatrie, Espace Viton, Marseille

FORME ANATOMIQUE MINEURE DE CAV CHEZ LES FŒTUS TRISOMIQUES 21 A CŒUR 'NORMAL' ^a

Une étude anatomique comparative a porté sur le niveau d'insertion des valves auriculo-ventriculaires de cœurs fœtaux : 52 cœurs de trisomiques 21 et 52 cœurs de témoins normaux dont l'ensemble de l'examen fœtopathologique et caryotype normaux). Les critères de normalité de l'examen cardiopathologique classique incluaient l'absence de defect septal, auriculaire et/ou ventriculaire. 23 cœurs de trisomiques étaient considérés comme "normaux" selon ces critères.

Une coupe anatomique particulière, pratiquée dans le plan échographique des "4 cavités", réalisée selon une technique

reproductible, a retrouvé sur les 52 cœurs de fœtus normaux le décalage classique de l'insertion des valves septales mitrale et tricuspide. Chez 16 des 23 cœurs de trisomiques normaux on a noté une absence de ce décalage avec insertion linéaire des valves auriculo-ventriculaires. La différence entre les deux groupes est hautement significative (p = 10⁻⁶).

Cette insertion linéaire des valves septales, connue dans les formes de CAV partiel, a toujours été décrite en association avec un defect septal auriculaire et/ou ventriculaire, facilement reconnaissable à l'examen fœtopathologique classique.

Les cas d'insertion linéaire des valves chez les fœtus trisomiques à cœurs "normaux" observés dans notre série conduisent à placer cette anomalie comme première étape du spectre anatomique du CAV avant le CAV partiel et le CAV complet et à induire une étude de la validité de ce signe en échographie.

201. Diagnostic Prénatal

BITOUN E¹, Bodemer C², Amiel J³, Stoll C⁴, de Prost Y², Calvas P⁵, Hovnanian A^{1,5}

1 Wellcome Trust Centre for Human Genetics, Oxford, UK

2 Service de Dermatologie, Hôpital Necker, Paris, France

3 Service de Génétique, Hôpital Necker, Paris, France

4 Service de Génétique Médicale, Hôpital Hautepierre, Strasbourg, France

5 Service de Génétique Médicale, Hôpital Purpan, Toulouse, France

DIAGNOSTIC PRÉNATAL DU SYNDROME DE NETHERTON PAR RECHERCHE DE MUTATIONS DU GÈNE SPINK5

Le syndrome de Netherton (SN) est une ichtyose sévère du nouveau-né, autosomique récessive, sans traitement spécifique ni méthode de diagnostic prénatal fiable jusqu'à présent. Nous avons récemment montré que le SN est dû à des mutations du gène SPINK5 codant pour un inhibiteur de sérine protéases de type Kazal. Nous rapportons les premiers diagnostics prénatals par analyse directe de l'ADN fœtal dans 4 familles non apparentées atteintes de formes sévères de SN. Trois de ces familles sont d'origine turque et ont eu un premier enfant atteint de SN, décédé en période néonatale. Chacun de ces enfants atteints est homozygote pour la mutation récurrente 153delT héritée de chacun de ses parents. L'étude des haplotypes de SPINK5 dans ces 3 familles suggère que cette mutation résulte d'un effet fondateur. Une quatrième famille est d'origine française et présente un enfant de 5 ans hétérozygote composite pour les mutations d'épissage 81+5G>A et 2240+1G>A de SPINK5. L'analyse de l'ADN fœtal à partir de liquide amniotique dans la famille 1 et de villosités chorales dans la famille 3 a montré que le fœtus était hétérozygote pour la mutation 153delT dans les 2 cas. Les grossesses ont été menées à terme, et ont donné naissance à 2 nouveaux-nés non atteints. Dans la famille 3, l'analyse de l'ADN fœtal à partir de villosités chorales a montré au cours d'une première grossesse que le fœtus était homozygote pour 153delT. La grossesse a été interrompue à 13 semaines et l'analyse de l'ADN de kératinocytes fœtaux a confirmé le diagnostic. Au cours d'une seconde grossesse de la famille 2, l'analyse de l'ADN fœtal a montré que le fœtus était hétérozygote pour 153delT, et la grossesse a été poursuivie et un enfant non atteint est né. Pour la famille 4, l'analyse de l'ADN fœtal à partir de villosités chorales à 10 semaines de grossesse a montré que le fœtus était homozygote pour l'allèle sain hérité de chacun de ses parents et la grossesse a été poursuivie. L'analyse directe de mutations du gène SPINK5 représente la première méthode fiable, précoce et rapide pour le diagnostic prénatal de cette forme sévère d'ichtyose qui menace le pronostic vital dès la naissance. En l'absence d'hétérogénéité de locus, l'identification récente de nombreux SNPs intragéniques et de 2 microsatellites juxtagéniques de SPINK5 devrait permettre d'utiliser une analyse indirecte pour le diagnostic prénatal du SN dans les familles à risque dont le diagnostic clinique est certain.

203. Fœtopathologie

MARCORELLES Pascale¹, Parent P², Maire I³, Bouvier R⁴, Collet M⁵, Lagarde N⁵

1 Service d'Anatomie- pathologique CHU de BREST - Brest France

2 Service de génétique médicale, CHU Brest

3 Service de Biochimie Hôpital Debrousse Lyon

4 Service d'Anatomie pathologique, Lyon

5 Service de gynécologie obstétrique, CHU Brest

PLACENTA ET GANGLIOSIDOSE A GM1 : A PROPOS D'UNE OBSERVATION.

L'examen placentaire peut parfois apporter la solution dans le diagnostic étiologique de pathologies découvertes en échographie ante-natale.

Nous rapportons l'observation de la 4ème grossesse d'une patiente, au cours de laquelle de multiples explorations avaient été réalisées devant un retard de croissance intra-utérin associé à des calcifications hépatiques et spléniques. L'enfant né à 37 SA est hypotrophe (2380 gr), dysmorphique, discrètement hypotonique et à l'examen radiologique présente des calcifications punctiformes des deux chevilles. L'étude du placenta met en évidence des vacuoles cytoplasmiques de surcharge diffuses du trophoblaste et des macrophages villositaires.

Les lésions microscopiques placentaires sont très évocatrices d'une maladie de surcharge lysosomiale. Par l'atteinte conjointe du trophoblaste et des cellules macrophagiques, seul un très petit nombre de maladies sont à évoquer. L'activité B galactosidase chez l'enfant est nulle et permet le diagnostic de Gangliosidose à GM1. Cette maladie, ici dans sa forme infantile (type I) est d'aggravation rapide et fatale par accumulation massive lysosomiale de gangliosides dans de nombreuses cellules dont les neurones.

Conclusion : L'examen placentaire peut permettre le diagnostic de maladies de surcharge débouchant sur un conseil génétique et même sur un diagnostic ante-natal. De plus, il nous semble important de pratiquer un examen placentaire même dans des cas d'erreurs innées du métabolisme parfaitement connues pour définir leurs éventuelles caractéristiques anatomopathologiques.

204. Fœtopathologie

MARTINOVIC Jelena¹, LE MERRER Martine¹, TANTAU Julia¹, MORICHON-DELVALEZ Nicole¹, ESCULPAVIT Chantal¹, DUMEZ Yves², VEKEMANS Michel¹, ENCHARAZAVI Féréchté¹

1 Département de Génétique Necker Enfants Malades 149,rue de Sèvres Paris

2 Service de Gynécologie et obstétrique, Necker Enfants Malades, Paris

IMPACT DE L'EXAMEN FŒTOPATHOLOGIQUE SUR LE CONSEIL GÉNÉTIQUE. EXPÉRIENCE DU CENTRE PLURIDISCIPLINAIRE DE DIAGNOSTIC PRÉNATAL DE NECKER

A l'occasion d'un bilan annuel, nous rapportons les résultats des examens fœtoplacentaires, effectués dans notre unité et discutons de leur performance ainsi que de leur impact sur le conseil génétique et de stratégies d'études à adopter.

Entre Novembre 1998 et 2000, 290 fœtus de 12-41 SA issus pour la plupart (81%) d'interruption médicale de grossesse ont été examinés. L'examen fœtoplacentaire a été effectué selon le guide de bonne pratique élaboré par la Société Française de Fœtopathologie, comportant un bilan radiologique, une étude macroscopique et histopathologique, complétés par un examen neuropathologique et placentaire.

L'examen a été considéré sans impact sur le conseil génétique, malgré la découverte d'éléments nouveaux, dans les anomalies chromosomiques, 44 cas (15%). De même pour les entités cliniques étiquetées en prénatal, l'examen fœtoplacentaire a été considéré comme non contributif au conseil génétique, 79 cas (27.2%). En revanche, l'examen a été déterminant et a permis un conseil génétique adéquat dans 136 cas (46.9%). Le bilan radiologique a été déterminant dans 31 cas (10.7%), l'examen placentaire dans 55 cas (20%) et le bilan Fœtopathologique dans

80 cas (27.6%). Notre examen est resté descriptif dans près de 8% des cas et n'a pu orienter le diagnostic vers une entité nosologique distincte.

Nos résultats démontrent, malgré la nature biaisée du recrutement, l'apport d'une approche étiopathogénique dans l'évaluation fœtoplacentaire. Cette approche permet par ailleurs la constitution de cohortes homogènes, étape indispensable pour la définition d'entités nouvelles et la réalisation de projets de recherche étiopathogénique ciblée.

205. Fœtopathologie

TOUTAIN Annick¹, Gelot Antoinette², Randrianaivo Hanitra¹, d'Hermies François³, Courteau Geneviève¹, Moraine Claude¹

1 Service de Génétique, CHU de Tours Hôpital Bretonneau 2 Bd Tonnellé Tours France

2 Unité de Neuropathologie, Hôpital St Vincent de Paul, Paris

3 Laboratoire d'Ophtalmologie, Hôtel-Dieu, Paris

SYNDROME NEU-LAXOVA : PRÉSENTATION D'UN CAS AVEC SITUS INVERSUS ET DESCRIPTION NEUROPATHOLOGIQUE

Le syndrome Neu-Laxova est un syndrome polymalformatif léthal rare, autosomique récessif. Il associe un RCIU sévère, une micro-lissencéphalie, des anomalies oculaires, craniofaciales et cutanées, et une arthrogrypose multiple liée à l'akinésie fœtale. Nous rapportons un cas de syndrome Neu-Laxova chez un fœtus masculin né de parents turcs consanguins, examiné après interruption de grossesse pour RCIU et microcéphalie sévères et malpositions des membres. Le caryotype était normal. L'examen Fœtopathologique a révélé, outre le RCIU avec microcéphalie majeurs et l'arthrogrypose multiple, une ichthyose diffuse, une hypoplasie musculaire, un anus ectopique, une dysmorphie craniofaciale et une microcornée avec cataracte bilatérales. L'examen viscéral a montré un situs inversus complet avec une malformation cardiaque associant dextrocardie, CAV, ventricule droit et artère pulmonaire

hypoplasiques. Bien que des malformations cardiovasculaires aient été décrites dans quelques cas de syndrome Neu-Laxova, c'est, à notre connaissance, la première fois qu'une anomalie de latéralité est rapportée dans cette affection. Enfin, l'examen neuropathologique a révélé une micro-encéphalie extrême (cerveau pesant 15 g au lieu de 230 g attendus) avec une surface cérébrale lisse et une agénésie du corps calleux et du cervelet. A la coupe, le parenchyme cérébral était mince, sans myéline visible. Histologiquement, le cortex était dysplasique et immature (sans lamination visible, d'épaisseur variable) et la zone germinative trop réduite pour le terme. Ces anomalies correspondent à la définition de la lissencéphalie de type III décrite par certains auteurs.

206. Fœtopathologie

BEAUFRERE Anne-Marie¹, BAZIN Anne², LAURICHESSE Helene², FALLET Catherine², LEMERY Didier³, DECHELOTTE Pierre³

1 Laboratoire d'anatomie pathologique Hotel Dieu bd Leon Malfreyt - Clermont Ferrand cedex1 France

2 Laboratoire Pasteur-Cerba, Cergy-Pontoise

3 Hotel Dieu, Clermont Ferrand

4 Hôpital St Anne, Paris

HYDRANENCEPHALIE AVEC AKINESIE FŒTALE DE CAUSE GÉNÉTIQUE : A PROPOS DE DEUX OBSERVATIONS DE SYNDROME DE FOWLER (HYDROCEPHALIE - HYDRANENCEPHALIE PAR VASCULOPATHIE PROLIFÉRANTE : PV-HH)

Nous rapportons ici deux cas de fœtus ayant présenté la même pathologie.

Le premier a été examiné après une interruption médicale de grossesse à 16 semaines d'aménorrhée pour polymalformations à l'échographie avec anomalies cérébrales et akinésie. Il s'agissait de la première grossesse d'un couple sans antécédent dont la femme a 2 enfants en bonne santé d'une première union. L'examen Fœtopathologique de ce fœtus eutrophique de sexe masculin permet la mise en évidence de pterygia, d'anomalies des extrémités (syndactylies) et surtout d'une dilatation extrême

des deux hémisphères cérébraux ainsi que des lésions nécrotiques de la moelle. Le deuxième cas est un fœtus de sexe féminin issu d'une interruption médicale de grossesse à 24 semaines d'aménorrhée pour hydranencéphalie avec akinésie. Il s'agissait de la quatrième grossesse d'une mère de 2 enfants en bonne santé et d'un enfant décédé à J2 d'une malformation cardiaque. L'examen fœtopathologique montre un fœtus dysmorphique présentant des pterygia, une amyotrophie, un retard de croissance et confirme l'hydranencéphalie. L'examen histologique des prélèvements réalisés au niveau du système nerveux central des deux fœtus met en évidence des lésions typiques décrites par Fowler en 1972 : lésions ischémiques calcifiées diffuses associées à une vasculopathie glomérulée. Dans la littérature 14 cas ont été répertoriés auxquels s'ajoutent nos deux cas. Certains cas ont été observés dans les mêmes fratries. Le syndrome de Fowler ou hydrocéphalie-hydranencéphalie par vasculopathie proliférante (PV-HH : proliférative vasculopathy and hydrocephaly - hydranencephaly) apparaît être une maladie récessive autosomique dont le diagnostic ante natal de récurrence ne repose actuellement que sur l'échographie : hydranencéphalie et akinésie fœtale due à l'atteinte médullaire.

207. Fœtopathologie

MEHAUT S^{1,2}, CIUPEA A¹, JACOB B³, BOUVIER R⁴, BUENERD A⁴, DEVISME D⁵, BORY JP², MAIRE I⁴, MORNET E⁶, GAILLARD D²

- 1 CH Troyes,
- 2 CHU Reims
- 3 CHU Caen
- 4 CHU Lyon
- 5 CHU Lille
- 6 Université Versailles

L'HYPOPHOSPHATASIE FŒTALE ET PERINATALE

L'hypophosphatase périnatale et infantile est une maladie génétique rare, transmise selon un mode autosomique récessif. Elle est caractérisée par un déficit de l'activité de la phosphatase alcaline non spécifique au tissu (TNSALP) qui est lié à des mutations du gène TNSALP, entraînant un défaut de minéralisation osseuse. Huit fœtus atteints d'hypophosphatase, âgés de 15 à 33 semaines d'aménorrhée ont été collectés en fœtopathologie, afin de préciser le spectre des manifestations cliniques, radiologiques et histopathologiques et de rechercher d'éventuelles corrélations entre le génotype et le phénotype. Les aspects morphologiques sont en accord avec les données de la littérature: nanisme micromélique, crâne mou à la palpation, défaut de minéralisation osseuse, spicules ostéocartilagineux diaphysaires, angulation des os longs, métaphyses irrégulières en cupules. Les modifications histologiques sont proches de celles observées dans le rachitisme, avec un cartilage métaphysaire élargi, très cellulaire, formé de colonnes irrégulières de chondrocytes qui s'enfoncent dans la diaphyse. Les travées osseuses sont peu minéralisées et gardent des îlots de cartilage hypertrophique.

Ces anomalies peuvent s'exprimer dès 15 semaines. Les corrélations génotype-phénotype restent cependant difficiles en raison de la grande hétérogénéité allélique. Ces huit observations comprennent trois formes familiales qui ont récidivé selon le même phénotype, avec une gravité similaire. La poursuite de cette étude collaborative et le démantèlement des différentes mutations du gène TNSALP devraient permettre de mieux connaître les conséquences cliniques des mutations et de mieux adapter le conseil génétique et le suivi des grossesses ultérieures la sévérité

208. Fœtopathologie

PEREZ Marie-Josée¹, ALBERTI E.M¹, BOURGADE², SAURA R³, MOISAN⁴, CARLES D¹

- 1 Chu Pellegrin Service Anatomopathologie Unité de Fœtopathologie - Bordeaux France
- 2 CHG DAX . GYNECOLOGIE OBSTETRIQUE
- 3 CHU PELLEGRIN BORDEAUX. SERVICE DE GÉNÉTIQUE MEDICALE
- 4 CHU NANTES. SERVICE DE GÉNÉTIQUE MEDICALE

CONTRIBUTION DE L'EXAMEN FŒTOPATHOLOGIQUE A UN DIAGNOSTIC DE MUCOVISCIDOSE

Nous rapportons un diagnostic de mucoviscidose chez un fœtus mort *in utero* à 34 semaines d'aménorrhée. Il s'agit d'une première grossesse chez un couple non consanguin originaire du sud-ouest de la France sans cas index connu.

Ce fœtus mort nous est adressé avec un diagnostic étiologique de circulaire serrée du cordon.

L'examen macroscopique viscéral met en évidence un infarctus hémorragique du grêle avec une péritonite fibrinonécrotique sur un volvulus de l'anse grêle. L'examen microscopique du pancréas retrouve des altérations dystrophiques associant une fibrose interstitielle avec une raréfaction du parenchyme glandulaire et une dilatation d'acini contenant du matériel mucoïde éosinophile : Ces aspects sont évocateurs de mucoviscidose.

Après un conseil génétique orienté par ce diagnostic, l'enquête familiale permet de mettre en évidence que les parents sont hétérozygotes pour la mutation Delta F 508.

Un diagnostic ante-natal précoce par recherche directe de la mutation après PCR sur biopsie de trophoblaste à la 10^{ème} semaine a été réalisé pour les deux grossesses suivantes et deux enfants indemnes de la maladie sont nés vivants.

Cette observation souligne l'intérêt de l'examen fœtopathologique dans les morts fœtales *in utero* pour le conseil génétique.

La mucoviscidose est une maladie autosomique récessive, les hétérozygotes dans la race blanche représentent 4% de la population générale ; le diagnostic ante-natal n'est possible que chez les couples hétérozygotes connus par un cas index.

Nous reprendrons dans la littérature les lésions pancréatiques et les possibilités d'orientation du diagnostic ante-natal en l'absence de cas index à partir de l'échographie.

209. Fœtopathologie

FALLET Catherine¹, Menez F2, Bessière B3, Maire I⁴, Mirlesse V³, Kassis M³, Delezoide A.L², Daumas-Duport C¹

- 1 Service d'Anatomie Pathologique Hôpital Sainte-Anne - Paris FRANCE
- 2 Hôpital Robert-Debré, Paris
- 3 Institut de Puériculture de Paris
- 4 Hôpital Debrousse, Lyon

FORME FŒTALE SEVERE, PRECOCEMENT LETALE, DE MALADIE DE GAUCHER. IMPORTANCE DE L'EXAMEN FŒTOPATHOLOGIQUE DANS LE DEPISTAGE DE CES AFFECTIONS

En 1992, est individualisée une forme clinique de maladie de Gaucher caractérisée par la sévérité de son évolution, avec une létalité très précoce, parfois prénatale, très proche du phénotype d'un modèle animal murin, homozygote, knock-out pour le gène de la glucocérébrosidase.

Nous rapportons 2 observations dans lesquelles, l'examen fœtopathologique a permis de porter le diagnostic de maladie de Gaucher chez deux fœtus d'une même fratrie dont la mère avait, dans ses antécédents obstétricaux, 3 fausses-couches spontanées et une mort fœtale *in utero* à 7 mois, non examinées, sans diagnostic étiologique.

L'étude de l'activité enzymatique chez les parents montrait des valeurs identiques à celles des témoins et la recherche des mutations les plus fréquentes s'est révélée négative. L'examen histologique des viscères et l'examen neuropathologique ont montré des lésions très évocatrices d'une maladie de Gaucher qui, dans le second cas, a pu être confirmée par une étude

enzymatique sur villosités choriales qui a montré une activité résiduelle très basse de la β -glucosidase.

Ces observations illustrent les difficultés du diagnostic de ces formes particulières de maladie de Gaucher, dont la fréquence est probablement largement sous-estimée, comme le laisse supposer la multiplication récente des publications la concernant. Elles démontrent clairement l'importance de l'examen Fœtopathologique dans le dépistage de cette affection dont le diagnostic enzymatique et moléculaire est parfois difficile.

210. Fœtopathologie

MOLINA GOMES Denise¹, ROUME Joelle¹, VIALARD François¹, BRETTELLE Florence², BERNARD Jean Pierre², VILLE Yves², SELVA, HILLION Yvette³, LEROY Brigitte³

1 Histo-Embryologie, Génétique, Biologie Reproduction CHI POISSY-St -GERMAIN -en- LAYE

2 Service de Gynécologie-Obstétrique CHI POISSY-St -GERMAIN -en- LAYE

3 Unité de Fœtopathologie

SYNDROME DE GREBE : UN CAS DE DIAGNOSTIC ANTÉNATAL PRÉCOCE

Le syndrome de Grebe est une dysplasie acromésomélisme rare, habituellement non létale, de transmission autosomique récessive. Il se caractérise par des déformations et une brièveté des membres avec un gradient de sévérité proximo-distal. Le squelette axial est épargné.

Le gène responsable de ce nanisme, localisé sur le chromosome 20q11.2, code pour une protéine impliquée dans la morphogenèse des chondrocytes, la CDMP1 (Cartilage Derived Morphogenetic Protein 1).

Les patients hétérozygotes présentent des anomalies squelettiques mineures, variées (polydactylie, brachydactylie, hallux valgus, metatarsus adductus).

Nous rapportons une observation fœtale de chondrodysplasie de Grebe chez un couple sénégalais, apparenté avec un coefficient de consanguinité de 1/64, ayant déjà 3 enfants bien portants.

Les échographies à 12SA et à 14SA révèlent une hyperclarté nucale, un oedème généralisé, et des membres courts, déformés, d'échostructure anormale avec hexadactylie bilatérale.

Le caryotype fœtal (46,XY) est normal. Une interruption médicale de grossesse est réalisée à 15SA, justifiée par la sévérité de l'atteinte fœtale.

L'examen Fœtopathologique confirme, chez ce fœtus de sexe masculin, les anomalies échographiques : oedème de la nuque, hypomélie extrême, brachydactylie et polydactylie post axiale intéressant les 4 membres, défaut majeur d'ossification des os longs. Le rachis et les côtes sont d'aspect normal.

L'ensemble de ces données cliniques a fait retenir le diagnostic de syndrome de Grebe. Il est ici, particulier, par la précocité de sa découverte anténatale. Une étude moléculaire, pour conforter ce diagnostic, est envisagée.

211. Fœtopathologie

FREDOUILLE Catherine¹, Piercechi Marie Dominique¹, Liprandi Agnès¹, Sigaudy Sabine², Philip Nicole²

1 Service Anatomopathologie Unité de Fœtopathologie Hôpital Timone Marseille France

2 Département de Génétique Médicale Hôpital Timone Enfant Marseille

SYNDROME MALFORMATIF ANTÉNATAL RÉVÉLANT UN SYNDROME DE GOLTZ

Le syndrome de Goltz ou hypoplasie dermique en aire est une affection rare caractérisée par des anomalies du développement des tissus et des organes dérivés de l'ectoderme et du mésoderme. Le mode de transmission est dominant liée à l'X avec létalité *in utero* chez le garçon. La sévérité de l'affection est variable avec des formes cutanées pures peu symptomatiques et plus rarement d'authentiques syndromes polymalformatifs.

Nous rapportons l'observation d'un fœtus féminin de 28 SA pour retard de croissance intra utérin, cardiopathie congénitale complexe et malformation de la main gauche. L'examen fœtopathologique a mis en évidence une asymétrie faciale associée à une fusion mandibulo-maxillaire droite, une luette

double, des syndactylies cutanées des mains et des pieds associées à des anomalies des ongles et des érosions cutanées frontale et des extrémités. Par ailleurs il existait une cardiopathie complexe : atrésie pulmonaire avec CIV et crosse aortique droite. Ce tableau clinique a fait évoquer une forme malformative de syndrome de Goltz-Gorlin. L'examen clinique maternel a mis en évidence une lésion cutanée thoracique d'allure cicatricielle et une malocclusion dentaire permettant d'évoquer une forme mineure de l'affection.

212. Fœtopathologie

LIPRANDI A¹, Fredouille C¹, Sigaudy S², Stora de Novion H³, Beretti⁴, Philip N².

1 Laboratoire d'anatomopathologie, unité de Fœtopathologie, Hôpital Timone, Marseille

2 Département de Génétique Médicale, Hôpital Timone Enfant, Marseille

3 Laboratoire Genazur, Nice

4 Service d'obstétrique, Hôpital de Bastia

SYNDROME DE ROBERTS : À PROPOS D'UNE OBSERVATION FŒTALE

Le syndrome de Roberts est une affection rare de transmission autosomique récessive associant des anomalies réductionnelles des membres, une dysmorphie faciale, un aspect particulier de l'hétérochromatine des régions centromériques, des organisateurs nucléolaires et du chromosome Y. Nous rapportons l'observation d'un fœtus de 27 SA ayant bénéficié d'une IMG pour syndrome polymalformatif sévère avec anomalie des membres et de la face à caryotype normal. L'examen Fœtopathologique mettait en évidence : un retard de croissance, un hypertélorisme avec strabisme divergent, une absence de relief nasal, un volumineux encéphalocèle médian, une fente labiopalatine médiane, une tétraphocomélie avec oligodactylie des 4 membres. Le sexe externe était masculin avec un macropenis. Il n'existait pas de malformation viscérale en dehors d'une hypoplasie pulmonaire. Cet ensemble polymalformatif, évocateur de syndrome de Roberts, a conduit à réexaminer le caryotype fœtal. Sur certaines mitoses, l'aspect écarté des bras de l'Y témoin d'une répulsion ou d'une absence d'attraction des régions chromatiniennes aboutissant à une séparation prématurée durant la prophase et la métaphase était compatible avec ce diagnostic. Une documentation plus précise des anomalies morphologiques fœtales aurait probablement permis de relier ces anomalies cytogénétiques discrètes et le tableau clinique et de porter le diagnostic prénatal de syndrome de Roberts.

213. Fœtopathologie

LIPRANDI A¹, Sigaudy S², Chau C³, Fredouille C², Pelissier JF²

1. Unité de Fœtopathologie, Service d'Anatomopathologie, Hôpital Timone, Marseille

2 Département de Génétique Médicale, Hôpital Timone Enfant, Marseille

3 Service d'Obstétrique, Hôpital Nord, Marseille

MALADIE DE CAFFEY : À PROPOS D'UNE OBSERVATION PRÉNATALE

La maladie de Caffey ou hyperostose corticale infantile est une ostéopathie rare d'étiologie inconnue. Elle se caractérise par une atteinte des os longs et/ ou de la mandibule. Nous rapportons l'observation d'un fœtus ayant bénéficié d'une IMG à 26SA pour hydramnios, microrétrognathisme, retard de croissance des os longs <10ème p avec incurvation fémorale et anomalie cérébrale. L'analyse chromosomique fœtale avait révélé une translocation équilibrée entre le chromosome 14 et le chromosome 18 de transmission paternelle (p22;q31). L'examen fœtopathologique a confirmé les données de l'échographie anténatale et n'a pas en évidence de malformation viscérale. Les radiographies du squelette révélaient une hyperostose symétrique intéressant la clavicule, les os longs et la mandibule évocatrice de la maladie de Caffey. L'examen histologique du fémur était en faveur de ce diagnostic avec une ossification diaphysaire

anarchique avec des travées osseuses perpendiculaires au périoste et associé un processus inflammatoire aigu focalisé.

L'examen neuropathologique mettait en évidence outre une cavité porencéphalique des lésions de nécrose laminaire du cortex.

La forme anténatale de la maladie de Caffey a un phénotype sévère. Des récurrences familiales ont été décrites, toutefois le mode de transmission de cette affection est inconnu : autosomique dominant à expression variable, autosomique récessive. 25 cas sont rapportés dans la littérature, notre observation est la seule à décrire une association avec des anomalies cérébrales.

214. Fœtopathologie

VIBERT-GUIGUE Claude¹, FREDOUILLE Catherine², BLANCHON Yvonne³, FALLET-BIANCO Catherine², SANLAVILLE Damien², ENCHA-RAZAVI Ferechte⁴, GRALL France³, BAZIN Anne⁵, TAILLEMITE Jean-Louis², JOYE Nicole², GONZALES Marie² 1 Cabinet d'échographie 19 rue Jules Valles - Evry

2 Laboratoire d'Embryologie Pathologique et de Cytogénétique Hôpital Saint-Antoine Paris

3 Service de Gynécologie-Obstétrique CH Evry

4 Unité de Génétique Hôpital Necker-Enfants Malades Paris

5 Laboratoire Pasteur Cerba Cergy Pontoise

HYDROCÉPHALIE ET CARDIOPATHIE SÉVÈRE : ASSOCIATION INHABITUELLE DANS UN SYNDROME DE WALKER-WARBURG

Lors de la deuxième grossesse de Madame D (apparentée à son conjoint), une échographie pratiquée à 20 sa est considérée normale. A 26 sa l'échographie morphologique dépiste une hydrocéphalie majeure avec anomalie de Dandy-Walker ainsi qu'une cardiopathie : asymétrie des cavités cardiaques et hypoplasie de la voie pulmonaire. Le caryotype fœtal est masculin normal. Après un conseil génétique éclairé, une Interruption Médicale de Grossesse est proposée et acceptée par le couple à 28 sa.

L'examen Fœtopathologique met en évidence une dysmorphie faciale avec microphthalmie unilatérale, une cardiopathie : atrésie pulmonaire à septum intact. L'examen de l'extrémité céphalique retrouve une petite méningocèle occipitale et l'examen neuropathologique constate une lissencéphalie. L'examen histologique confirme le diagnostic de Walker-Warburg évoqué devant la lissencéphalie et la dysplasie corticale associées à une dysplasie rétinienne.

La présence d'une cardiopathie sévère n'est pas habituelle dans ce syndrome de transmission récessive autosomique.

215. Fœtopathologie

LE CALVE Michèle, Lescoat D, Loeuillet-Olivo L, Moulinoux J-Ph, Jouan H

Laboratoire de cytogénétique et Biologie Cellulaire, RENNES

MISE EN EVIDENCE DE TRIPLOIDIES PAR LA TECHNIQUE DE FISH SUR COUPES PARAFFINEES DES PRODUITS D'EXPULSION DU PREMIER TRIMESTRE

Sur une période d'un an, les fausses couches spontanées (FCS) du premier trimestre adressées au laboratoire d'Anatomie Pathologique du CHU de Rennes ont été explorées, après inclusion dans la paraffine par la technique d'hybridation *in situ* en fluorescence (FISH), afin d'établir une corrélation avec l'examen microscopique en technique standard.

Nous avons utilisé les sondes centromériques des chromosomes 16, 18, X et Y, ainsi que les sondes spécifiques LSI des chromosomes 13 et 21 sur les coupes tissulaires, après déparaffinage et digestion enzymatique suivant la technique des laboratoires Vysis.

La technique de FISH nous a permis de mettre en évidence dans les FCS du premier trimestre 40 % d'aneuploidies dont 19 % de triploïdies.

Cette exploration permet d'insister sur certains caractères microscopiques évocateurs, même en dehors des aspects molaires bien individualisés.

216. Bases Moléculaires des maladies Mendéliennes

MOLINARI Florence¹, RIO M¹, ROTHCHILD A², MEGARBANE A³, MUNNICH A¹, COLLEAUX L¹

1 INSERM U393 Hôpital Necker-Enfants Malades 149 rue de Sevres - PARIS FRANCE

2 Hadassah Medical School, Jerusalem, Israel

3 Université Saint Joseph, Faculté de Médecine de Beyrouth, Liban

CARTOGRAPHIE PAR HOMOZYGOTIE DE TROIS LOCI DE RETARD MENTAL IDIOPATHIQUE : VERS L'IDENTIFICATION DU PREMIER GENE DE RM ISOLE RECESSIF AUTOSOMIQUE

Le terme retard mental (RM) regroupe différentes affections caractérisées par un Quotient Intellectuel (QI<70) inférieur à 70. Ces handicaps sont fréquents puisqu'ils touchent 2 à 3 % de la population générale, mais les mécanismes physiopathologiques qui y conduisent sont encore mal connus.

Dans 40 % des cas, la cause exacte du RM demeure totalement inexplicite, on parle alors de RM idiopathique. Parmi ces derniers, 25% seraient dus à des mutations dans des gènes non encore identifiés. Compte tenu de la gravité et de la fréquence de ces affections, le démantèlement des gènes responsables constitue donc un enjeu majeur de la génétique médicale. En effet, il devrait permettre de déterminer les mécanismes impliqués dans la survenue de ces handicaps et, au delà, de mieux comprendre la mise en place du Système nerveux central.

Nous avons souhaité participer à cet effort de démantèlement en réalisant un travail de cartographie par homozygotie dans des familles consanguines multiplex présentant un RM syndromique ou isolé. Pour trois de ces familles, l'analyse de 400 marqueurs répartis tous les 10cM a permis de localiser le gène morbide respectivement en : 11p15.5, 2q13 and 4q24. Cette étude illustre les forces et les faiblesses de cette approche pour l'identification de gènes de RM. Pour l'une de ces familles, l'étude de marqueurs supplémentaires et l'identification d'un polymorphisme hétérozygote chez les enfants atteints a permis de réduire la région candidate à une courte région d'environ 1.5 Mb. L'analyse des gènes candidats contenus dans cette région est en cours

217. Bases Moléculaires des maladies Mendéliennes

LEBRE Anne-Sophie¹, TAKAHASHI Junko², FUJIGASAKI Hiroto¹, DUYCKAERTS Charles², CAMONIS Jacques³, BRICE Alexis¹

1 INSERM U289 Hôpital de la Salpêtrière 47 bd de l'Hôpital - Paris France

2 Laboratoire de Neuropathologie, Hôpital de la Salpêtrière, Paris, France

3 INSERM U528, Institut Curie, Paris, France

APPROCHE DE LA FONCTION DE L'ATAXINE-7 IMPLIQUEE DANS L'ATAXIE CEREBELLEUSE AUTOSOMIQUE DOMINANTE DE TYPE II (SCA7) PAR IDENTIFICATION DE SES PARTENAIRES PROTEIQUES

Objectif : SCA7 (Spinocerebellar ataxia 7) est une maladie neurodégénérative associée à une mutation de type expansion de polyglutamine dans la région codante du gène SCA7. Les patients avec SCA7 ont des lésions affectant le cervelet et la rétine, mais d'autres structures cérébrales sont atteintes au cours de la maladie. La distribution de l'ataxine-7 est ubiquitaire et ne reflète absolument pas la sélectivité des lésions observées chez les patients. Cette sélectivité pourrait provenir de l'interaction de l'ataxine-7 avec un facteur dont la topographie d'expression correspondrait spécifiquement aux populations neuronales qui dégénèrent. Nous avons recherché des partenaires de l'ataxine-7 mutée (100 glutamines) par criblage d'une banque d'ADNc de rétine par la méthode du double hybride chez la levure.

Résultats et Conclusion : APLP2 (Amyloid-precursor-like protein 2), protéine homologue de la protéine APP, a été choisie du fait d'une interaction plus forte avec l'ataxine-7 mutée qu'avec l'ataxine-7 normale et du fait de son expression dans le système

nerveux central. La localisation subcellulaire de APLP2 a été étudiée par immunohistochimie sur coupes de cerveau humain. Dans le cerveau normal, APLP2 est détectée dans le cytoplasme des neurones. Chez un cas adulte avec SCA7, l'immunoréactivité d'APLP2 est plus forte que dans le cerveau normal, suggérant une induction de la protéine. Chez un cas juvénile avec SCA7, APLP2 est préférentiellement détectée dans le noyau de neurones dans certaines structures cérébrales atteintes, suggérant une translocation nucléaire de la protéine. Des études complémentaires sont en cours pour évaluer l'implication de APLP2 dans le mécanisme physiopathologique de SCA7.

218. Bases Moléculaires des maladies Mendéliennes

PERIQUET Magali¹, Latouche Morwena¹, Rawal Nina¹, Lohmann Ebba¹, Lucking Christoph², Deleuze Jean-Francois³, Durr Alexandra¹, Brice Alexis¹, The French Parkinson's disease genetics study group, The European Consortium on Genetics Susceptibility in Parkinson's disease.

¹ INSERM U289, 47 bd de l'hôpital - Paris France

² Munnich, Germany

³ Aventis-Pharma, Paris

FREQUENCY OF PARKIN MUTATIONS IN A LARGE SERIES OF PATIENTS WITH ISOLATED EARLY-ONSET PARKINSONISM

Parkin gene mutation have been reported to be a major cause of early onset parkinsonism in families with autosomal recessive inheritance and in isolated juvenile-onset parkinsonism (age at onset < 20 years). However, the precise frequency of parkin mutations in isolated cases is not known. In order to evaluate more accurately the frequency of parkin mutations in patients with isolated early onset parkinsonism, we studied 159 patients of various geographical origin with an age at onset < 45 years. All subjects were screened for mutations in the parkin gene with the use of semi-quantitative PCR combined with the sequencing of the entire coding region. We identified 14 different parkin mutations in 20 patients including 4 new exons rearrangements and a new point mutation. Taken together with our previous study (Lucking *et al.* 2000), these data show that parkin mutations account for at least 15% of early-onset isolated cases with a proportion significantly decreasing when age at onset increases.

219. Bases Moléculaires des maladies Mendéliennes

BONNET -DORION Françoise¹, Rocca-Serra P¹, Mac Grogan G², Lafon D¹, Hostein I¹, Taine L³, Bepoldin C², Frengen E⁴, Birnbaum D⁵, Gorry P¹

¹ Institut Bergonié Génétique Moléculaire 229 Cours de l'Argonne - Bordeaux Cedex France

² Institut Bergonié-Anatomo-cyto-pathologie),

³ Maternité Pellegrin- Laboratoire de Génétique - Bordeaux Cedex

⁴ Biotechnology Centre of OsloPObox1125 /N-0316 Oslo

⁵ Institut Paoli Calmettes-Biologie des tumeurs-13273 Marseille cedex 09

CARTOGRAPHIE DE LA RÉGION 16Q22.1 IMPLIQUÉE DANS LE CANCER DU SEIN: ÉTUDE DE GÈNES CANDIDATS

Les délétions du bras long du chromosome 16 (16q) constituent une altération majeure, rencontrée dans divers cancers dont le cancer du sein. De nombreux travaux suggèrent la localisation en 16q d'au moins 3 gènes suppresseurs de tumeur ou TSG. Le projet présenté ici repose sur la cartographie détaillée des profils de délétions en 16q, dans une série de 80 carcinomes infiltrants du sein. Cette étude montre la prédominance des altérations en 16q22.1, observée dans 78% des tumeurs et suggère la localisation d'un TSG au sein d'une région appelée SRO2. Nous avons construit une carte physique de haute résolution de 2.8 Mégabases couvrant la région candidate, à partir de banques génomiques humaines construites dans un vecteur de type PAC (P1-derived Artificial Chromosome). Ainsi 68 unités de transcription ont été identifiées dont 29 gènes connus. Parmi ces

gènes, deux sont localisés au cœur de la région : CDH1 et CDH3, codant respectivement pour les cadérines E et P. CDH1 est un GST, inactivé dans les carcinomes lobulaires infiltrants. CDH3 est exprimé spécifiquement par les cellules myoépithéliales des canaux galactophoriques ainsi que par les cellules hyperprolifératives des bourgeons terminaux. Par ailleurs les souris knock out pour la cadérine P présentent un développement précoce de la glande mammaire, pouvant s'accompagner de la formation d'hyperplasie mammaire. Les résultats de recherche de mutation du gène CDH3 seront discutés comparativement aux profils d'expression de la cadérine P et des profils de délétion en 16q22.1.

Ce travail a été réalisé grâce au soutien du comité de la Dordogne de la Ligue Nationale Contre le Cancer.

220. Bases Moléculaires des maladies Mendéliennes

FELLOUS Marc, Veitia R, De Baere E, Pailhous E, Vaiman D, Cotinot C, Messiaen L.

Institut Pasteur Inserm E0021, Paris Cedex15 France

SYNDROMIC AND ISOLATED PREMATURE OVARIAN FAILURE : ANALYSIS OF FOXL2 GENE

Mutations in FOXL2, a forkhead transcription factor gene, are the major cause of type I and II blepharophimosis-ptosis-epicanthus inversus syndrome (BPES), a rare genetic disorder. In BPES type I a complex eyelid malformation is associated with premature ovarian failure (POF), while in BPES type II the eyelid defect occurs as an isolated entity. We have identified novel mutations in the FOXL2 gene in BPES type I and II families, in sporadic BPES patients, and in BPES families where the type could not be established. Mutations were detected in 67 % of the patients studied. In total twenty-one mutations were identified, seventeen of which are novel, and one microdeletion. Thirteen of these FOXL2 mutations are unique. We demonstrate that there is a genotype-phenotype correlation for both types of BPES by the finding that mutations predicted to result in a truncated protein both lacking or containing the forehead domain lead to type I BPES. In contrast, duplications within or downstream of the forehead domain and a frameshift downstream of them, all predicted to result in an extended protein, cause type II BPES. In addition, in thirty unrelated patients with isolated POF no causal mutations were identified in FOXL2. This study provides further evidence that FOXL2 haploinsufficiency may cause BPES type I and II by the effect of a null allele and a hypomorphic allele, respectively. Furthermore, we propose that in a fraction of the BPES patients the genetic defect may not reside within the coding region of the FOXL2 gene and may be caused by a position effect. In goats, FOXL2 expression was studied and found sexually dimorphic in the gonads at all developmental stages, from the beginning of genital ridges formation (30 days post coitum) until adulthood. Its expression pattern, studied on RT samples by Real time PCR (TaqMan), revealed a higher level in ovaries than in testis (in a ratio varying from 30 to 1300 fold, depending on the stage). Moreover, we demonstrated that FOXL2 gene expression is directly affected by the Polled Intersex Syndrome (PIS) Mutations, shown to be a 11.7 kb deletion. This deletion drastically decreased FOXL2 expression in the XX sex reversed gonads at all developmental stages. This study carried out on the goat species, indicates that in addition to its role in folliculogenesis, FOXL2 seems to be a critical factor for the first steps of ovarian development. Therefore, this result brings to light and interesting candidate gene for female to male sex reversal in humans.

221. Bases Moléculaires des maladies Mendéliennes

CHERQUI Stephanie¹, Sevin C¹, Kalatzis V¹, Hamard G², Gubler MC¹, Antignac C¹

1 Inserm U423 Hôpital Necker Enfants Malades - Paris
2 ICGM Hôpital Cochin, Paris,

CARACTÉRISATION DU PHÉNOTYPE DES SOURIS INVALIDÉES POUR LE GÈNE CTNS, MODÈLE MURIN DE LA CYSTINOSE

La cystinose est une maladie de surcharge lysosomale autosomique récessive liée à un défaut d'export de la cystine hors du lysosome, provoquant une accumulation de cystine responsable de la formation de cristaux. La forme la plus grave et la plus fréquente est la forme infantile qui débute vers 6 mois par une tubulopathie proximale et évolue vers l'insuffisance rénale terminale avant l'âge de 10 ans. Les autres symptômes (photophobie, hypothyroïdie, diabète, myopathie, complications neurologiques) sont liés à la surcharge en cystine dans différents organes. Le traitement par la cystéamine permet de retarder l'évolution de la maladie. Le gène CTNS, impliqué dans la maladie code la cystinosine, protéine de la membrane lysosomale impliquée dans l'export de cystine.

Un modèle de souris invalidées pour Ctns, homologue murin de CTNS a été généré dans le laboratoire. Les souris Ctns-/- accumulent, dès la naissance, de la cystine dans tous les organes testés. Cependant, avec un recul d'un an, et malgré la présence de cristaux de cystine dans les cellules tubulaires proximales, elles ne développent pas de signes cliniques ni biologiques de tubulopathie ou d'insuffisance rénale. A l'opposé, les souris Ctns-/- présentent vers l'âge de 6 mois une diminution de l'activité globale et des difficultés à la marche évocatrices d'une atteinte neurologique ou neuro-musculaire. Malgré les différences phénotypiques entre l'homme et la souris, le modèle murin de cystinose va représenter un outil précieux pour l'élaboration de traitements plus efficaces et mieux tolérés que le traitement actuel.

222. Bases Moléculaires des maladies Mendéliennes

MORAINE Claude¹, GOMOT Marie², DAVID Albert³, DESSAY Sabine², YNTEMA Helger⁴, GENDROT Chantal², DESPORTES Vincent⁵, COUVERT Patrick⁵, BELDJORD Cherif⁶, RAYNAUD Martine^{1,2}, VERLOES Alain⁶

1 CHU Bretonneau, 2 Bd Tonnelé - TOURS France

2 INSERM U316, Tours, France.

3 Département de Génétique, CHU de Nantes, France

4 Department of Human Genetics 417, Nijmegen, The Netherlands

5 INSERM U129 - CGM, Paris, France

6 Service de Génétique, Hôpital Robert Debré, Paris, France

MUTATIONS DE MECP2 ET DÉFICIENCE MENTALE NON SPÉCIFIQUE LIÉE AU SEXE: CORRÉLATION PHÉNOTYPE-GÉNOTYPE DANS TROIS FAMILLES

- Les déficiences mentales liées au sexe non spécifiques (MRX) sont la cause la plus fréquente de retard mental héréditaire. Les huit premiers gènes connus n'expliquent que 12% des situations observées (1).

- Le sd de Rett est une génopathie dominante liée au sexe, souvent sporadique, avec létalité habituelle chez les mâles; 65-80% des femmes atteintes sont mutées dans le gène MecP2 localisé en Xq28 (2) et ont une inactivation aléatoire.

- Plusieurs garçons apparentés à des filles Rett et portant la même mutation ont été décrits portant une déficience mentale (dm) profonde, progressive ou non, létale ou non.

- Secondairement, des mutations de MECP2 ont été objectivées dans trois familles de MRX localisées en Xq28 (3): nous rapportons les phénotypes physiques et neuropsychologiques correspondants, de sévérité croissante.

(i) Dans la famille 1 (délétion de 240pb en phase DP387-M466 dans la région 3' du gène), l'examen physique est nu, la déficience mentale (dm) modérée et fixe, les performances motrices meilleures que les capacités verbales. (ii) Dans la famille 2 (substitution d' Arg en Trp (R167W) entre TRD et

MBD (3)), il y a une dm modérée et fixe, un tremblement essentiel, des réflexes ostéo-tendineux (ROT) vifs. (iii) Dans la famille 3 (MRX16) (4) (substitution de Glu en Gln (E137G) dans le domaine Méthyl-Binding (3) on observe des ROT vifs, une dysarthrie, une dm variable, et, chez trois sujets, une régression des acquisitions du langage au cours des premières années. Des corrélations phénotype-génotype sont discutées pour ces trois familles.

(1) Chelly 2000, (2) Amir 1999, (3) Couvert 2001, (4) Gendrot 1999

223. Bases Moléculaires des maladies Mendéliennes

MONCLA Anne¹, MANCINI J², KPEBE A³, CHABROL B², LIVET MO², PHILIP N¹, VILLARD L³

1 Département de génétique médicale CHU Timone-Enfants Marseille

2 Service de Neuropédiatrie, CHU Timone-Enfants, Marseille

3 Inserm U491, Faculté de Médecine, Marseille

MUTATIONS DU GÈNE MECP2 ET SYNDROME DE RETT : ETUDE DES CORRÉLATIONS PHÉNOTYPE/GÉNOTYPE

Le syndrome de Rett est une encéphalopathie sévère et progressive atteignant exclusivement les filles. Les travaux de recherche clinique ont conduit à définir la forme classique, la plus facilement reconnue, caractérisée par une histoire clinique et des manifestations neurologiques très stéréotypées; mais aussi, des formes "variantes" soit à début précoce et d'expression neurologique plus sévère, soit à début tardif alors d'expression atténuée avec une meilleure préservation des fonctions motrices et de communication. La fréquence relative de chacune des formes d'expression clinique reste encore à établir. L'implication dans ce syndrome du gène MECP2, localisé en Xq28, a permis d'établir que 70 à 80% des filles Rett présentent une mutation dans ce gène. Cependant, des mutations dans ce même gène seraient aussi responsables de tableaux cliniques plus atypiques.

Nous rapportons l'expérience de notre groupe sur la recherche de mutations dans la totalité de la séquence codante du gène MECP2 dans une population de 64 filles correspondant à trois groupes différents :

- Un premier groupe comprenant 24 patientes dont le diagnostic de syndrome de Rett a été établi cliniquement dans le cadre de notre consultation multidisciplinaire
- Un deuxième groupe de 25 patientes adressées pour une suspicion de Rett par des collaborations externes
- Un troisième groupe de 15 patientes examinées dans notre structure présentant une encéphalopathie sévère avec manifestations autistiques, microcéphalie, épilepsie et absence de langage.

Dans le premier groupe, 22 mutations ont pu être identifiées, incluant une délétion intragénique, dans le deuxième, 8 mutations et aucune dans le dernier. Ces résultats suggèrent que la vaste majorité des mutations dans le gène MECP2 conduisent à un syndrome de Rett classique incluant les formes variantes mais qu'en revanche, une proportion importante de cas de handicap sévère chez les filles pourrait ne pas être due à des anomalies alléliques comme il a été suggéré par certains auteurs.

Nous avons également essayé d'établir des corrélations phénotype/génotype pour les patientes Rett en tenant compte du type de mutation, du domaine fonctionnel affecté par cette mutation, et du phénomène d'inactivation du chromosome X. A l'exception des mutations survenant dans le domaine C-Terminal qui, dans notre série, semblent constamment associées à une forme clinique frustrée, il existe une variabilité avec un spectre clinique large, allant d'une forme sévère à une forme modérée pour une même mutation. Cette variabilité clinique peut être en partie liée au schéma d'inactivation du chromosome X, mais est aussi probablement sous la dépendance de facteurs génétiques encore inconnus.

224. Bases Moléculaires des maladies Mendéliennes

GOIZET Cyril¹, COUPRY Isabelle¹, TAINE Laurence², DORMOY Virginie¹, BOESPFLUG-TANGUY Odile³, LACOMBE Didier², ARVEILER Benoît¹

1 Laboratoire de Pathologie Moléculaire et Thérapie Génique, Université Victor Segalen Bordeaux 2, 146 Rue Léo Saigant Bordeaux France

2 Service de Génétique Médicale, CHU de Bordeaux

3 INSERM U 384 Clermont-Ferrand)

LOCALISATION D'UN GENE DE LEUCODYSTROPHIE SANS CAUSE EN 11q14.3

Dans environ 30% des leucodystrophies, la cause demeure indéterminée (LSC). Les études classiques de génétique inverse par analyse de liaison génétique se heurtent à l'hétérogénéité clinique et génétique de ces LSC. Nous avons détecté par FISH une microdélétion 11q14-q21 *de novo* chez un patient porteur d'une LSC et d'un albinisme oculo-cutané de type 1 (AOC1), en utilisant une sonde moléculaire dirigée sur le premier exon du gène codant pour la tyrosinase (TYR). L'AOC1 étant une maladie récessive autosomique, nous avons réalisé le séquençage de TYR chez le patient, mettant en évidence une délétion hémizygotique de deux bases (GT) sur le codon 144/145, héritée du père. Nous avons caractérisé la microdélétion sur le plan moléculaire en utilisant la technique de recherche d'hémizygotie de marqueurs microsatellites, et en construisant un contig de BACs/YACs couvrant la région d'intérêt. La taille de la microdélétion a été réduite à 1.2 Mb, encadrée par les marqueurs D11S1780 (borne centromérique) et D11S4175 (borne télomérique). L'étude des BACs en FISH sur les chromosomes du patient a permis d'évaluer la taille minimale de la délétion à environ 600 kb. L'annotation de la séquence de la région d'intérêt a été effectuée à la recherche de gène(s) candidat(s) responsable(s) de la LSC. Deux gènes candidats, codant pour la cathepsine C (CTSC) et le récepteur métabotropique au glutamate de type 5 (GRM5), ont été identifiés dans la région délétée. Après avoir éliminé une implication de CTSC, le rôle de GRM5 est actuellement à l'étude sur une cohorte de patients avec LSC.

225. Bases Moléculaires des maladies Mendéliennes

BEN YAOU Rabah¹, Babuty Dominique², Richard Pascale³, Bonne Gisèle^{1,4}, Toutain Annick⁵

1 Institut de Myologie, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière 47-83 boulevard de l'Hôpital - Paris France

2 Service de Cardiologie B, CHU de Tours

3 Laboratoire de Biochimie B, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris

4 INSERM U523, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris

5 Service de Génétique, CHU de Tours

DYSTROPHIE MUSCULAIRE D'EMERY-DREIFUSS AVEC MUTATION HOMOZYGOTE DU GÈNE CODANT POUR LES LAMINES A/C. A PROPOS D'UNE FAMILLE.

La myopathie d'Emery-Dreifuss (EDMD) est une dystrophie musculaire caractérisée par des rétractions tendineuses précoces (coudes, tendons d'Achille et rachis), une faiblesse musculaire et une amyotrophie progressive de distribution huméropéronière, et une atteinte cardiaque le plus souvent sous forme de troubles conductifs. Deux modes de transmission sont actuellement connus : lié à l'X et autosomique dominant, respectivement dus à des mutations des gènes de l'émerine et des lamines A/C, protéines de l'enveloppe nucléaire. Nous rapportons les données cliniques, neurologiques et cardiologiques, de deux patients cousins germains, appartenant à une famille hautement consanguine, qui présentent un phénotype EDMD typique et chez qui a été mis en évidence une mutation du gène des lamines A/C à l'état homozygote. Certains de leurs apparentés, en particulier la mère d'un des propositus, hétérozygote obligatoire, présentent une atteinte cardiaque isolée, de même type que chez les propositus mais de début plus tardif.

Ceci pourrait suggérer que les sujets porteurs de cette même mutation à l'état hétérozygote présentent un phénotype atténué, sous forme d'une atteinte cardiaque pure.

L'exploration de cette famille est actuellement en cours pour vérifier cette hypothèse. Les implications sur le diagnostic clinique et génétique de cette affection sont discutées.

226. Bases Moléculaires des maladies Mendéliennes

CHAMBERT Sylvie¹, SAQUET Céline¹, RIVIER François², COUBES Christine³, ECHENNE Bernard², CLAUSTRES Mireille¹, TUFFERY-GIRAUD Sylvie¹

1 IURC, Laboratoire de Génétique Moléculaire, 641 av du Doyen G. Giraud - Montpellier France

2 Service de Neuropédiatrie, CHU de Montpellier

3 Service de Génétique Médicale, CHU de Montpellier

DIX ANS DE DIAGNOSTIC MOLÉCULAIRE DES MYOPATHIES DE DUCHENNE (DMD) ET DE BECKER (BMD): STRATÉGIES ET TECHNIQUES.

Le diagnostic moléculaire des myopathies de Duchenne (DMD) et de Becker (BMD) est un diagnostic complexe à réaliser en raison de la diversité des techniques qui doivent être mises en oeuvre pour analyser les familles. Cette complexité est liée à la taille et à la structure du gène dystrophine (2,5 Mb, 79 exons), à la diversité des mutations qui y sont retrouvées (macro-délétions ou duplications, mutations ponctuelles), et à la fréquence des néomutations. La stratégie diagnostique mise en place dans le laboratoire de Génétique Moléculaire de Montpellier, et les nombreux développements technologiques réalisés à ce jour sont présentés. Un effort particulier a été fait pour l'identification des mutations chez les cas index, notamment dans les cas sporadiques où aucune analyse de linkage ne peut être réalisée: (1) détection des délétions par PCR multiplex, (2) identification des mutations ponctuelles, duplications et autres réarrangements grâce à l'analyse des transcrits musculaires (RT-PCR) et l'utilisation du test de troncation des protéines (PTT) (taux de détection : 86%). Deux nouvelles techniques de détection des variations de séquence (DHPLC et BESS) sont en cours d'évaluation. Par ailleurs, différentes stratégies sont mises en oeuvre pour le diagnostic direct des femmes conductrices, (1) mise en évidence d'une perte d'hétérozygotie pour les délétions par analyse des microsatellites, (2) dosage génique par PCR quantitative en temps réel pour les duplications et certaines délétions, (3) séquençage direct pour les mutations ponctuelles. Soutien : Association Française contre les Myopathies (AFM).

227. Bases Moléculaires des maladies Mendéliennes

DELETTRE Cécile¹, Kaplan Josseline², Dollfus Hélène³, Lorenz Birgit⁴, Faivre Laurence⁵, Lenaers Guy⁶, Belenguer Pascale⁶, Hamel Christian P^{1,7}

1 INSERM U254 71 rue de Navacelles -31446 Montpellier France

7 Laboratoire de neurobiologie de l'audition, 71 rue de Navacelles - Montpellier

2 Inserm U. 393, Hôpital Necker-Enfants malades, Paris

3 Service de Génétique Médicale, Hôpital de Haute-pierre, Strasbourg

4. Kinderophthalmologie, Augenklinikum der University, Regensburg, Germany

5. Centre de Génétique, Hôpital d'Enfants, Dijon

6 CNRS UMR 5088, Université Paul Sabatier, Toulouse cedex 4, France

L'ATROPHIE OPTIQUE DOMINANTE DE TYPE I : UNE NOUVELLE MALADIE MITOCHONDRIALE

L'atrophie optique dominante (AOD) de type I est la forme la plus fréquente de neuropathies optiques héréditaires non-syndromiques et touche environ 1 personne sur 50 000.

Elle se caractérise par une atteinte dégénérative des fibres ganglionnaires qui forment le nerf optique et se traduit par une baisse progressive de l'acuité visuelle. On observe cependant une grande variabilité phénotypique inter- et intra-familiale. Nous avons récemment identifié le gène OPA1 comme responsable de

l'AOD de type I. Il code une protéine de la famille des dynamines-GTPases localisée au niveau de la membrane interne des mitochondries et qui semble impliquée dans le maintien de l'ADN mitochondrial et l'organisation du réseau mitochondrial dans les cellules. OPA1 présente 8 isoformes résultant de l'épissage alternatif de l'exon 4 et de 2 exons appelés 4b et 5b. A ce jour, 62 mutations ont été identifiées avec une majorité d'entre elles localisées dans le domaine GTPase.

Plusieurs mécanismes pathogéniques peuvent être impliqués dans ce type d'atrophie optique dominante. D'une part, les mutations tronquantes localisées dans la région N-terminale et peut être les mutations faux-sens du domaine GTPase peuvent conduire à une perte de fonction et agir par haploinsuffisance. D'autre part, les mutations tronquantes situées en C-terminal dans un domaine de dimérisation peuvent conduire à un effet dominant négatif.

Le fait que l'AOD de type I, comme la neuropathie optique de Leber, soit causée par des anomalies de protéines mitochondriales suggère que les cellules ganglionnaires de la rétine sont très vulnérables à un dysfonctionnement des mitochondries.

228. Bases Moléculaires des maladies Mendéliennes

TOURNIER-LASSERVE Elisabeth¹, DENIER Christian^{1,2}, RIAANT Florence^{1,2}, LABAUGE Pierre^{1,3}, LABERGE Sophie¹

1 INSERM E99-21 Faculté de Médecine Lariboisière 10 avenue de Verdun - Paris

2 Laboratoire de Cytogénétique, Hôpital Lariboisière, Paris

3 CHU de Nîmes Montpellier

CRIBLAGE DU GÈNE KRIT1 DANS 122 FAMILLES ATTEINTES DE CAVERNOMATOSE CÉRÉBRALE: SPECTRE MUTATIONNEL ET CORRÉLATIONS GÉNOTYPE-PHÉNOTYPE

Introduction:

Les angiomes caverneux ou cavernomes (Cerebral Cavernous Malformations) sont des malformations vasculaires évolutives le plus souvent localisées dans le système nerveux central, mais également sur la rétine et sur la peau. La prévalence des cavernomes est de 0,5 %; 10 à 20 % d'entre eux sont autosomiques dominants. Trois gènes CCM ont été localisés. Notre équipe a identifié le premier d'entre eux (Nature Genetics, 1999); celui ci code pour une protéine à domaine FERM, de fonction encore inconnue, la protéine Krit1

Objectif:

Caractériser dans un large panel de familles le pourcentage de familles Krit1, la nature des mutations et les corrélations génotype-phénotype.

Matériel et Méthodes:

Criblage SSCP et séquençage / ADN génomique et cDNA dans 122 familles parfaitement caractérisées sur le plan clinique et IRM

Résultats:

Un total de 48 mutations distinctes ont été détectées dans 50 familles. Toutes ces mutations tronquent la partie Cterm de Krit1 à l'exception de 2 délétions in frame situées dans la région C-term. Les rares substitutions nucléotidiques détectées dans les exons entraînent une anomalie d'épissage avec codon stop prématuré. Une comparaison détaillée (pénétrance, association à des lésions extra cérébrales etc...) des familles liées et non liées à Krit1 sera présentée au meeting.

229. Bases Moléculaires des maladies Mendéliennes

VARRET Mathilde¹, DEVILLERS Martine¹, ABI-FADEL Marianne¹, VILLEGGER Ludovic¹, ALLARD Delphine¹, ERLICH Danièle¹ Réseau National de Recherches Cliniques sur les Hypercholestérolémies Familiales, JUNIEN Claudine¹, BOILEAU Catherine¹, RABES Jean-Pierre¹

1 INSERM UR383 Hôpital Necker 149 rue de Sevres - Paris France

EVALUATION OF THE RESPECTIVE CONTRIBUTIONS OF LDLR, APOB, FH3 AND MORE GENE DEFECTS TO AUTOSOMAL DOMINANT HYPERCHOLESTEROLEMIA

Autosomal dominant hypercholesterolemia (ADH) is characterized by an elevation of total plasma cholesterol associated with increased LDL particles. Numerous different molecular defects have been identified in the LDL receptor gene (LDLR) and few specific mutations in the apolipoprotein B gene (APOB) resulting in Familial Hypercholesterolemia and Familial Defective apoB-100 respectively. To estimate the respective contribution of LDLR and APOB gene defects in this disease, we followed a previous study performed with 33 families and studied 121 well characterized French families diagnosed over at least 3 generations with ADH through the candidate gene approach. An estimation of the proportions performed with the HOMOG3R program showed that a LDLR gene defect was involved in approximately 65% of the families ($P = 1.6 \times 10^{-30}$). On the contrary, the estimated contribution of an APOB gene defect was only 10%. This low estimation of ADH due to an APOB gene defect is further strengthened by the existence of only 7 probands carrying the APOB (R3500Q) mutation in the sample. More importantly, 25% of the families in the sample were estimated to be linked to neither LDLR nor APOB genes. Our results demonstrate that the relative contributions of LDLR and APOB gene defects to the disease are highly unbalanced. To estimate the contribution of the recently mapped FH3 gene to ADH, we studied 28 non LDLR / non APOB families. Heterogeneity tests indicated linkage to FH3 in 20% of these families and implied, at least, a fourth locus.

230. Bases Moléculaires des maladies Mendéliennes

ARVEILER Benoît¹, COUPRY Isabelle¹, ROUDAUT Christel¹, STEF Marianne¹, DELRUE Marie-Ange², BURGELIN Ingrid¹, MARCHE Michèle¹, TAINE Laurence², LACOMBE Didier²

1 Laboratoire de Pathologie Moléculaire et Thérapie Génique, Université Victor Segalen Bordeaux 2 - Bordeaux France

2 Service de Génétique Médicale, CHU de Bordeaux

MOLECULAR ANALYSIS OF THE CBP-GENE IN 65 PATIENTS WITH RUBINSTEIN-TAYBI SYNDROME

The Rubinstein-Taybi syndrome (RTS) is characterized by mental and growth retardation, broad thumbs, broad big toes and facial abnormalities. RTS is associated with mutations in the CREB-Binding protein (CREBBP) gene. Gross chromosomal rearrangements and microdeletions detected by fluorescence *in situ* hybridization (FISH) and truncating mutations revealed by protein truncation test (PTT) or Western blot analysis, account so far for only 20% of RTS cases. We report the use of molecular tools to thoroughly analyse the CREBBP gene in a cohort of 65 patients. These include cDNA probes to search for gross rearrangements by Southern blot analysis and to identify mRNA of abnormal size by Northern blot, intragenic microsatellite markers to look for intragenic deletions, as well as a complete set of primers to amplify each of the 31 exons of the gene for mutation search by direct sequencing. We analysed 62 patients and identified 29 mutations: 3 gross rearrangements by Southern blot and/or microsatellite analysis, 1 truncated RNA by Northern blot, 1 small intragenic deletion by RT-PCR and 24 point mutations resulting in either stop codons, amino acid substitutions or abnormal splicing of the CBP RNA. Three additional patients were found to be deleted by FISH. Taken together, these results showed that the combination of the

various techniques allowed us to identify a CBP mutation in 49.2% of RTS cases, which represents the highest percentage of CBP mutations reported so far in RTS patients. These molecular tools will be useful to search for CBP mutations in other developmental pathologies with cancer predisposition and mental retardation.

231. Bases Moléculaires des maladies Mendéliennes

CAILLAUD Catherine, PUECH Jean-Philippe, DUSSAU Jane, POENARU Livia.

Laboratoire de Génétique, Université Paris V, ICGM Faculté de Médecine Cochin 24, rue du Faubourg Saint Jacques - PARIS FRANCE

HÉTÉROGÉNÉITÉ GÉNÉTIQUE DES CÉROIDE-LIPOFUSCINOSES EN FRANCE.

Les céroïde-lipofuscinoses neuronales (CLN) sont des maladies neurodégénératives caractérisées par l'accumulation intralysosomale de lipopigments autofluorescents, notamment dans les neurones. Quatre formes cliniques principales ont été décrites : infantile, infantile tardive, juvénile et adulte, ainsi que de nombreux variants. Huit loci au moins (CLN1 à CLN8) seraient impliqués dans la genèse de ces affections, dont cinq déjà clonés.

Une trentaine de patients atteints de CLN ont été étudiés pour trois des gènes précédemment identifiés. Dans la forme infantile tardive, la plus fréquente en France, le gène CLN2 a été retrouvé le plus souvent impliqué. Un déficit en tripeptidyl peptidase I a été mis en évidence chez la plupart des patients et des mutations du gène CLN2 ont été retrouvées, dont deux représentant 60 % des allèles. Dix mutations nouvelles ont été caractérisées (délétions, non-sens, épissage, faux-sens), dont certaines associées à des formes variantes. Ces résultats ont permis de développer pour la première fois des méthodes fiables de diagnostic prénatal pour les couples à risque.

Une étude parallèle a été réalisée pour les gènes CLN1 et CLN3 respectivement dans les formes infantiles et juvéniles. Les études enzymatiques (déficit en palmitoyl-protéine-thioestérase/CLN1) et/ou moléculaires ont permis l'identification du locus impliqué dans la genèse de la maladie chez une partie des patients. D'autres restent cependant non identifiés, pouvant impliquer d'autres gènes connus, mais également des gènes nouveaux. La suite de ce travail consistera dans le décryptage des formes variantes, ceci avec l'aide des cliniciens et des histopathologistes dans le cadre du réseau spécifique récemment créé.

232. Bases Moléculaires des maladies Mendéliennes

LIA-BALDINI Anne-Sophie¹, Muller F², Taillandier A¹, Gibrat JF³, Simon-Bouy B¹, Serre JL¹, Aylsworth AS⁴, Bieth E⁵, Delanote S⁶, Freisinger P⁷, Hu JCC⁸, Krohn HP⁹, Nunes ME¹⁰, Mornet E¹

¹ Laboratoire SESEP Université de Versailles-Saint Quentin Versailles France

² Hôpital Ambroise Paré, Paris

³ INRA, Versailles

⁴ University of North Carolina, Chapel Hill, USA

⁵ CHU Purpan, Toulouse

⁶ University Hospital, Ghent, Belgique

⁷ Kinderklinik Technische Universität, Munich, Allemagne

⁸ University of Texas, San Antonio, USA

⁹ Reinhard-Nieter-Krankenhaus, Wilhelmshaven, Allemagne

¹⁰ US Air Force Medical Genetics Center, Keesler AFB, USA

APPROCHE MOLÉCULAIRE DE LA DOMINANCE DANS L'HYPHOPHOSPHATASIE

L'hypophosphatasie est une maladie héréditaire rare due au déficit d'activité de la phosphatase alcaline osseuse codée par le gène ALPL. L'enzyme est une phosphomonoestérase qui fonctionne en dimères et en tétramères. La plupart des 108 cas d'hypophosphatasie étudiés dans notre laboratoire sont transmis selon le mode récessif autosomique mais quelques cas de transmission autosomique dominante ont été observés. Les parents d'enfants atteints de formes dominantes peuvent avoir

été affectés par la maladie dans leur enfance mais ne plus présenter de symptôme de la maladie à l'âge adulte, ce qui rend difficile l'établissement du mode de transmission par la généalogie. Nous présentons ici l'étude de 9 mutations trouvées chez des patients sans autre mutation détectable afin d'établir leur possible effet dominant négatif. Pour cela les ADNc mutant (obtenus par mutagenèse dirigée) et normal ont été co-transfectés dans des cellules COS 7 et l'activité phosphatase alcaline des cellules transfectées mesurée. Les résultats montrent que 5 de ces mutations (G46V, A99T, R167W, D361V et N461I) ont un effet dominant négatif par inhibition de l'activité enzymatique de l'hétérodimère tandis que les 4 autres ne montrent aucun effet dominant. De plus, il existe une corrélation entre le taux d'inhibition et la sévérité clinique observée chez le patient. Enfin, la construction d'un modèle tridimensionnel de l'enzyme nous a permis de mettre en évidence deux régions particulières de la molécule où sont rassemblées les mutations dominantes.

233. Bases Moléculaires des maladies Mendéliennes

HEIDET Laurence, Arrondel C, Vodovar N, Knebelmann B, Grunfeld JP, Gubler MC, Antignac C
InsERM U423 Hôpital Necker Paris

ETUDE DE L'EXPRESSION DU GENE MYH9 DANS LE REIN HUMAIN ET MISE EN EVIDENCE DE MUTATIONS DE CE GENE DANS LES SYNDROMES DE FECHTNER ET D'EPSTEIN.

Des mutations dans le gène MYH9, codant pour la chaîne lourde IIA de myosine non musculaire, ont été mises en évidence récemment dans une forme héréditaire de surdité non autosomique, ainsi que dans trois syndromes de transmission autosomique dominante comportant une macrothrombocytopénie avec des inclusions anormales dans les polynucléaires: les syndromes de May-Hegglin, de Sebastian et de Fechtner. Les patients atteints de syndrome de Fechtner présentent en outre une cataracte congénitale, une surdité et une néphropathie glomérulaire d'évolution progressive décrite comme une forme particulière de syndrome d'Alport. Enfin le syndrome d'Epstein comporte le même type de néphropathie associée à une surdité et à une macrothrombocytopénie sans inclusions leucocytaires.

Afin de mieux comprendre la néphropathie du syndrome de Fechtner, nous avons étudié l'expression de cette chaîne de myosine dans le rein humain mature et au cours du développement, par hybridation *in situ* et par immunohistochimie. MYH9 est exprimé dans le rein fœtal et dans le rein mature. Au cours du développement, le gène est exprimé dans la partie inférieure du corps en S (dans les cellules endothéliales et dans les cellules épithéliales qui représentent les futurs podocytes). Par la suite et dans le rein mature, MYH9 est exprimé au niveau du glomérule et des vaisseaux péri-tubulaires. Dans le glomérule, MYH9 est principalement exprimé par les cellules podocytaires.

Nous avons recherché des mutations de ce gène dans 12 familles présentant l'association MTCP et néphropathie glomérulaire progressive. Nous avons mis en évidence 4 mutations probablement pathogènes dans 5 familles, incluant deux familles atteintes de syndrome d'Epstein. Trois mutations sont localisées dans le domaine coiled-coil (queue de la protéine) et une mutation est localisée dans le domaine moteur (tête de la protéine). Deux de ces mutations (E1841K et D1424N) avaient été rapportées auparavant dans des familles présentant une MTCP sans atteinte rénale (syndrome de May-Hegglin) et les deux autres (R1165L et S96L) sont des nouvelles mutations.

234. Bases Moléculaires des maladies Mendéliennes

CAMPOS-XAVIER Ana Belinda¹, SARAIVA Jorge M²., SAVARIRAYAN Ravi³, VERLOES Alain⁴, FEINGOLD Josue¹, FAIVRE Laurence¹, MUNNICH Arnold¹, LE MERRER Martine¹, CORMIER-DAIRE Valérie¹

1 Département de Génétique Hôpital Necker-Enfants Malades 149 rue de Sèvres - Paris France

2 Consulta de Genética, Hospital Pediatrico de Coimbra, Coimbra, Portugal

3 Victorian Clinical Genetics Services and University of Melbourne, Department of Paediatrics, Parkville, Victoria, Australia

4 Centre de Génétique Médicale, CHU Sart Tilman, Liège, Belgique

VARIABILITÉ PHÉNOTYPIQUE DE LA MALADIE DE CAMURATI-ENGELMANN AU LOCUS TGF-BETA1

La maladie de Camurati-Engelmann (CE) est une maladie osseuse condensante atteignant élastiquement la diaphyse, de transmission autosomique dominante. Le gène a été localisé en 19q13.1-q13.3 en 2000 et cinq mutations différentes ont récemment été identifiées dans le gène TGF-beta1 à partir de 21 familles publiées. Nous rapportons ici l'analyse moléculaire de six familles européennes et d'une famille australienne porteuses d'une maladie de CE. Trois mutations différentes ont été identifiées dans ces familles : R218C (3/7), C225R (3/7), R218H (1/7), toutes situées dans le propeptide TGF-beta1. Il apparaît que la mutation R218C est majoritaire dans l'ensemble des familles (17/28 familles) quelles que soient leur origine ethnique. Une grande variabilité clinique et radiologique a été observée au sein de nos familles sans qu'il soit possible d'établir de corrélation entre la sévérité des manifestations et la nature des mutations. L'observation de polymorphismes dans le gène TGF-beta1 entraînant une variation de la concentration de TGF-beta1 plasmatique (Grainger *et al.*, 1999) nous a conduit à tester l'hypothèse d'une liaison entre la présence de polymorphismes et la variabilité clinique intrafamiliale. L'analyse de cinq polymorphismes intragéniques dans notre échantillon ne permet pas d'établir de corrélation avec la variabilité clinique de la maladie.

235. Bases Moléculaires des maladies Mendéliennes

PHILIP N¹, Mucchielli ML¹, Sigaudy S¹, Vittu G², Saunier P³, Voelckel MA¹

1 Département de Génétique médicale Hôpital d'enfants de la Timone - Marseille

2 Centre de Génétique, Hôpital Saint-Antoine, Lille

3 Service de Pédiatrie, centre hospitalier de Fontainebleau

RECHERCHE DE PERTE D'HÉTÉROZYGOTIE DANS LES TUMEURS DE PATIENTS ATTEINTS DE SYNDROME DE COSTELLO

Le syndrome de Costello (CS) est caractérisé par des anomalies majeures de la croissance post-natale, un retard psychomoteur variable, un syndrome dysmorphique, des anomalies ectodermiques une atteinte cardiaque fréquente. Le caractère sporadique et l'existence d'un âge paternel avancé sont en faveur de mutations dominantes *de novo*. Les enfants présentant un CS ont un risque élevé de développer des tumeurs malignes. Le spectre de ces tumeurs est étroit, et 50% des cas décrits concernaient des rhabdomyosarcomes de type embryonnaire (E-RMS). La mise en évidence d'une susceptibilité tumorale dans le CS suggère l'implication d'un gène suppresseur de tumeurs. Nous avons pu recueillir deux échantillons de tumeurs (E-RMS) provenant de deux enfants présentant un CS typique. Nous avons adopté une stratégie de recherche de perte d'hétérozygotie. Compte tenu de la très faible quantité d'ADN disponible, nous avons centré notre étude sur les régions 11p15.5 et 16q23 qui sont les régions chromosomiques les plus fréquemment délétées dans les tumeurs de type E-RMS. Nous avons exclu une perte d'hétérozygotie au locus 16q23. Nous avons mis en évidence dans les deux cas une perte d'hétérozygotie de la région 11p15.5, sans pouvoir déterminer s'il s'agissait d'une délétion

interstitielle ou d'une disomie. Dans un cas, nous avons prouvé la non-contribution maternelle. Une délétion constitutionnelle de cette région chromosomique a été exclue chez 10 autres patients porteurs d'un CS. Cette approche permet de retenir la région 11p15.5 comme une région candidate pour le CS. Les gènes suppresseurs de tumeur de la région, et en particulier le gène STIM1 (ou GOK) restent des candidats potentiels.

236. Bases Moléculaires des maladies Mendéliennes

DESSAY Sabine¹, Ronce N^{1,2}, Odent O³, Lucas J⁴, Moraine C^{1,2}, Briault S^{1,2}

1 Service de Génétique CHU Bretonneau 2 Bld Tonnellé - Tours Cedex 01 FRANCE

2 INSERM U316, Tours, France

3 Service de Génétique, Rennes, France

4 Laboratoire de Cytogénétique, Rennes, FRANCE

UN PHÉNOTYPE DE SYNDROME FG EST-IL ASSOCIÉ À LA SUREXPRESSION DES GÈNES FLN-A ET EMD EN XQ28 ?

Le syndrome FG (OMIM 305450) est une génopathie rare liée au chromosome X. Dans sa forme complète, il se caractérise par l'association d'une hypotonie congénitale, d'un retard mental, d'anomalies gastro-intestinales (constipation, sténose du pylore, imperforation ou antéposition anale), d'une dysmorphie faciale particulière incluant un front haut et large, des épis frontaux et un télécanthus.

Une analyse de liaison effectuée, dans notre laboratoire, sur 10 familles multiplex non apparentées nous a permis de localiser, en Xq12-q21.31, un premier locus FG [FGS1], et de montrer l'existence d'une hétérogénéité génétique. Cette hétérogénéité génétique fut confirmée par la localisation, en Xp22.3, d'un autre locus FG [FGS3], ainsi que par l'étude d'une inversion paracentrique du chromosome X [inv(X)(q11q28)] observée chez deux garçons (un oncle et son neveu) atteints de ce syndrome. Une analyse par hybridation *in situ* a permis de localiser les points de cassure entre les marqueurs DXS1194 et AR (Androgen Receptor) en Xq11, et entre les gènes GCP (Green Color Pigment) et G6PD (Glucose-6-phosphate dehydrogenase) en Xq28, excluant ainsi l'implication des loci FGS1 et FGS3, et définissant un nouveau locus [FGS2].

Des analyses complémentaires nous ont permis de montrer qu'une microduplication était associée à l'inversion, en Xq28. Cette duplication inclut une partie du gène TKR (Transketolase related gene), et la totalité des gènes EMD (Emery-Dreifuss muscular dystrophy) et FLN-A (Filamine-A). L'expression en double dose des gènes FLN-A et EMD, chez nos patients FG porteurs de l'inversion, nous amène à discuter de leur implication dans la physiopathologie de ce syndrome.

237. Bases Moléculaires des maladies Mendéliennes

BOYER Amandine, Bernard Rafaëlle, Nègre Philippe, Kalaydjieva Luba, Lévy Nicolas

Laboratoire de Génétique Moléculaire-Département de Génétique Médicale, Hôpital d'enfants de la Timone - Marseille cedex 05 France

SCREENING FOR MUTATIONS IN N-MYC DOWNSTREAM REGULATED GENE (NDRG-1) IN UNRELATED PATIENTS WITH CHARCOT-MARIE-TOOTH DISEASE SUGGESTS A LOW FREQUENCY OF MUTATION IN INHERITED NEUROPATHY

Charcot-Marie-Tooth type 4D (HMSN-LOM), an autosomal recessive demyelinating neuropathy associated to a profound sensory deafness, has been associated with a homozygous founder mutation in the gene encoding N-myc downstream regulated gene (NDRG-1) on chromosome 8q24.3. To date this mutation has been identified only in patients from Gipsy communities, essentially in Bulgaria. To investigate whether mutations in NDRG-1 may also cause different forms of CMT, we screened 50 unrelated patients with a severe phenotype of CMT associated or not to a deafness. All the patients had been previously screened for the 17p11.2 duplication and for

mutations in the genes PMP22, P0, CX32 and EGR-2. One patient was found to be homozygous for the R148X founder mutation, and further investigations revealed that he was issued from a Bulgarian Gypsy ethnic group. Among the other patients, we identified four intronic variants; some of them being identified in a variable number of individuals and, more likely, being polymorphisms. An homozygous variation was identified in a single patient, severely affected, and issued from a consanguineous union. According to the nucleotide change, the possibility of a pathogenic variation affecting the splicing is raised. In this patient, as well as in other patients in whom intronic variations have been identified, lymphocytes based expression studies are in process and will be presented. Our results suggest that mutations in NDRG-1 are preferentially associated with the HMSN-LOM phenotype and are unfrequent in other CMT phenotypes.

238. Bases Moléculaires des maladies Mendéliennes

DEVYS Didier¹, GINGLINGER Emmanuelle², BIANCALANA Valérie¹, PETER M.O², VIGNERON J., JEANDIDIER E. ², MANDEL Jean-Louis¹

1 IGBMC 1, rue Laurent Fries. BP163 - Illkirch Cedex France
2 Laboratoire de Génétique, Hôpital du Moenschberg, 20 rue Laennec, Mulhouse

UNE MICRODÉLÉTION DU CENTRE DE L'EMPREINTE HÉRITÉE DE LA GRAND-MÈRE PATERNELLE D'UN PATIENT PRADER-WILLI N'EMPÊCHE PAS L'ÉTABLISSEMENT D'UNE EMPREINTE DE TYPE PATERNELLE.

Le syndrome de Prader-Willi (PWS) est une maladie neurogénétique caractérisée par une hypotonie néonatale, un retard de croissance, un hypogonadisme, un retard mental modéré et une hyperphagie conduisant à l'obésité en l'absence d'une prise en charge adaptée. Plusieurs gènes dans une région de 2Mb environ en 15q11-q13 sont soumis à empreinte génomique parentale et exprimés uniquement à partir du chromosome 15 d'origine paternelle ou maternelle. Différents mécanismes moléculaires (délétion de 4 Mb, unidysomie uniparentale, mutations d'empreinte), entraînant un même déficit des gènes d'expression paternelle, peuvent être à l'origine du PWS. Parmi les mutations d'empreinte, des microdélétions chevauchantes ont permis de définir un centre contrôlant l'empreinte génomique (IC) de la région. Cet IC est composé du PWS-IC et du AS-IC nécessaires à l'établissement d'une empreinte paternelle ou maternelle respectivement.

Nous avons caractérisé une microdélétion de la région PWS englobant l'IC chez un nouveau-né présentant une symptomatologie PWS. Le tableau clinique s'est confirmé et semble complet compte tenu de l'âge de l'enfant. Bien que la délétion ait été transmise par la grand-mère paternelle, on observe, chez la patiente, une empreinte de type paternelle sur le chromosome 15 d'origine paternelle (profil normal de méthylation en PW71, et expression normal des gènes paternels). Cette observation est en opposition avec toutes les autres mutations d'empreinte où l'on observe en cas de délétion du PWS-IC une impossibilité d'établir une empreinte paternelle. Ces résultats suggèrent que les gènes proximaux à la délétion (NDN, MKRN3 et MAGEL2) ne sont pas essentiels aux manifestations précoces du phénotype PWS. De plus l'empreinte génomique dans cette région pourrait dépendre de mécanismes complexes qui ne seraient pas strictement séquence dépendants.

239. Bases Moléculaires des maladies Mendéliennes

EYMARD-PIERRE Eleonore¹, LESCA Gaetan², di Matteo Capua³, Ponsone Alberto⁴, Attia-Sobol Jocelyne², Plauchu Henri², Cusmai Raffaella³, Bertini Enrico ³, Boespflug-Tanguy Odile^{1,5}

1 INSERM U384-Faculté de Médecine – 28, place Henri Dunant Clermont-Ferrand France
2 Service de Génétique, Université de Lyon
3 Bambino Gesù Children's Hospital, Roma
4 La Sapienza, Roma
5 Fédération de génétique médicale, CHU, Clermont-Ferrand)

PARALYSIE SPASTIQUE ASCENDANTE PROGRESSIVE DE DEBUT INFANTILE LIEE AU GENE ALS2 EN 2q33-q35.

Nous rapportons l'histoire de 15 patients d'origine ethnique variée (6 formes sporadiques, 9 sujets provenant de 4 familles atteintes), présentant une paralysie spastique ascendante progressive de transmission autosomique récessive. Des analyses de liaison dans 6 formes familiales ont permis d'exclure les loci impliqués dans les paraplégies spastiques héréditaires dominantes (14q, 2p21, 15q, 8q23, 19q13, 12q13) ou récessives (16q24, 8p, 15q13). Pour les 10 familles sélectionnées, l'analyse multipoint avec des marqueurs de la région 2q33-34 a permis de montrer une liaison au locus ALS2 avec un lod score de 6,66. L'analyse des haplotypes à partir des 3 familles consanguines et de 2 familles issues d'une zone géographique restreinte a limité l'intervalle entre les marqueurs D2S2309 et D2S2214 contenant le gène ALS2 récemment identifié. La recherche de mutations dans ce gène est en cours. Trois mutations non sens ont été identifiées dans ce gène pour 3 familles, dont la grande famille multiconsanguine tunisienne de sclérose latérale amyotrophique (SLA) et deux familles consanguines du Moyen Orient présentant un tableau de sclérose latérale primitive proche de nos patients. Ce travail illustre les relations étroites qui existent entre les formes juvéniles chroniques de SLA et les dégénérescences isolées, primitives du faisceau pyramidal (sclérose latérale primitive). Les mutations au locus ALS2 paraissent responsables d'un phénotype impliquant avant tout une dégénérescence du faisceau pyramidal. L'implication de ce gène dans des paraplégies spastiques motrices pures reste à évaluer.

240. Bases Moléculaires des maladies Mendéliennes

EYMARD-PIERRE Eleonore¹, Rodriguez Diana^{2,3}, Pitiot Gilles^{1,4}, Fogli Anne^{1,4}, Bertini Enrico⁵, Pineda Merce⁶, Surtees Robert⁷, Schiffman Raphael⁸, Boespflug-Tanguy Odile^{1,4}

1 INSERM U384-Faculté de Médecine - 28, place Henri Dunant- Clermont-Ferrand France
2 Hôpital Trousseau
3 URA CNRS 1488, Paris,
4 Fédération de génétique médicale, CHU, Clermont-Ferrand
5 Dept of Neurosciences Bambino Gesù Children's Hospital, Roma, Italie
6 Neuropediatrics, Hospital San Joan de Deu, Barcelona, Espagne
7 Institute of Child Health, University College, London, UK
8 National Institute of Health, Bethesda, USA

HETEROGENEITE GÉNÉTIQUE DU SYNDROME CACH (CHILDHOOD ATAXIA WITH CENTRAL HYPOMYELINATION SYNDROME)

Le syndrome CACH, est une leucodystrophie de cause indéterminée représentant environ 30% des leucodystrophies de cause indéterminée, elle survient le plus souvent dans l'enfance, son évolution est émaillée par des épisodes d'aggravation brutale, l'atteinte motrice étant prédominante. Elle se caractérise du point de vue IRM par la présence de zones cavitaires au sein d'une substance blanche massivement pathologique, qui a amené à la désigner également sous le terme leucoencephalopathy with vanishing white matter (VWM). L'existence de cas familiaux suggère une transmission autosomique récessive. A la fin de l'année 1999, leegwater, *et al*, ont publié des études de liaisons suggérant une liaison homogène au locus 3q27. Nous avons étudié pour ce locus, 12 familles multiplex de CACH. Les

analyses multipoint réalisées sous l'hypothèse d'une homogénéité, ont donné un lod score négatif pour l'ensemble des familles. Sous l'hypothèse d'une hétérogénéité, un maximum HLOD score de 1.97 était obtenu entre les marqueurs D3S1618 et D3S3609 pour une proportion de 65% de familles liées. L'analyse des haplotypes excluait l'ensemble du locus VWM pour 4 familles alors que les résultats de l'analyse HMOG montraient que la probabilité de liaison au locus VWM étaient inférieure à 0,85 pour 6 familles, supérieure à 0,85 pour 1 famille et égal à zéro pour 4 familles. Aucune différence significative n'a été trouvée dans le phénotype des patients excluant avec certitude le locus VWM par rapport à ceux ne l'excluant pas.

Nos résultats, à partir de patients d'origine géographique très variée, démontrent une hétérogénéité génétique du syndrome CACH.

241. Bases Moléculaires des maladies Mendéliennes

BIETH Eric¹; Saugier-Verber P², Arne-Bes M-C³, Corcia P⁴, Camu W^{5,6}, Calvas P¹

1 Service de génétique médicale Hôpital Purpan place du Dr Baylac - Toulouse France

2 Laboratoire de génétique moléculaire, faculté de médecine et de pharmacie, Rouen cedex

3 Service de neurologie, hôpital Rangueil, Toulouse cedex

4 Service de neurologie, CHU Bretonneau, Tours cedex

5 Service de neurologie B, hôpital Gui de Chauliac, Montpellier

6 UNCD (U336), hôpital Gui de Chauliac, Montpellier cedex

AMYOTROPHIE SPINALE INFANTILE ET SCLÉROSE LATÉRALE AMYOTROPHIQUE FAMILIALE AU SEIN D'UNE MÊME FAMILLE : À PROPOS D'UNE HISTOIRE INSTRUMENTIVE...

Nous rapportons le cas d'une famille dans laquelle plusieurs membres d'une même fratrie avaient développé une sclérose latérale amyotrophique (ALS) et dont un cousin était atteint d'une amyotrophie spinale de type III (SMAIII). La fille d'un sujet asymptomatique appartenant à cette fratrie était venue solliciter un conseil génétique en raison d'un projet parental. Le conseil génétique avait, à cette époque, reposé uniquement sur le calcul du risque de récurrence : 1/8 pour l'ALS et 1/2500 pour la SMA. Un an plus tard, cette patiente mettait au monde un enfant atteint de maladie de Werdnig-Hoffmann (SMAI) authentifiée par la présence d'une délétion homozygote du gène SMN1. Un lien entre les deux maladies familiales du motoneurone, ALS et SMA, fût alors suspecté : un gène des ALS pouvait-il se comporter comme un gène modificateur vis-à-vis des SMA ? Une étude moléculaire associant une détection de délétion à l'état hétérozygote du gène SMN1 et une analyse de liaison génétique (microsatellites) fût alors entreprise. Les résultats ont démontré que l'allèle maternel portant la délétion à l'état hétérozygote du gène SMN1 avait été hérité, non pas de la grand-mère apparentée aux sujets atteints d'ALS, mais du grand-père démontrant, dans cette famille, l'absence de lien entre l'ALS et la SMA. Cette histoire illustre la façon dont naissent des hypothèses séduisantes de gènes modificateurs en occultant la fréquence élevée de la délétion du gène SMN1 dans la population générale. Elle souligne également l'intérêt dans les maladies du motoneurone de quantifier les copies des gènes SMN1 et SMN2.

242. Bases Moléculaires des maladies Mendéliennes

PLAUCHU Henri¹, GIRAUD Sophie², EDERY Patrick³, BOZON Muriel³, LESCA Gaëtan^{1,2}, CALENDER Alain²

1 Service de Génétique Clinique HOTEL DIEU - LYON France

2 Laboratoire de Génétique Moléculaire - Hôpital Edouard Herriot - Lyon

3 Centre de Génétique Moléculaire et Cellulaire-UMR 5534 - VILLEURBANNE

IMPORTANCE DU GÉNOTYPAGE POUR L'ÉTUDE DU PHÉNOTYPE HÉTÉROGÈNE DE LA MALADIE DE RENDU-OSLER, DANS LE CADRE D'UNE PRISE EN CHARGE DE LA MALADIE PAR UN RÉSEAU

La maladie de Rendu-Osler est une génopathie vasculaire dominante autosomique fistulisante et hémorragique. Elle associe épistaxis, télangiectasies et manifestations familiales à des atteintes viscérales gastro-intestinale, hépatique, pulmonaire ou neurologique beaucoup plus variable, mais qui peuvent en faire la gravité. Les deux gènes identifiés responsables codent l'endogline (9q) et l'activine-like-kinase 1 (12q), protéines contribuant toutes deux au système récepteur du TGF-Beta.

Nous avons initié une étude haplotypique de 8 familles et une recherche mutationnelle systématique chez une quarantaine de patients en associant la méthode des hétéroduplex et le séquençage. Effectivement, l'hétérogénéité génique a retardé l'étude génotypique dont nous analyseront les impacts : recherche d'autres gènes, profil de relations phénotypes-gènes, étude des variabilités inter-allélique et inter-génique et mise en évidence de facteurs géniques modificateurs.

Nous analysons le résultat des haplotypages, les polymorphismes et les mutations identifiées dans ces deux gènes ainsi que la mise en place d'un réseau de recherche sur cette maladie avec un recueil structuré des données par l'analyse des relations phénotypes-génotypes. Confrontée aux formes cliniques atypiques et utilisée dans les situations présymptomatiques à risque, l'étude génotypique contribue à préciser la conduite à tenir dans la prise en charge des familles. L'identification des mutations et la coordination des prélèvements avec les équipes de recherche du réseau permettent ainsi les recherches étiopathogéniques.

243. Bases Moléculaires des maladies Mendéliennes

THAUVIN-ROBINET Christel¹, Lewin Patricia², De Monléon Jean-Vital³, Couailler Gérard⁴, Huet Frédéric³, Campos-Xavier Bélianda⁵, Bonaventure Jacky⁵, Le Merrer Martine⁵, Faivre Laurence¹

1 Centre de Génétique hôpital d'Enfants 10 bd maréchal Delattre de Tassigny - Dijon France

2 Laboratoire Pasteur Cerba, Cergy Pontoise, France

3 Service de Pédiatrie 1, Hôpital d'Enfants, Dijon, France

4 Service de Radiologie Pédiatrique. Hôpital d'Enfants, Dijon, France

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

HYPOCHONDROPLASIE ET TAILLE DANS LES LIMITES DE LA NORMALE. UNE AUTRE FAMILLE AVEC LA MUTATION ASN540SER DANS LE GÈNE FGFR3.

L'hypochondroplasie est une chondrodysplasie caractérisée par une petite taille d'importance variable, une micromélie, une lordose lombaire, des extrémités courtes et une macrocéphalie. Les signes radiologiques comprennent essentiellement une diminution de la distance interpédiculaire de la première à la cinquième vertèbre lombaire, un raccourcissement antéropostérieur des pédicules lombaires, des ailes iliaques petites avec un aplatissement des cotyles, un col fémoral et des os longs courts. Dans la majorité des cas, l'hypochondroplasie est due à une mutation dans le gène FGFR3. Neuf mutations différentes ont été décrites à ce jour avec deux mutations prédominantes.

Nous rapportons un cas familial d'hypochondroplasie avec une taille dans les limites de la normale (-1SD), des membres courts,

une macrocéphalie et des signes radiologiques mineurs, secondaire à une mutation Asn540Ser à l'état hétérozygote dans le gène FGFR3. De nombreuses corrélations phénotype-génotype sont rapportées dans la littérature. Une seule autre famille présentant cette mutation a été décrite. Les signes cliniques des patients étaient également modérés. L'étude des corrélations génotype-phénotype présentes dans la littérature permettent de dégager une relation entre certaines mutations et l'importance du phénotype clinique. La description de ce second cas d'hypochondroplasie avec la mutation N540S confirme l'effet pathogène de cette mutation ainsi que son phénotype modéré. Il paraît donc justifié de réaliser une recherche de mutation dans le gène FGFR3 chez les patients présentant des signes mineurs d'hypochondroplasie même si la taille est dans les limites de la normale.

244. Bases Moléculaires des maladies Mendéliennes

AUDREZET Marie Pierre, QUERE Isabelle, CREFF Joëlle, LE MARECHAL Cédric, FEREC Claude
Laboratoire Génétique Moléculaire - CHU BREST BREST FRANCE

HAPLOTYPES COMPLEXES DU GENE CFTR POUR LES MUTATIONS I148T ET 3601-17 T>C

La mucoviscidose est la plus fréquente des maladies génétiques graves de l'enfant avec une incidence de 1 naissance sur 3000 environ. Depuis l'identification, en 1989 du gène CFTR responsable de la maladie, plus de 1000 mutations et 300 polymorphismes ont été rapportés au Consortium International d'étude du gène CFTR. Cette très grande hétérogénéité allélique est aussi à l'origine d'une très grande hétérogénéité phénotypique et la relation entre le génotype et le phénotype reste parfois difficile à établir.

Nous rapportons ici deux observations qui illustrent la complexité du diagnostic génotypique de cette maladie.

Le premier cas concerne deux patients chez qui nous avons mis en évidence les mutations DF508 et 3601-17T>C. Le premier présentant une mucoviscidose sévère associant atteintes pulmonaires et digestive et tests de la sueur positifs, le second restant, à 2 ans, asymptomatique et présentant des tests de la sueur négatifs. Ceci nous a conduits à reprendre l'étude du gène sur ces chromosomes et nous avons abouti à l'identification d'une délétion d'un nucléotide située au niveau de l'exon 9, nommée 1367 del C, retrouvée uniquement chez le premier individu.

Dans la seconde observation, il s'agit de la mutation I148T de l'exon 4 du gène, fréquemment retrouvée dans les populations originaires d'Italie du Sud et qui conduit habituellement à un phénotype sévère de mucoviscidose. Nous avons identifié cette anomalie associée à la mutation DF508 chez deux jumeaux dizygotes. A 10 ans, ces enfants ne présentaient toujours aucun signe clinique de la maladie et des tests de la sueur négatifs. La même démarche nous a permis l'identification d'une délétion de 6 nucléotides au niveau de l'exon 17a, nommée 3199 del6NT, retrouvée uniquement chez les patients présentant un phénotype sévère.

La notion d'haplotypes complexes dans la mucoviscidose a peut-être été sous estimée et aujourd'hui, ces deux observations illustrent la nécessité de poursuivre l'exploration exhaustive du gène lorsqu'une telle discordance phénotypique est observée.

245. Bases Moléculaires des maladies Mendéliennes

LE GAC Gérard¹, MURA Catherine², FEREC Claude^{1,3}
1 EFS-Bretagne, 46 rue Félix Le Dantec - Brest France
2 Université de Bretagne Occidentale
3 INSERM EMI 01-15

ANALYSE DE LA SEQUENCE CODANTE DU GENE HFE PAR D-HPLC (Denaturing High Performance Liquid Chromatography)

Introduction : L'hémochromatose héréditaire (HH) est classiquement associée aux mutations C282Y et H63D du gène HFE. Cependant, en fonction des populations considérées, entre 4 et 35% des malades HH ne portent pas ces mutations ou sont

simplement hétérozygotes pour l'une d'entre-elle. Dans ce groupe de malades, dix nouvelles mutations, rares ou privées, ont maintenant été rapportées. Ce résultat témoigne de l'hétérogénéité allélique du gène HFE et souligne l'intérêt de disposer, en deuxième intention, d'un outil permettant l'analyse de la totalité de sa séquence codante. Dans ce cadre, nous avons évalué la sensibilité de la D-HPLC. **Matériels et méthodes** : Les conditions d'analyses ont été définies à partir de la prédiction informatique des profils de fusion de chacun des six exons codants du gène HFE (logiciel WavemakerTM, Transgenomic) et de l'étude de 20 mutations et polymorphismes répartis sur l'ensemble des domaines de fusion. **Résultats** : L'efficacité de la D-HPLC est démontrée, d'une part, par la détection répétée des 20 contrôles positifs utilisés et, d'autre part, par l'identification de cinq nouvelles substitutions sur les chromosomes de 55 malades HH d'origine bretonne : 903 G->A (P303P), 1002 T->C (G334G), 884 T->C (V295A), 18 G->C (R6S) et 848 A->C (Q283P). La mutation Q283P, qui est située dans le domaine de fixation à la b2-microglobuline, a notamment été identifiée chez un homme qui à l'âge de 30 ans présentait déjà une surcharge martiale importante (fer sérique = 39,6 µM ; saturation de la transferrine = 90%). **Conclusion** : La D-HPLC est une méthode d'analyse très sensible qui peut-être utilisée pour étudier la séquence codante du gène HFE chez les malades HH qui présentent, au moins, un chromosome exempt des mutations C282Y et H63D.

246. Bases Moléculaires des maladies Mendéliennes

VILLEGGER Ludovic, ABIFADEL Marianne, ROCHAUD Séverine, ROBIN Aurélie, RABES Jean Pierre, JUNIEN Claudine, BEROU D Christophe, BOILEAU Catherine, VARRET Mathilde
INSERM UR383 Hôpital Necker-Enfants Malades 149 rue de Sévres - Paris France

THE HUMAN LDL RECEPTOR GENE DATABASE (UMD-LDLR): MOLECULAR ANALYSIS OF 649 MUTATIONS

To date, 711 mutations have been identified in the LDLR gene, encoding the low-density lipoprotein receptor, in subjects with Familial Hypercholesterolemia. Although genotype/structure-function correlations have been substantially investigated, genotype/phenotype correlations have not been explored. Thus, we have compiled a database containing standardized data for each LDLR mutation, and developed the software that provides sorting tools and allows optimized multicriteria research [<http://www.umd.necker.fr>]. The analysis of the 649 point mutations in the UMD-LDLR database gives the following information: [1] 58% of the mutations are missense, and 17% occur in CpG dinucleotides known to be mutational hot spots; [2] although widely distributed throughout the gene, there is an excess of mutations in exons 4 and 6 (ligand-binding repeats), 7 (EGF-like repeat), and 9 (EGF-precursor-like); [3] there is a deficit of mutations in exons 10 and 13 (EGF-precursor-like), 15 (O-linked-sugar), 16 (transmembrane), 17 and 18 (cytoplasmic); [4] 47% of the small deletions occur between repeated sequences and can be explained by the slipped-mispairing model described by Krawczak and Cooper; [5] 68% of the mutations in the ligand-binding domain affect conserved amino-acids involved in LDL binding; [6] the functional data available for 183 (29%) mutations indicate 38% of class 2B (transport defective) and 33% of class 1 mutations (null alleles); [7] finally, the investigation of genotype/phenotype correlations is difficult since the clinical data are usually incomplete in mutation reports. Direct access to the database through the web site should facilitate the input of high quality clinical information and should overcome this shortage.

247. Bases Moléculaires des maladies Mendéliennes

ANDRIEUX Joris¹, Audrézet MP^{1,2}, Frachon I³, Leroyer C³, Rogé C⁴, Scottot V², Férec C^{1,2}

1 Laboratoire de Génétique Moléculaire CHU Brest - Brest France

2 INSERM EMI 0115, Brest

3 Département de Médecine Interne et Pneumologie - CHU-Brest

4 Service de Pneumologie - CH-Morlaix

ETUDE QUANTITATIVE DES TRANSCRITS DU GÈNE CFTR DANS LA DILATATION DES BRONCHES PAR PCR EN TEMPS RÉEL (TAQ-MAN).

Les mutations du gène CFTR (Cystic Fibrosis Transmembrane conductance Regulator) ont été décrites associées à d'autres pathologies que la mucoviscidose telles que la stérilité masculine par absence congénitale des canaux déférents, la pancréatite chronique, ou encore la dilatation des bronches idiopathique (DBI).

Parmi les anomalies de CFTR retrouvées dans la DBI, l'allèle 5T semble jouer un rôle important. Il s'agit d'un variant poly-thymidine du site accepteur d'épissage de l'intron 8 du gène, IVS-8, qui affecte l'efficacité de l'épissage de l'exon 9 et en conséquence la fonctionnalité de la protéine CFTR.

Nous avons développé une approche de quantification des transcrits délétés de l'exon 9 basée sur la technologie TaqMan. Les ARNm ont été extraits à partir de biopsies bronchiques, et de prélèvements nasaux de 19 patients atteints de DBI et de 13 témoins. La recherche des mutations les plus fréquentes du gène CFTR ainsi que le génotypage du variant IVS-8 ont été réalisées à partir de prélèvements sanguins.

Dans cette étude, l'impact de l'allèle 5T est corrélé de façon stricte et reproductible à une quantité importante de transcrits anormaux délétés de l'exon 9. Les sujets porteurs des génotypes 5T/7T, 7T/7T et 9T/7T présentaient des taux moyens de transcrits délétés de l'exon 9 de 38.4%, 3.5%, et 0.6% respectivement. Les taux obtenus étant identiques quel que soit le tissu étudié, ceci suggère que les cellules nasales pourraient être un bon modèle pour la quantification des transcrits anormaux.

Ce test fonctionnel pourrait être utilisé pour aider à la compréhension des relations génotype-phénotype chez les patients atteints de mucoviscidose ou d'autres pathologies dans lesquelles le CFTR est impliqué.

248. Bases Moléculaires des maladies Mendéliennes

FROISSART Roseline¹, GUFFON N², BONNET V¹, MAIRE I¹

1 Laboratoire de Biochimie Pédiatrique Hôpital Debrousse 29 rue Soeur Bouvier - Lyon Cedex 05 France

2 Service de Pédiatrie Génétique - Hôpital Debrousse - Lyon

MALADIE DE FABRY: IDENTIFICATION DE NOUVELLES MUTATIONS ET ÉTUDES D'EXPRESSION

La maladie de Fabry, de transmission récessive liée à l'X, est une maladie de surcharge lysosomale affectant le catabolisme des glycosphingolipides (globotriaosylcéramide en particulier). Elle est due au déficit en alpha-galactosidase A (GALA). Le tableau clinique débute par des acroparesthésies et des angiokératomes, et est dominé par une atteinte de l'endothélium vasculaire, responsable de signes cardiaques, rénaux et neurologiques.

Chez 34 patients, nous avons identifié 33 mutations différentes dont 16 nouvelles, confirmant l'importante hétérogénéité moléculaire. Dans un cas, la mutation D313Y déjà décrite chez un malade présentant la forme classique, a été retrouvée associée à une autre mutation non décrite, G411D. Par ailleurs, la mutation D313Y a été retrouvée chez une femme présentant une activité GALA diminuée (identifiée alors que nous établissions des valeurs usuelles), mais également chez son neveu présentant une activité GALA normale. Les conséquences fonctionnelles de ces deux mutations, seules ou associées, ont été étudiées après expression transitoire dans des cellules COS, par mesure de l'activité GALA et étude de maturation de l'enzyme mutante. Nos résultats montrent que D313Y est un polymorphisme

responsable d'une discrète baisse d'activité GALA et d'une maturation légèrement retardée, et que G411D est une mutation délétère (activité GALA effondrée, faible pourcentage de précurseur mûri et instabilité de la forme mûrie). L'association des deux mutations aggrave les altérations fonctionnelles de la mutation G411D seule.

Cette étude rappelle l'intérêt de séquencer en totalité la séquence codante lorsqu'une nouvelle mutation faux sens est identifiée, et la nécessité de vérifier son caractère délétère par des études d'expression.

249. Bases Moléculaires des maladies Mendéliennes

STEVANIN Giovanni¹, Camuzat A¹, Julien C¹, Holmes SE², Hahn V³, Dodé C⁴, Ross CA², Margolis RL², Durr A^{1,3}, Brice A^{1,3}
1 INSERM U289 Hôpital de la Salpêtrière 47 Blv de l'Hôpital - PARIS FRANCE

2 John Hopkins University School of Medicine, Baltimore, MD, USA

3 Fédération de Neurologie et Département de Génétique, Cytogénétique et Embryologie, Hôpital de la Salpêtrière, Paris, France

4 Hôpital Cochin, Paris, France

HETEROGENEITE GÉNÉTIQUE DE LA MALADIE DE HUNTINGTON : CRIBLAGE DE L'EXPANSION CAG/CTG AU LOCUS HUNTINGTON'S DISEASE LIKE-2

La maladie de Huntington (MH) est une affection neurodégénérative qui a été longtemps supposée homogène d'un point de vue génétique. Elle est la conséquence d'une perte neuronale siégeant plus particulièrement dans le striatum. Les patients présentent des mouvements anormaux (chorée), associés à des troubles cognitifs et psychiatriques d'évolution lentement progressive. L'expansion d'une répétition CAG dans le gène codant pour la huntingtine (gène IT15) est responsable de la majorité des cas mais environ 1 à 10% des familles avec un phénotype typique ne présente pas cette mutation. Récemment, une expansion de trinuécléotide CAG/CTG dans un autre gène a été incriminée et cette nouvelle forme a été appelée Huntington's disease-like 2 (HDL2).

Parmi 600 patients avec MH, 39 cas index présentant une MH typique ne portaient pas l'expansion dans le gène IT15. Nous avons recherché la présence de l'expansion au locus HDL2 chez ces patients ainsi que 95 témoins afin de valider cette mutation et d'établir sa fréquence. Les allèles normaux chez les individus témoins comportent de 8 à 28 répétitions. Seule une patiente marocaine de 44 ans porte sur un de ses allèles 50 répétitions ininterrompues. Elle présente des profils clinique et à l'IRM similaires à ceux causés par la mutation dans le gène IT15, ce qui confirme l'hétérogénéité génétique de la MH. Cette nouvelle expansion de nucléotide n'explique que 2 % des patients MH n'ayant pas d'expansion dans le gène IT15. Il existe donc une hétérogénéité génétique supplémentaire de la MH.

250. Bases Moléculaires des maladies Mendéliennes

PEOC'H Katell¹, LENNE Martine¹, LASSELAIN Josée², BEAUDRY Patrice¹, LAUNAY Jean-Marie¹, LAPLANCHE Jean-Louis¹

1 Service de biochimie et biologie moléculaire, Hôpital Lariboisière Paris F

2 Laboratoire de biologie cellulaire, UFR Sciences Pharmaceutiques et Biologiques (Paris V)

MALADIE DE CREUTZFELDT-JAKOB GÉNÉTIQUE : MULTIPLES ORIGINES DE LA MUTATION E200K EN FRANCE

La maladie de Creutzfeldt-Jakob (MCJ, MIM#123400) appartient au groupe des maladies à prions et peut être d'origine infectieuse, sporadique ou génétique. Les formes génétiques représentent 15% des cas. Plus d'une vingtaine de mutations (mutations faux-sens, non-sens et insertions) ont été caractérisées dans la séquence codante du gène de la protéine prion (PRNP, MIM#176640). Dans le cadre de l'épidémi-

surveillance des maladies à prions humaines en France, la mutation E200K a été identifiée chez 41 patients atteints de MCIJ (58 % des mutations caractérisées) dont 15 d'origine juive tunisienne ou lybienne et deux originaires d'Europe de l'est (Slovaquie, Hongrie), en accord avec la prévalence élevée de la mutation E200K dans ces populations.

La mutation E200K a également été identifiée chez 18 patients d'ascendance française métropolitaine, quatre patients d'origine algérienne, et deux d'origine espagnole. Afin d'étudier l'origine de la mutation E200K chez ces patients, des marqueurs microsatellites flanquants PRNP (D20S889, D20S116, D20S482, D20S895 et D20S849), un marqueur polymorphe intragenique (codon 129, M/V) et des marqueurs polymorphes recherchés par SSCP dans le gène PRND ou gène de la protéine Doppel, situé 27 Kb en 3' de PRNP, ont été exploités et confrontés aux haplotypes déjà publiés. Quatre haplotypes français différents de ceux rapportés chez les Slovaques, les Tunisiens et les Lybiens ont pu être identifiés alors que les haplotypes Espagnols, Algériens et Tunisiens sont apparus identiques. Enfin, l'identification d'un polymorphisme rare de PRND (P56L), présent uniquement sur les chromosomes 200K de 13 patients d'origine française, a permis d'identifier en partie une vaste famille dont les plus proches ancêtres communs vivaient au début du 18^e siècle dans le Centre-Est de la France.

251. Bases Moléculaires des maladies Mendéliennes

M'RAD Ridha¹, Goucha Rim², Maazoul Faouzi¹, ben Moussa Fatma², Harbi Abdelaziz³, Ben Jemaa Lamia¹, ben Maiz Hédi² (service de néphrologie EPS Charles Nicolle tunis), Habiba Chaabouni¹

1 Service des Maladies Congénitales et Héritaires 1006 Tunis Tunisie

2 Service de néphrologie EPS Charles Nicolle Tunis

3 Service de pédiatrie Hôpital Sahloul Sousse

ETUDE GÉNÉTIQUE DE 30 CAS TUNISIENS DE NEPHRONOPHTISE JUVENILE

La Néphronophtise Juvénile (NPH1), est une néphropathie héréditaire autosomique récessive, hétérogène sur le plan génétique, caractérisée par la formation de kystes au niveau de la médullaire du rein. Elle constitue 6 à 10 % des causes de l'insuffisance rénale terminale de l'enfant et de l'adulte jeune.

Le gène NPHP1 muté au cours de la NPH1 est localisé en 2q12-13. Il est le siège d'une large délétion > 290Kb dans environ 80% des cas.

But du travail :

Estimer la fréquence de NPH1 dans la population Tunisienne

Etablir le profil délétionnel du gène NPHP1

Patients : 50 patients ayant une néphropathie tubulo interstitielle en insuffisance rénale chronique ou terminale et dont 3 patients sont très fortement suspect de NPH1

Méthodes : PCR des marqueurs intra géniques de NPH1 : 804/6 ; 765F2L, Exon2, Exon14, Exon18, marqueur 804H10 qui existe en dehors de la région de délétion

L'absence de délétion est définie par la présence d'une bande à la taille attendue La présence d'une délétion est retenue devant l'absence d'amplification dans 3 PCR .Analyse sur gel d'agarose à 2%

Résultats: 11 / 30 NPH : large délétion de NPHP1; 39 restant aucun cas de délétion

âge moyen d'IRT parmi les 11 cas NPHP1 délétés: 19 à 3ans

les 11 patients ont le même profil délétionnel

Conclusion:

NPH1 : Fréquente en Tunisie.

NPHP1 délétions : 37%, sous estimée

Diagnostic moléculaire : simple, fiable, permet d'éviter la biopsie rénale

Conseil génétique et diagnostic anténatal fiable dans les formes avec délétion de NPHP1

252. Bases Moléculaires des maladies Mendéliennes

KALATZIS Vasiliki, Cherqui S, Jean G, Antignac C
INSERM U423 Hôpital Necker Paris France

MUTATIONS DU GÈNE CTNS DANS LA CYSTINOSE

La cystinose est une maladie autosomale récessive, due à une accumulation de cystine intra-lysosomale. La forme la plus sévère, la cystinose infantile, est caractérisée par un syndrome de Fanconi qui apparaît vers 6-8 mois et évolue vers l'insuffisance rénale terminale avant 10 ans. Le gène impliqué code une protéine de 367 aa, la cystinosine, contenant 7 sites de N-glycosylation en N-terminal, 7 domaines transmembranaires (dTM), et un signal d'adressage aux lysosomes (GYDQL) en C-terminal. Nous avons démontré que la cystinosine est une protéine de la membrane lysosomale. Son adressage requiert le motif GYDQL et un signal conformationnel situé dans la 3^{ème} boucle cytoplasmique. De plus, nous avons récemment montré que la cystinosine est le transporteur lysosomal de cystine, il s'agit d'un cotransporteur cystine/proton.

Nous avons étudié 114 cas de cystinose infantile et détecté 97% des mutations chez ces enfants. La mutation la plus fréquente est une délétion de 57 kb (76% des patients européens) due à un effet fondateur apparu lors du 1^{er} millénaire. La majorité des mutations faux-sens et des délétions/insertions conservant le cadre de lecture, sont situées dans les 3 derniers dTM. Les mutations associées aux formes moins sévères sont réparties tout le long de la cystinosine excepté dans ces dTM. Ces résultats indiquent un rôle essentiel des dTM 5-7 dans la fonction de la cystinosine. Enfin, la cystinose a une incidence élevée en Bretagne, et nous avons récemment détecté une mutation d'épissage qui ségrège exclusivement chez les patients de cette région, représentant probablement une autre mutation fondatrice.

253. Bases Moléculaires des maladies Mendéliennes

MINASSIAN Berge¹, Fitzmaurice Susan N², Rusbridge Clare³, Franklin Robin JM⁴, Young Edwin⁵, Ackerley Cameron⁶, Shelton G. Diane⁷, Scherer Stephen W⁵

1 Dept. of Genetics and Dept. of Paediatrics The Hospital for Sick Children 555 University Ave. 518 Toronto Canada

2 Wey Referrals, Woking, UK

3 Stone Lions Veterinary Centre, Wimbledon, UK

4 University of Cambridge, UK

5 Dept. of Genetics, The Hospital for Sick Children, Toronto

6 Dept. of Pathology, The Hospital for Sick Children, Toronto

7 Dept. of Pathology, University of California, San Diego, USA

A CANINE MODEL FOR THE NON-EPM2A FORM OF LAFORA'S PROGRESSIVE MYOCLONUS EPILEPSY.

Lafora's disease (LD) is a severe autosomal recessive progressive myoclonus epilepsy syndrome. Myoclonic and photoically induced seizures begin between ages 6 and 15 years in previously normal children and continue until death. Pathognomonic accumulations of an abnormal glucose polymer (polyglucosans; Lafora bodies) are found in most tissues including the perikarya of neurons. Mutations in at least two genes cause LD. One gene, EPM2A, encodes a rough endoplasmic reticulum-associated dual-specificity phosphatase. The locus for the other, much rarer, form(s) is unknown. LD has been documented in autopsies of several animals including parakeets, foxes, cats, dogs and cows. However, there is presently no natural or genetically engineered animal model for the disease.

Because of the relatively frequent reporting of LD in animals, we sought to identify a natural animal model. We studied several dog breeds with autosomal recessive epilepsies. In the miniature wirehaired dachshunds (MWHd), affected individuals exhibited myoclonic and photoconvulsive seizures starting between ages 6 and 13 years and progressively worsening with time. Muscle and liver biopsies showed polyglucosan accumulations, and brain at autopsy revealed typical Lafora bodies in neuronal perikarya.

In order to determine the mutation in these animals, we screened a canine bacterial artificial chromosome library with each of the four exons of the human EPM2A gene and identified

overlapping clones containing the corresponding dog *epm2a* exons. We sequenced these exons in affected dogs and found no mutations.

Approximately 500bp 5' to the start codon, we identified a highly polymorphic CTTn tetranucleotide repeat, and 40 bp 5' to the start codon, we identified a second, heptanucleotide, repeat. We analyzed the haplotype created by these two markers in the MWH and showed that affected dogs are heterozygous for one or the other or both markers. Because this is an inbred population, and the disease follows an autosomal recessive inheritance pattern, the above data exclude the possibility of mutations in the *epm2a* gene in these dogs.

The affected MWH belong to an extended pedigree with multiple affected members. This breed is likely a model for the non-*EPM2A* form(s) of the disease. Identification of the disease locus in these dogs will help determine the disease locus of the second LD gene(s) in humans.

254. Bases Moléculaires des maladies Mendéliennes

LOSSI Anne-Marie¹, RAHMOUN Massilva¹, DEPETRIS Danièle¹, MATTEI Marie-Geneviève¹, BODURTHA Joanne², LAMMER Ed³, VILLARD Laurent¹

¹ INSERM U491 Faculté de Médecine de La Timone 27 Bd. Jean Moulin - MARSEILLE FRANCE

² Virginia Commonwealth University, Richmond VA 23298, USA

³ Genetics Center, Oakland Children's Hospital, Oakland CA 9470, USA

FISH ANALYSIS AND MUTATION SCREENING OF THE ENHANCER OF ZESTE HOMOLOG 2 (EZH2) GENE : A CANDIDATE GENE FOR COFFIN-SIRIS SYNDROME.

Coffin-Siris syndrome (MIM #135900) is characterized by mental retardation, nail and phalanx abnormalities, and distinctive facial features. Most cases are sporadic, although a few familial cases have been described. The transmission mode is still debated. Two chromosomal rearrangements were described in patients with Coffin-Siris syndrome, both involving the 7q32-q34 region. These findings are compatible with a gene responsible for CSS located on chromosome 7.

A specific interaction was reported between the XNP/ATR-X gene, responsible for ATR-X syndrome (MIM #301040) and the protein encoded by the enhancer of zeste homolog 2 gene (EZH2). EZH2 is located in 7q34. Given the presence of mental retardation and somewhat similar facial dysmorphism in both CSS and ATR-X patients, we questioned whether EZH2 could be involved in the etiology of CSS.

In a first step, we used a genomic clone containing the EZH2 gene (clone RP5-1151_m_5) in FISH experiments to detect a potential chromosomal anomaly at this locus. Seven patients with a classical form of CSS were selected for this analysis. No deletion or other rearrangement were detected using the patient's lymphoblasts for FISH experiments.

We next screened the EZH2 gene for mutations in the seven patients. No disease-causing mutations were identified although a common polymorphism was detected. Taken together, these data probably rule out EZH2 as being the gene involved in Coffin-Siris syndrome.

255. Bases Moléculaires des maladies Mendéliennes

RAYNAUD Martine¹, Ronce Nathalie¹, Moizard Marie Pierre¹, Gendrot Chantal¹, Marson Marie-Noëlle¹, Frints Suzanna², Yntema Helger³, Kalscheuer Vera⁴, Chelly Jamel⁵, Moraine Claude⁶

¹ Laboratoire de Génétique moléculaire, Tours, France - Tours France

² Center for Human Genetics, Leuven, Belgium

³ Department of Human Genetics 417, Nijmegen, The Netherlands

⁴ Max Planck Institut for Molecular Genetik, Berlin, Deutschland

⁵ INSERM U129-CGM, Paris, France

⁶ Service de Génétique, Tours, France

PROFIL D'INACTIVATION DES X TRÈS DÉVIÉ CHEZ LES CONDUCTRICES DANS CERTAINES FAMILLES DE RETARD MENTAL LIÉ AU SEXE

Chez les femmes, le profil d'inactivation des chromosomes X est de 50%:50% en moyenne, lorsque l'inactivation se produit au hasard. Il a été montré que des déviations de ce profil pouvaient être corrélées à l'expression de maladies liées au sexe.

Nous avons réalisé l'étude systématique des profils d'inactivation dans les leucocytes du sang dans 82 familles de retard mental lié à l'X, spécifique et non spécifique :

- 39 familles pour lesquelles les études clinique et de localisation ont été réalisées à Tours,

- 21 familles de Belgique, 6 d'Allemagne, 16 de Hollande, pour lesquelles seule l'étude des profils d'inactivation est réalisée à Tours, dans le cadre d'une collaboration établie au sein d'un consortium européen.

Résultats :

1- Pour la plupart des familles les profils d'inactivation sont aléatoires ou variables, y compris chez les femmes symptomatiques.

2- Dans certaines familles, les conductrices ont toutes une inactivation très déviée (plus de 85%:15%) alors que les non conductrices ont une inactivation aléatoire ou variable. Cette particularité de l'inactivation est probablement liée aux mutations des gènes, et ceux-ci ont probablement une fonction particulière dans la cellule. Deux mécanismes principaux peuvent être discutés : la mutation du gène pourrait i) être responsable d'une contre-sélection, du fait d'une action sur la survie ou sur la prolifération des cellules dans lesquelles elle s'exprime; ii) interférer avec les mécanismes de l'inactivation eux-mêmes.

Ces résultats sont utiles i) pour aider à définir le statut des femmes, ii) préciser la localisation du gène en cause, iii) et surtout orienter la recherche du gène en cause dans les familles correspondantes sur des critères fonctionnels.

256. Bases Moléculaires des maladies Mendéliennes

BLAYAU Martine¹, BERNARD Sylvie², JOUANOLLE Anne Marie¹, LE FIBLEC Bernard², CHAUVEL Bruno³, DAVID Véronique¹

¹ Laboratoire de Génétique Moléculaire et Hormonologie CHU Pontchaillou 2, Rue Henri Le Guilloux - Rennes France

² Centre Pluridisciplinaire de Diagnostic Prénatal Saint-Brieuc-Laboratoires de Biologie Réunis

³ Laboratoires de Biologie Réunis, Rennes

PERTE DE MUTATION AU LOCUS X FRAGILE : UN MÉCANISME DE CONVERSION GÉNIQUE?

Le syndrome du X fragile est dû à l'inactivation du gène FMR1 situé en Xq27.3. Les mutations de ce gène sont essentiellement des expansions instables d'une répétition de trinucleotides (CGG) situés dans la partie 5' non traduite. Au delà de 200 répétitions, la mutation est dite complète et s'accompagne de la méthylation des séquences d'ADN adjacentes; cette hyperméthylation est responsable de la perte d'expression du gène FMR1. Le diagnostic moléculaire direct repose sur la mise en évidence d'un nombre anormal des triplets (CGG) soit par hybridation (Southern blot) soit par quantification des répétitions

par PCR. Une analyse indirecte de la transmission est également possible.

Nous avons étudié une famille de 4 enfants (2 garçons, 2 filles) dans laquelle les 2 garçons présentent un retard mental. L'analyse moléculaire par Southern blot montre une mutation complète chez les 2 garçons et l'aînée des filles alors que chez la plus jeune le profil électrophorétique est normal. Ces résultats ont été confirmés par PCR. L'analyse indirecte à l'aide de 3 microsatellites intragéniques encadrant la zone de répétition (DXS548, FRAXAC1, FRAXAC2) a permis d'identifier l'haplotype maternel à risque. Curieusement, les 4 enfants, y compris la soeur non atteinte, ont hérité du même chromosome X maternel.

Nous discutons l'hypothèse d'une conversion génique où la ségrégation des marqueurs flanquants est dissociée de celle de l'expansion.

257. Bases Moléculaires des maladies Mendéliennes

BLAYAU Martine¹, ODENT Sylvie², DUBOURG Christèle¹, DABADIE Alain³, DAVID Véronique¹

¹ Laboratoire de Génétique Moléculaire et Hormonologie CHU Pontchaillou 2, Rue Henri Le Guilloux - Rennes France

² Génétique Médicale, CHU Rennes

³ Département de Médecine de l'Enfant et de l'Adolescent, CHU Rennes

DÉFICIT EN ALPHA1-ANTITRYPSINE PAR DISOMIE UNIPARENTALE DU CHROMOSOME 14

Le déficit en alpha1-antitrypsine prédispose à l'emphysème pulmonaire mais est aussi responsable d'hépatite néonatale pouvant évoluer vers la cirrhose. Il s'agit classiquement d'une maladie génétique à transmission autosomique récessive due aux mutations d'un gène (PI) situé en 14q32.1. De nombreux variants de ce gène sont connus, mais 2 mutations principales (Z et S) sont responsables de la pathologie.

Nous rapportons l'histoire clinique d'un petit garçon né prématurément à 32 semaines, chez qui une insuffisance hépatocellulaire grave en période néonatale a conduit au diagnostic de déficit en alpha1-antitrypsine (génotype ZZ). La mutation Z est bien présente à l'état hétérozygote chez la mère mais elle n'est pas retrouvée chez le père.

Après avoir éliminé un problème de paternité, une disomie du chromosome 14 a été évoquée en raison du phénotype inhabituel de l'enfant (retard de croissance persistant et apparition d'un décalage des acquisitions). L'analyse moléculaire de la famille a été réalisée en testant 8 microsatellites répartis sur le bras long du chromosome 14. Plusieurs marqueurs confirment la non contribution des allèles paternels sur cette région chromosomique et mettent en évidence une disomie d'origine maternelle chez l'enfant.

La disomie uniparentale a déjà été impliquée dans l'apparition de maladies génétiques récessives (mucoviscidose) mais il s'agit ici du premier cas décrit de déficit en alpha1-antitrypsine par disomie uniparentale maternelle du chromosome 14.

258. Bases Moléculaires des maladies Mendéliennes

CARLES Soukeyna¹, COUBES Philippe², ROUBERTIE Agathe³, CLAUSTRES Mireille¹, TUFFERY-GIRAUD Sylvie¹

¹ IURC, Laboratoire de Génétique Moléculaire, 641 av du Doyen G. Giraud Montpellier cedex 5

² Service de Neurochirurgie B, CHU de Montpellier

³ Service de Neuropédiatrie, CHU de Montpellier

ETUDE DU GENE DYT1 DANS LES FORMES DE DYSTONIE IDIOPATHIQUE DE TORSION

La dystonie est un syndrome défini par une contraction musculaire soutenue, entraînant des mouvements répétitifs de torsion, ou une posture anormale. Plusieurs gènes ou localisations chromosomiques ont été rapportés dans les formes familiales de dystonie. La forme la plus sévère, la dystonie de torsion à début précoce, est due à une mutation (946delGAG) dans le gène DYT1 (9q34) codant pour une nouvelle protéine, la torsinA. Cette mutation unique est retrouvée quelle que soit la

population analysée, avec une fréquence plus élevée dans la population Juive Ashkenaze où il existe un effet fondateur. La transmission est autosomale dominante, et la pénétrance est réduite (30%-40%). Dans les cas familiaux, il existe une expressivité variable de la mutation chez les individus hétérozygotes. Cette mutation a été recherchée chez 85 cas index de notre série, et retrouvée chez 17 individus. Aucun cas de néomutation n'a été observé. Les études de corrélation génotype-phénotype ont permis de mieux définir les critères d'inclusion des patients atteints de dystonie généralisée devant être testés pour la mutation du gène DYT1. Par ailleurs, afin de tester l'hypothèse d'une possible hétérogénéité allélique dans la population analysée, la totalité de la séquence codante du gène DYT1 a été amplifiée à partir des transcrits isolés des lymphocytes circulants, et séquencée chez 16 individus présentant une dystonie de torsion généralisée ayant débuté dans l'enfance. Aucune nouvelle mutation n'a pu être identifiée chez ces patients démontrant l'hétérogénéité génétique des dystonies de torsion.

259. Bases Moléculaires des maladies Mendéliennes

LECOURTOIS Magalie, Blard Olivier, Campion Dominique, Frebourg Thierry

INSERM EMI 9906, IFRMP Faculté de Médecine et Pharmacie 22 Bd Gambetta - Rouen

LES MUTATIONS DE LA PRÉSÉNILINE 1 RESPONSABLES DES FORMES AUTOSOMIQUES DOMINANTES DE LA MALADIE D'ALZHEIMER CONDUISENT DANS LA DROSOPHILE À UNE PERTE DE FONCTION VIS À VIS DE LA VOIE NOTCH

Le gène de la Préséniline 1 (PSEN1) est le gène majoritairement impliqué dans les formes autosomiques dominantes à début précoce de la maladie d'Alzheimer (MA). La protéine PSEN1 intervient dans le clivage gamma secrétase responsable de la libération du peptide beta-amyloïde à partir du précurseur APP, peptide dont l'agrégation constitue très probablement le primum movens de la maladie. Les mécanismes moléculaires par lesquels les mutations de PSEN1 augmentent la sécrétion du peptide beta-amyloïde restent inconnus. Notre projet vise à étudier les conséquences biologiques des mutations du gène PSEN1 humain dans la drosophile. Dans ce but, nous avons introduit dans le gène psn, homologue de PSEN1 dans la drosophile, des mutations identifiées chez des patients atteints de MA. Nous avons généré des lignées transgéniques de drosophile exprimant des formes sauvage ou mutantes de psn sous le contrôle du promoteur endogène, afin de s'affranchir d'éventuels artefacts liés à la sur-expression. Nous avons testé l'aptitude de ces formes mutées à sauver, dans des drosophiles psn^{-/-}, le phénotype de létalité du à un défaut de la voie de signalisation Notch. Ces expériences de complémentation ont révélé que les mutations de la Préséniline 1 responsables de la MA conduisent dans la drosophile à une perte de fonction vis-à-vis de la voie Notch. L'effet opposé de ces mutations vis-à-vis de la voie de l'APP (gain de fonction) et de la voie Notch (perte de fonction) pourrait s'expliquer par une interaction privilégiée des formes mutantes avec l'APP au détriment de Notch.

260. Bases Moléculaires des maladies Mendéliennes

CHEVALIEZ Stéphane, LASSAL Hassina, DROIN Véronique, PERIGNON Jean-Louis, CEBALLOS-PICOT Irène
Laboratoire de biochimie Médicale B, hôpital Necker, 149 rue de sèvres - Paris France

IDENTIFICATION DES MUTATIONS DU GÈNE APRT RESPONSABLE DE L'UROLITHIASE DE 2,8-DIHYDROXYADÉNINE DANS LA POPULATION FRANÇAISE

Le déficit en adénine phosphoribosyltransférase (APRT) est responsable de la formation de 2,8-dihydroxyadénine (2,8-DHA). Peu soluble à pH urinaire, la 2,8-DHA aboutit à la formation de cristaux au sein des tubules rénaux, responsable de lithiase rénale. L'urolithiase de 2,8-DHA est une maladie

autosomale récessive dont la présentation clinique est variable. Le gène de l'APRT (~2.5 kb), localisé sur le chromosome 16 est formé de 5 exons permettant la synthèse d'une protéine fonctionnelle de 180 aminoacides.

L'étude moléculaire du gène chez 11 patients français présentant un déficit enzymatique total en APRT a été réalisée par séquençage systématique des 5 exons à partir d'ADN isolé de lymphocytes. La majorité des mutations sont localisées sur les exons 3, 4 et 5, aucune mutation n'a pu être mise en évidence au niveau des exons 1 et 2. On note la présence d'un hot-spot mutationnel pour 7 des 11 patients étudiés, correspondant à l'insertion d'une thymine à la jonction exon 4 / intron 4 sur les 2 allèles, conduisant probablement à un épissage aberrant. Cette mutation est la cause la plus fréquente du déficit en APRT dans la population caucasienne.

Contrat BMH4-CT 98-3079 from European structure for coordination of research and diagnosis of inherited purine and pyrimidine disorders.

261. Bases Moléculaires des maladies Mendéliennes

MOIZARD Marie-Pierre^{1,2}, **RONCE Nathalie**^{1,2}, **MARMIN Nadine**^{2,3}, **GENDROT Chantal**^{2,3}, **RAYNAUD Martine**^{1,2}, **TOUTAIN Annick**¹, **MORAINE Claude**¹

1 Service de Génétique, CHU Bretonneau - Tours France

2 Laboratoire de Génétique, CHU Bretonneau - Tours France

3 Service de Biochimie, CHU Bretonneau

CRIBLAGE MUTATIONNEL DU GÈNE ATP7A DANS LA MALADIE DE MENKES

La maladie de Menkes est une pathologie multisystémique létale, récessive liée à l'X, qui touche un garçon sur 250 000. Elle est dominée par une détérioration neurologique progressive, une atteinte du tissu conjonctif et des phanères. La majorité des patients décèdent avant l'âge de 3 ans. Il existe des formes plus modérées dont le syndrome des cornes occipitales (OHS) caractérisé principalement par des anomalies du tissu conjonctif. Ces différentes formes cliniques sont liées à des mutations du gène ATP7A, qui code pour une protéine de transport intracellulaire du cuivre. Le déficit en cuivre libre qui en résulte, altère la fonction des enzymes cuivre-dépendantes, et est à l'origine des différents symptômes de la maladie. Une thérapie par administration de cuivre par voie parentérale peut prévenir les signes neurologiques et prolonger la survie.

Afin de rechercher des mutations du gène ATP7A, nous avons développé deux approches moléculaires complémentaires, l'une par SSCP sur ADN génomique, l'autre par RT-PCR sur ARN issus de cellules de lignées lymphoblastoïdes permettant le criblage de la séquence codante du gène et de la région 5' non traduite. Les résultats de l'analyse mutationnelle réalisée chez 9 patients sont présentés (localisation et nature des mutations) et discutés (effet attendu sur la protéine).

Alors que le diagnostic de la maladie de Menkes repose essentiellement sur la confrontation des données cliniques et biochimiques, l'analyse mutationnelle du gène ouvre, de nouvelles approches diagnostiques, notamment pour le dépistage des femmes conductrices et le diagnostic prénatal. Par ailleurs, l'identification de la mutation peut avoir une valeur pronostique et permettre de prévoir l'efficacité d'une administration précoce de cuivre.

262. Bases Moléculaires des maladies Mendéliennes

EL GHOZZI Vincent, Lajeunie Elisabeth, Hirrtzig Thomas, Bonaventure Jacky, Munnich Arnold, Le Merrer Martine
Unité de Recherches sur les Handicaps Génétiques de l'Enfant, INSERM U 393, Hôpital Necker-Enfants Malades, France

IDENTIFICATION D'UNE MUTATION TRONQUANTE DE FGFR2 DANS UNE FORME FAMILIALE DU SYNDROME DE JACKSON WEISS

Initialement décrit dans une grande famille Amish, le syndrome de Jackson-Weiss se caractérise par une craniosynostose associée à des anomalies de la face (hypoplasie, hypertélorisme, proptosis) et des pieds (élargissement du gros orteil, syndactylie

partielle du second et du troisième orteil et fusion du tarse et du métatarse). Cette maladie autosomique dominante est due à des mutations gain de fonction du gène FGFR2 qui code pour l'un des quatre récepteurs transmembranaires des facteurs de croissance fibroblastiques. Les mutations rapportées à ce jour sont toutes des substitutions nucléotidiques des exons 7 ou 9 qui codent pour la troisième boucle Ig-like située dans le domaine extracellulaire du récepteur. Nous rapportons ici, chez une mère et son fils présentant une craniosynostose bicoronale sévère et associée aux signes typiques du syndrome de Jackson-Weiss, une nouvelle mutation de l'exon 9, spécifique de l'isoforme IIIc de FGFR2. Le séquençage de cet exon a révélé la présence chez les deux patients d'une délétion hétérozygote de deux nucléotides au codon 320 (958delAC) entraînant l'apparition d'un codon de terminaison de la traduction en position 324. L'analyse en RT-PCR semi-quantitative à partir des fibroblastes des patients montre une diminution de moitié de l'expression de FGFR2 IIIc suggérant que la mutation entraîne une instabilité du transcrite de l'isoforme IIIc. L'hypothèse d'une expression ectopique de l'isoforme IIIb de FGFR2 induite par l'haploinsuffisance de l'isoforme IIIc a été testée sans succès dans les fibroblastes des patients. Des prélèvements osseux de ces patients n'étant pas disponibles, nous n'avons pas pu étudier la possibilité d'une telle réexpression au niveau des sutures du crâne. A notre connaissance, c'est la première fois qu'une mutation conduisant à l'apparition d'un codon stop prématuré dans FGFR2 est associée à une craniosynostose. Des résultats obtenus récemment chez la souris suggèrent néanmoins qu'une telle mutation touchant spécifiquement l'isoforme IIIc de FGFR2 pourrait se traduire tout de même par un gain de fonction du récepteur.

263. Bases Moléculaires des maladies Mendéliennes

BOTTANI Armand¹, **DAYER A**¹, **CRUZADO D²**, **HAENGGELI C.**^{-A²}, **ANTONARAKIS S.E**¹, **MORRIS M.A**¹

1 Division of Medical Genetics, Geneva University Hospital C.M.U. Rue Michel Servet 1 1211 Genève Suisse

2 Neuropediatric Unit, Geneva University Hospital

MECP2 GENE DELETION IN A MENTALLY-HANDICAPPED 4-YEAR-OLD BOY AND HIS UNAFFECTED MOTHER

Mutations of MECP2, the X-linked (dominant?) gene responsible for Rett syndrome in girls, have also recently been implicated in males presenting with variable clinical pictures, ranging from infantile lethal encephalopathies to non syndromic X-linked mental retardation in adult patients.

We report a mentally-handicapped 4-year-old boy and his unaffected transmitting mother, both having a 44 bp truncating deletion (1158del144) in exon 4 of MECP2, resulting in a frameshift and premature truncation (386fs388X) of the MECP2 protein.

The propositus was born at term after a pregnancy marked by diminished fetal movements. Birth weight and head circumference were below the 10th centile, while length was at the 10th centile. The baby was placid and showed axial hypotonia. Milestones were delayed: sitting at 10 months, standing at 15 months, first words at 20 months, words (3) lost at 26 months, unable to stand or crawl anymore at 46 months. Examination at 4 years: severe mental delay; height, weight and OFC below P3; brachycephaly; low-set anteverted ears; frontal upsweep; permanent head nodding; intention tremor; bruxism; absent speech; stereotypic hand-to-mouth movements; spasticity of lower limbs with bilateral hyperreflexia and Babinski sign. MECP2 gene mutations should now definitely be considered in the differential diagnosis of males with unexplained mental delay and/or neurological regression. Such mutations must no longer be seen as simple dominants and mechanisms controlling their expression are currently unclear. Estimation of recurrence risks in families with males having a MECP2 mutation is at present difficult.

264. Bases Moléculaires des maladies Mendéliennes

AUBOURG Pauline¹, FONTÈS Michel¹, LÉVY Nicolas¹ and the ENMC consortium on XMEA
INSERM U491 Faculté de Médecine de La Timone 27 Bd. Jean Moulin - MARSEILLE FRANCE

X-LINKED MYOPATHY WITH EXCESSIVE AUTOPHAGY: GENES EXCLUSION IN THE XQ28 REGION AND X-INACTIVATION STUDIES IN OBLIGATE CARRIERS

X-linked myopathy with excessive autophagy (XMEA) is an unusual neuromuscular disorder which we recently assigned to chromosome Xq28 by genetic linkage analysis (Villard *et al.* 2000). Biological and pathological studies evidence high levels Creatine Kinase associated to an excessive number of autophagic vacuoles. By a collaborative network of neurologists, neuropathologists and geneticists, we have collected and phenotypically explored 12 XMEA families. According to the pathological homogeneity observed after muscle biopsy and immunohistochemical approach in affected males, this disorder appears to segregate as a monogenetic trait. To further identify the gene involved in this condition, a positional cloning strategy was developed and based on a candidate gene approach. Since the critical interval lies between DXS8103 (Auranen *et al.*, personal communication) and the telomere, it is ascertained that around 100 genes lie in this region. To date and based on their putative or known function, 20 genes were studied, most of them having been totally excluded as they didn't carry causing disease mutation in their coding sequence. In order to further delineate the number of potential genes for screening, X-chromosome inactivation studies were conducted that revealed partial or total skewed inactivation patterns in lymphocytes from obligate carriers in 4 families. These results may suggest that XMEA gene is expressed in lymphocytes and should help to restrict the gene's list to screen; Indeed, lymphocytes expressed genes should be explored in priority. Additionally, our results suggest a possible exclusion of muscle specific genes as being involved in XMEA.

265. Bases Moléculaires des maladies Mendéliennes

CEBALLOS-PICOT Irène^{1,2}, NICOLE Annie¹, GERMANN Sophie¹, BEROUDE Christophe¹, DROIN Véronique², CHAPPUIS Philippe³, WOIMANT France⁴, HAGUENAU Michel⁴, JUNIEN Claudine¹, KAMOUN Pierre²
1 Inserm U3Pa83, Hôpital Necker-Enfants Malades, 149 rue de Sèvres - Paris
2 Biochimie B, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris
3 Biochimie, Hôpital Lariboisière, Paris
4 Neurologie, Hôpital Lariboisière, Paris

IDENTIFICATION ET ANALYSE DES MUTATIONS DU GÈNE ATP7B RESPONSABLES DE LA MALADIE DE WILSON DANS LA POPULATION FRANÇAISE - RELATION GÉNOTYPE/PHÉNOTYPE

La maladie de Wilson est une génopathie autosomique récessive se caractérisant par une accumulation toxique de cuivre particulièrement dans le foie, le cerveau et le rein. La fréquence de cette maladie est estimée à 1/100000 et celle des hétérozygotes à 1/90 naissances. Le gène ATP7B responsable de la maladie code pour une ATPase transportant le cuivre. La grande variabilité phénotypique de la maladie de Wilson nous a conduit à rechercher et identifier des mutations sur les 21 exons du gène ATP7B (SSCP-séquençage) chez 49 patients français afin d'établir des corrélations génotype/phénotype. Ce diagnostic moléculaire a été réalisé sur les membres de 35 familles présentant un cas index afin de réaliser un dépistage présymptomatique de la maladie de Wilson qui bénéficie d'un traitement d'autant plus efficace qu'il est instauré précocement. 45% des mutations ont été localisées dans les exons 14, 8 et 7 et correspondent à des régions de la protéine critiques pour sa fonction: région transmembranaire et domaine de fixation à l'ATP. La mutation la plus commune (His1069Gln) dans l'exon 14 est retrouvée dans 22% de tous les chromosomes étudiés de

cette série française. L'établissement d'une base de données internationale nous a permis d'établir les corrélations génotype/phénotype qui seront discutées.

266. Bases Moléculaires des maladies Mendéliennes

STERNBERG Damien¹, MAISONOBE Thierry², NICOLE Sophie³, CHAUVEAU Dominique⁴, HAINQUE Bernard¹, TABTI Nacira³, FONTAINE Bertrand^{3,5}

1 Laboratoire de Biochimie B, Batiment de la Pharmacie, Groupe Hospitalier Pitie-Salpêtrière - Paris France
2 Laboratoire de Neuropathologie, Groupe Hospitalier Pitie-Salpêtrière, Paris
3 INSERM U546, Faculté de Médecine Pitie-Salpêtrière, Paris
4 Département de Néphrologie, Hôpital Necker-Enfants Malades, AP-HP, Paris
5 Fédération de Neurologie, Groupe Hospitalier Pitie-Salpêtrière, Paris

CORRÉLATION GÉNOTYPE-PHÉNOTYPE DANS LA PARALYSIE PÉRIODIQUE HYPOKALIÉMIQUE

La paralysie périodique hypokaliémique primitive (hypoPP) est une maladie musculaire autosomique dominante caractérisée par des accès paralytiques épisodiques s'accompagnant d'une hypokaliémie marquée, avec chez certains sujets une myopathie tardive. Deux mutations du gène de la sous-unité alpha du canal calcium musculaire dépendant du voltage (CACNA1S) sont à l'origine de la majorité des cas. Ces deux mutations changent une arginine en histidine (R528H, R1239H), dans les segments IIS4 ou IVS4 du canal calcium jouant le rôle de détecteur de voltage. Plus récemment, des mutations de la sous-unité alpha du canal sodium musculaire dépendant du voltage (SCN4A) ont été décrites. Ces mutations changent également une arginine en un résidu moins chargé (R672H, R672G, R672S) dans le segment IIS4 du canal sodium.

Sur 68 demandes indépendantes de diagnostic génotypiques d'hypoPP, la mutation causale a été identifiée dans le gène CACNA1S dans 45 cas (R528H: 29 cas; R1239H: 16 cas), et dans SCN4A dans 10 cas (R672H: 8 cas; R672G: 1 cas; R672S: 1 cas). Des particularités cliniques ont été observées dans une grande famille où ségrège la mutation R672G de SCN4A: une pénétrance complète chez les sujets des deux sexes, un début des accès paralytiques à un âge assez jeune, des myalgies post-critiques marquées, et une induction des accès par l'acétazolamide. Une biopsie musculaire réalisée chez deux membres de cette famille a montré une myopathie à agrégats tubulaires. Par contraste, chez les patients porteurs de mutation de CACNA1S, la pénétrance est incomplète surtout chez les femmes, le début des accès est plus tardif et la réponse ou du moins la tolérance au Diamox est habituelle. Les trois biopsies effectuées chez ces patients ont montré une myopathie vacuolaire.

L'observation des particularités cliniques et morphologiques associées à la mutation R672G suggère que les anomalies fonctionnelles et structurales du muscle dans l'hypoPP sont spécifiques de la mutation en cause, renforçant ainsi l'intérêt du diagnostic génotypique.

267. Bases Moléculaires des maladies Mendéliennes

PEREIRA Sandrine¹, Depetris Danièle¹, Massacrier Annick¹, Mattéi Marie-Geneviève¹, Lévy Nicolas¹, Cau Pierre¹, Pouget Jean-Yves², Szepetowski Pierre¹

1 INSERM U491 Faculté de Médecine de la Timone 27 Bd J Moulin - Marseille France
2 Service de Neurologie, CHU La Timone, Marseille

DE NOVO RECIPROCAL TRANSLOCATION T(4;12)(Q26;P12) IN A PATIENT WITH ANDERSEN SYNDROME (PERIODIC PARALYSIS AND LONG QT SYNDROME)

A large number of paroxysmal neuromuscular and cardiac disorders are now known to be channelopathies. Of particular interest are the syndromes in which cardiac and neuromuscular symptoms concur, as they represent powerful tools to identify

common pathways involved in cardiac and neuromuscular functioning. Andersen syndrome is such a condition in which cardiac arrhythmias (long QT) and periodic paralysis are associated. Sporadic as well as familial cases have been reported and one of the Andersen syndrome's genes, encoding the potassium channel KCNJ2, was recently identified onto chromosome 17.

Several long QT syndromes (LQT) have been defined on a genetic basis. To date, six long QT genes have been localized; five of them (LQT1-3, 5-6) are now identified and encode potassium or sodium channels. The LQT4 gene has been mapped to chromosome 4q25-q27 but the critical region extends over 18 cM and the gene remains unknown.

One patient with Andersen syndrome was detected. Cytogenetic studies revealed the existence of a *de novo* reciprocal translocation t(4;12)(q26;p12). Co-localization of the breakpoint at 4q26 with the critical area defined for LQT4 syndrome at 4q25-q27 strongly suggested that both syndromes could be caused by different alterations of the same gene. The translocation breakpoint thus represented a very powerful tool to identify the disease gene. FISH experiments with YACs and PACs showed that the translocation breakpoint at 4q26 lied in a 120-kb area entirely comprised within the LQT4 critical region.

Work is in progress in order to identify junction fragments from cosmid clones encompassing the breakpoint as well as to identify transcribed sequences within the sequences of interest. Molecular cloning of the breakpoint should lead to identification of a new gene for a subset of Andersen syndrome, as well as for the LQT4 syndrome. Identification of this gene will be an important step towards the understanding of both periodic paralysis and long QT syndromes. As the gene is likely to contribute the QT-interval variability between normal individuals, it could also play a major role in normal cardiac functioning. Once the gene is identified, large-scale genetic studies could be performed to test the involvement of the gene in various cardiac arrhythmias.

268. Bases Moléculaires des maladies Mendéliennes

ROLL Patrice¹, Massacrier Annick¹, Robaglia-Schlupp Andrée¹, Jamali Sarah¹, Pereira Sandrine¹, Gastaldi Marguerite¹, Cau Pierre¹, Rochette Jacques², Lathrop Mark G³, Szeppetowski Pierre¹

1 INSERM U491 Faculté de Médecine de la Timone 27 Bd J Moulin - Marseille France

2 CHU Amiens

3 Centre National de Génotypage

IN SILICO SEARCH AND MUTATIONAL ANALYSIS OF CANDIDATE GENES FOR THE ICCA (INFANTILE CONVULSIONS AND CHOREOATHETIC DYSKINESIA) SYNDROME AT CHROMOSOME 16P12-Q12

The ICCA syndrome (infantile convulsions and choreoathetotic dyskinesia) is characterized by the variable association of benign infantile convulsions (BFIC) with paroxysmal dyskinesias, and an autosomal dominant mode of inheritance. The disease had been linked to chromosome 16p12-q12 in several unrelated families of diverse ethnic background. A subset of families with either pure BFIC or pure paroxysmal dyskinesias (PKD) has been linked to chromosome 16p12-q12 as well, suggesting that the ICCA, BFIC and PKD syndromes could be allelic. However, data also suggested that mutations in more than one gene at chromosome 16p12-q12 might give rise to similar and overlapping syndromes.

As an effort towards the identification of the ICCA gene(s), a candidate gene approach is being performed. Several genes that had already been mapped to 16p12-q12 could be excluded. In addition, systematic *in silico* search helped identify new candidate genes. In total, more than 30 genes, 60 mRNAs, and 100 predicted genes were detected, including: 1/ a new syntaxin gene (see related abstract) 2/ a new sodium/glucose transporter gene 3/ two new members of the ABC transporter family. Systematic mutation search using a combination of SSCP and

direct sequencing is currently underway in order to look for pathogenic mutations within the candidate genes.

269. Bases Moléculaires des maladies Mendéliennes

GENTON Pierre¹, Gérard Frédérique², Pereira Sandrine², Robaglia-Schlupp Andrée², Cau Pierre², Pierre Szeppetowski Pierre²

1 Hôpital Henri Gastaut Centre St Paul - Marseille France

2 INSERM U491, Faculté de médecine de la Timone, Marseille

CLINICAL AND GENETIC ANALYSIS OF A NEW MULTIGENERATIONAL PEDIGREE WITH GEFS+ (GENERALIZED EPILEPSY WITH FEBRILE SEIZURES PLUS): MORE EVIDENCE FOR GENETIC HETEROGENEITY

Febrile seizures affect 2-5% of all children under six years of age. A small proportion of children with febrile seizures later develops epilepsy. The syndrome of generalized epilepsy with febrile seizures plus (GEFS+) is a heterogeneous disorder characterized by febrile seizures that may persist beyond the age of six, and non-febrile seizures. Several loci have been identified for FS and GEFS+ by linkage analysis, and three GEFS+ genes (SCN1A, SCN1B, GABRG2) have been identified to date. In the present study, a large multigenerational family with GEFS+ was identified and collected in France. All affected members had a typical febrile seizure phenotype. Among them, seven had other types of epileptic seizures including febrile seizures after the age of 6 years, non-febrile generalized seizures, or partial seizures later in life. Genetic linkage study excluded the candidate genes and loci for FS and GEFS+, thus proving the existence of a new GEFS+ genetic locus underlying the phenotype observed in this family. Genome screen is currently underway in order to localize this new GEFS+ gene.

270. Bases Moléculaires des maladies Mendéliennes

HERON Delphine¹, LACOMBE Didier², VABRES Pierre³, LEBOUC Yves⁴, BURGLIN Lydie⁵

1 Département de Génétique Hôpital Pitié-Salpêtrière 47-83 Bd de l'Hôpital - Paris France

2 Service de Génétique Médicale, Hôpital Pellegrin, Bordeaux

3 Service de Dermatologie, CHU, Poitiers

4 Laboratoire d'Explorations fonctionnelles Endocriniennes, Hôpital Trousseau

5 Unité de Génétique Médicale, Service de Neuropédiatrie, Hôpital Trousseau

SYNDROME D'HAY-WELLS: 2 NOUVEAUX PATIENTS AVEC MUTATION DU GÈNE P63

Le syndrome d'Hay-Wells ou syndrome ankyloblepharon-dysplasie ectodermique-fente (AEC) est une affection autosomique dominante rare caractérisée par une dysplasie ectodermique avec alopécie, infections du cuir chevelu, dystrophie unguéale, hypodontie, ankyloblepharon et fente labiale et/ou labio-palatine. Le syndrome d'Hay-Wells est lié, ainsi que d'autres syndromes distincts mais proches (syndrome ectrodactylie-dysplasie ectodermique-fente labiopalatine ou syndrome EEC, syndrome limb-mammary, syndrome acrodermato-ungueal-lacrimal-tooth ou syndrome ADULT, certains syndromes pieds-mains fendus) à des mutations du gène codant pour la protéine p63. Nous rapportons deux nouveaux patients présentant un syndrome d'Hay-Wells.

L'étude moléculaire du gène p63 a permis de mettre en évidence la mutation responsable chez chacun des deux patients. Il s'agit de mutations faux-sens (F530L et L518V) situées dans l'exon 13, responsables d'un changement d'acide aminé au niveau du domaine SAM (sterile-alpha-motif) de la protéine p63. Ces résultats sont en accord avec les corrélations génotypes-phénotypes établies sur les études moléculaires antérieures qui ont montré que les mutations responsables de syndrome AEC sont préférentiellement localisées dans le domaine SAM de la protéine p63 et celles responsables dans le syndrome EEC dans le domaine de liaison à l'ADN.

271. Bases Moléculaires des maladies Mendéliennes

DUPUIS Stéphanie¹, Dargemont Catherine², Fieschi Claire¹, Thomassin Nicolas³, Rosenzweig Sergio⁴, Harris Jeff⁵, Holland Steven⁴, Schreiber Robert⁶, Casanova Jean-Laurent¹

¹ INSERM U550 Faculté Necker 156 rue de vaugirard - Paris France

² Institut Jacques Monod, CNRS(UMR7592) Université, Paris, France

³ Département de Pédiatrie, Nevers, France

⁴ Laboratory of Host defenses, NIH, USA

⁵ Department of Pediatrics, University of California, San Francisco, USA

⁶ Department of Pathology, Washington University, Saint Louis, USA

IMPLICATION D'UNE MUTATION DU GÈNE STAT1 DANS L'IMMUNITÉ ANTIMYCOBACTÉRIENNE ET ANTIVIRALE

Les Interférons (IFN) α/β et γ induisent la formation de 2 facteurs de transcription: des homodimères STAT-1/STAT-1 et des hétérotrimères STAT-1/STAT-2/p48. Nous avons identifié dans deux familles une mutation hétérozygote du gène STAT1. Ces deux patients ont souffert d'infections mycobactériennes disséminées. En revanche, ils n'ont pas présenté de susceptibilité particulière aux infections virales. Par transfection dans des cellules déficientes en STAT-1, nous avons établi que l'allèle muté de STAT1 est nul aussi bien pour l'activation des complexes STAT-1/STAT-1 que STAT-1/STAT-2/p48 en réponse aux INF α et γ . En revanche, dans les cellules hétérozygotes des patients, on observe un défaut d'activation des homodimères STAT-1/STAT-1, mais pas du trimère STAT-1/STAT-2/p48. Cette mutation est donc dominante pour un premier phénotype cellulaire, l'activation des homodimères STAT-1/STAT-1, mais récessive pour un second, l'activation de STAT-1/STAT-2/p48. Ces résultats démontrent que l'immunité antimycobactérienne, à la différence de l'immunité antivirale, médiée par les INF α et γ , est dépendante des homodimères STAT-1/STAT-1 et non des hétérotrimères STAT-1/STAT-2/p48.

272. Bases Moléculaires des maladies Mendéliennes

BITOUN Emmanuelle¹, Chavanas Stéphane^{1,2}, Irvine Alan D³, Lonie Lorne¹, Bodemer Christine⁴, Paradisi Mauro⁵, Hamel-Teillac Dominique⁴, Ansaï Shin-ichi⁶, Mitsuhashi Yoshihiko⁶, Taïeb Alain⁷, de Prost Yves⁴, Zambruno Giovanna⁵, Harper John I³, Hovnanian Alain^{1,2}

¹ Wellcome Trust Centre for Human Genetics, Oxford, UK

² CNRS UPR 2163 UPCM, Toulouse, France

³ Great Ormond Street Hospital, Londres, UK

⁴ Service de Dermatologie, Hôpital Necker, Paris 75743, France

⁵ Immacolata Dermatological Hospital, IDI-IRCCS Rome, Italie

⁶ Hôpital Yamagata, Yamagata, Japon

⁷ Service de Dermatologie, Hôpital Saint-André Hospital, Bordeaux, France

SYNDROME DE NETHERTON : VARIABILITÉ D'EXPRESSION ET SPECTRE DE MUTATIONS DU GÈNE SPINK5 DANS 21 FAMILLES

Le syndrome de Netherton (SN, MIM 256500) est une ichtyose sévère autosomique récessive caractérisée par la triade : érythrodermie congénitale, dysplasie pilaire spécifique (trichorrhexis invaginata) et manifestations atopiques sévères. Nous avons récemment montré que le SN est dû à des mutations du gène SPINK5 codant pour un inhibiteur de sérine protéases de type Kazal. Nous décrivons l'organisation intronique et exonique de ce gène et caractérisons les mutations de SPINK5 dans 21 familles d'origine géographique différente, par "chromatographie liquide dénaturante de haute performance" (DHPLC) et séquençage. Nous avons identifié 18 mutations, dont 13 sont nouvelles et 7 (39%) sont récurrentes. La majorité de ces mutations sont regroupées entre les exons 1 à 8 et 21 à 26. Elles comprennent 4 mutations non sens (22%), 8 insertions ou

délétions changeant la phase de lecture (44%) et 6 mutations d'épissage (33%). Toutes les mutations identifiées prédisent des codons stop prématurés. L'analyse par Northern blot a montré une réduction variable du taux des transcrits mutés, suggérant une variabilité dans l'instabilité de l'ARNm médiée par la présence de codons stops prématurés. Sept patients étaient homozygotes, huit étaient hétérozygotes composés et cinq étaient hétérozygotes avec seulement une mutation de SPINK5 identifiée. Cinq mutations, dont une conduisait à une forme létale de la maladie dans trois familles, étaient associées à certains groupes de même origine géographique. Nous décrivons également 45 SNPS intragéniques chez les patients étudiés. La triade clinique érythrodermie, trichorrhexis invaginata et manifestations atopiques était présente chez la majorité des patients. L'ichtyose linéaire circonflexe évocatrice de la maladie n'était rapportée que chez 12 des 24 patients. Une variabilité inter- et intrafamiliale dans la sévérité de la maladie était observée, sans corrélation nette entre les mutations et le phénotype, suggérant l'influence d'autres facteurs sur la sévérité du phénotype.

273. Diagnostic Génétique

LAJEUNIE Elisabeth¹, LENNE Martine¹, EL GHOZZI Vincent², RENIER Dominique³,

¹ Hôpital Lariboisière Service de Biochimie et Biologie Moléculaire 2, rue Ambroise Paré 9939 Paris Cedex 10 France

² INSERM U393 Hôpital Necker Enfants Malades Paris

³ Neurochirurgie Hôpital Necker Enfants Malades Paris

PRÉVALENCE DE LA MUTATION PRO250ARG DU GÈNE FGFR3 DANS LES CRANIOSTÉNOSES CORONALES

Une mutation récurrente, C749G (Pro250Arg) dans le gène FGFR3 a été décrite dans les craniosténoses coronales apparemment non syndromiques. Nous avons étudié la prévalence de cette mutation et ses conséquences cliniques chez les enfants opérés de ce type de craniosténose dans l'Unité Craniofaciale de l'hôpital Necker-Enfants Malades.

Nous avons étudié 177 enfants opérés d'une craniosténose coronale isolée, 66 d'entre eux avaient une atteinte bicoronale (brachycéphalie) et 111 avaient une synostose unicononale (plagiocéphalie). 132 cas étaient sporadiques et 45 étaient des cas familiaux appartenant à 36 familles. La série comportait 126 filles et 51 garçons.

L'ADN génomique a été analysé par PCR et restriction enzymatique (Nci I).

La mutation est retrouvée dans 16 (12%) cas sporadiques et dans 28 (78%) des 36 familles. Le diagnostic est souvent suggéré par l'association d'une craniosténose avec un bombement particulièrement important des fosses temporales, un hypertélorisme, et, chez les plus âgés, une brachydactylie. Cependant, ces signes peuvent manquer et, par exemple, la découverte d'une mutation chez un enfant atteint de plagiocéphalie est souvent inattendue.

La mutation doit être recherchée systématiquement. Elle permet une aide au conseil génétique et au suivi thérapeutique de l'enfant (retard scolaire, troubles de l'audition et morphologie post-opératoire).

274. Diagnostic Génétique

MOUTOU Céline¹, GARDES Nathalie¹, VIVILLE Stéphane^{1,2}

¹ Service de Biologie de la Reproduction CHU-Strasbourg SIHC-CMCO 19, rue Louis Pasteur - SCHILTIGHEIM France

² Institut de Génétique et de Biologie Moléculaire - ILLKIRCH

DIAGNOSTIC PRÉIMPLANTATOIRE DE LA MUCOVISCIDOSE PAR PCR MULTIPLEXE

Le diagnostic génétique préimplantatoire (DPI) est une alternative au diagnostic prénatal qui permet de détecter une anomalie génétique avant l'implantation de l'embryon. Il consiste à réaliser une analyse génétique sur des embryons humains obtenus par fécondation *in vitro* et à ne transférer chez la patiente que des embryons sains ou porteurs sains. Pour un couple présentant une forte probabilité de transmettre une

maladie génétique d'une particulière gravité le DPI a l'avantage majeur de lui éviter l'épreuve d'interruptions médicales de grossesse (IMG).

La mucoviscidose est une maladie autosomique récessive fréquente qui touche un nouveau-né sur 2500. C'est l'indication la plus fréquente de diagnostic préimplantatoire. Elle est causée par des mutations du gène CFTR dont la plus fréquente est la délétion deltaF508 qui représente environ 70% des mutations dans la population caucasienne. Environ mille autres mutations ont été décrites à ce jour avec une fréquence allant de quelques pourcents à une seule observation.

Devant le nombre de mutations et du fait de l'impossibilité de mettre au point un DPI pour chacune d'entre elles, nous avons opté pour une stratégie de PCR multiplexe combinant le diagnostic direct de la mutation deltaF508 et un diagnostic indirect à l'aide de deux marqueurs microsatellites du gène CFTR : IVS8CA dans l'intron 8 et IVS17bCA dans l'intron 17b. Cette approche présente plusieurs avantages : (i) elle permet d'utiliser un seul test pour de nombreux couples, quelle que soit les mutations en cause, à condition qu'ils soient informatifs pour les marqueurs testés; (ii) elle permet d'avoir un contrôle interne d'amplification et de contamination; (iii) elle augmente la fiabilité du test; (iv) elle permet d'évaluer la ploïdie du blastomère analysé.

Ce test est disponible dans notre centre de diagnostic préimplantatoire et nous permet de proposer un DPI à 80% des couples à risque de transmettre une mucoviscidose à leurs enfants et ce, quelle que soit la mutation du gène CFTR en cause. Pour les couples où seule la mutation deltaF508 est en cause, nous utilisons également cette stratégie de PCR multiplexe, l'introduction de marqueurs microsatellites augmentant considérablement la fiabilité du test.

Nous développons actuellement une stratégie similaire avec les marqueurs IVS17bTA et un microsatellite de l'intron 1 du gène CFTR. Leur informativité nettement supérieure à celles de IVS8CA et IVS17bCA devrait nous permettre de prendre en charge 96% des couples demandeurs d'un DPI pour cette pathologie.

275. Diagnostic Génétique

MONCLA Anne¹, KPEBE Arlette², MISSIRIAN Chantal¹, MANCINI Josette³, VILLARD Laurent²

1 Département de Génétique Médicale Hôpital d'Enfants de La Timone - Marseille France

2 Inserm U491, Faculté de Médecine La Timone, Bd. Jean Moulin, Marseille

3 Département de Neuropédiatrie, Hôpital d'Enfants de La Timone, Marseille

POLYMORPHISMS IN THE C-TERMINAL DOMAIN OF MECP2 IN MENTALLY HANDICAPPED BOYS : IMPLICATIONS FOR GENETIC COUNSELLING.

Numerous recent reports have proposed that mutations in the C-terminal domain of the MECP2 gene could be a frequent cause of mental retardation in males. We have identified two mutations in this particular domain (S359P and E397K) in two boys who were screened for MECP2 mutations in a series of 23 mentally handicapped boys fitting the clinical description of the previously reported cases. A detailed familial study based on three generations shows that the first mutation (S359P) was also inherited by a healthy cousin thus ruling out its involvement in the etiology of the phenotype of this patient. The second mutation (E397K) was also found in normal individuals. These findings clearly call for a careful consideration of the pathogenicity of the MECP2 mutations identified in sporadic male cases before genetic counselling or prenatal diagnosis is proposed to the corresponding families.

276. Diagnostic Génétique

DURR Alexandra^{1,2}, Camuzat Agnès², Stevanin Giovanni², Dodé Cathérine³, Fujigasaki Hiroto², Brice Alexis^{1,2}

1 Département de génétique, cytogénétique, embryologie, Hôpital de la Salpêtrière Paris

2 INSERM U 289, Hôpital de la Salpêtrière Paris

3 Laboratoire de génétique moléculaire, Hôpital Cochin, Paris

DIAGNOSTIC GÉNÉTIQUE ET ATAXIES CÉRÉBELLEUSES AUTOSOMIQUE DOMINANTES

Objectif : Les ataxies cérébelleuses autosomiques dominantes (ADCA) sont des affections génétiquement hétérogènes avec au moins 17 gènes impliqués. Nous avons voulu connaître la fréquence des gènes testables parmi les familles avec ADCA et les cas isolés avec ataxie progressive.

Résultats : Parmi 500 familles avec ADCA principalement d'origine française, 214 sont restées sans diagnostic génétique (43%). La forme la plus fréquente est représentée par SCA3 (spinocerebellar ataxia 3) ou maladie de Machado-Joseph avec 124 familles (25%) suivie par SCA2 (n=59, 12%), SCA1 (n=49, 10%) et SCA 7 (n=33, 7%). SCA6 est très rare (n=8, 2%), SCA12, SCA17 ou TBP, DRPLA et ont seulement été détectés dans une famille chacune. Il est intéressant de noter que la mutation de la maladie de Huntington a été trouvée dans 7 familles avec un phénotype d'ADCA. Dans une autre famille, la maladie était une ataxie de Friedreich avec une transmission pseudodominante.

Parmi 288 cas isolés d'ataxie cérébelleuse de début tardif 10 étaient des formes dominantes avec censure, dont 6 SCA3, 3 SCA2 et 1 DRPLA. 3 seulement avaient une ataxie de Friedreich.

Conclusion : L'analyse des gènes SCA1, 2, 3, 6 et 7 permet d'identifier la majorité des gènes connus dans les ADCAs dont cependant 43% restent de cause inconnue. En revanche ces gènes sont rarement impliqués dans les cas isolés.

277. Diagnostic Génétique

LEHEUP Bruno¹, Juif-Elmerich MH², Buiting K³, Horsthemke B³, Philippe C⁴, Jonveaux P⁴

1 Service de Médecine Infantile III et Génétique Clinique Hôpital d'Enfants CHU de Nancy - VANDOEUVRE LES NANCY France

2 Service de Pédiatrie, Hôpital Ste-Croix, Metz, France

3 Institut für Humangenetik, Universitätsklinikum, Essen, Deutschland

4 Laboratoire de Génétique, CHU de Nancy, France

MOSAÏQUE SOMATIQUE DU DÉFAUT DE L'EMPREINTE MATERNELLE DE LA RÉGION 15Q11 : UN NOUVEAU CAS AVEC DES SIGNES ATYPIQUES DU SYNDROME D'ANGELMAN SANS OBÉSITÉ

Des observations de forme atypique du syndrome d'Angelman avec obésité, hypotonie musculaire et retard mental modéré ont été rapportées en association avec un profil de méthylation de la région 15q11 suggérant une constitution en mosaïque d'un défaut de l'empreinte maternelle (Eur J Hum Genet 1999, 7, 638). Nous rapportons ici un cas atypique associé à une anomalie du profil de méthylation de la région 15q11 évocatrice d'un mosaïcisme somatique. Il s'agit de la deuxième enfant vivant, née en 1995, d'un couple sans antécédents particuliers. L'âge à la conception est de 37 ans pour les deux parents. La grossesse était normale. Les mensurations néonatales sont normales. Le premier mot est utilisé vers un an. Le langage s'est très peu enrichi depuis cet âge. A trois ans et six mois, sa taille et son poids sont à la médiane pour l'âge chronologique. Le PC est à - 1 sds. Le caryotype sanguin est normal. La jovialité prononcée, l'instabilité psycho-motrice et le retard de développement ont conduit à l'évaluation du profil de méthylation de la région 15q11 (sonde SNRPN). La bande maternelle est systématiquement d'intensité plus faible que la bande paternelle. Ce profil est retrouvé lors de 3 techniques consécutives. La technique MS-PCR au locus SNRPN confirme la réduction constante de la bande maternelle. Une analyse quantitative par Southern blot de la région du centre d'empreinte met en évidence un dosage normal. Ce profil suggère l'existence d'un mosaïcisme

somatique d'un défaut sporadique du mécanisme de l'empreinte. L'absence d'obésité n'a pas encore été rapportée dans ce type de profil.

278. Diagnostic Génétique

GIRAUD Sophie¹, EDERY P², BOZON Muriel², LESCA G^{1,3}, PINSON S¹, CALENDER A¹, PLAUCHU H³

1 Laboratoire de Génétique Moléculaire Pavillon E Hôpital Edouard Herriot - LYON

2 Centre de Génétique Moléculaire et Cellulaire - UMR 5534 - VILLEURBANNE

3 Service de Génétique Clinique - Hôtel-Dieu - Lyon

IMPORTANCE DU GENOTYPAGE POUR L'ETUDE DU PHENOTYPE HETEROGENE DE LA MALADIE DE RENDU-OSLER

La maladie de Rendu-Osler est une génopathie vasculaire dominante autosomique, fistulisante et hémorragique. Elle associe épistaxis, télangiectasies et manifestations familiales à des atteintes viscérales gastro-intestinale, hépatique, pulmonaire ou neurologique beaucoup plus variable, mais qui peuvent en faire la gravité. Les deux gènes actuellement identifiés responsables codent l'endogline (9q) et l'activine-like-kinase I (12q), protéines contribuant toutes deux au système récepteur du TGF- β . Notre objectif est d'établir des corrélations phénotypes-génotypes pour améliorer les connaissances sur cette maladie.

Dans le but d'améliorer la prise en charge et la thérapeutique de cette maladie, nous avons mis en place un réseau de recherche sur cette maladie avec un recueil structuré des données adapté à l'analyse des relations phénotypes génotypes (500 dossiers cliniques informatisés prévus en 4 ans, sur le logiciel File Maker Pro).

Nous avons initié une étude haplotypique de 8 familles et une recherche mutationnelle systématique chez une quarantaine de patients en associant la méthode des hétéroduplex et le séquençage.

Nous analysons le résultat des haplotypes, les polymorphismes et les mutations identifiés dans ces deux gènes. Effectivement, l'hétérogénéité génique a retardé l'étude génotypique dont nous analyserons les impacts : recherche d'autres gènes, profil des relations phénotypes-gènes, étude des variabilités inter-allélique et inter-génique et mise en évidence de facteurs géniques modificateurs.

L'étude génotypique contribue à préciser la conduite à tenir devant les formes cliniques atypiques et devant les situations présymptomatiques à risque.

279. Diagnostic Génétique

DE VERNEUIL Hubert¹, CIPRIANO Gérard², LE GAC Gérard³, FEREC Claude³, DOUTRE Marie-Sylvie²

1 Service de Biochimie et UF de Biologie Moléculaire BORDEAUX

2 Service de Dermatologie, CHU de BORDEAUX

3 EFS Bretagne, INSERM EMI 01-15, BREST

ANALYSE DU GÈNE HFE CHEZ 49 MALADES ATTEINTS DE PORPHYRIE CUTANÉE DU SUD-OUEST DE LA FRANCE

Introduction : La porphyrie cutanée est une maladie métabolique caractérisée par un déficit enzymatique en uroporphyrinogène décarboxylase (UROD), une enzyme impliquée dans la synthèse de l'hème. Cette maladie peut-être la conséquence des mutations du gène codant pour l'UROD (porphyrie cutanée familiale ou type 2). Ou bien elle peut être secondaire à l'exposition à des facteurs toxiques environnementaux sans que l'on sache actuellement la nécessité de mutations au niveau d'autres gènes de susceptibilité (porphyrie cutanée sporadique ou type 1). Plusieurs études récentes ont mises en évidence que les mutations du gène de l'hémochromatose héréditaire (HFE) pourraient également constituer des facteurs additionnels, aggravant l'expression clinique de la maladie. Notre objectif était d'analyser la totalité de la partie codante du gène HFE chez 49 patients présentant une porphyrie cutanée. **Matériels et méthodes** : le dépistage des

mutations C282Y, H63D et S65C a été réalisé par PCR-RFLP avant d'analyser la totalité de la partie codante du gène HFE par D-HPLC. **Résultats** : 34 des 49 patients étudiés (67,3%) présentaient au moins une des trois mutations C282Y, H63D ou S65C. Les génotypes observés étaient les suivants : 1 C282Y homozygote, 4 H63D homozygotes, 1 C282Y/H63D hétérozygote composite, 3 C282Y hétérozygotes, 24 H63D hétérozygotes et 1 S65C hétérozygote ; soit une fréquence, sur les 98 chromosomes analysés, de 6,1%, (versus 4,2% dans une population témoin de même origine) pour la mutation C282Y, de 33,7%, (versus 16%) pour la mutation H63D et de 1,0% pour la mutation S65C. Aucune des autres mutations, rares ou privées, du gène HFE n'a été révélée par D-HPLC. Cependant, cette analyse a permis l'identification de quatre variations : une dans l'intron 2 (IVS2 + 4 T->C), deux dans l'intron 4 (IVS4 - 44 T->C et IVS 4 - 50 A->G) et une dans la région non codante de l'exon 6 (ATG + 61 C->T). **Conclusion** : La fréquence élevée de la mutation H63D du gène HFE sur les 98 chromosomes PCT analysés, qui est comparable à celle qui a précédemment été rapporté chez des malades italiens (28,7 versus 12%), supporte l'hypothèse de l'implication du gène HFE dans l'expression clinique de la porphyrie cutanée.

280. Diagnostic Génétique

GUITTARD Caroline¹, CARLES Soukeyna¹, MALZAC Perrine², COSTA Pierre³, HAIRION Dominique⁴, CLAUSTRES Mireille¹, DES GEORGES Marie¹

1 Laboratoire de Génétique Moléculaire IURC 641 Avenue du Doyen G. Giraud - Montpellier France

2 Unité de Génétique Moléculaire, Département de génétique médicale, CHU Marseille

3 Service d'Urologie-Andrologie-CHU Nîmes

4 Institut de biologie de la reproduction, Marseille

METHODE DE CARACTERISATION RAPIDE ET FIABLE PAR PCR FLUORESCENTE DE LA SEQUENCE REPETEE (TG)_n DANS L'IVS8 DU GENE CFTR. APPLICATION A L'ETUDE DE 121 PATIENTS PORTEURS D'UNE AGENESIE BILATERALE DES CANAUX DEFERENTS

La séquence polymorphe (TG)_m(T)_n dans l'IVS8 du gène CFTR est responsable de l'épissage alternatif de l'exon 9 qui conduit à un déficit quantitatif de protéine CFTR. L'association de ces deux loci très polymorphes reste difficile à analyser par les méthodes couramment employées lors de la recherche d'anomalies du gène CFTR : images très complexes de la PCR-DGGE, difficultés de lecture des séquences en présence de deux éléments répétés.

L'identification de l'allèle (T)_n (5, 7, ou 9T) est réalisée d'après la technique décrite par Chillon *et al* en 1995. Pour compléter cette analyse nous avons mis au point l'étude du locus (TG)_m (9 à 13 répétitions) en amplifiant le fragment à l'aide du primer 9i5 (Zielenski *et al*.1991) et d'un nouveau primer fluorescent R18TG qui évite l'amplification du locus (T)_n adjacent. L'analyse est effectuée sur séquenceur automatique (Applied Biosystem) à l'aide du logiciel Genescan.

Cette technique rapide nous a permis d'étudier le locus polyvariant (TG)_m(T)_n pour chacun de nos patients ABCD.

Cette association est particulièrement intéressante pour les patients porteurs de l'allèle 5T : 40 patients hétérozygotes (33,06%) et un homozygote (TG)₁₁(T)₅. La ségrégation familiale a pu être effectuée chez 33 patients : 24 (72,72%) sont porteurs de l'haplotype (TG)₁₂(T)₅, 5 (15,15%) de l'haplotype (TG)₁₃(T)₅ et 4 (TG)₁₁(T)₅. 2 patients porteurs de l'haplotype (TG)₁₃(T)₅ portent en cis la mutation S1235R.

Cet haplotypage est indispensable pour l'étude de certaines mutations telles que la R117H pour lesquelles l'effet pathogène dépend de l'association avec les loci (TG)_m(T)_n.

281. Diagnostic Génétique

LE BER Isabelle¹, CAMUZAT Agnès¹, BROGLIN Dominique², CASTELNOVO Giovanni³, BRICE Alexis^{1,4}, DURR Alexandra^{1,4}

1 INSERM U 289 B, timent Pharmacie Hôpital Salpêtrière PARIS cedex 13 France

2 Hôpital Henri Gastaut, Marseille

3 CHU Nîmes

4 Département de génétique, Hôpital Salpêtrière, Paris

L'ATROPHIE DENTATO-RUBRO-PALLIDO-LUYSIENNE PARMIS LES ATAXIES CÉRÉBELLEUSES AUTOSOMIQUES DOMINANTES.

L'atrophie dentato-rubro-pallido-luisienne (DRPLA) est une affection neurodégénérative rare, autosomique dominante liée à une mutation instable CAG sur le chromosome 12 (49-88). Elle se manifeste par une ataxie cérébelleuse, une épilepsie myoclonique, des mouvements anormaux et une démence. La fréquence relative parmi les ataxies cérébelleuses autosomiques dominantes est de 20% au Japon et de moins de 1% en Europe. Nous rapportons les résultats de l'analyse pour cette mutation de 366 familles d'ataxies autosomiques dominantes et 393 cas sporadiques d'origine géographique variée, pour lesquelles les mutations SCA1, 2, 3, 6, 7 ont été exclues.

Résultats : Nous avons identifié une famille et un cas sporadique censuré portant une expansion anormale de triplets CAG sur le chromosome 12, responsable de DRPLA.

Famille 1 : La proposante d'origine italienne présente une épilepsie myoclonique ayant débuté à 8 ans, une détérioration cognitive, une ataxie cérébelleuse et des mouvements choréiques. Elle porte un allèle anormal avec 67 répétitions CAG. Son père ne présente aucun symptôme, alors qu'une tante paternelle cadette présente les mêmes symptômes ayant débuté à 23 ans par un torticolis spasmodique, et est porteuse d'un allèle anormal avec 62 répétitions CAG.

Famille 2 : Le patient d'origine française présente une ataxie cérébelleuse et des myoclonies depuis l'âge de 37 ans et est porteur de 61 répétitions CAG.

Conclusion : Cette étude confirme que malgré une très faible prévalence, la DRPLA existe en France et que la pénétrance de cette maladie est âge-dépendante et peut être incomplète.

282. Diagnostic Génétique

LIREUX Barbara¹, LINGLART Agnès², ABEGUILE Geneviève¹, KOTTLER Marie-Laure¹

1 Dpt Génétique et Reproduction CHU de Caen Hôpital clemenceau - CAEN

2 Service D'endocrinologie Pédiatrique, Hôpital Saint-Vincent de Paul, Paris

MUTATIONS DU GÈNE GNAS1 ET OSTÉODYSTROPHIE HÉRÉDITAIRE D'ALBRIGHT : UN GÈNE; DEUX PHÉNOTYPES

Le gène GNAS1 code pour la protéine Galphas qui fait partie du complexe hétérotrimérique des protéines G couplées aux récepteurs à 7 domaines transmembranaires. Des mutations perte de fonction du gène GNAS1 sont décrites à l'état hétérozygote chez des patients présentant une Ostéodystrophie héréditaire d'Albright (AHO) associée à une diminution de l'activité de la protéine Gs et une résistance à la PTH (pseudohypoparathyroïdie de type 1a ou PHP1a). Pour expliquer l'existence de la variabilité de l'expression clinique au sein d'une même famille (avec ou sans résistance hormonale) l'hypothèse d'une empreinte parentale est avancée : la résistance hormonale apparaît lorsque la mutation siège sur l'allèle d'origine maternelle.

Nous avons étudié 28 patients issus de 25 familles non apparentées présentant un tableau de PHP1a et 13 patients avec AHO, baisse de Gs sans résistance hormonale (pseudopseudohypoparathyroïdie ou PPHP).

Des mutations ont été identifiées chez 22 sujets avec un tableau typique de PHP1a (78%) et 38% des sujets avec PPHP. Parmi ces derniers, il n'existe pas de mutations chez les sujets non apparentés à des sujets PHP1a.

Nous avons confronté ces résultats aux données cliniques et biologiques. Chez les sujets PHP1a les signes cliniques les plus

évoqueurs sont : le faciès arrondi (90%), la brachymétacarpie (85%), l'obésité (58%) et la petite taille (62%). L'activité Gs est basse (97%), il y a toujours une résistance à la PTH et dans 90% des cas à la TSH.

Le profil clinique et biologique des patients PPHP avec ou sans mutation reste difficile à établir.

283. Diagnostic Génétique

MICHEL-CALEMARD Laurence¹, OLLAGNON Elisabeth², CORDIER Marie-Pierre³, PRIEUR Fabienne⁴, STREICHENBERGER Nathalie⁵, F⁶, PLAUCHU Henri⁷, GUIBAUD Pierre⁸, MOREL Yves¹

1 Biochimie Endocrinienne et Moléculaire Hôpital Debrousse 29 rue Soeur Bouvier - Lyon cedex 05 France

2 Service de Génétique, Hôpital de la Croix-Rousse, Lyon

3 Service de Génétique, Hôpital Edouard Herriot, Lyon

4 Service de Pédiatrie et Génétique, Hôpital Nord, StEtienne

5 Laboratoire d'Anatomie Pathologique, Hôpital Neurologique, Lyon

6 Service d'Explorations Fonctionnelles Musculaires, Hôpital de St Jean Bonnefonds, St Etienne

7 Service de Génétique, Hôtel-Dieu, Lyon

8 Service de Pédiatrie et Génétique, Hôpital Debrousse, Lyon

SEQUENCAGE DE 78 EXONS DU GÈNE DE LA DYSTROPHINE DANS LES MYOPATHIES DE DUCHENNE ET BECKER : IDENTIFICATION DE 42 MUTATIONS PONCTUELLES.

En 1996, nous avons repris le diagnostic moléculaire des dystrophinopathies de la région Rhône-Alpes, effectué auparavant dans deux laboratoires différents. 1816 DNA appartenant à 326 familles sont réétudiés progressivement selon la demande des cliniciens. Sur 161 familles étudiées, 81 délétions ont été identifiées par PCR multiplex 18 exons (50 %).

En l'absence de délétion, se pose le problème de la stratégie d'exploration des patients. Si une biopsie musculaire est réalisable ou disponible, l'anomalie responsable est recherchée par séquençage du cDNA (5 mutations, 1 délétion, 1 duplication).

Si la biopsie n'est pas réalisable, le choix stratégique devient délicat. Etant donnée la grande taille du gène, un séquençage systématique de tous les exons ne paraît pas à priori une technique adaptée. C'est cependant celle que nous avons choisie pour plusieurs raisons : 1) nous possédons depuis 1992 un séquenceur de première génération, ABI 373, non adapté aux techniques de screening, 2) les patients étant hémizygotés, une seule séquence suffit généralement pour explorer un exon. Environ 2 gels suffisent pour séquencer tous les exons d'un patient, 3) les prélèvements sont souvent anciens et les patients inaccessibles pour une biopsie musculaire.

Certains exons sont amplifiés ensemble (8-9, 10-11, 14-15, 24-25, 31-32, 35-36, 40-41, 70-71, 72-73, 75-76) permettant de réduire le nombre de PCR (68 au lieu de 78). La taille réduite de l'intron 14 permet le séquençage des exons 14-15 avec une seule amorce.

L'exploration de 67 patients atteints de dystrophinopathies (sans délétion après PCR multiplex) a permis de mettre en évidence 4 délétions en dehors des hot-spots et 42 mutations ponctuelles (69% de détection). Parmi les 21 patients sans mutation, seuls 5 ont été complètement explorés. Ces patients doivent présenter des duplications passées inaperçues ou des mutations introniques.

284. Diagnostic Génétique

MAITRE Marianne¹, CROZE S¹, CHEVALIER-PORST F¹, DEBOUVERIE M², WAGNER M³, GOUTTARD M⁴, STREICHENBERGER N⁵, GONNAUD P-M⁶, BOULETREAU P⁷, MOUSSON de CAMARET B¹

Laboratoire de Biochimie Hôpital Debrousse 29, rue Soeur Bouvier - Lyon France
2 Hôpital Central Nancy
3 Hôpital Bon Secours Metz
4 CH Bourg en Bresse
5 Hôpital Neurologique Lyon
6 CH Lyon Sud Pierre-Bénite
7 Hôpital Edouard Herriot Lyon

MUTATIONS DU GÈNE DE LA THYMINO PHOSPHORYLASE DANS LE SYNDROME MNGIE. DIAGNOSTIC DIFFÉRENTIEL DES FORMES TYPIQUES ET VARIANTES : À PROPOS DE TROIS CAS.

Le syndrome MNGIE (Mitochondrial NeuroGastroIntestinal Encephalomyopathy), de transmission autosomique récessive, est une entité clinique rare, survenant entre l'âge de 10 et 40 ans et définie par les critères suivants : troubles chroniques gastro-intestinaux sévères avec cachexie, manifestations neurologiques (neuropathie périphérique, ptosis, ophtalmoparésie), leucoencéphalopathie. L'analyse du muscle révèle des anomalies mitochondriales morphologiques, une déplétion partielle associée ou non à la présence de délétions multiples de l'ADN mitochondrial. Ce syndrome est relié depuis 1999 à des mutations du gène de la thymidine phosphorylase (TP), conduisant à une perte de l'activité TP et secondairement à un défaut de réplication de l'ADN mitochondrial.

Nous décrivons trois patients dont deux, issus d'une même fratrie et présentant un syndrome MNGIE typique. L'activité TP a été trouvée nulle dans les leucocytes des deux patients et le séquençage du gène a démontré que les patients étaient hétérozygotes composites pour deux mutations dont l'une, originale : 1) une insertion dans l'exon 3 (699insT) conduisant à un décalage de la trame de lecture et à l'apparition prématurée d'un codon stop ; 2) une mutation dans le site receveur d'épissage de l'intron 8 (g3867a). En revanche, l'activité TP a été trouvée normale et aucune mutation n'a été identifiée chez le troisième patient, présentant tous les critères du syndrome MNGIE, à l'exception de la leucoencéphalopathie.

En conclusion, la mesure de l'activité TP constitue une approche rapide du diagnostic différentiel des formes typiques et variantes du syndrome MNGIE, pathologie mitochondriale secondaire à un dysfonctionnement du métabolisme des nucléosides.

285. Diagnostic Génétique

NGUYEN Karine, Krahn Martin, Labelle Véronique, Lévy Nicolas

Laboratoire de Génétique Moléculaire - Département de Génétique Médicale, Hôpital d'enfants de la Timone - Marseille cedex 05 France

ETUDE MOLÉCULAIRE DU GÈNE DE LA DYSFERLINE DANS LES MYOPATHIES DES CEINTURES (LGMD2B) ET LA MYOPATHIE DISTALE DE MIYOSHI (MM).

Les dystrophies musculaires des ceintures ou limb-girdle muscular dystrophies (LGMD) constituent un groupe de pathologies cliniquement et génétiquement très hétérogènes. Parmi les dystrophies musculaires de transmission autosomique récessive, deux phénotypes distincts, LGMD2B proximale et myopathie distale de Miyoshi, sont causés par des mutations du même gène, la DYSFERLINE. Ce dernier contient 55 exons codants répartis sur une distance d'environ 150 Kb d'ADN génomique et est transcrit en un ARNm de 6,5 Kb codant pour une protéine de 2088 acides aminés. La protéine de la DYSFERLINE est associée à la membrane des fibres musculaires squelettiques, mais sa fonction biochimique et cellulaire demeure à ce jour inconnue.

Compte-tenu de la taille, du nombre d'exons et de l'absence de grands réarrangements décrits, l'exploration du gène de la dysferline à la recherche de mutations ponctuelles est une t,che

particulièrement complexe, longue et coûteuse dans un contexte de diagnostic et de conseil génétique. C'est pour cette raison que très peu d'équipes en Europe et aucune en France ne se sont lancées dans son exploration. Nous avons conduit une analyse mutationnelle du gène de la DYSFERLINE sur une série de patients présentant une myopathie proximale de type LGMD2B ou distale de type Miyoshi avec déficit en dysferline prouvé par l'étude immunohistochimique de la biopsie musculaire ou par Western-blot. La stratégie d'analyse a comporté un screening initial des 55 exons du gène par SSCP (automate Genephor-Amersham) suivi par le séquençage des exons présentant un profil de migration anormal. Nous avons ainsi pu mettre en évidence plusieurs nouvelles mutations présentes à l'état homozygote ou hétérozygote composite. Parmi les mutations qui seront rapportées, une nouvelle mutation, 1765-1766 insA dans l'exon 15 du gène entraîne un décalage du cadre de lecture et introduit un codon stop prématuré (R589fsX608). Cette mutation, présente à l'état homozygote chez un patient atteint d'une myopathie de Miyoshi atypique, résulte probablement en une perte de fonction totale de la protéine et sera particulièrement discutée. Notre étude, outre la difficulté conceptuelle de l'exploration moléculaire du gène de la DYSFERLINE en partie liée également à la présence de nombreux polymorphismes dans sa séquence codante, démontre le caractère absolument indispensable d'une approche clinique et d'une étude protéique préalable. Enfin, le screening des mutations préalable au séquençage sera très largement facilité par l'utilisation de la technique de DHPLC.

286. Diagnostic Génétique

DORAY Bérénice¹, GIRARD-LEMAIRE Françoise¹, FAVRE Romain², GASSER Bernard³, FLORI Elisabeth¹

1 Laboratoire de Cytogénétique Hôpital de Haute-pierre Avenue Molière - STRASBOURG Cedex FRANCE

2 Service de Gynécologie-Obstétrique, CMCO-SIHCUS, SCHILTIGHEIM

3 Service d'Anatomie Pathologique, Hôpital Civil, STRASBOURG

ANOMALIES DE FERMETURE DU TUBE NEURAL ASSOCIÉES À UNE TRISOMIE PARTIELLE DU BRAS COURT DU CHROMOSOME 2 :

Notre observation concerne un couple d'origine turque dont la première grossesse est marquée par la mise en évidence échographique, à la treizième semaine d'aménorrhée, d'un craniorachischisis apparemment isolé. Un caryotype sur trophoblaste est réalisé et met en évidence, sur toutes les mitoses examinées, un allongement du bras long d'un chromosome 15. L'analyse du caryotype de la mère permet de retrouver une translocation équilibrée entre le bras court d'un chromosome 2 et le bras long d'un chromosome 15 [46, XX, t(2; 15)(p22; q26)], responsable, chez le fœtus, d'une trisomie 2p et d'une monosomie 15q partielles. Une interruption médicale de grossesse est réalisée et l'examen fœtopathologique confirme l'existence d'un craniorachischisis isolé. Lors de la grossesse suivante, l'échographie met de nouveau en évidence, à 10 semaines d'aménorrhées, une anomalie de la fermeture du tube neural sous forme d'une anencéphalie. Le caryotype sur villosités choriales retrouve le même déséquilibre que celui observé lors de la précédente grossesse. Une interruption médicale de grossesse est réalisée à 11 semaines d'aménorrhée et l'examen fœtopathologique confirme l'existence d'une déhiscence totale de la voûte crânienne avec anencéphalie sans dysraphie associée.

Les anomalies de fermeture du tube neural constituent un groupe de malformations fréquentes chez l'homme, mais rarement associées à des anomalies chromosomiques qui doivent néanmoins être recherchées systématiquement. Parmi les 67 observations de trisomies 2p partielles rapportées dans la littérature, une vingtaine comporte des anomalies de fermeture du tube neural, soit isolées, soit associées à d'autres malformations et comportant, de façon constante, une trisomie de la bande 2p24. La trisomie de la bande 2p24 semble ainsi représenter un facteur de prédisposition à la survenue d'anomalies du tube neural et certains gènes, localisés dans cette

région et connus pour intervenir dans le développement précoce du tube neural, pourraient être des gènes candidats intéressants à l'origine de certains dysraphismes.

287. Diagnostic Génétique

MALLET Delphine^{1,2}, **NIVOT Sylvie**³, **TARDY Véronique**^{1,2}, **LIMAL Jean-Marie**⁴, **DAVID Michel**⁵, **FOREST Maguelone G**¹, **MOREL Yves**^{1,2}

1 INSERM U329 LYON France

2 Laboratoire de Biochimie Endocrinienne et Moléculaire, Hôpital Debrousse, 29, rue Soeur Bouvier - LYON Cedex 05 France

3 Pédiatrie, CHU de Caen

4 Pédiatrie, Centre Robert Debré, CHU d'Angers

5 Pédiatrie, Centre Hospitalier Lyon Su

ETUDE MOLÉCULAIRE D'UNE CAUSE RARE D'AMBIGUÏTÉ SEXUELLE ET D'AMÉNORRÉE PRIMAIRE: LE DÉFICIT EN 17ALPHA-HYDROXYLASE/17,20-LYASE.

Le diagnostic de déficit en 17alpha-hydroxylase/17,20-lyase, maladie à transmission autosomique récessive rare (environ 180 cas décrits), est évoqué soit à la naissance devant une ambiguïté sexuelle associée à des taux anormaux de progestérone, 17-OHProgestérone et d'androgènes, soit à la puberté devant un impubérisme et une aménorrhée primaire.

Le gène CYP17 code pour une enzyme assurant deux étapes de la stéroïdogenèse, l'hydroxylation en position 17 de la prégnéolone et la progestérone et la coupure de la liaison C17-C20 des dérivés 17alpha-hydroxylés formant les précurseurs des stéroïdes sexuels. Selon l'atteinte, on distingue différentes formes de déficit : mixte complet, mixte partiel et isolé en 17,20-lyase.

Le séquençage du gène CYP17 a été réalisé dans 10 familles (1 déficit mixte complet, 4 déficits mixtes partiels et 5 déficits isolés en 17,20-lyase). Quatre mutations ont été identifiées : une nouvelle mutation D103H dans un cas de déficit mixte partiel, *E330/331 dans le cas de déficit mixte complet, R358Q dans un cas de déficit isolé en 17,20-lyase et *F53/54 dans un cas de déficit mixte partiel. Il faut noter dans cette dernière famille l'existence d'un déficit en 21-hydroxylase.

Dans les familles sans mutation, une étude de ségrégation des allèles a été réalisée à l'aide de polymorphismes intragéniques et de microsatellites. Dans deux cas seulement, cette étude a permis d'éliminer la responsabilité du gène CYP17. Dans un cas, l'association à une surdité nous conduit à reconsidérer le diagnostic et la recherche du gène candidat. Dans tous les autres cas, l'étude de l'ARN et la recherche d'autres gènes candidats sont en cours.

288. Diagnostic Génétique

VINCENT Marie-Claire¹, **Raffaella GALLAI**², **David OLIVIER**¹, **Claude SPEEG-SCHATZ**², **Jacques FLAMENT**², **Patrick CALVAS**¹, **Hélène DOLLFUS**²

1 Service de Génétique CHU de Toulouse Hôpital Purpan - Toulouse FRANCE

2 Service d'Ophthalmologie, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg

UNE NOUVELLE MUTATION (IVS 4 +5 G >C) DU GÈNE PAX6 DANS UNE FAMILLE DE NYSTAGMUS CONGÉNITAL

Une enfant de 10 mois, première née d'un couple non-apparenté, présente un nystagmus congénital. L'examen du segment antérieur de l'œil révèle une hypoplasie irienne inférieure à droite et un colobome atypique à gauche. On note une hypoplasie fovéale bilatérale. L'examen familial témoigne de l'existence d'un nystagmus congénital associé à une hypoplasie irienne modérée et une hypoplasie fovéale chez la mère de la proposante et deux tantes maternelles. Parmi les 3 sœurs, une seule présente un colobome irien atypique. L'implication d'une anomalie du gène PAX6 est suspectée.

Une mutation du site donneur d'épissage de l'intron 4 est retrouvée. L'évaluation informatisée de l'impact de cette mutation prédit l'inactivation du signal donneur d'épissage et

l'activation potentielle d'un site cryptique 599 nucléotides en aval. L'analyse des ARNm confirme son effet délétère et l'instabilité du messager muté générant à la fois une haploinsuffisance et une protéine tronquée dépourvue de tout site fonctionnel.

L'association d'un nystagmus congénital, d'une hypoplasie fovéale isolée, avec ou sans défaut important de l'iris appartient donc au spectre clinique des mutations de PAX6. Les génotypes rapportés dans ces formes variantes ne permettent pas d'établir une corrélation avec le phénotype rencontré.

289. Diagnostic Génétique

RICHARD Pascale¹, **CHARRON Philippe**², **CARRIER Lucie**³, **LEDEUIL Céline**¹, **DUBOURG Olivier**⁴, **DESNOS Michel**⁵, **BOUHOUR Jean Brieuc**⁶, **Schwartz K**³, **Hainque B**¹, **Komajda M**²

1 Service de Biochimie Hôpital de la Salpêtrière 47 Bld de l'hôpital - Paris France

2 Service de cardiologie, Hôpital de la Salpêtrière

3 INSERM UR523 Hôpital de la Salpêtrière

4 Service de Cardiologie, Hôpital Ambroise Paré, Boulogne

4 Service de Cardiologie, Hôpital Ambroise Paré, Boulogne

5 Service de Cardiologie, hôpital Européen Georges Pompidou, Paris

6 Service de Cardiologie, Nantes

DISTRIBUTION DES GÈNES RESPONSABLES DE CARDIOMYOPATHIE HYPERTROPHIQUE DANS 102 FAMILLES GÉNOTYPÉES

Objectifs. La Cardiomyopathie Hypertrophique familiale (CMH) est une maladie autosomique dominante génétiquement hétérogène causée par des mutations dans dix gènes codant des protéines du sarcomère cardiaque. L'objectif de ce travail a été d'analyser systématiquement 8 gènes (MYH7, MYBPC3, TNNI3, TNNT2, MYL2, MYL3, TPM1, ACTC) dans un panel de 170 familles et de déterminer la répartition des gènes morbides dans 102 familles génotypées.

Méthodes et Résultats. Les probands de 170 familles atteintes de CMH ont été analysés sur la totalité des 8 gènes par une technique de détection de mutations. L'identification d'une mutation à l'origine de la maladie à été réalisée dans 102 familles. Parmi les 102 familles génotypées, 54 familles sont mutées dans le gène MYBPC3 (53%); 23 familles dans le gène MYH7 (32%); 7 familles dans le gène TNNI3 (7%); 6 familles dans le gène MYL2 (6%), 3 familles dans le gène TNNT2 (3%) et aucune mutation n'a été trouvée dans les gènes TPM1 et ACTC. De plus, 8 de ces 102 familles génotypées sont caractérisées par un statut génétique complexe: doubles hétérozygotes, hétérozygotes composites ou homozygotes.

Conclusions. L'analyse systématique des gènes impliqués dans la CMH permet d'identifier une mutation dans 65% des familles. Les deux gènes les plus fréquents (MYBPC3 et MYH7) sont impliqués dans 85% des familles génotypées. De plus, 7% des familles présentent plusieurs mutations et les analyses phénotypiques préliminaires suggèrent un effet dose du gène. Ces résultats ont des implications importantes dans la stratégie d'identification de mutation dans les CMH, dans l'interprétation des relations phénotype-génotype ainsi que dans la consultation de conseil génétique.

290. Diagnostic Génétique

RICHARD Pascale¹, LEDEUIL Céline¹, BIETH Eric², CARRIER Lucie³, CHARRON Philippe⁴, SCHWARTZ Ketty³, KOMAJDA Michel⁴, HAINQUE Bernard¹

1 Service de Biochimie B Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière
47 Bld de l'hôpital - Paris France

2 Service de Génétique, Toulouse

3 INSERM UR523, hôpital de la Salpêtrière, Paris

4 Service de Cardiologie, hôpital de la Salpêtrière, Paris

ANALYSE DU GÈNE PRKAG2 DANS LA CARDIOMYOPATHIE HYPERTROPHIQUE FAMILIALE ASSOCIÉE AU SYNDROME DE WOLFF PARKINSON WHITE

Objectifs. Le gène PRKAG2 codant la sous unité régulatrice cardiaque spécifique g2 de la protéine kinase A à été impliqué récemment dans un phénotype particulier de cardiomyopathie hypertrophique familiale (CMH) associant un syndrome de Wolff-Parkinson-White (WPW). L'objectif de ce travail à été de mettre au point l'analyse de ce gène localisé en 7q36 et de tester 12 familles présentant soit une CMH associée à un syndrome de WPW, soit une CMH compliquée d'une fibrillation auriculaire (AC/FA).

Patients et Résultats. Quatre familles avec CMH + WPW non génotypées sur les gènes majeurs de la CMH, 7 familles avec CMH + AC/FA dont 4 étaient mutées sur un des gènes responsables de la CMH (MYH7 ou MYBPC3) et 1 famille avec WPW sans CMH ont été analysées sur la totalité des 12 exons du gène PRKAG2 par une technique de détection de mutations associée au séquençage. L'identification d'une mutation à l'origine de la maladie à été obtenue dans deux de ces familles. Une famille est porteuse de la mutation V95A et l'autre de la mutation E265K. Ces deux familles sont caractérisées par un phénotype associant une CMH avec un WPW et n'étaient pas porteuses de mutations dans les gènes majeurs associés à la CMH. Aucune mutation n'a été trouvée dans les familles avec CMH compliquée de AC/FA ni celle présentant un syndrome de WPW sans CMH.

Conclusions. Les mutations dans le gène PRKAG2 sont à l'origine de CMH associées a un syndrome de WPW. L'implication de ce gène dans les CMH compliquées de fibrillation auriculaire et dans le WPW isolé n'a pas été retrouvée dans notre échantillon testé.

291. Diagnostic Génétique

TARDY Véronique¹, DORCHE C², TOUBLANC J.E³, NIVELON J.L³, MOREL Y¹, Collaboration des pédiatres endocrinologues français.

1 Laboratoire de Biochimie Moléculaire et Endocrinienne, INSERM U329, Hôpital Debrousse 29 rue Soeur Bouvier - Lyon France

2 Laboratoire de Biochimie Pédiatrique, Hôpital Debrousse, Lyon

3 AFDPE Paris

VALIDATION PAR LA BIOLOGIE MOLÉCULAIRE DU DÉPISTAGE NÉONATAL DU DÉFICIT EN 21-HYDROXYLASE EN FRANCE

L'objectif du dépistage néonatal du déficit en 21-hydroxylase (21OHD) est de détecter les formes classiques (FC) avec ambiguïté sexuelle chez les filles et perte de sel clinique.

Nous avons étudié 276 des enfants dépistés en France depuis 1985 (170 garçons, 106 filles), la plupart née avant 1997 (194). Méthodes : dosage de 17OHP sur buvard au 3ème jour avec un seuil à 60 nmol/l. Le gène CYP21 est étudié en deux étapes : recherche des mutations les plus fréquentes, séquençage total du gène en cas de génotype incomplet ou discordant.

Résultats : Tous les enfants ont un 21OHD sauf deux avec un déficit en 3₋HSD.

Les génotypes sont classés selon la sévérité des mutations : allèle nul/nul (87), ISV2-13A/C>G/ISV2-13A/C>G (34), nul/ISV2-13A/C>G (83), I172N/nul (39), I172N/ISV2-13A/C>G (19), I172N/I172N (8), allèle modéré/nul (3), modéré/ISV2-13A/C>G (1), modéré/I172N (1). Les 4 faux-négatifs (17OHP : 52-65 nmol/L) ont une forme virilisante pure (I172N/sévère). Les

enfants avec un génotype nul/nul ont une 17-OHP plus élevée que ceux avec un génotype I172N/nul. Les 8 filles avec une FC sans ambiguïté ont une forme virilisante pure, avec sur un allèle au moins, la mutation I172N (7/8) ou ISV2-13A/C>G. Seules 5 formes non classiques (FNC) ont été dépistées avec une 17-OHP proche du seuil. Conclusion : Le seuil retenu en France détecte presque exclusivement la FC de 21OHD, contrairement à d'autres pays. L'étude moléculaire est importante pour préciser la sévérité du phénotype, adapter le traitement et trancher dans les cas douteux.

292. Diagnostic Génétique

HERON Delphine¹, GARGIULO M², LAFORET P², RADVANYI H³, JEANPIERRE M⁴, EYMARD B²

1 Département de génétique Hôpital de la Salpêtrière Bd de l'hôpital PARIS FRANCE

2 Institut de myologie Hôpital de la Salpêtrière Bd de l'hôpital Paris

3 Laboratoire de génétique moléculaire, Hôpital A Paré, Boulogne

4 Laboratoire de Biochimie génétique, Hôpital Cochin Port Royal, Paris

CADRE ET TEMPORALITE POUR LES TESTS PRESYMPTOMATIQUES DANS LES MYOPATHIES A REVELATION TARDIVE : EXPERIENCE DE L'INSTITUT DE MYOLOGIE

Le nombre croissant de gènes responsables de maladies génétiques à révélation tardive entraîne une demande accrue de tests génétiques chez des patients asymptomatiques. Un tel test peut être lourd de conséquences s'il n'est pas correctement encadré. C'est pourquoi nous avons mis en place un protocole basé sur la pluridisciplinarité et la temporalité.

POPULATION

Sur une période de 4 ans, 98 patients ont été vus à l'Institut de Myologie pour un diagnostic présymptomatique : myotonie de Steinert (60) ou myopathie facio-scapulo-humérale (38), à risque de 50% d'être porteurs du gène et se considérant comme asymptomatiques.

PROTOCOLE

1) Consultation pluridisciplinaire dans la même journée (successivement le généticien clinicien et un psychologue).

2) Temps de réflexion.

3) Prélèvement pour étude moléculaire.

4) Résultat.

RESULTATS

Myotonie de Steinert

Parmi les 60 patients, 14 ont été exclus de l'étude (12 symptomatiques, et 2 obligatoirement porteurs du gène). Parmi les 46 patients, 16 (35%) ont décidé de ne pas donner suite à leur demande de test présymptomatique. 32 examens moléculaires ont été réalisés (69%)

Myopathie Facio Scapulo Humérale

Parmi les 38 patients, 19 (50%) ont décidé de ne pas donner suite à leur demande et 19 études moléculaires ont été réalisées.

DISCUSSION

L'esprit de la consultation du test présymptomatique des maladies musculaires est d'anticiper l'impact du résultat sur la vie future de candidats, et pas seulement de le prédire. Des nuances existent dans l'incitation au test génétique en fonction des pathologies. Ce protocole est maintenant étendu aux cardiomyopathies, la myopathie oculopharyngée et la myopathie d'Emery-Dreifuss.

293. Diagnostic Génétique

VINCENT Marie Claire¹, COLOMBIES Christiane¹, COSSEE Mireille², BIANCALANA Valérie², MANDEL Jean Louis², CALVAS Patrick¹

1 Service de Génétique Médicale Hôpital PURPAN, Pav Lefebvre 1 place Bayla - TOULOUSE Cedex France

2 Laboratoire de Diagnostic Génétique, Faculté de Médecine, STRASBOURG

STRATÉGIE DIAGNOSTIQUE DES DYSPLASIES ECTODERMiques ANHIDROTiques

Les dysplasies ectodermiques anhidrotiques appartiennent à un groupe large et hétérogène de maladies et sont caractérisées par la triade : anhidrose, hypotrichose et anomalies dentaires. Le diagnostic du syndrome HED se heurte à une hétérogénéité clinique et génétique. En effet plusieurs loci ED1, EDAR et NEMO sont associés à des phénotypes comparables et à différents modes de transmission.

Nous avons à ce jour réalisé l'étude du gène ED1 chez 70 cas familiaux ou sporadiques de HED. Une mutation a été identifiée dans 70% des cas. Tous les sujets masculins mutés présentent un phénotype complet mais la maladie a une expressivité plus variable chez les vectrices. Chez les vectrices définies, les signes les plus fréquemment rencontrés sont les anomalies dentaires (72%) et des cheveux (62%). La présence d'un phénotype sévère ou, l'association de ces deux groupes d'anomalies aboutit à la détection d'une mutation du gène ED1 chez 33% des femmes présentant ces signes dans les formes sporadiques et chez 50% dans les formes familiales. La recherche d'une mutation du gène ED1 doit inaugurer la démarche diagnostique d'une HED dans les formes familiales compatibles avec une transmission liée à l'X mais aussi dans les formes sporadiques quelque soit le sexe du cas index. La stratégie d'analyse du gène comprend l'analyse de l'exon 3 qui regroupe à lui seul 25% des mutations, puis par ordre d'implication l'analyse des autres régions codantes du gène (exons 5, 9, 8, 1, 7, 6 et 4). En l'absence de mutations du gène ED1, l'existence d'une hétérogénéité génétique du syndrome impose l'analyse du gène EDAR dans les formes sporadiques et/ou familiales dont la transmission est autosomique et, du gène NEMO si le tableau de HED est associé à un déficit immunitaire documenté.

294. Diagnostic Génétique

FELLMANN Florence^{1,2}, CLAVEQUIN Marie-Claire^{1,2}, ROUX Christophe^{1,2}, BITTARD Hugues^{2,3}, BRESSON Jean-Luc^{1,2}

1 Service de Génétique-Immunocytologie-BDR BESANCON FRANCE

2 EA MENRT3185 CHU Saint-Jacques - Besançon

3 Service d'Urologie, Besançon

FREQUENCE DES MICRODELETIONS AZFa DANS LES CAS D'INFERTILITES MASCULINES AVEC AZOOSPERMIE IDIOPATHIQUE

Des microdélétions moléculaires du bras long du chromosome Y sont identifiées dans 4 à 18 % des cas d'azoospermie ou d'oligozoospermie ; elles impliquent fréquemment la région AZFc et rarement la région AZFa. Le mécanisme responsable des microdélétions AZFa complètes a été récemment élucidé : recombinaison au niveau de séquences homologues de type HERV15. Au moins deux gènes de cette région pourraient être impliqués dans le phénotype d'infertilité : USP9Y et DBY, au niveau desquels des délétions de taille plus réduite ont été décrites.

L'étude prospective d'une série de 400 hommes présentant des troubles variés de la spermatogenèse a permis d'identifier 3 cas de délétions limitées à l'intervalle AZFa, chez des hommes présentant une azoospermie idiopathique. Dans deux cas l'analyse du remaniement a permis de confirmer la recombinaison au niveau des séquences HERV15, tandis que le point de cassure était plus distal dans la région AZfa dans un cas. De plus, l'analyse d'un patient présentant une délétion cytologique du bras long de l'Y a permis de localiser le point de cassure au niveau proximal de la région AZFa. La recherche complémentaire de délétion partielle impliquant les gènes

USP9Y et/ou DBY chez les 40 patients de notre série présentant une azoospermie idiopathique n'a pas permis de détecter d'anomalie.

La fréquence de microdélétions AZFa complètes dans notre série est supérieure à celle rapportée dans d'autres séries : 3/40 azoospermies idiopathiques (7,5%). Puisque ces microdélétions paraissent associées à un Sertoli-cell only syndrome, cette analyse biologique devrait être pratiquée préalablement aux explorations chirurgicales testiculaires.

295. Diagnostic Génétique

CALENDER Alain¹, VERCHERAT Cécile^{1,2}, LESPINASSE James³, BEZIEAU Stéphane⁴, BAUTERS Catherine⁵, NICCOLI-SIRE Patricia⁶, MURAT Arnaud⁷, RUSNIEWSKI Philippe⁸, PIGNY Pascal⁹, PORCHET Nicole¹⁰, MIGNON Michel¹¹, et les membres du GENEM (Groupe d'Etude des Néoplasies Endocriniennes Multiples)

1 Unité de Génétique Hôpital Edouard Herriot Pavillon E - LYON FRANCE

2 INSERM U-45 - Lyon

3 Service de cytogénétique - Chambéry

4 Unité de génétique moléculaire - Hôtel Dieu - Nantes

5 Service d'Endocrinologie - Hôpital Claude Huriez Lille

6 Service d'Endocrinologie - La Timone - Marseille

7 Service d'Endocrinologie - Hôtel Dieu - Nantes

8 Service d'Hépatogastroentérologie - Hôpital Beaujon - Paris

9 Unité de Génétique - Hôpital Claude Huriez - Lille

10 Unité de Biochimie génétique - Hôpital Claude Huriez Lille

11 Service d'Hépatogastroentérologie - Hôpital Bichat - Paris

MUTATIONS GERMINALES DU GÈNE DE LA NÉOPLASIE ENDOCRINIENNE MULTIPLE DE TYPE 1 (MEN1 - OMIM 131100) DANS UNE LARGE SÉRIE DE FAMILLES FRANÇAISES: RECHERCHE DE CORRÉLATIONS GÉNOTYPE-PHÉNOTYPE

Objectifs: l'étude représente les travaux du GENEM (Groupe d'Etude des Néoplasies Endocriniennes Multiples) en France à la recherche de mutations germinales du gène MEN1, codant la ménine, chez plus de 150 familles/patients présentant des atteintes évocatrices du syndrome NEM1 (OMIM 131100). L'expression clinique inclut chez un même patient et/ou des apparentés au premier degré d'atteintes hyperplasiques et/ou tumorales des glandes parathyroïdes, et/ou du pancréas endocrine, et/ou de l'anté-hypophyse, et/ou des glandes corticosurrénales, et/ou des tissus neuro-endocrines diffus thoraciques. Nous avons tenté de corréler les profils mutationnels au phénotype clinique et aux sites fonctionnels de liaison de la protéine MEN1 (ménine) avec des partenaires physiologiques nouvellement identifiés

Méthodes: la sélection clinique a été réalisée suivant les critères de Stockholm, le diagnostic de néoplasie endocrinienne multiple de type 1 étant réalisé devant un minimum de deux atteintes cardinales du syndrome. L'étude génétique est effectuée par séquençage systématique des exons du gène MEN1 et des bordures introniques à la recherche de mutations des sites d'épissage. Des techniques spécifiques (FISH) ont été utilisées dans des situations particulières à la recherche de délétions constitutionnelles

Résultats: nous avons identifié plus de 90 mutations distinctes dans cette série de familles. La localisation et le type des mutations montrent une très grande variabilité avec absence de corrélation génotype-phénotype significative sur un plan statistique. La position des mutations faux-sens est comparée aux sites fonctionnels potentiels de la ménine, produit du gène MEN1. Il existe très peu de points chauds de mutations et les données sont corrélées avec celles des séries internationales grâce à une base de données des mutations que nous avons établi dans le cadre du GENEM. Certaines mutations particulières sont détaillées, soit par leur type ou localisation particuliers, soit par le fait que des substitutions différentes au même codon pourraient conduire à une agressivité variable de la maladie. Une famille spécifique présente une large délétion constitutionnelle du gène NEM1 et des loci adjacents et fait l'objet d'une étude indépendante.

Discussion: la complexité des profils de mutations dans la néoplasie endocrinienne multiple de type 1 démontre la nécessité d'une collaboration étroite entre clinicien et généticien et l'approche en réseau de ces diagnostics sur le plan national. Un certain nombre de cas cliniques pose le problème de diagnostics différentiels avec d'autres syndromes de prédisposition aux tumeurs endocrines et des phacomatoses tels la NEM de type 2, la maladie de von Hippel Lindau et les formes isolées et familiales des hyperparathyroïdies primaires et des tumeurs hypophysaires. Ce point est amplement discuté. L'utilisation clinique en termes de suivi et de prise en charge thérapeutique ne peut s'appuyer sur l'interprétation d'un type ou de la localisation d'une mutation donnée, en l'absence de tests fonctionnels *in vitro* à ce jour.

Conclusions et perspectives: les recherches s'orientent actuellement sur les familles et patients présentant une NEM1 sans mutation germinale identifiée dans le gène de la ménine. Des recherches fonctionnelles sur les séquences promotrices sont en cours. La Néoplasie Endocrinienne Multiple de type 1, dont la fréquence est estimée entre 1/40000 et 1/20000, mais dont l'évocation est fréquente en pratique clinique courante, est un excellent modèle de la collaboration multidisciplinaire nécessaire pour une prise en charge optimale et intégrée des patients, depuis le diagnostic initial, jusqu'au bilan et suivi, incluant l'analyse génétique comme un puissant outil de diagnostic différentiel.

296. Diagnostic Génétique

TILL Marianne¹, RAOULX Marina¹, LEBON Pierre², GUIBAUD Pierre¹

1 Service Pédiatrie Génétique Hôpital DEBROUSSE 29 rue soeur Bouvier LYON

2 Service de virologie, hôpital Saint Vincent de Paul, PARIS

SYNDROME D'AICARDI GOUTTIÈRES: UNE MALADIE GÉNÉTIQUE A SUSPECTER DEVANT UNE SYMPTOMATOLOGIE DE FËTOPATHIE VIRALE NON DOCUMENTÉE

Nous rapportons l'observation d'un nourrisson de 15 mois, premier enfant d'un couple apparenté, qui présente une encéphalopathie à début néonatal avec arrêt du développement psychomoteur, microcéphalie acquise et calcifications intracérébrales.

Le diagnostic étiologique néonatal orientait vers une fetopathie virale qui n'a jamais pu être documentée.

Un bilan à 12 mois avec ponction lombaire, IRM et scanner cérébral, dosages d'interféron permettra de poser le diagnostic de syndrome d'Aicardi Gouttières.

Une étude génétique familiale est en cours, le gène de cette pathologie de transmission récessive autosomique étant localisé en 3p21.

297. Diagnostic Génétique

PEDEILLIER Karinne¹, VOELCKEL MA¹, MALZAC P¹, VO VAN C¹, TUFFERY S², MONCLA A¹

1 Lab génétique moléculaire Dprt de génétique médicale Hôpital de la Timone - Marseille FRANCE

2 Lab biochimie génétique – Montpellier

EVALUATION OF A MUTATION SCREENING STRATEGY FOR THE UBE3A GENE IN 33 PATIENTS FROM 25 FAMILIES WITH ANGELMAN SYNDROME

Angelman syndrome (AS) is a severe neurodevelopmental disorder which results from deficiencies of the maternal ubiquitin protein ligase 3A (UBE3A) gene caused by heterogeneous genetic alterations. This gene remains the only gene in the 15q11-q12 region found to play a role in the pathogenesis of AS. All UBE3A mutations reported so far were randomly distributed over the 2.6-kb major coding region including exons 8 to 16. The detection rates are around 30 % in non deletion/ non UPD/ non imprinting defect index cases, with an incidence of UBE3A point mutations in total AS patients estimated around 2-10 %. In this study, we investigated 33 patients from 25 families with a definite clinical diagnosis of AS and we evaluated 4 methods to establish a mutation screening

strategy for the UBE3A gene. Automated SSCP analysis was used to screen the UBE3A gene for point mutations in all patients, in combination with direct sequencing if mutation could not be detected. Since the majority of UBE3A identified mutations are truncating mutations, we developed the protein truncation test (PTT) as a possible alternative approach to rapidly detect such inactivating alterations in this large gene. The combination of the different techniques allowed us to identify 22 point mutations from 25 families (88%) which represents the highest percentage of mutation reported so far in AS.

298. Diagnostic Génétique

FAUGERE Valérie¹, Tuffery Sylvie¹, Blanchet Patricia², Claustres Mireille¹, Roux Anne-Françoise¹

1 IURC, Laboratoire de Génétique Moléculaire 641 Av du Doyen Gaston Giraud - Montpellier cedex 5 France

2 Conseil génétique, CHU de Montpellier

CRIBLAGE DE L'EXON ORF15 DU GÈNE RPGR A L'AIDE DU TEST DE TRONCATION DES PROTEINES (PTT)

Les Rétinites Pigmentaires liées à l'X sont parmi les plus sévères à cause de leur survenue précoce menant souvent à une perte significative de la vision avant l'âge de quatre ans. Six loci XLRP ont été localisés par linkage. Le locus RP3 (Xp21.1) est impliqué dans 70 % des XLRP dans les différentes populations ; leclonage du gène RPGR a permis, dans un premier temps, l'identification de mutations responsables de XLRP-RP3 dans 20 % des familles. Cependant, Vervoot & al ont récemment identifié dans ce gène un nouvel exon nommé ORF15 dans lequel ils ont identifié des mutations chez 60 % des patients XLRP analysés. Sur les 17 mutations décrites, 14 sont des délétions mutations frameshift. Au vu de ces résultats, il nous a paru intéressant d'utiliser le test PTT comme premier criblage du gène RPGR.

L'exon ORF15, d'une taille de 1.7 Kb, a été amplifié en une seule étape à partir de l'ADN génomique des patients dans une famille de 22 individus. Après séparation électrophorétique des produits de traduction et révélation par autoradiographie, les patients atteints ainsi que les femmes conductrices obligatoires montraient un pattern différent des individus sains. L'existence d'une mutation au niveau de cet exon a été vérifiée ensuite par séquençage : il s'agit d'une délétion de 2 paires de bases (483-484delGA). Cette mutation est retrouvée chez tous les garçons malades ainsi que chez toutes les conductrices obligatoires. De plus, cette mutation a été retrouvée chez 5 autres femmes de la famille dont le statut n'était pas déterminé cliniquement.

Ce résultat montre que le test PTT est une méthode rapide de détection des mutations introduisant prématurément un codon STOP, particulièrement utile pour scanner l'exon ORF15 du gène RPGR qui contient la majorité des mutations.

Ce travail a été financièrement soutenu par l'association SOS Rétinite Pigmentaire.

299. Diagnostic Génétique

GENDROT Chantal¹, BACQ Yannick², BRECHOT Marie-Claude³, ANDRES Christian¹

1 Laboratoire de Biochimie et Biologie Moléculaire Hôpital Bretonneau 2, bld Tonnellé - TOURS France

2 Service de Gastroentérologie, Hôpital Trousseau, Tours, France

3 Laboratoire de Biochimie, Hôpital Trousseau, Tours, France

UNE NOUVELLE MUTATION DU GÈNE MDR3 DANS UN CAS DE CHOLESTASE INTRAHEPATIQUE GRAVIDIQUE

La Cholestase Intrahépatique Gravidaire (CIG;147480) est une affection hépatique apparaissant au cours du deuxième ou troisième trimestre de la grossesse, et dont les signes disparaissent après l'accouchement.

Elle se traduit chez la mère par un prurit accompagné d'une élévation de la concentration sanguine des acides biliaires et/ou de l'activité sérique des transaminases. La maladie peut entraîner la mort fœtale *in utero* ou une prématurité.

Dans une forme de Cholestase Progressive Intra-hépatique Familiale (CPIF3; 602347) caractérisée par une atteinte hépatique précoce il a été mis en évidence des mutations du gène MDR3. Le gène MDR3 (Multidrug Resistance 3; 171060), impliqué dans la translocation de la phosphatidylcholine à travers la membrane canaliculaire de l'hépatocyte, a été proposé comme gène candidat dans la CIG : des mutations de ce gène ont été rapportées à l'état homozygote chez des patients dans deux familles consanguines de CPIF (De Vree *et al*, 1998). Dans une troisième grande famille consanguine, il a été rapporté simultanément des sujets atteints de CPIF porteurs homozygotes d'une mutation de MDR3 et des femmes atteintes de CIG, hétérozygotes pour la même mutation.

Dans une population de 20 femmes atteintes de CIG pure, c'est à dire sans cholestase en dehors de la grossesse, nous avons analysé par SSCP-séquençage 10 exons parmi les 28 du gène MDR3. Chez l'une de nos patientes, nous avons identifié une substitution C->T (R144X) qui entraîne la production d'une protéine tronquée.

Cette nouvelle mutation conforte le rôle du gène MDR3 dans la physiopathologie de la Cholestase Intra-hépatique Gravidaïque.

300. Diagnostic Génétique

BADENS Catherine¹, Thuret I², Mely L³, Merono F¹, Badier M⁴, Kister J⁵, Lena-Russo D¹, Mattei JF¹

1 CERGM, Faculté de Médecine, Hôpital d'enfant de la Timone Marseille France

2 Hématologie Pédiatrique, Hôpital d'enfant de la Timone, Marseille

3 Service de pneumologie, hôpital d'enfant de la Timone, Marseille

4 Service d'exploration fonctionnelle, Hôpital Sainte Marguerite

5 INSERM U 473, Le Kremlin-Bicêtre

ASSOCIATION D'UNE HÉMOGLOBINE S ET D'UN NOUVEAU VARIANT DE L'HÉMOGLOBINE À AFFINITÉ POUR L'O₂ DIMINUÉE: L'HB CANEBIÈRE BETA102(G4)ASN->HIS

A la suite d'un épisode de bronchiolite, un enfant de 5 mois a été hospitalisé en Mars 2001. Malgré la disparition rapide des symptômes pulmonaires, l'enfant présentait une diminution de la saturation en oxygène, stabilisée à 82%, se normalisant de façon transitoire sous oxygénothérapie. Toutes les investigations réalisées (cliniques, biologiques et radiologiques) étaient normales à l'exception de la mesure de l'affinité de l'hémoglobine pour l'O₂ (P50) qui montrait une affinité extrêmement diminuée (P50: 56mm de Hg pour une valeur normale de 26mm de Hg), figurant parmi les plus basses jamais décrites. Cet enfant était connu pour être porteur d'une hémoglobine S transmise par sa mère. Au vu des résultats de la P50, une étude de l'hémoglobine était à nouveau demandée et révélait la présence d'Hb F, d'Hb S mais également d'une fraction d'Hb X à 48,8%. Par la suite, l'analyse moléculaire conduite après le recueil du consentement des parents, a permis de caractériser, outre la mutation drépanocytaire, une substitution de AAC par CAC sur le codon 102 du gène de la b-globine, aboutissant au remplacement d'un résidu Asn par His. Ce variant n'a jamais été décrit dans la littérature et a été dénommé Hb Canebière. Il est à rapprocher d'autres variants comportant des substitutions sur le codon 102 (Hb Kansas, Hb Beth Israël, Hb Saint Mandé) qui présentent également une hypoaffinité pour l'O₂.

A 1 an, l'enfant ne présente aucun symptôme en dehors d'une légère cyanose visible sur les lèvres. L'étude fonctionnelle de mutant naturel de ce type présente un intérêt dans la recherche et l'élaboration de produits de substitution du sang.

301. Diagnostic Génétique

LE BER Isabelle¹, HANNEQUIN Didier^{1,2}, SAUGIER-VEBER Pascale^{2,3}, ROSSI Annick^{3,4}, CAMPION Dominique², FREBOURG Thierry^{2,3}

1 Service de Neurologie Centre Hospitalo-Universitaire 1, rue de germont - ROUEN France

2 INSERM EMI-U 9906-IFRMP, Service de Neurologie, CHU de Rouen

3 Service de Génétique CHU de Rouen

4 Laboratoire de Cytogénétique EFS, Bois-Guillaume

ETUDE CLINIQUE ET MISE EN ÉVIDENCE INDIRECTE DE L'EXPANSION DU GÈNE ZNF9 DANS UNE NOUVELLE FAMILLE FRANÇAISE ATTEINTE DE PROMM

La Myopathie Proximale avec Myotonie (PROMM/DM2, MIM 600109/602668) est une affection autosomique dominante caractérisée par une myopathie proximale, une myotonie, une cataracte et une atteinte multisystémique. La mutation responsable, récemment identifiée, est une expansion de tétranucléotides (CCTG) dans l'intron 1 du gène ZNF9 situé en 3q21. Le mécanisme pathogénique est probablement une séquestration de RNA-binding protéines par le transcrit anormal, comme dans la myopathie de Steinert (DM1), ce qui explique probablement les similitudes entre ces deux affections. La PROMM est fréquente en Allemagne où elle représente la seconde affection myotonique après la DM1. Sa prévalence serait faible dans les autres pays européens, en particulier en France où une dizaine de familles seulement ont été décrites. Nous rapportons une nouvelle famille incluant sept individus atteints par une myopathie proximale (n=3), une myotonie (n=7) et une cataracte (n=6). Certains présentaient également une atteinte hépatique (n=5) et endocrinienne (n=6) inhabituelles dans cette affection. L'amplification par PCR avec des amorces fluorescentes du motif CCTG du gène ZNF9 a mis en évidence dans cette famille une non contribution maternelle, indiquant indirectement une expansion de grande taille et confirmant donc le diagnostic sur des bases moléculaires. L'atteinte hépatique rapportée dans cette famille pourrait s'expliquer par la forte expression du gène ZNF9 dans le foie. Bien que rare en France, le diagnostic de PROMM/DM2 doit être évoqué dans les familles suspectes de maladie de Steinert sans expansion détectable au locus DM1.

302. Diagnostic Génétique

LESCA Gaetan¹, LLENSE Stéphane², STREICHENBERGER Nathalie³, VIAL Christophe⁴, PETIOT Philippe⁵, CALEMARD Michèle⁶, RECAN Dominique², OLLAGNON Elisabeth¹

1 Consultation de neurogénétique Pavillon 21 Hôpital de la Croix-rousse 103 grande rue de la Croix-Rousse - Lyon France

2 Laboratoire de Biochimie et Génétique Moléculaire, Hôpital Cochin, Paris

3 Laboratoire d'anatomie pathologique, Hôpital Neurologique, Lyon

4 Service d'EMG, Hôpital Neurologique, Lyon

5 Service d'EMG, Hôpital de la Croix-Rousse, Lyon

6 Laboratoire de biochimie endocrinienne et moléculaire, Hôpital Debrousse, Lyon

LES CONDUCTRICES SYMPTOMATIQUES POUR LES DYSTROPHINOPATHIES AVEC BIAIS D'INACTIVATION DU CHROMOSOME X

L'existence de conductrices symptomatiques pour les dystrophinopathies est connue depuis longtemps. Plusieurs études ont récemment souligné une prévalence élevée des atteintes cliniques, en particulier cardiaques, chez les conductrices. En dehors de remaniements cytogénétiques, plusieurs auteurs ont montré l'existence de biais d'inactivation du chromosome X dans certaines familles.

Famille A :

Le proposant est une femme de 32 ans présentant une faiblesse musculaire des ceinture progressive depuis 3 ans, avec un taux de CPK = 2230UI/l. Son frère de 16 ans est porteur d'une DMD. Sa mère présente la même symptomatologie qu'elle avec un déficit plus sévère tandis que sa demi-soeur est indemne. Tous

les quatre portent une duplication des exons 3 à 7 du gène de la dystrophine.

Famille B :

Le cas index est une patiente de 42 ans sans antécédent familial, présentant depuis 6 ans un déficit moteur proximal avec hypertrophie des mollets et CPK = 2000UI/l. La biopsie montrait un effacement partiel ou total du marquage de la dystrophine de certaines fibres. Une mutation stop a été retrouvée dans l'exon 52. Sa fille de 10 ans, conductrice, est actuellement asymptomatique.

Il semble exister une correspondance entre le degré d'inactivation du chromosome X et la sévérité de l'atteinte musculaire dans ces deux familles. Dans les deux cas, la mutation est portée par le chromosome hérité du grand-père. Il est nécessaire de poursuivre l'étude de l'inactivation de l'X chez un nombre suffisant de conductrices afin d'en préciser le mécanisme et de déterminer son éventuelle valeur pronostique.

303. Diagnostic Génétique

FEUILLET-FIEUX Marie-Noelle¹, FERREC Magali¹, LENOIR Gérard², SERMET Isabelle², BONNEFONT Jean-Paul¹, THUILLIER Laure¹

¹ Laboratoire de Biochimie Génétique Hôpital Necker-Enfants Malades 149 rue de Sèvres - Paris France

² Service de Pédiatrie Générale Hôpital Necker-Enfants Malades

FOUR NOVEL MUTATIONS IN PATIENTS WITH ATYPICAL CF.

Mutations in the Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator (CFTR) gene, responsible for Cystic Fibrosis (CF) give rise to a wide range of clinical phenotypes. While the relationships between gene defects and disease severity are documented in classic CF (exocrine pancreatic deficiency, obstructive pulmonary disease, elevated sweat test) or in congenital bilateral absence of the vas deferens (CBAVD), establishing the diagnosis of CF presenting with mild or atypical symptoms (i.e. chronic lung disease, pansinusitis, nasal polyposis) with normal or borderline sweat chloride levels, remains a difficult challenge. Extensive screening of the CFTR gene is often the unique way to overcome this difficulty. Here we report four novel mutations, at heterozygous state, whose one is intronic, in four unrelated patients affected with an atypical form of CF:

- 1) 296+28A>G, intron 2, in a child from Senegal origin, with pancreatic insufficiency, failure to thrive, and borderline chloride value (67-72 mEq/l),
- 2) 1687A>G (S519G, exon 10), in a french girl born from infertile parents with mild pulmonary disease, pansinusitis and a sweat test at 56mEq/l
- 3) 4229T>C (I1366T, exon 22), in twin sisters, originated from Morocco, with nasal polyposis, bronchitis and normal sweat test, 30 mEq/l,
- 4) 481C>G (R117G, exon 4), in a CBAVD french man. These new CF-causing mutations confer mild lung diseases, all patients being pancreatic sufficient except the first case. These results contribute giving new insight into the structure-function relation in CFTR.

This study was supported by Association Mucoviscidose ABCF Protéines.

304. Diagnostic Génétique

BEY-OMAR-CABET Faiza¹, ROBERT François², ROLLET Jacques³, LEJEUNE Hervé⁴, BOGGIO Dominique⁵, DURIEU Isabelle⁶, LYON, MOREL Yves¹

¹ Laboratoire de Biochimie Endocrinienne et Moléculaire Hôpital Debrousse Lyon France

² Endocrinologie, LYON-AMIENS

³ Institut Rhône Alpin, LYON

⁴ Biologie de la Reproduction, LYON

⁵ Génétique Médicale, LYON

⁶ Médecine Interne

L'AGÉNESIE VÉSICULO-DÉFÉRENTIELLE EST-ELLE UNE FORME NON-CLASSIQUE DE MUCOVISCIDOSE ?

La stérilité du couple reste un problème de santé publique (15% des couples), dans 25% des cas la stérilité est d'origine

masculine. L'absence congénitale des canaux déférents (CBAVD) est responsable de 2% des stérilités masculines.

Notre étude du gène CFTR, chez 180 patients dont le diagnostic CBAVD a été vérifié par exploration chirurgicale, confirme que la mutation DF508 est très fréquente (42% des patients sont hétérozygotes contre 3% dans la population générale). D'autres mutations ont été retrouvées à une fréquence moindre: R117H (9/180), G542X (3/180), N1303K (3/180), le variant 5T (18/180, 1 homozygote); les mutations N1270D, 2183AA/G, W1282X, R347P, R709X et 1077delT ne sont retrouvées qu'une seule fois. 37 patients sont hétérozygotes composites: (DF508/5T: 28 patients; DF508/R117H: 6 patients; G542X/5T: 1; N1303K/5T: 1; R117H/5T: 1 et 1717-1G/A: 1). Notre screening des mutations du gène CFTR, détectant environ une mutation dans 80% des chromosomes CF, n'en détecte une que dans 33% (118/360) des chromosomes CBAVD.

En somme, l'étude du gène CFTR d'un CBAVD débouche dans plus de 50% des cas sur l'identification d'une mutation du gène CFTR et donc sur un conseil génétique. L'étude du conjoint de ce couple à risque s'est avérée positive dans 4,22% (5/117 sont hétérozygotes DF508). Néanmoins le test de la sueur, effectué chez la moitié des cas, n'est revenu positif que 19 fois. Donc d'autres étiologies, en dehors de celle de mucoviscidose à minima, restent envisageables.

305. Diagnostic Génétique

PISSARD Serge, HUYNH Lam-thuy-Ai, Martin Josiane, Goossens Michel

Lab de génétique, Hop Henri Mondor Créteil France

ONE STEP AND RELIABLE FULL HFE GENOTYPING USING DHPLC METHODOLOGY

Genetic hemochromatosis (GH) is a frequent autosomal recessive disorder which results in an increased absorption iron. Iron over storage leads to severe disorders which may result in serious complications and life expectancy shortening. The product of the HFE gene is one regulator of iron uptake through interaction with the transferrin receptor. Two mutations, C282Y and H63D are strongly associated with the disease and C282Y homozygous or C282Y / H63D compound heterozygous genotypes have a diagnostic value in GH. In most laboratories, genotyping is done by means of conventional PCR restriction assays which are very sensitive and specific but costly through consumption of reagents and working time. DHPLC is a new method which is now a widely used tool for SNP detection. However, a main limitation of this method is that in some instance, it would not discriminate between homozygous wild type and homozygous mutant DNA. To override this limitation, we have designed a simple multiplex ARMS PCR which allowed to detect simultaneously these two mutations. Crude, unlabelled PCR products are run in non denaturing conditions (45°C) giving unambiguous chromatogram patterns for wild type, mutant and heterozygous alleles. Primers were designed to bracket regions in HFE exon2 and exons 4 where other rare HFE mutations linked to GH have been described, as the S65C mutation in exon 2. Running the same PCR products in denaturing conditions (58°C) allows the diagnosis of these rare mutation. This strategy greatly improve the usefulness of DHPLC making its advantages (full automation, low cost unlabelled PCR, fast method) available for genotyping in genetic diagnostic laboratories.

306. Diagnostic Génétique

DAHAN Karin, A. Fuchschuber², S. Adamis¹, M. Smaers¹, S. Kroiss², G. Loute³, J.P.Cosyns⁴, F. Hildebrandt², Ch. Verellen-Dumoulin¹, Y. Pirson⁵.

1 Avenue Emmanuel Mounier, 5220, 1200 Bruxelles, Belgique
2 University Children's Hospital, Freiburg, Germany
3 Princesse Paola Hospital, Dept of Nephrology, Aye, Belgium
4 Affiliation: Dept of Pathology, UCL Saint-Luc Hosp, Brussels, Belgium
5 Affiliation: Division of Nephrology, UCL Saint-Luc Hosp, Brussels, Belgium

FAMILIAL JUVENILE HYPERURICEMIC NEPHROPATHY AND AUTOSOMAL DOMINANT MEDULLARY CYSTIC KIDNEY DISEASE TYPE 2 : TWO FACETS OF THE SAME DISEASE ?

Familial juvenile hyperuricemic nephropathy (FJHN) is an autosomal-dominant disorder heralded by hyperuricemia during childhood. It is characterized by a chronic interstitial nephritis with marked thickening of tubular basement membranes, leading to progressive renal failure during adulthood. A gene for FJHN was recently mapped on chromosome 16p11.2 in Czech families, close to the MCKD2 locus, which is responsible for a variant of autosomal dominant medullary cystic disease (MCKD2) found in an Italian family. In a large Belgian family with FJHN, we found a tight linkage between the disorder and the marker D16S3060 located within the MCKD2 locus on chromosome 16p12 (maximum two-point LOD score 3.74 at recombination fraction of $\theta = 0$). The candidate region was further narrowed to a 1.3 Mb interval between D16S501 and D16S3036. Together with the striking clinical and pathological resemblance between previously reported MCKD2 and FJHN occurring in our family (including the presence of medullary cysts), this study suggests that these two disorders are two facets of the same disease.

307. Diagnostic Génétique

GASTON Véronique¹, LE BOUC Y¹, BURGLÉN L², SOUPRE V³, VAZQUEZ MP³, GICQUEL C¹

1 Laboratoire d'Explorations Fonctionnelles Endocriniennes, Hôpital Armand Trousseau, PARIS
2 Service de Génétique Médicale, hôpital A. Trousseau
3 Service de Chirurgie Maxillo-faciale, hôpital A. Trousseau

RECHERCHE DE MUTATION DU GÈNE GLYPICAN-3 DANS LES SYNDROMES DE CROISSANCE EXCESSIVE.

Les syndromes de Wiedemann-Beckwith (SWB) et de Simpson-Golabi-Behmel (SSGB) sont des syndromes de croissance excessive (SCE) prédisposant au développement de tumeurs embryonnaires. Le SWB, syndrome le plus fréquent, est lié à des anomalies génétiques et épigénétiques de la région 11p15 et le SSGB est lié à des anomalies délétères du gène Glypican-3 (GPC3) (en Xq26) codant pour protéoglycane membranaire et liant des facteurs de croissance. Le SSGB partage certains signes cliniques avec le SWB, ce qui peut rendre difficile leur diagnostic. Le but de cette étude était d'évaluer l'incidence de SSGB chez les patients de sexe masculin adressés pour SCE et ne présentant pas d'anomalie de la région 11p15.

Dans une série de 144 patients SCE, 59 dont 31 garçons ne présentaient pas d'anomalie de la région 11p15. Une recherche de mutation du gène GPC3 a été réalisée par PCR et SSCP et les fragments présentant un profil différent ont été analysés par séquençage direct. Une anomalie de GPC3 a été mise en évidence chez 3 patients: une délétion des exons 7 et 8, une mutation frame-shift CG231T et une mutation faux-sens V429M. Deux autres patients non apparentés ont présenté une microdélétion de 4 pb dans la partie 3'UTR. Cette microdélétion n'a pas été détectée dans une population contrôlée (174 chromosomes X analysés). Par ailleurs, 2 mutations faux-sens (Q471H et G556R) ont été retrouvées chez 2 autres patients présentant un phénotype typique de SSGB.

Bien que les anomalies de GPC3 soient rares au sein d'une population globale de SCE, l'analyse de GPC3 reste appropriée chez les garçons ne présentant pas d'anomalie de la région 11p15.

308. Diagnostic Génétique

NIEL Florence¹, Leturcq, F¹, Deburgrave, N¹, Llense, S¹, Richard, P², Demay, L², Vigouroux, C³, Capeau, J³, Bonne, G⁴, Kaplan, J.-C¹, Récan, D¹

1 Département GDPM, Institut Cochin de Génétique Moléculaire, Hôpital Cochin, Paris
2 Biochimie B, Goupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris
3 INSERM U.402, Faculté de Médecine Saint-Antoine, Paris
4 INSERM U523, Institut de Myologie, Goupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris

WESTERN-BLOT ANALYSIS OF EMERIN AND LAMIN A/C IN EMERY-DREIFUSS DISEASES

The Emery-Dreifuss syndromes are due to mutations affecting either the STA gene, in the X-linked form (XL-EDMD), or the LMNA gene, in the autosomal dominant form (AD-EDMD). Both genes are ubiquitously expressed and code for nuclear membrane proteins, respectively emerin (34 kDa), and lamins A and C (74/64 kDa).

We investigated the diagnostic value of western-blot (WB) analysis of these proteins in cultured lymphoblastoid cells (LCL) derived from 57 controls, 25 cases of emerinopathy, and 20 cases of laminopathy. In all cases the mutation had been previously characterized.

Emerin was absent in 100 % of patients with emerinopathy (all but one were null mutations). Apparently normal amounts of emerin were constantly found in controls and in most of the patients with laminopathy. In contrast, the level of lamin A/C was notably fluctuant in controls. In the 20 cases of laminopathy there was no consistent correlation between the level of lamins and the mutation, except in the two families with a nonsense mutation in which we observed a decrease of lamin predominating on the A isoform.

We conclude that of the two nucleopathies, only emerinopathy can be reliably diagnosed by WB analysis of LLC, because of the haploid expression of the STA gene. It represents a useful screen for further DNA analysis. In contrast, in laminopathy, where patients are heterozygous, the presence of the wild allele, is a serious hurdle. Analysis of other tissues (muscle, fibroblasts, amniotic cells) is in progress.

309. Diagnostic Génétique

SCHLUTH Caroline¹, DORAY Bérénice¹, GIRARD-LEMAIRE Françoise¹, KOHLER Monique², LANGER Bruno³, GASSER Bernard⁴, LINDNER Véronique⁴, FLORI Elisabeth¹

1 Laboratoire de Cytogénétique Hôpital de Hautepierre Avenue Molière STRASBOURG France
2 Service de Gynécologie Obstétrique, SIHCUS-CMCO, SCHILTIGHEIM
3 Service de Gynécologie Obstétrique, Hôpital de Hautepierre, STRASBOURG
4 Institut d'Anatomie Pathologique, Faculté de Médecine, STRASBOURG

DIAGNOSTIC PRÉNATAL ÉCHOGRAPHIQUE DU SYNDROME 49, XXXXY

Le syndrome 49, XXXXY est une anomalie très rare des chromosomes sexuels dont l'incidence à la naissance est de 1 garçon sur 85 000. Le diagnostic de cette affection chromosomique est habituellement porté après la naissance en raison de l'existence d'un syndrome malformatif associant un retard mental le plus souvent sévère, un retard de croissance variable, une dysmorphie faciale évoquant une trisomie 21, un hypogénitalisme et diverses malformations, en particulier cardiaques et squelettiques.

En période prénatale, la découverte du syndrome 49, XXXXY est généralement fortuite et la présence de signes d'appel échographiques n'est que très rarement signalée dans la littérature.

Nous rapportons deux observations de syndrome 49, XXXXY dont le diagnostic a été réalisé *in utero* en raison d'anomalies échographiques. Dans la première observation, c'est la mise en évidence, à 27 semaines d'aménorrhée, d'un hydramnios associé à un pied bot unilatéral et à une hypoplasie péniennne chez le fœtus qui conduit à la réalisation d'une amniocentèse; dans la

seconde, un caryotype sur villosités chorales est effectué à 13 semaines d'aménorrhée en raison de la découverte d'un hygroma kystique.

Ces deux observations, ainsi que les cinq recensées dans la littérature, démontrent l'association possible, bien qu'exceptionnelle, d'un hygroma kystique du premier ou du deuxième trimestre à une anomalie des chromosomes sexuels autre que le syndrome de Turner; par ailleurs, elles soulignent l'importance, à partir du deuxième trimestre, d'un examen échographique approfondi, car il peut permettre d'évoquer un syndrome 49, XXXXY en présence d'une hypoplasie pénienne associée à des anomalies positionnelles des membres même mineures (comme c'est le cas dans notre première observation) et de réaliser, dans la période prénatale, le diagnostic de cette affection dont le pronostic mental reste très réservé.

310. Diagnostic Génétique

COSTA Catherine^{1*}, BRIVET Michèle¹, ABRAMOWICZ Marc², LEGRAND Alain¹, COSTA Jean-Marc³,

¹ Laboratoire de Biochimie Hôpital Bicêtre 78 rue du Général Leclerc Le Kremlin Bicêtre France

² Hôpital Erasme Bruxelles

³ Hôpital Américain de Paris Laboratoire de Biologie Moléculaire

*Nouvelle adresse: laboratoire de génétique moléculaire, CHU Mondor, Créteil

CARRIER DIAGNOSIS OF GALACTOSEMIA IN A FAMILY WITH COMPLETE DELETION OF THE GALT GENE USING QUANTITATIVE REAL-TIME PCR

In two related galactosemic patients from an Ashkenazi jewish family, no PCR amplification of the 11 exons of the uridylyltransferase gene (galt) was possible. A homozygote Galt gene deletion was then suspected. Successful co-amplification by duplex PCR of another gene eliminated the hypothesis of PCR inhibitors. Sequencing of the 11 exons in the parents did not reveal any heterozygote mutation or polymorphism and suggested a heterozygote deletion in both parents. To confirm the possible deletion, real time quantitative PCR on a LightCycler system was used. The Galt gene and as reference internal control the superoxyde dismutase (SOD) gene were co-amplified in the same tube by duplex PCR in DNA from patients, parents and controls ; they were compared to a range of serial DNA dilutions for quantitation. The two genes were submitted to the same PCR fluctuations since they were amplified in the same reaction. The copy number of Galt gene was about twofold lower in each parent's DNA (Galt/SOD=0.43 and 0.47 for mother and father respectively) than in control DNA (1.2±0.2) thus confirming the heterozygous status for the deletion.

The quantitative real time PCR by duplex PCR in a single tube on genomic DNA represents an interesting alternative to time-consuming and labor-intensive Southern blotting or pulsed field gel electrophoresis, for the diagnosis of deletions, especially in heterozygous patients.

Complete GALT gene deletion is rare and was only described previously in two other unrelated Ashkenazi jewish families.

311. Diagnostic Génétique

BIETH Eric¹, IBOS Sandra¹, DÉGUINE Olivier², FRAYSS Bernard², CALVAS Patrick¹

¹ Service de Génétique CHU de Toulouse CHU de Toulouse Hôpital Purpan Toulouse FRANCE

² Service d'ORL, CHU de Toulouse, Hôpital Purpan

LE REVERSE DOT-BLOT, UN MOYEN SIMPLE ET RAPIDE DE DÉTECTER LA MUTATION MAJORITAIRE 35DELG DU GÈNE DE LA CONNEXINE 26

La mutation 35 del G du gène de la connexine 26 est retrouvée dans environ 30% des surdités congénitales non syndromiques de l'enfant. Elle est portée à l'état hétérozygote par 2 à 4 % de la population européenne. Ce taux de récurrence lui confère la seconde place des mutations pathogènes chez les caucasiens après la mutation DF508 du gène CFTR. La détection de cette

mutation, pour satisfaire à l'analyse de grandes séries, nécessite la mise en place d'une technique, fiable et reproductible. Jusqu'à présent, des techniques de séquençage (1), de PCR / hybridation spécifique d'allèle (ASO) (2), d'hybridation sandwich en microplaque (3) ou de DGGE (4) ont été rapportées. Nous avons adapté la méthode de reverse dot blot utilisée en routine pour la détection des mutations fréquentes du gène CFTR (Trousse INNO-LIPA CF), à la détection de la mutation 35 del G.

Brièvement, les deux oligonucléotides aminés, spécifiques d'allèle, sont liés de manière covalente sur une membrane de nylon chargée négativement et préactivée. Les membranes préparées sont découpées en bandelettes. L'hybridation des amplicons biotinylés, les lavages et la révélation des bandelettes sont réalisés de manière identique à celle utilisées pour la détection des mutations CFTR.

La méthode s'est avérée simple, sensible, reproductible et peu coûteuse.

1 Denoyelle *et al.* Hum. Mol. Genet. 1997 ; 6 :2173-77

2 Rabionet & Estivill. J. Med. Genet. 1999 ; 36 :260-61

3 Casademont *et al.* Mol. Cell. Probes. 2000 ; 14 :149-52

4 Antoniadis *et al.* Hum. Mutat. 2000 ; 16 :7-12

312. Diagnostic Génétique

STERNBERG Damien¹, JARDEL Claude¹, LAFORET Pascal^{2,3}, MAISONOBE Thierry⁴, BLONDY Patricia¹, Sandrine FILAUT¹, EYMARD Bruno^{2,3}, LOMBES Anne^{3,5}

¹ Laboratoire de Biochimie B, Batiement de la Pharmacie, Groupe Hospitalier Pitie-Salpêtrière Paris France

² Fédération de Neurologie Mazarin

³ Institut de Myologie, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière,

⁴ Laboratoire de Neuropathologie, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière

⁵ INSERM U523

VARIATIONS DE SÉQUENCE DES GÈNES D'ARN DE TRANSFERT MITOCHONDRIAUX: COMMENT DISTINGUER LES MUTATIONS PATHOGÈNES DES POLYMORPHISMES ?

La diversité de séquence de l'ADN mitochondrial dans les populations humaines s'explique par la fixation des variations de séquence dans cet ADN au sein des lignées germinales femelles, et par l'absence de recombinaison entre les différentes populations d'ADN mitochondrial ainsi générées.

Lors de la recherche de mutation ponctuelle de l'ADN mitochondrial dans le cadre du diagnostic des maladies mitochondriales humaines, il peut être difficile de distinguer, parmi les variations de séquence mises en évidence, celles qui contribuent au phénotype de déficit respiratoire observé chez le patient de celles qui sont neutres à cet égard. Cependant, il est important, pour décider de l'arrêt ou de la poursuite des explorations chez un patient, et pour le conseil génétique éventuel, de statuer sur ce point.

Nous présentons les résultats de la recherche de mutation des gènes d'ARN de transfert chez des patients suspects de maladie mitochondriale, et la démarche qui nous a conduit à classer les différentes variations de séquence identifiées en mutations pathogènes causales ou en variations neutres. Cette classification repose sur plusieurs types d'arguments: (i) arguments issus de la littérature et des bases de données (descriptions précédentes, conservation phylogénétique du nucléotide au site de mutation); (ii) arguments provenant du travail sur les différents prélèvements du patient, ou ceux d'apparentés maternels ou de sujets contrôles (état homoplasmique ou hétéroplasmique de la variation de séquence dans différents tissus du patient; en cas d'hétéroplasmie dans le muscle, comparaison de la proportion d'espèce mutée entre populations de segments de fibres positifs et négatifs pour l'activité cytochrome oxydase; présence et état de la variation de séquence chez les apparentés maternels ou chez les sujets contrôles); (iii) arguments tirés de l'étude de la variation de séquence dans des systèmes d'expression.

Les deux premières séries d'arguments permettent de classer la majorité des variations de séquence. Il est utile de disposer des prélèvements adéquats, en particulier ceux de plusieurs tissus différents du patient, et ceux d'apparentés maternels de statut connu. Dans quelques cas, il est intéressant de recourir au

transfert de l'ADN mitochondrial muté dans des systèmes d'expression cellulaires.

313. Diagnostic Génétique

LE MARECHAL Cedric¹, AUDREZET Marie-Pierre, FEREC claude^{1,3}

1 EFS Bretagne 46 rue Felix le dantec - BREST France
2 CHU Brest
3 INSERM EMI 01 15

GENOTYPAGE DE L'IVS8 POLY-T DU GÈNE CFTR PAR EXTENSION D'AMORCE COUPLÉE A LA DHPLC

La présence d'une répétition de thymidines (5- 7 ou 9) cinq paires de bases en amont de l'exon 9 (IVS8 polyT) du gène CFTR est un élément essentiel pour la transcription de cet exon. En effet la longueur du tractus polypyrimidique est inversement proportionnelle à la quantité d'ARN correctement épissé. La protéine produite est alors tronquée de 30% de son premier domaine de liaison à l'ATP. Le génotypage de l' IVS8 polyT est important chez les porteurs de la mutation R117H, où l'haplotype 5T est plus sévère que le 7T, ainsi que dans les formes frontières de mucoviscidose, où la fréquence de l'allèle 5T est augmentée. Jusqu'à présent, les techniques utilisées (séquençage, PCR spécifique, reverse dot blot) étaient onéreuses, délicates ou longues. Ce travail a consisté à mettre au point le génotypage de l'IVS8 polyT par la technique d'extension d'amorce couplée à la DHPLC. Nous sommes ainsi parvenus à identifier les 6 combinaisons possibles. Cette stratégie s'avère performante. Sa mise en œuvre est simple, puisque la réaction est réalisée dans un seul tube et aucune purification sur colonne n'est nécessaire. L'automatisation de l'analyse par DHPLC, pour la séparation des produits mais également pour l'interprétation des résultats, est importante pour son application en routine.

314. Diagnostic Génétique

BUISINE Marie-Pierre^{1,2,3}, F. Escande^{1,2,3}, Association PAFNORD³, N. Porchet^{1,2,3}, S. Manouvrier^{2,3,4}

1 Laboratoire de Biochimie et Biologie Moléculaire, Hôpital C. Huriez, CHRU de Lille
2 Faculté de Médecine H. Warembourg, Université de Lille II
3 Association pour le conseil génétique des cancers coliques familiaux dans la région Nord - Pas-de-Calais
4 Consultation de Génétique Clinique, Hôpital J. de Flandre, CHRU de Lille

MUTATIONS DU GÈNE APC RÉPERTORIÉES DANS DES FAMILLES DU NORD - PAS-DE-CALAIS ATTEINTES DE POLYPOSE ADÉNOMATEUSE FAMILIALE

La polypose adénomateuse familiale, maladie héréditaire à transmission autosomique dominante dont la fréquence est évaluée à 1/7000-1/10000 individus, est responsable d'un risque majeur de cancer colo-rectal avant l'âge de 40 ans. Elle se caractérise par une polypose colorectale diffuse plus ou moins associée à des signes extracoliques dont une hyperplasie congénitale de l'épithélium pigmentaire de la rétine, des polypes gastriques et duodénaux, des tumeurs desmoïdes, des ostéomes. Le gène responsable, APC, est un gène suppresseur de tumeur localisé en 5q21-q22. Il comprend 15 exons principaux et code une protéine de 2843 acides aminés.

Entre mai 1997 et octobre 2001, dans le cadre de l'Association PAFNORD, nous avons recherché des mutations du gène APC dans 42 familles du Nord - Pas-de-Calais. L'ensemble de la séquence codante a été analysée sur ADN génomique par PCR-séquence. Dans certains cas, des analyses complémentaires ont été réalisées telles l'investigation des marqueurs microsatellites flanquants et l'analyse des transcrits. Les résultats ont permis d'identifier 30 mutations, dont 11 non répertoriées dans la littérature. Celles-ci comprennent 10 mutations non sens, 16 délétions ou mutations au niveau d'un site d'épissage avec pour conséquence attendue la synthèse d'une protéine APC tronquée, deux délétions complètes de gène et deux mutations dont l'impact au niveau protéique est actuellement en cours d'étude.

315. Diagnostic Génétique

ESCANDE Fabienne^{1,2,3}, S. Manouvrier^{2,3,4}, Association PAFNORD³, N. Porchet^{1,2,3}, M.-P. Buisine^{1,2,3}

1 Laboratoire de Biochimie et Biologie Moléculaire, Hôpital C. Huriez, CHRU de Lille
2 Faculté de Médecine H. Warembourg, Université de Lille II
3 Association pour le conseil génétique des cancers coliques familiaux dans la région Nord - Pas-de-Calais
4 Consultation de Génétique Clinique, Hôpital J. de Flandre, CHRU de Lille

IDENTIFICATION D'UNE NOUVELLE MUTATION DU GÈNE APC RESPONSABLE D'UN ÉPISSAGE CONSTITUTIONNEL DE L'EXON 14

La polypose adénomateuse familiale (PAF) est une maladie héréditaire à transmission autosomique dominante dont la fréquence est évaluée à 1/7000-1/10000 individus et qui est liée à des mutations du gène APC. Celui-ci comprend au moins 21 exons, dont 7 sont soumis à épissage alternatif, parmi lesquels les exons 9, 10A et 14.

Nous décrivons ici une nouvelle mutation du gène APC, identifiée chez un patient de 32 ans atteint d'une polypose colorectale diffuse. Cette mutation, mise en évidence sur l'ADN génomique, correspond à une substitution d'une adénine par une guanine (1957A>G) localisée au niveau du codon 653 dans l'exon 14 deux nucléotides en amont du site donneur d'épissage. Les études complémentaires réalisées sur l'ARN ont révélé que cette mutation est associée à une augmentation importante des transcrits dépourvus de l'exon 14. Ainsi, il semble que cette mutation soit responsable d'un épissage constitutionnel entre les exons 13 et 15. Ceci a pour conséquence attendue la production d'une quantité anormalement élevée de protéine APC tronquée dépourvue de la plupart de ses domaines fonctionnels dont ceux impliqués dans la liaison à la b-caténine.

316. Diagnostic Génétique

PIQUION Nicole¹, PLAUCHU H²

1 Unité de Cytogénétique CHU de Fort de France - FORT DE FRANCE
2 Service de Génétique Clinique - Hôtel-Dieu - Lyon

LE DIAGNOSTIC DE SYNDROME DE MARFAN EN L'ABSENCE DE SIGNES CLINIQUES MORPHOLOGIQUES ÉVOCATEURS

Le syndrome de Marfan est une affection multisystémique du tissu conjonctif, génétique autosomique dominante à expressivité variable. Son caractère de gravité repose sur le risque de décès brutal par dissection aortique, en l'absence de diagnostic précoce. Nous rapportons l'observation clinique récente de deux adolescents orphelins, dont la mère et le frère sont décédés de rupture aortique, qui ont une taille normale pour leur âge (Amélie, 16 ans : 163 cm et Pascal, 13 ans : 148 cm) et ne présentent aucun signe fonctionnel apparent, afin de mettre en évidence, pour le diagnostic de syndrome de Marfan :

- l'importance déterminante de l'examen clinique, sur la base de critères nosologiques révisés (Consortium international De Paepe *et al* 1996).

- l'impérative nécessité d'une équipe pluridisciplinaire de référents spécialisés, organisés en réseau et coordonnés par le généticien-clinicien pour y procéder.

- la contribution relative des examens biologiques complémentaires.

Le diagnostic clinique obtenu en faisant appel à des critères précis, performants associant des signes considérés comme majeurs ou mineurs en fonction de leur spécificité diagnostique, est à la fois nécessaire et suffisant pour l'instauration d'une surveillance précoce, ophtalmique, cardiovasculaire et squelettique, la prescription de bêta-bloquants et d'une hygiène de vie adaptée ainsi que la prise en charge familiale.

Le test à la fibrilline actuellement non validé, est dépourvu de signification diagnostique majeure.

La recherche d'une des 137 mutations du gène FBN1 de la fibrilline par biologie moléculaire, présente un caractère non spécifique, leur absence ne permet pas d'éliminer le diagnostic.

317. Diagnostic Génétique

BATT Martine^{1,2}, TROGNON A², JONVEAUX Philippe¹

1 Laboratoire de génétique médicale-EA 3441, CHU Nancy-Brabois

2 Groupe de recherche sur les Communications, Université de Nancy 2

L'ANNONCE DU DIAGNOSTIC PRÉSYMPTOMATIQUE DE MALADIE DE HUNTINGTON

L'objectif de cette étude est la compréhension des processus gouvernant les entretiens qui se déroulent en consultation prédictive, entre l'équipe pluridisciplinaire et le sujet demandeur d'un diagnostic présymptomatique de maladie de Huntington. Cette situation d'interaction communicative est complexe parce qu'elle construit un espace de parole où, tout à la fois, se transmettent des informations, s'expriment des émotions, se verbalise une anticipation, s'annoncent des croyances et s'annonce un savoir objectivé par l'analyse moléculaire. Disposant d'une méthode d'analyse des interactions verbales, la Logique Interlocutoire, nous mettons en évidence l'impact psychologique de la demande de statut génétique, autant chez les professionnels que chez les demandeurs. Nous décrivons comment se négocient en conversation les concepts relevant du statut génétique, et montrons comment sont gérés par les différents interlocuteurs les effets perturbateurs, voire défensifs, de l'accès possible à une connaissance infaillible assertée par la Science.

318. Diagnostic Génétique

BIANCALANA Valérie, Jean-Claude BOUIX, Michèle GUIOT, Jean-Louis MANDEL

Laboratoire de Diagnostic Génétique Faculté de Médecine 11, rue Humann - STRASBOURG cedex France

4 ANS DE DIAGNOSTIC MOLÉCULAIRE DU SYNDROME X FRAGILE (1997-2000), ÉVOLUTION DU DÉPISTAGE DEPUIS 1991.

Nous présentons le travail de 4 ans de dépistage du syndrome X fragile, comparé avec un bilan établi en 1991-1994.

65 familles X Fragile ont été identifiées sur 2771 familles sans diagnostic préalable. L'efficacité de 2.3% n'a pas varié depuis 1994, mais avec trois améliorations. Deux-tiers des cas détectés sont sporadiques, contre 35% en 91-94. Pour 15% des familles détectées, le proposant était une fille. Cette proportion, doublée par rapport à 91-94, est à corrélérer avec un taux de demande de diagnostic pour une fille passé de 10% (91-94) à 27% (97-2000). Enfin, la moyenne d'âge des proposant mutés est passée de 16 à 12 ans. A noter que cette moyenne est de 8,5 ans pour 58 familles. Pour 6 familles, le dépistage s'est produit avec une moyenne d'âge de 41 ans, suite à la demande d'une apparentée (retard mental familial dans 5 cas). Une famille a été dépistée par une femme avec ménopause précoce, dans un contexte de retard mental familial. Des analyses ont été entreprises dans notre laboratoire pour 44 des 65 familles, concernant 124 femmes à risque, parmi lesquelles 84 conductrices ont été diagnostiquées et 13 diagnostics prénataux réalisés. Par ailleurs, 16 hommes prémutés et 9 hommes mutés ont été identifiés, parmi 47 apparentés des proposant.

Le meilleur recrutement des cas sporadiques et des filles, ainsi que la diminution de l'âge moyen de diagnostic indiquent un progrès, mais le dépistage est encore à améliorer, car le diagnostic demeure trop tardif dans bien des cas.

Ref : Le syndrome X fragile est encore méconnu : efficacité du diagnostic moléculaire chez les proposant avec retard mental. M. Cossée *et al.* Arch. Pédiatr. 1997 ; 4 : 227-236.

319. Diagnostic Génétique

COSSEE Mireille¹, SAMIMI Samea¹, GUIRAUD Pascale², PHILIP Nicole³, BURGLÉN Lydie⁴, LEPORRIER Nathalie⁵, CHAUVEAU Pierre⁶, GAUTIER Evelyne⁷, FELLMANN Florence⁸, DROUIN-GARRAUD Valérie⁹, SIMON-BOUY Brigitte¹⁰

1 Laboratoire de diagnostic génétique, 11 rue Humann Strasbourg France

2 Département de biologie intégrée, Grenoble

3 Département de génétique médicale, Marseille

4 Unité de génétique médicale, Hôpital Trousseau, Paris

5 Laboratoire de cytogénétique prénatale, Caen

6 Unité de cytogénétique et génétique médicale, Le Havre

7 Laboratoire de cytogénétique, Neuilly-sur-Seine

8 Service de cytogénétique, Besançon

9 Unité de génétique clinique, Rouen

10 Centre d'études de biologie prénatale, Versailles

DIAGNOSTIC MOLÉCULAIRE INDIRECT DE LA MALADIE DE MENKES : EXPÉRIENCE DU LABORATOIRE DE STRASBOURG

La maladie de Menkes est une maladie rare récessive liée à l'X. Elle se manifeste dès les premiers mois de vie et le décès survient le plus souvent tôt dans l'enfance. Le gène (Xq13.3) code pour la protéine ATP7A impliquée dans le transport intracellulaire du cuivre. L'étude biochimique du cuivre confirme le diagnostic chez les patients, mais pas toujours le statut de femme conductrice. La recherche de mutations est lourde, vu la taille du gène (23 exons) et l'absence de mutations récurrentes. Le diagnostic prénatal consiste donc le plus souvent en une analyse moléculaire indirecte. Un diagnostic biochimique sur amniocytes en culture peut être nécessaire, mais retarde le résultat.

Nous présentons l'analyse moléculaire indirecte de 9 familles de maladie de Menkes. Sur 19 femmes à risque testées, 2 étaient conductrices, 7 non conductrices, et 10 n'ont pu être renseignées avec certitude (risque : 7 à 66%) vu la possibilité de néomutation (9 cas) ou l'absence de cas index analysable (1 cas). Une fille conductrice exprimait la maladie, fait exceptionnel suggérant un biais d'inactivation de l'X. Dans 7 familles une grossesse était en cours lors de la demande initiale. Quatre DPN ont été réalisés dont 3 diagnostics d'exclusion. Le fœtus masculin portant l'haplotype à risque dans ces 3 cas (50 à 70% de risque), une analyse biochimique complémentaire a été nécessaire, confirmant la maladie chez un seul fœtus.

Dans notre série, le grand nombre de diagnostics de conductrices n'ayant pu être résolus illustre bien la nécessité de la recherche de mutation.

320. Diagnostic Génétique

GIRARDET Anne¹, Perrine MALZAC², Anne MONCLA², Karine PEDELLIER², Mireille CLAUSTRÉS¹

1 Laboratoire de Génétique Moléculaire Institut Universitaire de Recherche MONTPELLIER FRANCE

2 Département de Génétique médicale Hôpital de la Timone Marseille

MISE AU POINT D'UN DIAGNOSTIC PRÉ-IMPLANTATOIRE POUR UNE FAMILLE PRÉSENTANT UN SYNDROME D'ANGELMAN

Le syndrome d'Angelman est caractérisé par un retard mental sévère et des troubles spécifiques du comportement. Dans la majorité des cas, ce syndrome est dû à une délétion dans la région q11-q13 du chromosome 15 d'origine maternelle, mais chez 5 à 10% des patients, une mutation dans le gène UBE3A est identifiée.

Dans le but de réaliser un diagnostic pré-implantatoire pour un couple dont deux des trois enfants sont atteints du syndrome d'Angelman causé par une mutation dans le gène UBE3A, nous avons développé un protocole de PCR unicellulaire duplex permettant d'analyser simultanément la mutation -préalablement caractérisée- responsable de la maladie dans cette famille (délétion de 10 pb dans l'exon 9), ainsi qu'un microsatellite intragénique informatif localisé entre les exons 1 et 2 (D15S122). L'amplification du marqueur microsatellite permet

de vérifier la ségrégation des allèles, et de détecter la présence éventuelle d'une amplification préférentielle d'allèle (ADO) fréquemment observée dès lors qu'une très faible quantité d'ADN est amplifiée.

L'efficacité d'amplification et le taux d'ADO pour ces séquences ont été déterminés après amplification unicellulaire de près de 200 lymphocytes, isolés à partir de prélèvements sanguins des différents membres de la famille. Les résultats obtenus permettent désormais d'appliquer ce protocole d'amplification à l'étude de blastomères humains dans le cadre d'un diagnostic pré-implantatoire pour cette famille, dans le but de ne transférer que les embryons non porteurs de la mutation.

321. Diagnostic Génétique

AZIBI Kémal, Catherine CAILLAUD, Jeanne DUSSAU, Jean Philippe PUECH, Livia POENARU
Laboratoire de Génétique, Université Paris V, ICGM 24 rue Fg St Jacques - Paris France

HÉTÉROGÉNÉITÉ MOLÉCULAIRE DE LA MALADIE DE FABRY : CARACTÉRISATION DE DOUZE MUTATIONS NOUVELLES.

La maladie de Fabry est une sphingolipidose causée par un déficit en alpha-galactosidase A lysosomale, nécessaire au catabolisme du globotriaosylcéramide. La diminution ou l'absence d'activité enzymatique entraîne son accumulation dans les lysosomes des cellules de l'endothélium vasculaire et des muscles lisses.

Nous rapportons l'étude génétique de 30 familles comportant un ou plusieurs sujets atteints de maladie de Fabry avec un déficit enzymatique (0.8 à 4 nmol/h/mg de protéine) et présentant en général des manifestations cliniques classiques de la maladie : angiokératomes, douleurs abdominales, opacités cornéennes, paresthésies des extrémités et insuffisance rénale.

Par PCR et séquençage direct, nous avons caractérisé 31 défauts moléculaires, 18 déjà rapportés dans la littérature et 12 mutations nouvelles : deux non-sens (W245X, W262X), trois faux sens (A156N, Q279H, S297C), une insertion d'un nucléotide (insG10678) et six délétions (1235del15, 7316delA, 7337delG, 10666delATCA, 10593delA, 5112delA). Cette diversité des mutations confirme l'hétérogénéité moléculaire de la maladie, rendant difficile l'établissement de corrélations génotype-phénotype.

Notre étude clarifie le mécanisme moléculaire responsable de la maladie chez les hémizygotés et facilite la détection des conductrices pour le conseil génétique dans les familles à risque. Nous discutons aussi le cas particulier d'une femme atteinte de maladie de Fabry avec une activité enzymatique faible (10 nmol/h/mg de protéine). L'analyse moléculaire devrait permettre de déterminer si sa symptomatologie est due à une lyonisation extrême du chromosome X normal, à une homozygotie pour la mutation (descendance de père atteint) ou à une disomie uniparentale.

322. Diagnostic Génétique

GIRARDET Anne¹, Pierre Sarda², Patricia Blanchet², Christine Coubes², Mireille Claustres¹

¹ Laboratoire de Génétique Moléculaire Institut Universitaire de Recherche Clinique 641, avenue du Doyen Gaston Giraud - MONTPELLIER FRANCE

² Service de génétique, Montpellier

AMPLIFICATION UNICELLULAIRE DE DEUX MICROSATELLITES EN VUE DE LA RÉALISATION D'UN DIAGNOSTIC PRÉ-IMPLANTATOIRE : APPLICATION AU RÉTINOBLASTOME HÉRÉDITAIRE

Le rétinoblastome est une tumeur maligne de la rétine affectant 1 enfant sur 20000. La forme héréditaire représente environ 40% des cas; la maladie est alors transmise sur le mode autosomique dominant avec une pénétrance de l'ordre de 90%.

Lorsqu'au moins deux personnes sont atteintes dans une famille, il est possible de suivre indirectement la transmission de l'allèle muté en analysant des marqueurs polymorphes. Nous avons mis au point les conditions d'amplification duplex sur cellules uniques de deux microsatellites caractérisés par des taux

d'hétérozygotie élevés : l'un est localisé dans l'intron 20 du gène RB1 de susceptibilité au rétinoblastome (RB1.20), le second est extragénique, mais proche du gène RB1 (D13S284).

Ce protocole a ensuite été appliqué à l'étude des lymphocytes isolés d'une famille présentant un rétinoblastome héréditaire, le couple demandeur d'un diagnostic pré-implantatoire (DPI) ayant déjà subi plusieurs interruptions médicales de grossesse après la naissance d'un enfant atteint de rétinoblastome unilatéral.

Cette stratégie pourra être appliquée à d'autres familles présentant un rétinoblastome et souhaitant recourir au DPI comme alternative au diagnostic prénatal suivi d'une interruption de grossesse en cas de fœtus atteint, sans qu'il soit nécessaire de connaître la mutation causale, mais à condition que la famille soit informative pour ces deux marqueurs.

323. Diagnostic Génétique

PAQUIS-FLUCKLINGER Véronique¹, Narbonne Hervé², Giuliano Fabienne¹, Vialettes Bernard², Vague Philippe³, Oliver Charles⁴, Jaquet Philippe⁵, Pellissier Jean François⁶, Desnuelle Claude⁷, Lambert Jean Claude¹, Turc-Carel Claude¹

¹ Service de Génétique, Hôpital de l'Archet 2, CHU de Nice Nice, France

² Service de Nutrition-Maladies Métaboliques-Endocrinologie, Hôpital Ste Marguerite, Marseille

³ Service d'Endocrinologie et de Diabétologie, CHU Timone, Marseille

⁴ Service d'Endocrinologie, Hôpital Nord, Marseille

⁵ Service d'Endocrinologie, CHU Timone, Marseille

⁶ Laboratoire d'Anatomie Pathologique, CHU Timone, Marseille

⁷ Service de Rééducation Fonctionnelle, Hôpital de l'Archet 1, CHU de Nice

LA RECHERCHE DE PLUSIEURS ANOMALIES DE L'ADN MITOCHONDRIAL PERMET-ELLE D'AMÉLIORER LE DÉPISTAGE DES DIABÈTES MITOCHONDRIAUX ? ANALYSE D'UNE SÉRIE DE 96 PATIENTS PRÉSENTANT UN DIABÈTE ASSOCIÉ À UNE SURDITE

La mutation A3243G tRNA^{Leu} est fréquemment retrouvée dans le syndrome MIDD associant un diabète et une surdité neurosensorielle, transmis selon un mode maternel. Néanmoins, d'autres mutations de l'ADNmt sont responsables de diabètes. Certaines d'entre elles ont été particulièrement étudiées dans la population japonaise. Afin d'estimer la fréquence de telles mutations chez des individus d'origine caucasienne, nous avons étudié une série de 96 patients suspects d'un déficit de la chaîne respiratoire. L'âge moyen est de 60 ans (avec des extrêmes de 8 et 87 ans). Tous présentent un diabète associé à une hypoacousie ou une surdité. A une exception près (un enfant âgé de 8 ans), le diabète est de type 2. Trente et un patients (32%) présentent d'autres signes associés. On retrouve principalement des atteintes oculaires (rétinite pigmentaire, dystrophie maculaire, ptosis et ophtalmoplégie), musculaires, neurologiques (retard mental, épilepsie), cardiaques, digestives. Soixante patients (62,5%) ont des antécédents maternels de diabète. Dix-neuf malades (20%) présentent à la fois d'autres signes associés et des antécédents maternels. Nous avons recherché la présence d'une délétion et des mutations A3243G, A3252G, A3260G, T3264C, T3271C, A8296G, A8344G, T14577C et T14709C. La présence des mutations ponctuelles a été recherchée par analyse de restriction et confirmée si besoin par séquençage. Les résultats révèlent (i) que l'expertise clinique est prépondérante dans le dépistage des diabètes mitochondriaux, (ii) que l'anomalie de l'ADNmt la plus fréquemment retrouvée est la mutation A3243G (6% des cas) et (iii) que la fréquence des autres anomalies rencontrées ne correspond pas à celle annoncée dans la population japonaise.

324. Diagnostic Génétique

NARBONNE Hervé¹, Danielle Perucca-Lostanlen², Bernard Vialettes¹, Claude Desnuelle², Jean-Claude Lambert³, Claude Turc-Carel^{2,3}, Véronique Paquis-Flucklinger^{2,3} 1 Service de Nutrition-Maladies Métaboliques-Endocrinologie, Hôpital Ste Marguerite Marseille France

2 UMR CNRS/UNSA 6549, Faculté de Médecine, Nice

3 Service de Génétique Médicale, Hôpital de l'Archet 2, CHU de Nice)

RECHERCHER LA MUTATION A3243G tRNALEU DE L'ADN MITOCHONDRIAL DANS LES CELLULES DE LA MUQUEUSE BUCCALE POUR AMÉLIORER LE DÉPISTAGE DES DIABÈTES MITOCHONDRIAUX

La mutation A3243G tRNA^{Leu} de l'ADN mitochondrial (ADNmt) est retrouvée chez 1,5% des patients diabétiques, lorsque l'étude moléculaire est réalisée à partir d'un prélèvement sanguin. Certains patients ne sont pas dépistés dans la mesure où c'est dans les leucocytes que le pourcentage d'ADNmt muté est souvent le plus bas. Nous avons étudié 10 patients porteurs d'une mutation 3243 et un patient présentant une mutation T14709C tRNA^{Glu}. Tous présentaient un diabète de type 2 ou des antécédents maternels de diabète. Dans le but de trouver un test plus informatif qu'un prélèvement sanguin, nous avons comparé le pourcentage d'ADNmt muté dans les leucocytes, les cellules de la muqueuse buccale et des follicules pileux. Nous disposions également de prélèvements musculaires, réalisés chez la moitié des patients positifs pour la mutation 3243. Le pourcentage d'ADNmt muté le plus élevé a toujours été retrouvé dans le muscle. Néanmoins, le point le plus intéressant de cette étude réside dans le fait que la proportion d'ADNmt muté est plus importante dans les cellules buccales que dans les leucocytes chez 10 patients, le dernier malade présentant un niveau d'hétéroplasmie semblable dans ces 2 types cellulaires. Une des patientes était négative pour la 3243 dans le sang, alors que cette mutation était retrouvée dans tous les autres tissus. Les résultats sont plus variables pour les follicules pileux, probablement parce que la proportion d'ADN muté varie d'un follicule à l'autre chez le même patient.

En conclusion, de plus larges séries de patients seront nécessaires afin de confirmer si la recherche de mutations de l'ADNmt dans les cellules buccales est susceptible d'améliorer le dépistage des diabètes mitochondriaux. Néanmoins, en l'absence de mutation identifiée sur un prélèvement sanguin, il faut réaliser une étude sur frottis buccaux et follicules pileux avant d'envisager une biopsie musculaire.

325. Diagnostic Génétique

MOERMAN Alexandre¹, Eymard B¹, Steinberg D², Jardel C², Lombes A^{1,3}, Gloc P⁴, Laforet Pascal¹

1 Institut de Myologie Institut de Myologie, Hôpital de la Salpêtrière PARIS

2 Service de biochimie, Hôpital de la Salpêtrière

3 Unité INSERM 523, Hôpital de la Salpêtrière

4 Service de Long Séjour, CH Dieppes

MUTATION MELAS ET SYNDROME DE LA NUQUE TOMBANTE : UNE NOUVELLE ASSOCIATION

La mutation A3243G dans l'ARN^{tLeu} de l'ADN mitochondrial est le plus souvent associée au syndrome MELAS, associant une encéphalopathie, une acidose lactique, et des déficits neurologiques cérébraux d'allure vasculaire. Il se révèle classiquement durant l'enfance ou chez l'adulte avant 40 ans, et l'atteinte musculaire, lorsqu'elle est présente, se manifeste souvent au second plan.

Nous rapportons la survenue, chez une patiente âgée de 71 ans, d'une faiblesse des muscles de la nuque associée à un ptosis droit fluctuant nettement aggravés par la fatigue, à une diplopie, et à des épisodes transitoires de dysphonie et de dysphagie. L'examen clinique mettait en évidence un déficit marqué des muscles fléchisseurs et extenseurs du cou, ainsi qu'un déficit moteur global des quatre membres. Le diagnostic de myasthénie fut évoqué dans un premier temps, mais aucune réponse ne fut observée après traitement immunosuppresseur. La biopsie musculaire a mis en évidence de nombreuses fibres "ragged-

red", ainsi qu'un déficit mosaïque en activité COX. L'étude de l'ADN mitochondrial sur le muscle a montré l'absence de délétion par Southern Blot, et a permis le dépistage de la mutation A3243G du gène de l'ARN de transfert de la leucine à l'état hétéroplasmique.

Cette observation montre un nouvel exemple de la variabilité d'expression phénotypique des maladies associées aux mutations de l'ADN mitochondrial et notamment de la mutation MELAS. Le début tardif des symptômes et l'absence d'atteinte plurisystémique chez cette patiente est probablement en rapport avec la présence de la mutation essentiellement au niveau du tissu musculaire.

326. Génétique Oncologique

SOUFIR Nadem¹, Meziani Roubila¹, Descamps Vincent², Gérard Bénédicte¹, Bertrand Guylene¹, Basset-Seguain Nicole³, Crickx Béatrice², Grandchamp Bernard¹

1 Service de Biochimie Génétique, Hôpital Bichat-Claude Bernard 46 rue Henri Huchard Paris France

2 Service de Dermatologie, Hôpital Bichat-Claude Bernard, Paris

3 Service de Dermatologie, Hôpital Saint-Louis, Paris

PREVALENCE DES VARIANTS DU RECEPTEUR A L'ALPHA MSH (MC1R) CHEZ LES MALADES SUSPECTS DE PREDISPOSITION GÉNÉTIQUE AU MELANOME. CORRELATION AVEC LES MUTATIONS GERMINALES DE P16INK4A

Le mélanome familial est associé dans 20 à 30 % des cas à des mutations germinales de gènes impliqués dans le contrôle du cycle cellulaire (p16INK4A et Cdk4). A côté de ces facteurs génétiques majeurs, des variants fonctionnels du récepteur de type I à l'alphaMSH (MC1R) jouent un rôle important dans le contrôle génétique de la pigmentation cutanée et la prédisposition aux cancers cutanés.

Objectifs : afin d'évaluer leur rôle respectif, nous avons séquencé parallèlement les gènes p16INK4A (exon 1alpha, 2 et 3), Cdk4 (exon2), et MC1R chez 50 malades suspects de prédisposition génétique au mélanome {âge au diagnostic- 25 ans (16) et/ou mélanomes multiples (16) et/ou mélanome familial (13) et/ou mélanome associé à un autre cancer (10) et/ou mélanome survenant en zone non photo-exposée (3)}.

Résultats : treize variants différents ont été identifiés chez 43 des 50 malades atteints de mélanome (86 %), ce qui est significativement supérieur à la prévalence des variants des groupes contrôles précédemment étudiés. Deux malades étaient porteurs d'un variant homozygote, et 16 malades (32 %) étaient hétérozygotes composites. La fréquence des variants était similaire dans chacun des sous-groupes de mélanome examinés. Trois des sept malades sans variant MC1R étaient porteurs d'une mutation germinale du gène p16INK4a ou de p14ARF, un seul malade étant à la fois porteur d'une mutation germinale de p16INK4a et d'un variant MC1R.

Conclusion : La forte prévalence de variants fonctionnels de MC1R chez ces malades sélectionnés semble confirmer le rôle important de MC1R dans la prédisposition génétique au mélanome. L'étude d'un groupe contrôle adéquat est en cours afin d'affiner ces résultats.

327. Génétique Oncologique

SEVILLA Christine¹, JULIAN-REYNIER Claire¹, EISINGER François¹, STOPPA-LYONNET Dominique², BRESSAC-DE PAILLERETS Brigitte³, Jean-Paul MOATTI¹, Hagay SOBOL⁴

1 Inserm U379 232, bd Sainte Marguerite BP 156 - Marseille Cedex 9 France

2 Institut Curie

3 Institut Gustave Roussy

4 Inserm E9939

LA DIFFUSION DES TESTS GÉNÉTIQUES DE PREDISPOSITION AU CANCER DU SEIN OU DE L'OVAIRE

Les tests génétiques de prédisposition au cancer du sein ou de l'ovaire ont été introduits progressivement dans les pratiques médicales depuis l'identification des gènes BRCA1 et BRCA2,

respectivement en 1994 et en 1995. La reconnaissance rapide de droits de propriété intellectuelle sur ces gènes par l'office américain des brevets (USPTO) a entraîné la création d'un monopole d'exploitation sur ces deux gènes détenu par une seule firme américaine sur tout le territoire des Etats-Unis, y compris pour l'activité de tests diagnostiques à des fins cliniques ou de recherche. La demande d'extension de ces brevets en Europe peut faire craindre la reconnaissance d'un tel monopole au-delà des frontières américaines.

L'objectif de notre étude était de comparer grâce à une analyse coût-efficacité le séquençage direct (SD), la procédure adoptée par le détenteur des brevets pour les tests diagnostiques de prédisposition sur BRCA1 et BRCA2, à des stratégies alternatives pour la recherche de mutations ponctuelles, d'insertions ou de délétions de petite taille, la détection des réarrangements de grande taille étant exclue de l'analyse comparative. Dans la mesure où les stratégies d'analyse étaient similaires pour les deux gènes, nous nous sommes limités au test sur BRCA1.

L'évaluation des coûts directs a été réalisée grâce à une observation détaillée, dans trois laboratoires français, des différentes étapes de chaque stratégie considérée. Vingt stratégies au total, représentant toutes les combinaisons possibles de techniques pour l'analyse moléculaire du gène BRCA1, ont été évaluées. Les techniques considérées sont : SD, DHPLC, SSCP, DGGE, HA, PTT et FAMA. La comparaison des résultats de coût et d'efficacité entre les différentes stratégies a été effectuée en supposant que chaque stratégie était utilisée pour le test diagnostique de prédisposition au cancer du sein ou de l'ovaire sur le gène BRCA1 pour une population théorique de 10000 individus avec une probabilité de mutations délétères sur le gène BRCA1 égale à 15%.

Cinq stratégies ont été identifiées comme coût-efficaces, le séquençage direct complet du gène BRCA1 n'en faisant pas partie.

Bien que les brevets représentent des incitations à la recherche, octroyer des droits de propriété intellectuelle d'étendue très large pouvant englober toutes les utilisations possibles du gène identifié peut entraîner qu'une stratégie d'analyse diagnostique, qui n'est pas optimale du point de vue de l'analyse coût-efficacité, devienne l'unique procédure utilisée pour les tests de prédisposition au cancer du sein ou de l'ovaire.

328. Génétique Oncologique

LONGY Michel¹, RULLIER Anne², GILBERT Brigitte³, BECOUARN Yves⁴, OLSCHWANG Sylviane⁵, PARAF François⁶, GORRY Philippe¹

1 Laboratoire de Génétique Oncologique Institut Bergonié 229, crs de l'Argonne - BORDEAUX France

2 Service d'Anatomo-Pathologie, CHU Bordeaux

3 Service de Génétique, CHU Limoges

4 Unité de Gastro-Entérologie, Institut Bergonié

5 Laboratoire de Génétique, Fondation Jean Dausset-CEPH

6 Service d'Anatomo-Pathologie, CHU Limoges

INSTABILITÉ MICRO-SATELLITAIRE DU CANCER COLO-RECTAL AVANT 50 ANS, INTÉRÊT DANS L'IDENTIFICATION DES SYNDROMES HNPCC

L'instabilité micro-satellitaire s'observe dans 15 % environ des cancers colorectaux et dans la presque totalité des tumeurs survenant dans le cadre de la prédisposition héréditaire au cancer colo-rectal de type HNPCC (hereditary non polyposis colo-rectal cancer). L'identification de cette situation pathologique est importante car la surveillance recto-colique par coloscopies répétées a montré son intérêt dans la prise en charge des personnes à risque.

Dans le but d'évaluer la possibilité d'un dépistage des syndromes HNPCC par détermination de l'instabilité micro-satellitaire à partir de blocs d'inclusion de tissu tumoral, nous avons réalisé de manière prospective, un typage allélique de 6 micro-satellites ainsi qu'une recherche immuno-histo-chimique de perte d'expression des gènes hMLH1, hMSH2 et hMSH6 (gènes MMR pour mismatch repair) à propos d'une série de carcinomes colo-rectaux de survenue précoce, avant l'âge de 50 ans.

Cent quatre vingt tumeurs ont été étudiées parmi lesquelles 49 ont montré une instabilité micro-satellitaire soit un taux de positivité de 27%. L'analyse des résultats permet de confirmer la faisabilité de la méthode avec un très faible taux d'échec à condition d'éviter le liquide de Bouin comme fixateur. Il existe d'autre part une corrélation importante mais non complète entre instabilité micro-satellitaire et perte d'expression d'un des gènes MMR. La plupart des cas positifs ont pu bénéficier d'une prise en charge génétique, clinique et moléculaire avec recherche de mutation germinale des gènes MMR mettant en évidence la très forte valeur prédictive de l'instabilité micro-satellitaire des tumeurs colo-rectales de survenue précoce vis à vis du syndrome HNPCC.

329. Génétique Oncologique

TARPIN Carole¹, DIEDLOT R², RABAYROL L³, EISINGER F³, SOBOL H³

1 Institut Paoli-Calmettes INSERM E9939 Marseille

2 Centre d'Examen de Santé

3 INSTITUT PAOLI-CALMETTES INSERM E9939

ANTECEDENTS FAMILIAUX DE CANCER EN POPULATION

L'existence d'antécédents familiaux de cancer est susceptible après validation d'entraîner des modifications dans les stratégies de prévention. Peu d'études existent sur ce sujet et une enquête a été réalisée pour obtenir des données quantitatives. Les données étaient recueillies dans un centre d'examen de santé sous forme d'auto-questionnaires, renseignant sur l'existence d'antécédents familiaux de cancer.

Sur les 2644 personnes (taux de participation : 76,4 %) ayant accepté de participer à cette enquête, 392 (17,2 %) déclaraient avoir un ou plusieurs antécédents de cancer du sein dans leur famille, 369 (14,3 %) de cancer du poumon, 265 (10,7 %) de cancer du côlon et 167 (6,6%) de cancer de l'estomac. Concernant ces quatre cancers (correspondant à 40 % des cas incidents de cancers), 35,9 % de la population étudiée déclare au moins un d'antécédent familial. La fréquence d'antécédents déclarés ne reflète que partiellement la fréquence des cancers évoquant ainsi une sur représentation du cancer du sein et du poumon ou une sous-représentation du cancer du côlon.

Les femmes déclaraient plus d'antécédents familiaux pour le cancer du sein, de côlon et de l'estomac que les hommes (respectivement $p = 0.002$, $p = 0.001$ et $p = 0.03$).

L'âge des personnes déclarant des antécédents familiaux était significativement plus élevé uniquement dans le cancer du côlon.

Le nombre considérable de cancer rapportés rend nécessaire d'un strict point de vue économique, sans préjugé de son utilité médicale et psychologique, des consultations cliniques d'oncogénétique préalable indispensable à la proposition de tests de biologie moléculaire.

330. Génétique Oncologique

LASSET Christine¹, BONADONA Valérie¹, BREMOND Alain¹, MIGNOTTE Hervé¹, MATHEVET Patrice², MARTIN Alain³, ZINZINDOHOUE Cécile⁴, BOBIN Jean-Yves⁴, ROMESTAING Pascale⁴, RAUDRANT Daniel⁵, RUDIGOZ René-Charles⁶, CHOPIN Sandrine⁷, LENOIR Gilbert⁷, SINILNIKOVA Olga⁷

Centre léon Bérard UPEG 28 rue Laënnec LYON France

2 Hospices Civils de Lyon, Hôpital Edouard Herriot

3 Clinique Jeanne d'Arc, Lyon

4 Hospices Civils de Lyon, Centre Hospitalier Lyon SUD

5 Hospices Civils de Lyon, Hôpital de l'Hotel Dieu

6 Hospices Civils de Lyon, Hôpital de la Croix Rousse

7 Centre International de Recherche sur le Cancer, Lyon)

PREVALENCE DES MUTATIONS GERMINALES DE BRCA1 ET BRCA2 DANS LE CANCER DU SEIN CHEZ LA FEMME JEUNE. RESULTATS D'UNE ETUDE DE POPULATION DANS LE RHÔNE.

Nous avons évalué la fréquence des mutations germinales des gènes BRCA1 et BRCA2 dans le cancer du sein de survenue précoce, à partir d'une étude prospective en population.

Via le Registre du cancer du sein du Rhône, 269 femmes atteintes d'un cancer du sein avant l'âge de 46 ans entre 1995 et 1997 ont été incluses et 232 ont accepté de réaliser un prélèvement sanguin.

Parmi les 232 femmes analysées, 15 mutations de BRCA1 (6.5 %) et 6 mutations de BRCA2 (2.6 %) ont été identifiées. La prévalence des mutations est de 12.8 % (15/117) dans le groupe des femmes atteintes avant l'âge de 41 ans et de 5.2 % (6/115) dans le groupe des femmes atteintes entre 41 et 45 ans ($p = 0.04$). Parmi les femmes atteintes avant 41 ans, une mutation a été détectée chez 24 % (9/37) des femmes considérées à haut risque héréditaire de cancer du sein, 0 % (0/16) des femmes ayant une histoire familiale de cancer du sein non évocatrice d'un risque héréditaire, 8 % (4/51) des femmes sans contexte familial de cancer du sein ou de l'ovaire et 15 % (2/13) des femmes dont le contexte familial est inconnu. Parmi les femmes atteintes entre 41 et 45 ans, les fréquences de mutation sont respectivement pour ces 4 catégories de 16 %, 9 %, 0 % et 0 %.

Dans cette série prospective limitant les biais de sélection, nous avons détecté un taux plus élevé de mutations que ceux rapportés dans la littérature, proche de 10 % chez les femmes atteintes de cancer du sein avant 41 ans. Ainsi, une analyse systématique de BRCA1/2 doit être discutée pour ces femmes.

331. Génétique Oncologique

CHARBONNIER Françoise¹, Olschwang Sylviane², Wang Qing³, Boisson Cécile², Martin Cosette¹, Buisine Marie-Pierre⁴, Puisieux Alain³, Frebourg Thierry¹

1 Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHU de Rouen 22 Boulevard Gambetta - Rouen

2 Fondation Jean Dausset-CEPH, Paris

3 Unité d'Oncologie Moléculaire, Centre Léon Bérard, Lyon

4 Laboratoire de Biochimie et Biologie Moléculaire, CHU de Lille

FRÉQUENCE ET HÉTÉROGÉNÉITÉ DES REMANIEMENTS DES EXONS ET DU PROMOTEUR DU GÈNE MSH2 DANS LE SYNDROME HNPCC

Plusieurs études ont rapporté des remaniements génomiques de MLH1 et MSH2 dans le syndrome HNPCC (hereditary non-polyposis colorectal cancer), première cause de cancer colorectal héréditaire, mais la fréquence de ces remaniements n'a jamais été déterminée. Nous avons donc analysé par PCR multiplex fluorescente de courts fragments fluorescents, MSH2, MLH1 et MSH6 dans 61 familles, répondant aux critères stricts d'Amsterdam ou présentant des cas multiples de tumeurs s'intégrant au spectre du syndrome HNPCC, et sans mutation détectable de MSH2 et MLH1. Nous avons détecté 12 remaniements génomiques distincts de MSH2 dans 14 familles (soit 23%) et, en revanche, aucun réarrangement de MLH1 et MSH6. L'analyse de 31 autres familles, répondant partiellement aux critères d'Amsterdam, n'a pas révélé de réarrangement additionnel. Les réarrangements, à l'exception d'un, correspondaient à des délétions d'un ou plusieurs exon(s). Dans 8 familles sur 13 avec délétion, l'analyse par PCR multiplex fluorescente de la région promotrice et de la séquence génomique située en amont du gène MSH2 a révélé que la délétion emportait le promoteur et a démontré l'hétérogénéité des points de cassure. Cette étude montre que, dans les familles HNPCC sans mutation détectable de MSH2 et MLH1, il convient avant tout d'éliminer un remaniement de MSH2 puisque la fréquence de ces altérations est plus élevée que celle des mutations des autres gènes impliqués dans le syndrome HNPCC. De plus, la simplicité de la PCR multiplex fluorescente nous conduit à rechercher un remaniement génomique de MSH2 avant de réaliser un criblage mutationnel classique de MSH2 et MLH1.

332. Génétique Oncologique

COUTURIER Jérôme¹, LEGRAND Isabelle¹, AURIAS Alain², DOZ François³, DESJARDINS Laurence⁴, LEVY Christine⁴, SASTRE-GARAU Xavier⁵, STOPPA-LYONNET Dominique⁶

1 Unité de Cytogénétique Institut Curie - Section Médicale 26 rue d'Ulm PARIS

2 INSERM U509, Institut Curie

3 Service de Pédiatrie, Institut Curie

4 Service d'Ophthalmologie, Institut Curie

5 Service de Pathologie, Institut Curie

6 Service de Génétique oncologique, Institut Curie

CARACTERISATION DES DESEQUILIBRES CHROMOSOMIQUES DU RETINOBLASTOME PAR HYBRIDATION GENOMIQUE COMPARATIVE

Objectif: Identifier de façon exhaustive, par Hybridation Génomique Comparative, les déséquilibres chromosomiques du rétinoblastome et confronter ces données aux caractéristiques clinico-pathologiques des tumeurs. L'étude a porté sur 70 rétinoblastomes (58 sporadiques et 12 bilatéraux et/ou familiaux) obtenus après énucléation chez des enfants âgés de 1 mois à 6 ans.

Résultats: L'analyse des cas sporadiques a montré, outre des del(13) (21% des cas), des gains de 6p (59%), déséquilibre unique dans 11% des cas, de 1q (68%) associés dans les 3/4 des cas à une perte de 16/16q, des gains de 2p (36%), en particulier de p21-25, de 19 (25%), de 13q32 (21%), de 20 (16%), de 7q (14%), de 17q (12%), des pertes de 1p35-36 (20%), et de 17p (14%). Une amplification de 2p24 a été observée dans 4 cas sporadiques et 1 cas bilatéral. Les analyses par FISH et PCR ont montré l'implication de MYCN. Il est observé une moyenne de 1,6 déséquilibre chez les enfants < à 1 an porteurs d'une tumeur sporadique (aucun déséquilibre dans 3/13, gain de 6p seul dans 4/13), de 5,6 chez ceux > 1 an, et de 2,1 chez les porteurs d'une tumeur bilatérale et/ou familiale.

Conclusion: Le rétinoblastome montre des profils de déséquilibre chromosomique caractéristiques. Ceux-ci évoquent l'existence de deux modèles de progression tumorale, l'un, chez l'enfant < à 1 an, n'impliquant pas de déséquilibre ou un gain de 6p isolé, l'autre, chez l'enfant > 1 an, impliquant une accumulation d'anomalies. Il n'est pas vu de corrélation forte avec d'autres caractéristiques clinico-pathologiques.

333. Génétique Oncologique

GIMENEZ-ROQUEPLO Anne-Paule¹, FAVIER Judith², RUSTIN Pierre³, MOURAD Jean-Jacques⁴, PLOUIN Pierre-François⁵, CORVOL Pierre⁵, ROTIG Agnès³, JEUNEMAITRE Xavier¹

1 Département de Génétique Moléculaire, Hôpital Européen Georges Pompidou, 20-40 rue Leblanc Paris France

2 INSERM U36, Collège de France, Paris

3 INSERM U393, Hôpital des Enfants Malades, Paris

4 Service de Médecine Interne, Hôpital Saint-Michel, Paris

5 Service d'Hypertension Artérielle, HEGP, Paris

PARAGANGLIOME HÉRÉDITAIRE: ÉTUDE FONCTIONNELLE DE LA MUTATION R22X DU GÈNE SDHD

Les paragangliomes familiaux sont le plus souvent des tumeurs, très vascularisées, bénignes du système nerveux autonome composées de cellules issues de la crête neurale primitive. Récemment trois gènes, SDHD, SDHC et SDHB ont été incriminés dans le déterminisme génétique de cette maladie. Ces gènes codent pour les protéines qui forment le complexe II dans la chaîne respiratoire mitochondriale.

Nous avons étudié une famille française dans laquelle le père et le fils aîné ont présenté des paragangliomes bilatéraux du glomus carotidien et le deuxième fils, un paragangliome cervical et un phéochromocytome ectopique en position rétrocardiaque. Nous avons identifié une nouvelle mutation non-sens du gène SDHD siégeant dans l'exon 2 (R22X) présente à l'état hétérozygote chez tous les sujets atteints. Le génotypage de 13 marqueurs microsatellites du bras long du chromosome 11 a montré une perte d'hétérozygotie au niveau tumoral due à une délétion terminale du bras long du chromosome 11 d'origine

maternel. Les conséquences fonctionnelles de cette mutation ont été étudiées au niveau tumoral par l'analyse *in vitro* du fonctionnement enzymatique de la chaîne respiratoire mitochondriale. Une perte complète et sélective de l'activité enzymatique du complexe. Il a été observée sur le phéochromocytome héréditaire mais pas sur 6 phéochromocytomes sporadiques. Cette perte d'activité était associée à une surexpression des marqueurs angiogéniques. En particulier, nous avons détecté un fort niveau d'expression du VEGF et de son récepteur VEGF-R1, de EPAS1 et de HIF-1 α par immunohistochimie et hybridation *in situ*. En conclusion, l'inactivation du gène SDHD, secondaire à une mutation germinale hétérozygote associée à une perte d'allèle maternel au niveau tumoral, entraîne une perte de l'activité enzymatique du complexe II de la chaîne respiratoire mitochondriale associée à une surexpression des facteurs de réponse à l'hypoxie impliqués dans l'angiogénèse.

334. Génétique Oncologique

SEITE Paule¹, Ayrault Olivier¹, Karayan-Tapon Lucie¹, Cantereau Anne², Riou Jean-François³, Larsen Christian-Jacques¹

¹ Laboratoire d'oncologie moléculaire.IBMIG CNRS FRE 2224 40 av du recteur Pineau - Poitiers cedex France

² Service de cytométrie. IFR 59.Poitiers

³ CNRS FRE 2141. Unité Median.Reims

CARACTÉRISATION DE L'INTERACTION PHYSIQUE ET FONCTIONNELLE ENTRE LA PROTÉINE p14ARF ET LA TOPOISOMÉRISE I HUMAINES.

La protéine humaine p14ARF participe à la régulation négative du cycle cellulaire par son implication dans la voie ARF-MDM2-p53. Chez la Souris, l'exon 1b de p19ARF (homologue murin de p14ARF) semble suffisant pour assurer la localisation nucléolaire de la protéine, la liaison à MDM2 et l'arrêt de prolifération.

Deux nouveaux partenaires de p14ARF ont été récemment décrits : le facteur transcriptionnel E2F1 (1) et la Topoisomérase de type I (2).

Nous avons entrepris de caractériser les modalités de l'interaction p14ARF/Topo I, à l'aide de mutants de délétion et de mutants ponctuels de la protéine ARF, et ce par trois approches complémentaires :

- Analyse de la localisation des deux protéines par microscopie confocale.

- Analyse de l'interaction physique par co-immunoprécipitation .

- Analyse de l'effet de p14ARF sur l'activité catalytique de la Topo I.

Les résultats montrent que l'exon 2 de p14ARF est nécessaire et suffisant pour l'interaction physique avec Topo I. En revanche l'exon 1b n'est pas impliqué. Cette interaction physique est confirmée par le fait qu'une partie de la Topo I co-localise avec p14ARF dans le nucléole. Ces données s'accordent avec l'hypothèse selon laquelle l'interaction ARF / Topo I remplirait sa fonction au niveau du nucléole. Enfin, plusieurs résultats avec les deux catégories de mutants montrent que l'exon 2 est requis pour stimuler l'activité catalytique de Topo I, alors que l'exon 1b n'exerce aucune activité.

Afin de mieux appréhender la signification biologique de cette interaction, nous recherchons son éventuelle implication dans une nouvelle voie de régulation du cycle cellulaire. De même, nous nous interrogeons sur le rôle de ces protéines dans la synthèse et la maturation des ARNr, ainsi que dans les phénomènes d'épissage.

(1) Eymin E *et al*, 2001. Oncogene, 20, 1033-1041.

(2) Karayan L *et al*, 2001. Oncogene, 20, 836-848.

335. Génétique Oncologique

COUPIER Isabelle¹, Baldeyron C², Gad S¹, Papadopoulo D², Stoppa-Lyonnet Dominique¹

¹ Institut Curie / Service de Génétique Oncologique 26 rue d'Ulm - Paris France

² Institut Curie / CNRS, UMR 218, Génotoxicologie et Modulation de l'Expression Génique

REPARATION DES CASSURES DOUBLE BRIN DE L'ADN PAR NON HOMOLOGOUS END JOINING DANS TROIS LIGNÉES LYMPHOBLASTOÏDES COMPORTANT UNE MUTATION FAUX SENS DE BRCA1

L'interprétation des mutations faux-sens du gène BRCA1 reste difficile, car nous ne disposons pour l'instant d'aucun test fonctionnel simple. La macroprotéine BRCA1 a un rôle dans la réparation de l'ADN. Les lignées hétérozygotes BRCA1+/- comportant une mutation conduisant à une protéine tronquée, présentent un défaut de fidélité de la réparation des cassures double brin.

Nous rapportons ici l'étude de la fidélité de réparation des cassures double brin, par le test de "Host-Cell End-Joining", dans trois lignées lymphoblastoïdes présentant une mutation faux-sens dans un domaine important de la protéine et responsable d'un changement de classe de l'acide aminé substitué. Ces lignées ont été établies à partir de trois patientes ayant été traitées pour un cancer du sein ou de l'ovaire dont la probabilité de prédisposition compte tenu de leur histoire familiale était supérieure à 80%.

La stratégie de "Host-Cell End-Joining" consiste à introduire dans les lignées un substrat de recombinaison, le plasmide pHRecCJ, contenant une cassure double brin et à étudier la fidélité de réparation de cette cassure.

Nos résultats mettent clairement en évidence un défaut de fidélité de la réparation dans les trois lignées. Afin de comprendre ces résultats, nous avons examiné le taux de protéine BRCA1 par Western blot qui s'est avéré être effondré. Cela pourrait expliquer le phénotype observé.

S'il existait une corrélation entre les mutations faux-sens et le faible taux de protéine, l'analyse par Western blot du taux de protéine pourrait être un marqueur prédictif de la présence d'une mutation de BRCA1.

336. Génétique Oncologique

LE MEUR Nathalie¹, Jean Michel Flaman¹, Julien Gautherot¹, Audrey Killian¹, Philip Hieter², Thierry Frebouret¹

¹ INSERM EMI 9906, Faculté de Médecine et de Pharmacie, et Service de Génétique, 22 boulevard Gambetta - Rouen

² Center for Molecular Medicine and Therapeutics, University of British Columbia, Vancouver, Canada

IDENTIFICATION DANS LA LEVURE DE GÈNES DONT L' INACTIVATION CONDUIT À UNE INSTABILITÉ CHROMOSOMIQUE

Les cellules cancéreuses sont caractérisées par une remarquable instabilité génétique. Si les bases moléculaires de l'instabilité des microsatellites ou MIN sont aujourd'hui bien connues, celles de l'instabilité chromosomique ou CIN qui concerne la majorité des tumeurs restent à déterminer. Cependant, les données récentes obtenues dans la levure ont montré que l'altération du point de contrôle du fuseau mitotique ou Spindle checkpoint conduisait à une instabilité chromosomique. Nous avons donc entrepris d'inactiver dans la levure des gènes dont l'expression est induite par les poisons du fuseau et présentant des homologues humains. L'inactivation par recombinaison homologue ou par construction de mutants thermo-sensibles a été réalisée dans une souche indicatrice, dans laquelle l'instabilité chromosomique se traduit par l'apparition de secteurs rouges dans des colonies blanches. Nous avons ainsi identifié le gène YMR131c dont l'inactivation altère la ségrégation chromosomique. La souche mutante pour ce gène est anormalement sensible au bénomyl, ce qui indique une altération du point de contrôle du fuseau mitotique. Dans le but d'identifier la voie biologique du gène YMR131c, nous avons recherché des suppresseurs par criblage dans la souche mutante d'une banque

génomique de levure multi-copies. L'homologue humain d'un des candidats potentiels est un gène suppresseur de tumeurs impliqué dans le remodelage de la chromatine.

337. Génétique Oncologique

BRESSAC-de PAILLERETS Brigitte¹, CHOMPRET Agnès², AVRIL Marie-Françoise³, DEMENAIIS Florence⁴, LENOIR Gilbert¹

1 Institut Gustave Roussy, Service de Génétique, Villejuif 39 rue Camille Desmoulins Villejuif France

2 Département de Médecine, Institut Gustave Roussy, Villejuif

3 Service de Dermatologie, Institut Gustave Roussy, Villejuif

4 Unité INSERM d'Epidémiologie Génétique, EPI N°006 Evry

IDENTIFICATION DES PERSONNES À HAUT RISQUE DE MÉLANOME: DE LA RECHERCHE VERS LA GÉNÉTIQUE MÉDICALE?

Objectifs: En France, des mutations germinales de CDKN2A sont retrouvées dans environ 30% des familles de mélanome et 10% des cas multiples sporadiques. Les porteurs d'une mutation CDKN2A ont un risque d'environ 60% de développer un mélanome au cours de leur vie. Aujourd'hui, on peut se demander si l'activité de génotypage CDKN2A relève de la recherche ou de la génétique médicale. Selon l'ASCO, un test de prédisposition génétique au cancer doit être proposé (1) si le test peut-être interprété sans ambiguïté (2) si le résultat va influencer la prise en charge médicale de la personne. Un test fonctionnel *in vitro* permet de valider la plupart des mutations faux-sens. Pour répondre au point 2, nous avons lancé une enquête par questionnaire auprès de 24 praticiens prenant en charge des personnes, atteintes ou asymptomatiques, appartenant à des familles dans lesquelles une mutation germinale délétère de CDKN2A avait été identifiée.

Résultats: La moitié des praticiens ont répondu (12/24). A la dernière question, En pesant le ratio bénéfices/inconvénients, pensez-vous que l'information génétique sur CDKN2A (alias p16) soit utile pour la prise en charge de vos patients?, 10 praticiens ont répondu OUI, 2 Ne sait pas et aucun NON.

Conclusion: Cette enquête apporte des arguments pour considérer que la recherche de mutations germinales de CDKN2A dans les familles et les mélanomes multiples sporadiques est une activité de génétique médicale et non plus de recherche. D'un point de vue légal, ces activités ne relèveraient donc plus de la loi Huriet mais de la loi de Bioéthique et de ses textes d'application.

338. Génétique Oncologique

BRESSAC-de PAILLERETS Brigitte¹, AUROY Stéphane², PHAM Danièle¹, CHOMPRET Agnès³, AVRIL Marie-Françoise⁴

1 Service de Génétique, Institut Gustave Roussy, Villejuif 39 rue Camille Desmoulins - Villejuif France

2 Service de Dermatologie, Hôpital Tarnier, Paris

3 Département de Médecine, Institut Gustave Roussy, Villejuif

4 Service de Dermatologie, Institut Gustave Roussy, Villejuif

VALIDATION FONCTIONNELLE DES PROTÉINES P16 ET CDK4 MUTÉES

Objectifs: CDKN2A est le principal gène de susceptibilité au mélanome alors que les mutations de CDK4 sont rares. La plupart des mutations germinales de ces deux gènes étant de type faux-sens, il est nécessaire de s'assurer de leur caractère délétère. Dans ce but, nous avons mis au point un test de co-immunoprécipitation *in vitro* des protéines p16 et CDK4.

Résultats: Les protéines sauvages p16 et CDK4 ont co-immunoprécipité à leur taille attendue. L'intensité de la protéine CDK4 a servi pour fixer le 100% de liaison de la protéine p16 sauvage. Le pourcentage de fixation des protéines p16 mutantes a été calculé par rapport à ce 100%. Huit mutants p16 avaient une liaison à CDK4 sauvage inférieure à 10% et 5 mutants avaient une capacité de liaison à CDK4 intermédiaire. Un seul mutant se liait à CDK4 de manière strictement identique à la protéine p16 sauvage, Ala57Val. Ce travail nous a permis de tester 5 mutants connus et de valider 8 mutants p16 et un mutant CDK4 décrits par notre équipe uniquement.

Conclusion: Ce test s'avère sensible avec potentiellement un faux négatif, sur 14 mutants p16 testés. Ce variant Ala57Val peut aussi être réellement sans conséquence fonctionnelle. La validation par ségrégation dans la famille étant impossible, nous ne pouvons conclure. La mutation Gly23Asp suspectée d'être non délétère sur l'argument qu'elle n'était présente que chez l'un des cas de mélanome d'une famille à 3 cas, présente une absence totale de liaison à CDK4 *in vitro* et peut être donc considérée comme délétère.

339. Génétique Oncologique

GIULIANO Fabienne¹, Sabine SANTUCCI-DARMANIN¹, Jean-françois MICHIELS², Philippe PAQUIS³, Anne SAUNIERES¹, Véronique PAQUIS-FLUCKLINGER¹

1 UMR CNRS/UNSA 6549 Faculté de Médecine Av Valombrose Nice

2 Laboratoire d'Anatomie Pathologique, Hôpital Pasteur, CHU de Nice

3 Service de Neurochirurgie, Hôpital Pasteur, CHU de Nice

EXPRESSION ABERRANTE DE LA PROTÉINE MSH4 (MUTS HOMOLOG 4) DANS DES TUMEURS GLIALES

Ces dernières années, différents gènes de la famille MSH codant pour des protéines indispensables pour la réparation des mésappariements de l'ADN (système MMR) ont été identifiés chez l'homme. Des mutations dans certains de ces gènes sont responsables de cancers héréditaires ou sporadiques, caractérisés par une instabilité génétique (MSI ou instabilité de microsatellites). Dans le laboratoire, nous avons identifié le gène MSH4 humain. La protéine MSH4 n'a pas de rôle dans la réparation des mésappariements. Dans des conditions normales, elle est exprimée uniquement dans les cellules germinales où elle participe aux mécanismes de recombinaison méiotique. Dans ce cadre, nous avons montré qu'elle interagit avec des partenaires impliquées à la fois dans la recombinaison méiotique mais également dans la réparation de l'ADN, dans les cellules somatiques. Ces résultats associés à certaines données de la littérature nous ont fait émettre l'hypothèse qu'une expression aberrante de MSH4 dans des cellules somatiques pourrait être à l'origine d'un défaut dans le système MMR. Après avoir étudié plusieurs types de cancers, nous avons retrouvé une expression anormale de MSH4 dans des tumeurs gliales. Afin de tester l'implication potentielle de MSH4 dans la progression de ces tumeurs, nous avons analysé une série de 40 gliomes. Nos résultats montrent (i) que MSH4 est exprimée dans 50% des tumeurs gliales, (ii) que les MSI ne sont pas fréquentes dans les gliomes, (iii) que l'expression de MSH4 n'est pas associée à une MSI. Ils suggèrent que l'expression anormale de MSH4 n'est pas associée à un défaut du système MMR dans ces tumeurs. Néanmoins, d'autres hypothèses concernant le rôle potentiel de MSH4 dans une des voies de progression de ces tumeurs sont actuellement testées.

340. Génétique Oncologique

DUPONT Madeleine

Hôpital Arnaud de Villeneuve - Montpellier cedex 5 France

DETECTION RAPIDE DES REARRANGEMENTS DU GENE MLL PAR MULTIPLEX RT-PCR EN UN SEUL ESSAI.

Le gène MLL en 11q23 est fréquemment réarrangé dans les leucémies aiguës lymphoblastiques (LAL) et myéloblastiques (LAM). Actuellement 50 régions chromosomiques sont répertoriées dans les translocations impliquant 11q23. Les translocations t(4;11)(q21;q23)[MLL/AF4] et t(11;19)(q23;p13.3)[MLL/ENL] sont fréquemment retrouvées chez les jeunes enfants atteints de LAL. Dans les LAM on retrouve les translocations t(6;11)(q27;q23)[MLL/AF6], t(9;11)(p21-22;q23)[MLL/AF9] et t(11;19)(q23;p13.1)[MLL/ELL].

Objectif : Nous avons développé au laboratoire une stratégie de détection rapide par multiplex RT-PCR des principaux réarrangements du gène MLL spécifiques de chaque phénotype. Après extraction de l'ARN et transcription reverse nous réalisons en un seul essai les mixs multiplex nécessaires. Chaque

mix contient un primer MLL spécifique en 5' (MLL5N sur l'exon 8) et les amorces 3' spécifiques du gène de fusion : mix 1 P4(AF4), P6(AF6), P8(AF9), P10(ENL), ELLint(ELL); mix 1bis P3(AF4); mix 6bis P5(AF6); mix 9bis P7(AF9); mix 19bis P9(ENL), ELLExt(ELL). Nous co-amplifions dans chaque mix le gène HPRT comme contrôle interne. La spécificité des produits amplifiés est obtenue après hybridation avec la sonde spécifique MLL5BIOT. Le dépistage du transcrite de fusion est fait avec le mix 1 et son identification avec un des mixes bis. Un contrôle négatif et des contrôles positifs sont inclus dans chaque série.

Résultats et Conclusion : L'utilisation de ce protocole nous a permis de détecter rapidement et avec succès en un seul essai les réarrangements du gène MLL chez 20 patients atteints de leucémies aiguës. Ces résultats transmis rapidement au clinicien ont permis de prendre en compte l'implication pronostic du résultat pour l'orientation des choix thérapeutiques.

341. Génétique Oncologique

PHILIPPE Christophe¹, DEMMERLE C¹, LE CAIGNEC C¹, LUPORSI E², JONVEAUX P¹

1 Laboratoire de génétique, CHU Nancy-Brabois, EA 3441 rue du morvan - Vandoeuvre les Nancy France

2 Consultation d'oncogénétique, Centre Alexis Vautrin, Vandoeuvre les Nancy

RECHERCHE DE MUTATIONS AU SEIN DU GÈNE BRCA1 DANS DES FAMILLES AVEC PRÉDISPOSITION HÉRÉDITAIRE AUX CANCERS DU SEIN ET/OU DE L'OVAIRE : L'EXPÉRIENCE LORRAINE

Le cancer du sein est la tumeur la plus fréquente chez la femme (26 000 nouveaux cas par an en France), on estime que 5 à 10% des cas de cancer du sein et/ou de l'ovaire sont liés à des facteurs de prédispositions héréditaires. BRCA1 (Breast CAncer) et BRCA2 sont deux gènes majeurs de prédisposition aux cancers, des mutations dans BRCA1 étant à l'origine de 65% des formes familiales de cancer du sein et 95% des formes sein et ovaire. Nous avons mis en place, dans le cadre de la Fédération Nationale des Centres de Lutte Contre le Cancer (groupe Génétique et Cancer), une étude du gène BRCA1 chez des familles remplissant les critères cliniques définis par l'Expertise collective INSERM-FNCLCC en 1998. La recherche de mutations au sein de la région codante de BRCA1 est réalisée en deux temps: 1) pré-criblage de variants nucléotidiques 2) séquençage afin d'établir le caractère délétère ou non du variant. Initialement, nous n'avons étudié qu'une partie du gène BRCA1 (exons 2-11-13-17-18-20) par CSGE (Conformation Sensitive Gel Electrophoresis) dont la sensibilité n'est que de 75%-80% ; nous avons par la suite opté pour la DHPLC (Denaturing High Performance Liquid Chromatography) qui permet un pré-criblage beaucoup plus sensible et automatisable afin d'étudier BRCA1, puis BRCA2, dans leur totalité. Le pré-criblage par CSGE des exons 2-11-13-17-18-20 de BRCA1 nous a permis de caractériser la mutation délétère pour 26 des 99 familles étudiées (26%), 9 mutations différentes ont été identifiées (8 décalages du cadre de lecture et 1 non sens). Deux mutations sont récurrentes et retrouvées dans 14 familles (3600 del 11) et 3 familles (916del2). De plus, deux nouvelles mutations faux sens (M18T, H285G), dont il est difficile de savoir si elles sont réellement à l'origine de la prédisposition aux cancers, ont été identifiées au sein de BRCA1. La notion d'effet fondateur explique probablement l'importance de la mutation 3600del11 dans l'Est de la France. Une analyse des haplotypes à l'aide de marqueurs polymorphes de type microsatellites est prévue sur quelques 30 familles (Alsace et Lorraine) différentes pour tester l'hypothèse d'un effet fondateur et pour éventuellement estimer l'âge de la mutation.

342. Génétique Oncologique

MAIRE Georges¹, GATTAS Gilka FJ², PEDEUTOUR Florence¹

1 Laboratoire de génétique Hôpital de l'Archet 151 route de saint-Antoine de Ginestière - Nice France

2 Département de Médecine Légale, Ethique et Médecine Préventive, Faculté de Médecine, Université de Sao Paulo, Brésil

DIAGNOSTIC MOLÉCULAIRE DES TUMEURS DE DARIER-FERRAND PAR DETECTION DU GENE DE FUSION COL1A1-PDGFB

La tumeur de Darier-Ferrand (DF) est une tumeur intradermique de malignité intermédiaire. La fréquence des DF a été longtemps sous-estimée chez l'enfant, chez qui les diagnostics peuvent être délicats.

Le caryotype des DF de l'adulte est caractérisé par un chromosome surnuméraire en anneau contenant des séquences des chromosomes 17 et 22. Chez l'enfant on observe une translocation t(17;22). Ces remaniements chromosomiques correspondent à une même anomalie moléculaire, avec fusion des gènes COL1A1 et PDGFB. Le point de cassure est constant dans PDGFB (exon 2) mais variable dans COL1A1 (exons 6 à 49).

Nous avons développé une technique de diagnostic basée sur l'identification par RT-PCR multiplexe du gène chimérique COL1A1-PDGFB. Cette stratégie moléculaire nous a permis de mettre en oeuvre un outil diagnostique complémentaire aux examens clinique, morphologique, immuno-histochimique et cytogénétique. Nous avons également réalisé une étude rétrospective sur 25 cas visant à rechercher une corrélation entre la localisation du point de cassure dans COL1A1 et l'âge de survenue, ou les particularités cliniques et histologiques. Nos résultats montrent que : -1) la technique de RT-PCR apporte une aide déterminante au diagnostic différentiel des cas difficiles, avec en particulier un taux de réussite de 85% pour les prélèvements fixés et inclus en paraffine, qui représentent souvent le seul matériel biologique disponible -2) il n'apparaît pas de corrélation entre la localisation de la cassure dans COL1A1 et l'âge des patients, la localisation anatomique, la forme histologique ou chromosomique) il pourrait exister environ 10% de DF dans lesquels les remaniements géniques impliqueraient d'autres gènes que COL1A1 et PDGFB.

343. Génétique Oncologique

BONADONA Valérie¹, SALTEL Pierre¹, DESSEIGNE Françoise¹, MIGNOTTE Hervé¹, SAURIN Jean-Christophe², Qing WANG¹, SINILNIKOVA Olga³, GIRAUD Sophie², FREYER Gilles⁴, PUISIEUX Alain¹, PLAUCHU Henri⁵, LASSET Christine¹

1 Centre Léon Bérard UPEG 28 rue Linnec - LYON cedex 08 FRANCE

2 Hospices civils de LYON; Hôpital Edouard Herriot

3 Centre International de Recherche sur le Cancer, Lyon

4 Hospices Civils de LYON, Centre Hospitalier Lyon SUD

5 Hospices Civils de LYON, Hôpital de L'Hotel Dieu

LES PREDISPOSITIONS HEREDITAIRES AUX CANCERS DU SEIN ET DU COLON NON POLYPOSIQUE : IMPACT DU RENDU DE RESULTAT CHEZ DES PATIENTS ATTEINTS DE CANCER

Nous avons évalué de façon prospective les répercussions personnelles et familiales de l'annonce d'un résultat positif de diagnostic génétique dans une population atteinte de cancer.

Des entretiens semi-structurés ont été conduits un mois après le rendu de résultat chez 23 patients atteints de cancer et reconnus porteurs d'une prédisposition héréditaire au cancer du sein ou du colon.

Huit patients ont exprimé spontanément des réactions de détresse ("On ne se sent plus guéri") et 14 patients ont reporté au moins un sentiment négatif d'insatisfaction, de découragement, de mécontentement ou d'inquiétude. Seize patients ont exprimé des inquiétudes face au risque de développer un autre cancer et 18 face à l'avenir de leurs enfants. Bien que 8 patients aient déclaré que les inconvénients de connaître son statut génétique

l'emportaient sur les avantages, seul un patient a regretté avoir entrepris une démarche de diagnostic génétique.

Tous les patients ont transmis leur résultat à au moins un parent proche. Six disent avoir ressenti des difficultés à être la seule personne pouvant communiquer ce résultat et 9 ont trouvé qu'il s'agissait d'une lourde responsabilité, mais seul un patient aurait souhaité que quelqu'un d'autre s'en charge.

Ces résultats, qui demandent confirmation sur des études plus larges, illustrent l'impact négatif potentiel des tests génétiques chez des patients atteints de cancer. Bien que les patients affirment s'attendre à un résultat positif, les cliniciens doivent être conscients de possibles réactions de détresse et des difficultés à transmettre leur résultat au sein de leur famille.

344. Génétique Oncologique

GAD Sophie¹, MONCOUTIER Virginie¹, BERHOUE Sabine¹, AURIAS Alain², BENSIMON Aaron³, STOPPA-LYONNET Dominique¹

¹ Service de Génétique Oncologique Institut Curie - Section Médicale 26 rue d'Ulm - PARIS FRANCE

² Inserm U509, Institut Curie, Section de Recherche

³ Laboratoire de Biophysique de l'ADN, Institut Pasteur

RECHERCHE DE RÉARRANGEMENTS DU GÈNE BRCA1 PAR PEIGNAGE MOLÉCULAIRE DE L'ADN

5% des cas de cancer du sein sont liés à une prédisposition génétique majeure, de transmission autosomique dominante. Les patientes prédisposées s'inscrivent dans une histoire familiale de cancers du sein souvent associés à une atteinte ovarienne. Des analyses de liaison ont montré que BRCA1 est impliqué dans 80% des cancers héréditaires du sein et de l'ovaire. Malgré les techniques performantes de criblage de BRCA1, seulement 68% des mutations attendues sont détectées. Basées sur la PCR, elles focalisent sur les mutations ponctuelles. Ce taux peut s'expliquer par l'existence de réarrangements. Quelques réarrangements de BRCA1 ont été détectés par Southern-blot ou analyse des transcrits. Les premières estimations de fréquence de ces réarrangements dans le spectre de mutations de BRCA1 sont de 15 et 36%. Les réarrangements décrits varient de 0,5 à 23,8 kb et se répartissent sur l'ensemble du gène. Aussi, cribler BRCA1 à la recherche de réarrangements requiert une vue panoramique de ce gène.

Pour cela, nous avons retenu le Peignage d'ADN, consistant à ancrer des molécules d'ADN en solution par une de leurs extrémités et à les étirer de manière homogène aboutissant à un facteur de 2 kb/micron, et permettant l'obtention d'un code-barre de la région de BRCA1.

Une série de 123 patientes sein/ovaire a été constituée. 38 étaient porteuses d'une mutation de BRCA1 et 16 de BRCA2. Les 69 cas négatifs ont été étudiés par code-barre de BRCA1, et 4 réarrangements ont été détectés. Les réarrangements représentent donc 9.5% d'altérations dans le spectre de mutations de BRCA1.

345. Génétique Oncologique

GAUTHIER-VILLARS Marion¹, LAUG...¹, IDIRIAN A¹, BERHOUE S¹, DUBOIS D'ENGHIEN C², DOZ F³, QUINTANA E³, DESJARDINS L⁴, LUMBROSO L⁴, LEVY C⁴, ZUCKER J-M³, COUTURIER J², STOPPA-LYONNET D¹

¹ Service de Génétique Oncologique Institut Curie - Paris France

² Institut Curie / Service de Cytogénétique

³ Institut Curie / Service de Pédiatrie

⁴ Institut Curie / Service d'Ophthalmologie

RECHERCHE DE MUTATIONS CONSTITUTIONNELLES DU GÈNE RB : BILAN D'UNE STRATÉGIE COMBINANT CYTOGÉNÉTIQUE, DHPLC ET PCR MULTIPLEXE SEMI-QUANTITATIVE.

Une étude du gène RB a été réalisée chez 85 patients atteints d'un rétinoblastome uni ou bilatéral. Elle a reposé (1) sur l'analyse de 26 amplicons recouvrant les 27 exons, leurs régions flanquantes et le promoteur, en DHPLC permettant la détection de mutations de petites tailles, et (2) sur l'analyse de l'ensemble du gène RB et de sa région promotrice en PCR multiplexe semi-quantitative, à la recherche de remaniements de grande taille. Un

examen caryotypique a complété l'étude des cas bilatéraux ou familiaux.

Sur les 85 patients, 34 mutations tronquantes (27 de petite, 7 de grande taille) et une délétion de 5 acides aminés ont été identifiées : 2 mutations sur 41 cas unilatéraux non familiaux (5%); 17 mutations sur 28 cas bilatéraux non familiaux (61%) dont un avec une délétion caryotypique de 13q14 en mosaïque; 16 mutations chez les 16 cas uni ou bilatéraux ayant une histoire familiale (100%).

Le taux de détection de mutation dans cet échantillon de rétinoblastomes familiaux permet de retenir que la sensibilité de la stratégie de criblage retenue est optimale. Le taux de mutations trouvé dans les rétinoblastomes bilatéraux (61% vs 100%) est significativement inférieur et suggère qu'une partie des 40% de rétinoblastomes bilatéraux non familiaux, pourraient être liés à une mutation post-zygotique non détectable à partir de l'ADN leucocytaire. Cette observation nous conduit à proposer de reprendre l'analyse du gène RB à la naissance d'enfants d'un parent atteint d'un rétinoblastome bilatéral non familial.

346. Génétique Oncologique

OLSCHWANG Sylviane¹, Bourguignon Jeannette², Martin Cosette^{2,3}, Charbonnier Françoise², Boisson Cécile¹, Frebourg Thierry^{2,3}

¹ Fondation Jean Dausset-CEPH 27 rue Juliette Dodu - Paris

² INSERM EMI 9906, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Rouen

³ Service de Génétique, Rouen

MOSAÏQUE SOMATIQUE DU GÈNE APC ASSOCIÉE À UNE POLYPOSE ADÉNOMATEUSE FAMILIALE ET UNE TRANSMISSION GERMINALE

Les mutations *de novo* du gène APC sont impliquées dans approximativement 25% des cas de polypose adénomateuse familiale et les mutations post-zygotiques ont été décrites uniquement dans 2 familles. Nous rapportons le cas d'une famille dans laquelle le cas index présentait une mutation post-zygotique du gène APC, présente à la fois dans la lignée germinale et l'épithélium colique. Cette patiente a eu une colectomie totale à 50 ans pour une polypose adénomateuse diffuse révélée par un adénocarcinome rectal. L'absence d'antécédent familial de polypose suggérait une mutation *de novo*. Le séquençage complet du gène APC réalisé à partir du sang n'a détecté aucune mutation. Les coloscopies de dépistage effectuées chez ses 7 enfants ont révélé une polypose dans 4 cas et l'analyse du gène APC a alors permis d'identifier une mutation délétère (Q541X, exon 12) chez les 4 enfants atteints. L'analyse de plusieurs prélèvements du cas index a confirmé l'absence de cette mutation dans le sang, indiquant une mosaïque touchant la lignée germinale. Nous avons émis l'hypothèse que cette mutation devait être également présente dans l'épithélium colique du cas index. La microdissection du tissu colique et l'analyse d'APC ont effectivement confirmé la présence de la mutation Q541X hétérozygote dans les cellules épithéliales normales et révélé la perte de l'allèle sauvage dans la tumeur. En revanche, la mutation était absente d'autres tissus comme le muscle. Il s'agit à notre connaissance du premier cas de mosaïque du gène APC touchant simultanément l'épithélium intestinal et les gonades, dérivés de l'endoderme et du mésoderme.

347. Génétique Oncologique

NOGUES Catherine¹, **ANDRIEU Nadine**², **BONAITI Catherine**², **EISINGER François**³, **JULIAN-REYNIER Claire**⁴, **LASSET Christine**⁵, **STOPPA-LYONNET Dominique**⁶, **SOBOL Hagay**³, **DE VATHAIRE Florent**², **GROUPE GÉNÉTIQUE ET CANCER DE LA FNCLCC**

1 Centre René Huguenin 35 rue Dailly - Saint-Cloud France

2 INSERM U521, Villejuif

3 Institut Paoli-Calmettes, Marseille

4 INSERM U379, Marseille

5 Centre Léon Bérard, Lyon

6 Institut Curie, Paris

PREDISPOSITIONS GÉNÉTIQUES AUX CANCERS DU SEIN ET DE L'OVAIRE : ETUDE PROSPECTIVE DE SUJETS PORTANT UNE MUTATION DES GENES BRCA

Objectifs. Le cancer du sein est le cancer le plus fréquent chez la femme en France. Son incidence a augmenté depuis les dernières décennies et cette tendance pourrait être due à une augmentation d'exposition à différents facteurs de risque. Le cancer de l'ovaire se place au 4ème rang des cancers de la femme et est depuis plusieurs années en progression croissante. L'existence d'antécédents familiaux de cancer du sein est le facteur de risque le plus important de ce cancer, mais aussi de cancer de l'ovaire. Les mutations de deux gènes BRCA1 et BRCA2 sont, au moins en partie, à l'origine de cet excès de risque. L'ensemble des prédispositions héréditaires représenterait entre 5 et 10% de tous les cas de cancer du sein et de l'ovaire. La prise en charge des familles dans lesquelles une telle mutation a été identifiée pourrait être améliorée par la résolution de certaines questions : 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 des cancers de l'ovaire associés à une altération des gènes BRCA que ceux habituellement utilisés pour les cancers communs ? 4) Quel est l'impact psychologique et social de l'information sur la prédisposition génétique au cancer du sein ? Quel est l'impact sur les comportements de prévention ?

Méthode. Une cohorte de femmes et d'hommes porteurs d'une mutation d'un gène BRCA est mise en place au niveau national. 500 inclusions sont attendues en 4 ans. Les personnes, porteuses d'une mutation d'un gène BRCA et âgées de 18 ans et plus, sont incluses à partir des consultations d'oncogénétique. Elles complètent un questionnaire épidémiologique et psychologique d'inclusion. Un suivi annuel est organisé au sein des consultations, un questionnaire épidémiologique avec une mise à jour des différents facteurs de risques est alors complété. Pour pouvoir répondre aux questions posées avec une puissance suffisante, le suivi se fera sur 10 ans.

Résultats. La mise en place de cette cohorte étant actuellement en cours, une description de la population incluse sera présentée.

Conclusions. Les conclusions de cette étude auront un impact sur les modalités de prise en charge des familles et permettront également l'élaboration de nouvelles hypothèses sur les mécanismes d'action des différents facteurs de risque.

348. Génétique Oncologique

TOSI Mario¹, **BIECHE Ivan**², **GAD Sophie**³, **BARROIS Michel**⁴, **CASILLI Federica**¹, **MAZOYER, Sylvie**⁵, **CHOMPRET Agnès**⁴, **MAUGARD Christine**⁶, **OLSCHWANG Sylviane**⁷, **Thierry FREBOURG**¹, **SOUBRIER Florent**⁸, **Florence COULET**⁸, **Rosette LIDEREAU**², **STOPPA-LYONNET Dominique**³, **BRESSAC Brigitte**⁴

1 INSERM EMI 9906, Faculté de Médecine et Pharmacie, IFRMP, Rouen Faculté de Médecine et Pharmacie 22, Boulevard de Gambetta - ROUEN

2 Centre René Huguenin, INSERM EPI 0017, Saint-Cloud

3 Service de Génétique, Institut Curie, Paris

4 Service de Génétique, Institut Gustave Roussy, Villejuif

5 Centre International de Recherche sur le Cancer, Lyon

6 Centre René Gauducheau, Nantes

7 CEPH, Paris

8 Génétique Moléculaire, Hôpital Tenon, Paris

OPTIMISATION DES MÉTHODES POUR LA DÉTECTION DES REMANIEMENTS DU GÈNE BRCA1 DANS LES PRÉDISPOSITIONS AUX CANCERS DU SEIN ET DE L'OVAIRE

Plusieurs études récentes ont mis en évidence des délétions ou duplications constitutionnelles d'exons du gène BRCA1 dans environ 10% des familles à haut risque de prédisposition génétique aux cancers du sein et de l'ovaire, sans mutation détectable dans les exons et les sites d'épissage de BRCA1 ou de BRCA2, les deux gènes majeurs de cette prédisposition. Afin d'étudier ces familles, nous avons comparé quatre méthodes: 1) le peignage moléculaire de l'ADN, 2) le dosage génique par PCR quantitative en temps réel, 3) le dosage génique semi-quantitatif par PCR multiplex de courts fragments fluorescents, 4) l'étude qualitative et quantitative des ARN, par analyse de l'ADNc. Nos objectifs sont: i) comparer la sensibilité et la spécificité de ces méthodes pour détecter les remaniements de BRCA1, dans la perspective d'une utilisation en routine et ii) estimer l'incidence des remaniements constitutionnels de ce gène (et ensuite ceux de BRCA2) dans les formes familiales de cancer du sein et de l'ovaire. Une dizaine de remaniements complexes connus de BRCA1 nous ont permis de valider les techniques. Dans une première phase, nous avons étudié en parallèle avec chacune des méthodes 13 familles à haute probabilité de prédisposition liée à un défaut de BRCA1 ou BRCA2 et sans mutation ponctuelle détectées dans ces deux gènes. La nécessité de disposer de lymphocytes soigneusement isolés ou de lignées lymphoblastoïdes limite l'utilisation du peignage moléculaire et celle de l'analyse des ARN pour des études rétrospectives. En revanche, les deux méthodes de dosage quantitatif ou semi-quantitatif des exons devraient permettre de cribler de grandes séries d'échantillons avec une bonne sensibilité et spécificité.

349. Génétique Oncologique

MARTIN Cosette¹, Lemoine Françoise², Moïrot Hélène³, Joly-Hélas Geraldine³, Rossi Annick⁴, Mouterde Olivier⁵, Bruno Bachy⁶, Joel Lechevallier⁶, Dominique Parain⁷, Annick Cabot⁸, Pascal Joly⁹, Thierry Frebourg¹

1 Laboratoire de Génétique Moléculaire 22 Boulevard Gambetta Rouen

2 Service d'Anatomie et de Cytologie Pathologique, CHU de Rouen

3 Laboratoire de Cytogénétique et Service de Génétique, CHU de Rouen

4 Laboratoire de Cytogénétique, Etablissement Français du Sang et Service de Génétique, CHU de Rouen

5 Service de Pédiatrie, CHU de Rouen

6 Clinique Chirurgicale Infantile, CHU de Rouen

7 Service de Neurophysiologie, CHU de Rouen

8 Service d'Ophtalmologie, CHU de Rouen

9 Clinique Dermatologique, CHU de Rouen

NEUROFIBROMATOSE DE TYPE 1, SYNDROME DE PEUTZ-JEGHERS ET DÉLÉTION COMPLÈTE DU GÈNE STK11 DANS UNE FAMILLE.

Les mutations du gène STK11 ont été détectées dans environ 70% des familles atteintes de syndrome de Peutz-Jeghers, polypose hamartomateuse du tube digestif. Nous rapportons l'identification d'une délétion complète de STK11 dans une famille. Le cas index, initialement pris en charge pour un retard mental modéré et une scoliose thoracique s'intégrant à une neurofibromatose de type 1 d'origine paternelle, a été opéré à l'âge de 13 ans d'une invagination intestinale qui a révélé un volumineux polype du sigmoïde. L'existence d'une lentiginose de la lèvre inférieure a d'emblée orienté vers le diagnostic de Peutz-Jeghers, diagnostic confirmé par l'analyse anatomopathologique. La mère du cas index présentait également des lentiginos cutanéomuqueuses et avait développé à 44 et 45 ans deux cancers du sein et des polypes digestifs. Un des oncles maternels a été opéré à 42 ans d'une polypose et d'un adénocarcinome colique. L'étude de la ségrégation du microsatellite D19S886, situé à environ 350 kb du locus STK11, a révélé une absence de contribution maternelle chez le cas index, suggérant une délétion hétérozygote de la région 19p13.3 d'origine maternelle. Le caryotype en bandes R et G était normal. L'analyse par PCR multiplex de courts fragments fluorescents a confirmé une délétion complète du gène STK11 s'intégrant à une délétion interstitielle comprise entre 370 et 600 kb, ségrégeant avec le syndrome de Peutz-Jeghers. Cette observation incite à rechercher, dans les familles atteintes du syndrome de Peutz-Jeghers sans mutation ponctuelle détectable de STK11, une délétion complète de ce locus avant d'envisager l'implication d'un autre gène.

350. Génétique Oncologique

SEDDIQI Nadia^{1,2}, PERIN Jean-Pierre¹, GOUDOU Danièle¹, BITOUN Marc¹, ALLIEL Patrick M¹

1 INSERM U-488, Hôpital de Bicêtre, Bâtiment Gregory Pincus, Le Kremlin-Bicêtre Cedex. France

2 Université Cadi Ayyad. Marrakech. Maroc

STRUCTURE COMPLÈTE, LOCALISATION GÉNOMIQUE ET EXPRESSION DU FACTEUR HIC-3

Objectifs: Caractérisation d'un nouveau régulateur de l'expression des gènes à domaines btb/poz et dactyles à zinc.

Résultats : Nous avons établi la séquence protéique complète du facteur HIC-3 (N° d'accèsion à Genbank : AF349035), ainsi dénommé en fonction de son analogie avec HIC-1 (pour Hypermethylated In Cancer-1), et la séquence partielle murine HIC-2. La masse moléculaire est de 64.2 kDa et le point isoélectrique calculé est de 5.9. HIC-3 possède un domaine d'interaction homo-/hétérodimérique de type btb/poz à l'extrémité N-terminale et 4 domaines dactyles à zinc de type C2H2, distribués dans la région C-terminale de la protéine déduite. Une analyse sur un échantillonnage représentatif de tissus humains montre une expression importante au niveau du testicule, du rein et du colon. Le transcrit est aussi identifié dans la prostate, l'intestin, le thymus, le poumon, le pancréas, les amygdales et la moelle.

Une analyse en RT-PCR montre une expression préférentielle dans des lignées tumorales, et dans des tissus fœtaux comparativement aux tissus adultes correspondants. Le gène de HIC-3 a été localisé in silico sur le bras long du chromosome 22, en q11.2, dans une région sujette à des translocations fréquentes.

Conclusion : La famille des facteurs à domaine btb/poz joue un rôle central dans le développement normal et pathologique chez l'Homme et l'animal. La forte analogie d'HIC-3 avec le répresseur de tumeur HIC-1 et nos premiers résultats, suggèrent une possible implication d'HIC-3 dans la déclaration ou l'aggravation d'un processus tumoral.

Soutenu par Sillon Multi-Images. NS a bénéficié d'une bourse de la FRM.

351. Génétique des Populations et Epidémiologie Génétique

MARLIN Sandrine¹, Feldmann D², Chapiro E², Denoyelle F¹, Sternberg D³, Weil D⁴, Petit C⁴, Garabédian EN¹, Couderc R^{2,3}

1 Hôpital d'enfants Armand Trousseau, service d'ORL, 26 av du dr Arnold Netter Paris France

2 Service de biochimie et de biologie moléculaire, Hôpital d'Enfants Armand Trousseau, APHP, Paris

3 Service de biochimie, Hôpital de la Salpêtrière, APHP, Paris

4 Unité de Génétique des Déficiences Sensorielles, Institut Pasteur, Paris.

PREVALENCE DES MUTATIONS MITOCHONDRIALES DANS LES SURDITES ISOLES : IMPORTANCE DES MUTATIONS A1555G ET T7511C

Parmi les causes de surdité syndromique ou isolée, les mutations mitochondriales représentent une part dont la fréquence est encore mal évaluée. A ce jour, huit différentes mutations de l'ADN mitochondrial ont été associées à des surdités neurosensorielles non syndromiques. Parmi celles-ci, la mutation A1555G, prédisposant à la toxicité cochléaire des aminosides, est la plus souvent retrouvée. La mutation T7511C n'avait été jusqu'à présent retrouvée que dans une grande famille Afro-Américaine présentant une déficience auditive isolée. Nous avons étudié 53 familles et 34 cas sporadiques de surdité de perception non syndromique. Dans toutes les familles, le mode de transmission du déficit auditif était compatible avec une transmission maternelle exclusive. La surdité était prélinguale dans 29 cas, postlinguale précoce dans 13 cas et tardive dans 45 cas. La sévérité de l'atteinte sensorielle allait de légère à profonde. Sept patients avaient été traités par des aminosides. Une implication du gène CX26 avait été éliminée dans les formes prélinguales. L'ARNr 12S, l'ARNt leucine et l'ARNr serine ont été étudiés par électrophorèse sur gel dénaturant et séquençage. La mutation A1555G a été retrouvée dans une grande famille d'origine arabe. Vingt-six des 43 personnes mutées présentaient une surdité prélinguale de moyenne à profonde. La mutation T7511C a elle été identifiée dans deux familles caucasiennes indépendantes. Le phénotype de l'atteinte auditive était extrêmement variable, allant d'une audition normale à l'âge adulte à une surdité profonde congénitale. Sept différents polymorphismes mitochondriaux ont également été retrouvés dans plusieurs familles. Au total, une mutation mitochondriale a été mise en évidence dans 6% des formes familiales de transmission maternelle et dans aucune forme sporadique de surdité neurosensorielle isolée. Nous suggérons de réserver l'étude du mtDNA au cas d'exposition aux aminosides et aux formes familiales évoquant fortement une transmission maternelle exclusive.

352. Génétique des Populations et Epidémiologie Génétique

AMSELLEM Sabine¹, Briffaut Dorothee², Khallouf Oumayma², Bruckert Eric³, Fredenrich Alexandre⁴, Girardet Jean Philippe², Krempf Michel⁵, Ferrières Jean⁶, Moulin Philippe⁷, Palcoux Bernard⁸, Reznik Yves⁹, Rabès Jean Pierre¹⁰, De Gennes Jean Luc¹¹, Vialettes Bernard¹², Benlian Pascale¹

1 Biochimie - Biologie Moléculaire, Batiment Robert André, 8e étage 184 rue du faubourg Saint Antoine - Paris France

2 CHU Saint Antoine, 3 CHU Pitié, 4 CHU Nice, 5 CHU Nantes, 6 CHU Toulouse, 7 CHU Lyon, 8 CHU Clermont-Ferrand, 9 CHU Caen, 10 CHU Ambroise Paré, 11 Hôpital Américain de Paris, 12 CHU Marseille.

VARIATIONS SYNONYMES ET NON SYNONYMES DU RECEPTEUR DES LDL DANS L'HYPERCHOLESTEROLEMIE FAMILIALE EN FRANCE.

OBJECTIF : Etudier les variations synonymes et non synonymes du Récepteur des LDL (LDLR : Low Density Lipoprotein Receptor) de 422 patients français hypercholestérolémiques (284 familles non apparentées) par DGGE, séquençage et Southern blot.

RESULTATS : Seules les 10 variations synonymes intragéniques déjà connues ont été identifiées (~1,3 millions de nucléotides analysés) avec des fréquences globalement identiques chez les porteurs et non porteurs de mutations. La plupart des 266 sujets (170 familles) porteurs de variations non synonymes étaient hétérozygotes simples (n=230) incluant 4 cas de doubles mutants monoalléliques (6 familles). Parmi les 114 mutations différentes observées, 66 étaient de type faux sens, dont 90% sur des résidus fonctionnellement conservés. Les mutations touchaient tous les exons (sauf les exons 1, 16, et 18) avec une distribution similaire à celle du répertoire mondial. Pour 21 mutations parmi les 34 observées dans >=2 familles indépendantes, le caractère fondateur a été établi. La grande majorité des mutations avait été rapportée en Europe (n=46) ou ailleurs dans le monde (n=34). Parmi les 36 mutations nouvellement décrites, 50% résultaient de microréarrangements (vs 30% pour le répertoire mondial) et 25% de transversions.

CONCLUSIONS : La grande hétérogénéité des mutations responsables d'hypercholestérolémie familiale dans la population française, confirme son caractère panmictique. L'absence de nouveaux variants synonymes dans la séquence codante contraste avec la fréquence élevée des mutations nouvellement détectées (31%) dont les 3 /4 sont issues d'événements rares de mutagenèse. Ces données suggèrent que la dérive génétique s'exerce sous l'effet de fortes contraintes sélectives à ce locus.

353. Génétique des Populations et Epidémiologie Génétique

CATHALA Philippe¹, BACCINO Eric², CLAUSTRES M¹, Dr. A.F. ROUX¹

1 Laboratoire de génétique moléculaire IURC 641 avenue du Doyen G. Giraud - Montpellier cedex 5 France

2 Service de médecine légale, CHU Montpellier

DHPLC ET ANTHROPOLOGIE MOLÉCULAIRE

La dHPLC est une adaptation particulière de l'HPLC, méthode séparative classique, permettant à la fois de séparer des fragments d'ADN selon leur taille mais aussi, en conditions dénaturantes, de détecter des mutations (séparation des homo et des hétéroduplex grâce à la modulation de température). Nous présentons ici trois applications possibles de la dHPLC, utiles à la médecine légale :

1) Détermination de l'âge

L'accumulation de mutations dans l'ADN mitochondrial au cours du vieillissement est aujourd'hui bien décrite. Nous essayons donc de développer une méthode de détermination de l'âge à partir du taux d'hétéroplasmie de certaines mutations. L'ADN mitochondrial est extrait de divers tissus (psoas iliaque, foie, rein, myocarde, putamen) prélevés lors des autopsies sur une centaine de cadavres de tous âges décédés de morts violentes. La totalité du génome mitochondrial est amplifié en 13

fragments puis digéré en fragments plus petits de 90 à 600 paires de bases. Les fragments sont séparés par dHPLC aux températures de dénaturation partielle calculées par le logiciel. Nous étudions qualitativement et quantitativement l'accumulation des mutations selon les tissus (méthodologie présentée).

2) Identification d'un cadavre

En conditions non dénaturantes, la dHPLC permet de séparer des fragments d'ADN selon leur taille. Elle permet ainsi la séparation et le typage des différents allèles STRs utilisés classiquement en médecine légale. Nous présentons ici la séparation réalisée en 5 minutes des allèles des loci HUMTH01, F13A01, vWa31 et FES/FPS.

3) Détermination du sexe

De même, la dHPLC permet de séparer les 2 allèles sexe-spécifiques de l'amélogénine en moins de 4 minutes sans aucune préparation du produit d'amplification.

354. Génétique des Populations et Epidémiologie Génétique

VERNY Christophe¹, Leutenegger A-L², Guilbot A³, Vandenberghe A⁴, Ravisé N³, Mayer M⁵, Birouk N⁶, Tazir M⁷, Salih M⁸, Azzedine H³, Dubourg O³, Grid D⁹, Brice A³, Genin E², LeGuern E³

1 Fédération de Neurologie Secteur Charcot CHU - Angers France

2 INSERM U535, Hôpital du Kremlin-Bicêtre, Paris

3 INSERM U289, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris

4 Université Claude Bernard, Lyon

5 Hôpital St Vincent-de-Paul, Paris

6 Hôpital des spécialités, Rabat Maroc

7 Hôpital Mustapha, Alger Algérie

8 King Khaled Hospital, Riyadh Arabie Séoudite

9 Généthon, Evry

FRÉQUENCE DES LOCI ASSOCIÉS AUX FORMES DÉMYÉLINISANTES DE MALADIE DE CHARCOT-MARIE-TOOTH AUTOSOMIQUE RÉCESSIVE

La maladie de Charcot-Marie-Tooth est la plus fréquente des neuropathies héréditaires. Elle est cliniquement caractérisée par une amyotrophie musculaire et un déficit sensitif, débutant aux extrémités, lentement progressif et ascendant. Il s'agit d'une pathologie très hétérogène tant sur le plan clinique que génétique. En Europe, les modes de transmission les plus fréquents sont autosomique dominant et dominant lié à l'X. Les formes autosomiques récessives (CMTAR) semblent plus rares et correspondent probablement à des cas isolés en raison de la petite taille des fratries. Au contraire, dans le bassin méditerranéen, les CMTAR semblent être très fréquents, certainement à cause de forts taux de consanguinité. Actuellement 7 loci et 4 gènes sont connus pour les formes démyélinisantes de CMTAR. Nous avons pratiqué des analyses de liaison dans 41 familles avec un CMTAR démyélinisant et une consanguinité, qui ont été identifiées par un réseau international de généticiens et de neurologues. Les résultats de cette étude ont été obtenus par des analyses de lod score multipoints et multi loci, à l'aide des logiciels Genehunter et Allegro. Pour plus de la moitié des familles testées, tous les loci déjà connus ont été exclus, ce qui rend compte de l'importante hétérogénéité génétique du CMTAR démyélinisant et nécessaire l'effort de cartographie primaire. Pour les familles avec suspicion de liaison, nous avons étudié leur répartition géographique et recherché un éventuel effet fondateur. Nous pouvons comparer les données phénotypiques de ces familles avec les cadres cliniques actuellement admis, qui reposent souvent sur l'observation de rares familles.

355. Génétique des Populations et Epidémiologie Génétique

NOTARNICOLA Cécile¹, Marie-Noelle Didelot¹, Isabelle Koné-Paut², Fabienne Séguret³, Jacques Demaille¹, Isabelle Toutou¹

¹ Laboratoire de génétique moléculaire et chromosomique
Hôpital A. de Villeneuve Montpellier France

² Service de Pédiatrie, Hôpital Nord Marseille

³ Département de l'Information Médicale et Statistiques, Hôpital A. de Villeneuve Montpellier

ALTERED EXPRESSION OF MEFV AND CYTOKINES IN PATIENTS WITH FAMILIAL MEDITERRANEAN FEVER

Familial Mediterranean fever (FMF) is the most common inherited periodic syndrome. The disease phenotype and the almost exclusive expression of the causative gene, MEFV, in leukocytes suggest that this gene plays an important role in the inflammatory cascade. Since most of the mutations detected so far are conservative, we asked how minor DNA defects can give rise to the dramatic phenotypic features seen in FMF. To address whether the molecular basis of the phenotype-genotype correlation could be related to altered MEFV expression, we quantified the relative transcript abundance of MEFV in peripheral blood leukocytes.

We found that it was lower in genetically ascertained FMF patients than in healthy controls (0.7 vs 1.1, $P=0.00001$). In healthy carriers identified through family studies, the message levels were intermediary, suggesting a true dose response relationship between the number of mutations and the MEFV transcript abundance. MEFV expression was also found to be a function of type of mutations. The lowest MEFV levels were uncovered in M694V healthy carriers and patients. Moreover, we observed an inverse correlation with the patient severity score ($r=-0.6$, $P=0.04$, and $r=-0.54$, $P=0.004$, in patients with one or two M694V mutations, respectively). In addition, we investigated the expression of pro-inflammatory cytokines (TNF- α , IL-1b, IL-6, IL-8) and shown that there were significantly more elevated in FMF patients than in controls.

Our results demonstrated that MEFV and cytokine transcriptional pathways are significantly altered in FMF patients and suggest that the pathophysiology of FMF would thus depend on a balanced expression of these genes.

356. Génétique des Populations et Epidémiologie Génétique

EL HACHIMI Khalid¹, LENNE HM², CHAUNU MP³, GOLDFARB L⁴, N. DELASNERIE-LAUPRETRE N⁵, J-F Foncin (Ecole Pratique des Hautes Etudes, J.L.LAPLANCHE⁶)

¹ INSERM U106 Hôpital de la Salpêtrière - PARIS France

² Service de Biochimie et Biologie Moléculaire - Hôpital Lariboisière, Paris

³ Service de Neurologie, CHU de Reims

⁴ N.I.H. Bethesda (USA)

⁵ INSERM. U 360, Hôpital La Salpêtrière, Paris

⁶ Laboratoire de Biochimie, Lariboisière

HAPLOTYPES.

Plusieurs mutations ponctuelles ou insertions dans le gène PRNP ont été associées à des formes héréditaires d'encéphalopathies spongiformes ou maladies à prions : la maladie de Creutzfeldt-Jakob (MCJ) familiale, le syndrome de Gerstmann-Strussler-Scheinker et l'insomnie familiale fatale. La mutation E200K est la cause la plus fréquente de la MCJ héréditaire. Sa prévalence est élevée dans les populations slovaques et tuniso-libyennes juives, est inconnue dans les populations arabo-berbères. Nous présentons une famille kabyle musulmane atteinte de MCJ porteuse de la mutation E200K. Le phénotype clinico-neuropathologique correspond à celui habituellement associé à cette mutation. Pour étudier l'origine de la mutation E200K chez les patients de cette famille, des marqueurs microsatellites flanquants PRNP (D20S889, D20S116, D20S482, D20S895 et D20S849) et un marqueur polymorphe intragenique (codon 129, M/V) ont été exploités et confrontés aux haplotypes connus. L'haplotype associé à la mutation dans cette famille est de type

méditerranéen, précédemment identifié dans les familles tuniso-libyennes juives, espagnoles, chiliennes et certaines familles italiennes. Cet haplotype n'a pas été trouvé dans une population algérienne témoin (66 chromosomes examinés). L'analyse de la distribution géographique de la mutation avait initialement suggéré qu'elle serait apparue, il y a plus de cinq siècles, dans les populations juives d'Espagne puis se serait répartie dans le Bassin Méditerranéen et en Amérique du Sud après la Reconquista. Cependant, l'identification de l'haplotype méditerranéen dans une famille kabyle montagnarde et sédentaire ne corrobore pas l'hypothèse d'un effet fondateur espagnol et suggérerait plutôt un âge d'apparition antérieur de la mutation et une origine maghrébine.

357. Hérité Multifactorielle

LESCA Gaetan¹, COURNU-REBEIX Isabelle¹, GENIN Emmanuelle², BABRON Marie-Claude², CLERGET-DARPOUX Françoise², FONTAINE Bertrand¹, Réseau sur la recherche génétique de la SEP

¹ INSERM U546 105 Bd de l'hôpital - PARIS France

² INSERM U535

IMPLICATION DES MOLÉCULES D'ADHÉSION DANS LA SUCÉPTIBILITÉ OU LA SÉVÉRITÉ DE LA SCLÉROSE EN PLAQUES

Nous avons étudié une famille de gènes codant pour des molécules d'adhésion impliquées dans le franchissement de la barrière hémato-encéphalique par les leucocytes. Ces gènes codent pour une famille de ligands et récepteurs situés sur la surface endothéliale et sur la membrane leucocytaire : ICAM1, ICAM2, LFA1 (CD18, CD11a) et Mac1 (CD18, CD11b). Nous avons étudié les polymorphismes mononucléotidiques de ces gènes (SNP, Single Nucleotide Polymorphism) sur 147 familles simplex (i.e. formées d'un patient et de ses parents sains). Les résultats sont analysés par le TDT (Transmission Disequilibrium Test) qui teste à la fois les hypothèses d'association et de liaison d'un allèle donné avec la maladie, sur l'ensemble des familles et après stratification par le statut HLA DR15 et par la sévérité.

Pour le gène ICAM1, nous avons étudié 2 SNP et un microsatellite situé dans la région 3' non codante. Pour CD18, CD11a et CD11b, trois SNP ont été étudiés ou sont en cours d'étude. Pour ICAM2, aucun des SNP connus n'est utilisable.

L'analyse des résultats suggère qu'un allèle du gène ICAM1 pourrait être lié à un effet protecteur vis à vis de la maladie. Pour les autres gènes, l'analyse ne permet pas de conclure à leur implication dans la SEP.

358. Hérité Multifactorielle

DE PONTUAL Loïc¹, NEPOTE Virginie², ATTIE-BITACH Tania³, TRANG Ha², SIMONNEAU Michel², GAULTIER Claude², VEKEMANS Michel³, MUNNICH Arnold³, LYONNET Stanislas³, AMIEL Jeanne³

¹ Necker Paris France

² Service de Physiologie et Equipe INSERM E-9935, Hôpital Robert Debré

³ Département de Génétique et Unité INSERM U-393, Hôpital Necker-Enfants Malades)

MUTATIONS DE LA VOIE RET/GDNF/HASH 1 DANS L'HYPVENTILATION ALVÉOLAIRE CENTRALE CONGÉNITALE (HVACC, SYNDROME D'ONDINE)

L'HVACC est une maladie rare due à un trouble congénital de la commande respiratoire autonome. Elle s'associe à la maladie de Hirschsprung dans 20 % des cas (syndrome de Haddad, MIM 209880), ce qui suggère une anomalie moléculaire commune à ces 2 neurocristopathies. Nous avons retenu HASH1, RET et GDNF comme des gènes candidats dans l'HVACC du fait : i) de leurs rôles dans la différenciation neuronale, ii) du phénotype des souris knock-out homozygotes (troubles ventilatoires +/- mégacolon), et iii) de leurs patrons d'expression dans le système nerveux central et périphérique au cours du développement embryonnaire chez la souris.

Nous avons étudié les séquences codantes de ces 3 gènes par SSCP et/ou séquençage direct dans une série de 30 patients (23 cas isolés d'HVACC et 7 syndromes d'Haddad). Nous avons

identifié une mutation faux sens du gène RET (P1039L), une mutation faux sens récurrente de GDNF chez 2 patients (R93W), ainsi qu'une mutation faux sens (P18T) et 2 délétions de 5 et 8 alanines dans la répétition de 13 alanines codée par le gène HASH 1. Ces mutations sont absentes chez les témoins (180 chromosomes) et concernent des acides aminés conservés chez les mammifères. De plus, la mutation P18T d'HASH1 est survenue *de novo*. Enfin, le patron d'expression d'HASH1 au cours du développement embryonnaire humain est compatible avec les phénotype HVACC et syndrome d'Haddad. Ces résultats sont en faveur d'une hérédité polygénique de l'HVACC et confirment l'implication de la voie HASH1-RET-GDNF dans le développement du système nerveux autonome. Ces résultats sont en faveur d'une hérédité polygénique de l'HVACC et confirment l'implication de la voie HASH1-RET-GDNF dans le développement du système nerveux autonome.

359. Hérédité Multifactorielle

ADAM Marie¹, NELVA A¹, BOZON M², BIOT B³, BERNARD J-C³, ALLOISIO N², MORLE L², VEROT L², ROBERT-GNANSIA E¹, PLAUCHU H⁴, EDERY P²

1 Institut Européen des Génomutations, Lyon, France

2 Laboratoire de Génétique Humaine, CNRS UMR 5534, Villeurbanne

3 Centre Médico-Chirurgical de Réadaptation des Massues, Lyon

4 Service de Génétique, Hôpital Hôtel-Dieu, Lyon France

SCOLIOSES IDIOPATHIQUES: VERS LA LOCALISATION DES GÈNES RESPONSABLES?

La scoliose idiopathique est définie par une incurvation latérale du rachis de plus de 10°, accompagnée d'une rotation des corps vertébraux. Cette affection très fréquente touche 1,5 à 3% de la population générale et s'accompagne souvent d'un retentissement fonctionnel, esthétique et social majeur. Le mode d'hérédité de la scoliose idiopathique reste discuté.

A partir du recrutement du Centre de Réadaptation Fonctionnelle des Massues, à Lyon, nous avons effectué une expertise clinique et des prélèvements chez 251 patients appartenant à 35 familles multiplex de scolioses idiopathiques. Deux de ces familles sont présentées dans cette communication. Les généalogies sont compatibles avec une hérédité dominante à pénétrance incomplète dépendante du sexe. Des simulations de linkage produisent des lod scores théoriques maximums de 2,77 et 2,81 respectivement dans ces 2 familles (paramètres : fréquence de l'allèle mutant = 0,015, pénétrance de l'allèle mutant chez les sujets masculins = 0,30 et chez les sujets féminins = 0,50, taux de phénocopies = 0). Dans ces 2 mêmes familles, les lod scores théoriques maximums sont respectivement de 3,92 et 3,05 si l'on considère atteints les individus ayant une scoliose supérieure à 6° (même paramètres sauf taux de phénocopies = 0,05). Nous entreprendrons d'emblée une étude moléculaire à grande échelle dans les 2 familles présentées. Le génotypage sera effectué en collaboration avec le Centre National de Génotypage à Evry. Les génotypes seront soumis à des analyses de liaison génétique, paramétriques et non paramétriques. Cette étude devrait constituer une première étape vers la localisation puis l'identification des gènes responsables des scolioses idiopathiques.

360. Hérédité Multifactorielle

CHARRON Philippe¹, BOUCHIER Christiane¹, PEUCHMAURD Mireille¹, TESSON Frédérique¹, TIRET Laurence², DESNOS Michel³, AMOUYEL Philippe⁴, VILLARD Eric¹, SCHWARTZ Ketty³, KOMAJDA Michel¹

1 Lab. Génétique Ass. Cl. Bernard; CHU Pitié-Salpêtrière 47 Bd de l'Hôpital Paris France

2 INSERM U525, Paris

3 Service de Cardiologie, HEGP

4 CJF INSERM 9505, Lille

5 INSERM U523, Paris

POLYMORPHISMES GÉNÉTIQUES ET CARDIOMYOPATHIE DILATÉE IDIOPATHIQUE MULTIFACTORIELLE DANS UNE POPULATION CAUCASIENNE

Objectifs. La Cardiomyopathie dilatée idiopathique (CMD) est le plus souvent multifactorielle. Deux polymorphismes situés dans les gènes PAF acetylhydrolase et SOD (liés au stress oxydatif) ont été récemment associés à la CMD dans une population japonaise. L'objectif était d'analyser ces polymorphismes, ainsi que d'autres situés dans les récepteurs beta-adrénérergiques, dans une population caucasienne (étude cas-contrôle).

Méthodes et résultats. Sept polymorphismes ont été étudiés par méthode ASO dans 4 gènes: PAF acetylhydrolase (Val279Phe), SOD 2 (Val16Ala), Récepteurs beta-1 (Arg389Gly, Ser49Gly) et beta-2 (Arg16Gly, Gln27Glu, Ile164Thr) adrénérergiques. La population (âge moyen 45 ans) comprend 433 patients (CMD) et 400 contrôles appariés (âge, sexe), tous d'origine caucasienne. L'équilibre de Hardy Weinberg était respecté. Pour les 7 polymorphismes, la fréquence des allèles et des génotypes n'était pas significativement différente entre les cas et les contrôles. Cependant, l'allèle Arg16 du récepteur beta-2 adrénérergique était associé à un risque plus faible de la maladie (O.R. 0.66; CI 95% 0.49 - 0.88; p = 0.005) chez les sujets les plus jeunes (<45 ans).

Conclusion. (1) Contrairement aux résultats rapportés précédemment dans une population japonaise, les 2 polymorphismes dans le système du stress oxydatif (PAF acetylhydrolase et SOD 2) ne sont pas associés à la maladie dans la population caucasienne étudiée ici. (2) Aucune association n'est retrouvée entre les 5 polymorphismes du système adrénérergique et la maladie dans la population entière. Cependant, dans la population la plus jeune, les sujets porteurs de l'allèle Arg16 (récepteur beta-2 adrénérergique) sont significativement moins à risque de développer la maladie (allèle protecteur).

361. Hérédité Multifactorielle

MICHOUE Laetitia¹, José OSORIO², Elisabeth PETIT², Céline PIERLOT², Thomas BARDIN¹, Sandra LASBLEIZ¹, François CORNELIS^{1,2}, pour ECRAF (the European Consortium on Rheumatoid Arthritis Families),

1 Unité de génétique clinique Hôpital Lariboisière 2 rue Ambroise Paré - Paris France

2 GenHotel/Laboratoire de Recherche Européen pour la Polyarthrite Rhumatoïde, ECRAF-Université Paris VII, Evry-Génope

L'ÉTUDE DE GÈNES CANDIDATS POUR LA POLYARTHRITE RHUMATOÏDE (PR) AU GENHOTEL ILLUSTRÉE PAR HLA.

Certains allèles HLA-DRB1 (A) sont associés à la PR, maladie multifactorielle auto-immune la plus fréquente. Les criblages du génome recherchant les autres facteurs génétiques ne révèlent que des suggestions quant aux autres loci de susceptibilité. Nous invitons au GenHotel les équipes désireuses d'étudier des gènes candidats dans la PR.

Objectif : Tester l'association HLA-PR dans le protocole du GenHotel.

Matériels et méthodes : l'ADN de 100 familles caucasiennes françaises comportant un patient atteint de PR et ses 2 parents, est génotypé pour le facteur testé, HLA-DRB1. L'analyse repose sur deux tests corrélés :

- l'haplotype relative risk (HRR), comparant la fréquence allélique des chromosomes transmis aux patients à celle des chromosomes parentaux non transmis (génotype contrôle virtuel)
- le transmission disequilibrium test (TDT), comparant la transmission des parents hétérozygotes aux patients à celle attendue d'après Mendel (50%)

Si le seuil de "détection" d'une association avec la PR est de $P < 0,05$, celui proposé pour la "démonstration", tenant compte du nombre de gènes humain, est de $P < 10^{-6}$.

Résultats: L'association est retrouvée avec la présence d'un allèle A dans 84% des génotypes PR contre 50% des génotypes contrôles. Les tests montrent :

TDT : 97 parents hétérozygotes A/X, 79% de transmission de A, $\chi^2 = 33,5$ ($P < 10^{-7}$)

HRR : fréquence A : 57,5% (chromosomes transmis) versus 28% (non transmis), $\chi^2 = 35,6$ ($P < 10^{-7}$)

Conclusion: L'association HLA-PR est confirmée. Chaque équipe désireuse d'étudier ses gènes candidats est invitée au GenHotel, les résultats étant mis en commun sur internet (www.GenHotel.com).

362. *Génomique et Bio-informatique*

FERRAN Hélène, GICQUEL Isabelle, LECUNFF Martine, GUISE Isabelle, SORIANO Nicolas, FERGELOT Patricia, LE GALL Jean-Yves, LEGER Jean, MOSSER Jean
UMR6061CNRS 2, avenue du professeur Léon Bernard
CS34317 - RENNES CEDEX FRANCE

ETUDE DES VARIATIONS DU TRANSCRIPTOME DES CELLULES CACO-2 AU COURS DE LEUR DIFFÉRENCIATION : UN MODÈLE D'ÉTUDE DE L'ABSORPTION INTESTINALE DU FER ?

L'absorption intestinale contrôle l'homéostasie en fer de l'organisme. Nombre des facteurs impliqués dans cette absorption ont été récemment caractérisés mais ne rendent pas compte de son adaptation au capital ferrique de l'organisme entier. Ce phénomène nécessiterait une sensibilisation de nature inconnue s'exerçant au niveau des cellules indifférenciées des cryptes intestinales. Ainsi, pendant leur migration le long de l'axe crypte-villosité, ces cellules se différencieraient en entérocytes à capacité absorbante appropriée. Le modèle cellulaire Caco-2 issu d'une lignée d'adénocarcinome de colon semble adapté à l'étude du retentissement du fer sur l'expression des gènes au cours de la différenciation entérocytaire. Pour mieux comprendre ce processus, une approche transcriptomique portant sur des gènes intestinaux a été mise en oeuvre. Une sélection préalable des sondes a été réalisée par hybridation suppressive soustractive. Les 1536 clones résultants ont été déposés sur puces à ADN. Leurs séquences montrent que chaque puce est constituée de 700 gènes, la moitié d'entre eux étant de fonction inconnue. L'hybridation de cibles issues d'ARNm de cellules Caco-2 à différents stades de différenciation a permis de regrouper plus de 400 gènes en 7 profils d'expression distincts auxquels semblent associés des regroupements fonctionnels, les gènes du métabolisme du fer étant généralement surexprimés dans les cellules différenciées. L'étude de l'impact de la concentration intracellulaire ferrique sur l'expression de ces gènes est en cours. Ces observations devraient permettre de mieux appréhender la génétique des surcharges ferriques primitives (hétérogénéité génétique, pénétrance incomplète de la mutation C282Y du gène HFE1).

363. *Cartographie Génétique*

FAKHFAKH FAIZA¹, LOUHICHI Nacim¹, TRIKI Chahnez², MEZIOU Meriem², ROUIS Souad¹, AYADI Hammadi¹, MHIRI Chokri²

¹ Laboratoire de Génétique Moléculaire Humaine (LGMH) faculté de Médecine Rue Majida Boulila 3029 Sfax, Tunisie

² Service de neurologie, CHU HABIB BOURGUIBA

DMC AVEC DÉFICIT SECONDAIRE EN MÉROSINE, LIÉE AU LOCUS RSMD1 (1P35-36).

Les dystrophies musculaires congénitales (DMC) forment un groupe hétérogène de maladies à transmission autosomique récessive. Elles ont en commun un début précoce et un aspect

dystrophique du muscle. Plusieurs tableaux cliniques ont été décrits selon que l'atteinte musculaire est associée ou non à une atteinte cérébrale ou oculaire. La déficience en mérosine survient dans 40-50% des atteints de la forme classique de DMC. Dans ces cas, la déficience est primaire et est causée par des mutations du gène LAMA2 (6q22) codant pour la mérosine. Récemment, un groupe particulier de DMC avec déficience secondaire en mérosine et non lié au chromosome 6 a été décrit.

Dans ce travail, nous avons étudié un cas atteint de DMC de sexe féminin et appartenant à une famille consanguine originaire du sud tunisien. Cette patiente présente une hypotonie sévère avec atrophie des muscles, une scoliose, un retard mental, une atteinte de la substance blanche péri-ventriculaire et un examen ophtalmologique normal. L'étude de la biopsie musculaire par immunofluorescence (IF) et Western Blot (WB) a été réalisée en utilisant des anticorps monoclonaux anti-fragment 80 Kda de la mérosine, anti-dystrophine, anti-a sarcoglycane et anti-b dystroglycane. L'analyse de liaison a été réalisée pour tous les membres de la famille de la patiente en utilisant les marqueurs microsatellites spécifiques de différents loci connus de DMC, LAMA2 (6q22), FCMD (9q31-33), MEB (1p32-34), CMD1B (1q42) et RSMD1 (1p35-36).

L'analyse par IF et par WB de la biopsie musculaire a montré un déficit en Mérosine et une expression normale de la dystrophine, de l'a sarcoglycane et de la b dystroglycane. L'étude de la liaison génétique a montré l'exclusion des loci LAMA2, FCMD, CMD1B et MEB et une liaison avec le locus RSMD1. Ce locus a été décrit comme étant responsable d'une DMC associée à une rigidité de la colonne.

En conclusion, dans cette étude nous décrivons un cas de DMC atypique lié au locus RSMD1 avec déficit en mérosine présentant une anomalie de la substance blanche et une scoliose. Le phénotype de la patiente chevauche avec celui d'une DMC classique mais est génétiquement différent. D'autre part, la liaison de cette forme atypique de DMC au locus RSMD1 contenant le gène responsable de DMC avec rigidité de la colonne pourrait suggérer une hétérogénéité phénotypique due à une expressivité variable de ce gène ou bien l'implication d'un autre gène différent ayant la même localisation et responsable de l'apparition de cette forme atypique de DMC.

364. *Cartographie Génétique*

MICHON Laetitia¹, MORLE L¹, BOZON M¹, DURET L¹, ZECH JC², GODET J¹, PLAUCHU H³, EDERY P¹

¹ UMR CNRS 5534, 69622 Villeurbanne 43Bd 11 Novembre Villeurbanne France

² Service d'Ophtalmologie, Hôpital Edouard Herriot, Pav C, LYON

³ Service de Génétique, Hôpital de l'Hôtel Dieu - Lyon

RECHERCHE DU GÈNE RESPONSABLE DE LA MICROPTALMIE AUTOSOMIQUE DOMINANTE

La microphthalmie congénitale non syndromique est une malformation rare caractérisée par un œil de petite taille (axe antéro-postérieur < 20mm vs 23 mm chez un adulte sain). Les modes de transmission autosomique dominant, autosomique récessif et récessif lié à l'X ont été décrits dans cette affection. A l'heure actuelle, 7 loci sont impliqués. Des mutations dans 2 gènes (CHX10 et RX) ont été identifiées dans des microphthalmies isolées humaines. Nous avons récemment localisé le gène responsable d'une microphthalmie autosomique dominante dans une grande famille Juive Sépharade, sur le chromosome 15q12-q15. Les données généalogiques sont évocatrices d'un phénomène d'anticipation. L'identification et l'analyse de nouveaux marqueurs microsatellites dans la région candidate et l'établissement d'une carte physique de cette région nous ont permis de montrer que le gène d'intérêt est localisé dans un intervalle de 3.2 Mb. Le séquençage de 2 gènes candidats CKTSB1F1(GREMLIN) et CX36 (Connexin36) n'a révélé aucune mutation chez les sujets atteints de microphthalmie. Nous avons également montré l'absence d'expansion dans 3 séquences trinuécléotidiques répétées candidates par leur position, chez 2 individus sévèrement atteints. La recherche et l'analyse de nouveaux gènes candidats est en cours. L'identification du gène d'intérêt impliqué dans la microphthalmie permettra de

mieux comprendre les mécanismes moléculaires mis en jeu lors du développement embryonnaire oculaire humain et autorisera un conseil génétique éclairé dans les familles concernées.

365. Cartographie Génétique

VIOLLET Louis¹, BURLET Philippe¹, ZARHRATE Mohammed¹, REBEIZ Jean², MUNNICH Arnold¹, LEFEBVRE Suzie¹

¹ Génétique Médicale-INSERM U393 Hôpital Necker Enfants Malades 149 rue de Sèvres - Paris France

² Department of Neurology & Neuropathology, American University Hospital, Beirut, Lebanon

ETUDE GÉNÉTIQUE DES AMYOTROPHIES SPINALES DISTALES CHRONIQUES DE L'ENFANT

Les amyotrophies spinales infantiles (ASI) forment un groupe hétérogène d'affections caractérisées par une dégénérescence progressive des motoneurons de la corne antérieure de la moelle épinière, se traduisant par des paralysies avec amyotrophie et dénévation. Les ASI à prédominance distale comptent pour environ 10% des ASI et sont transmises sur le mode autosomique dominant ou récessif. Parmi les ASI distales autosomiques récessives, une forme caractérisée par un début néonatal grave avec détresse respiratoire (SMARD) a été localisée, en 11q13-q21. Plus récemment, des mutations du gène IGHMBP2 ont été identifiées dans six familles de SMARD.

A l'issue d'une étude clinique et électrophysiologique systématique de patients présentant divers phénotypes d'ASI non liées au gène SMN, nous avons pu noter dans 20 familles un phénotype rare d'ASI distale chronique de l'enfant, décrit par Pearn et Hudgson en 1979. Cette affection est caractérisée par une amyotrophie progressive bilatérale et symétrique débutant à la partie distale des membres inférieurs débutant dans l'enfance ou chez le jeune adulte, transmise sur le mode autosomique récessif. Dans ces familles, nous avons recherché une liaison génétique par l'étude des haplotypes au locus SMARD. Dans une famille multiplex consanguine libanaise, nous avons pu démontrer une liaison au locus 11q13 (Lod score 4,59 à theta=0 au locus D11S4136). L'intervalle de 11 centimorgans comporte de nombreux gènes, dont le gène IGHMBP2, et une recherche de mutations chez les individus atteints est en cours. Parallèlement, la collecte d'autres familles d'ASI distales chroniques de l'enfant se poursuit, afin de réduire l'intervalle génétique au locus 11q13.

366. Cartographie Génétique

VILLARD Laurent¹, NGUYEN Karine¹, CARDOSO Carlos¹, LESE Christa², WEISS Ann², SIFRY-PLATT M³, GRIX Arthur W³, GRAHAM Jr. John B⁴, WINTER Robin M⁵, LEVENTER Richard J⁶, DOBYNS William B⁷

¹ Inserm U491, Fac. de Médecine La Timone 27 Bd. Jean Moulin - Marseille France

² Dpt. of Human Genetics, University of Chicago, Chicago, IL 60657, USA

³ Department of Medical Genetics, Kaiser-Permanente Point West Medical Offices, Sacramento, CA, USA

⁴ Medical Genetics and Birth Defects, Cedars-Sinai Medical Center, Los Angeles, CA, USA

⁵ Department of Clinical and Molecular Genetics, Institute for Child Health, London, UK

⁶ Dpt. of Neurology, University of Chicago, Chicago, IL 60657, USA

⁷ Dpt. of Pediatrics, University of Chicago, Chicago, IL 60657, USA

X-LINKED BILATERAL PERISYLVIAN POLYMICROGYRIA MAPS TO Xq

Polymicrogyria (PMG) is a human brain malformation characterized by excessive gyration and an abnormal cortical cytoarchitecture. It is presumed to be a defect of cortical development affecting late neuroblast migration or neuronal organization. Although the brain distribution is variable, the majority of cases are bilateral and involve the cortex surrounding the Sylvian fissures. The most frequent manifestations include epilepsy, speech and feeding difficulties, mental retardation and spasticity. In most cases, the cortical malformation is the only

birth defect. Whilst intrauterine cytomegalovirus infection and vascular compromise are likely causes of PMG, evidence has accumulated supporting a genetic etiology.

We have focused our analysis on the X-linked form of perisylvian PMG based on literature reports of X-linked inheritance, skewing of sex-ratio toward males in our series of patients, a preponderance of males among multiplex families and two multiplex families with affected males related through carrier females. We have included in the analysis five families with bilateral perisylvian PMG (BPP), two with definite and three with probable X-linked inheritance. We have genotyped 40 X-linked microsatellite markers providing good coverage of the entire X chromosome. Lod scores were computed using 2-point and multipoint linkage analysis softwares. Our results show significant linkage (Z_2 at theta=0 in 2-point, $Z > 3$ in multipoint analysis) of PMG with a small region of the long arm of the X chromosome. A detailed physical and transcriptional map of the critical region is available and candidate gene analysis is currently underway to identify the causative gene defect.

367. Cartographie Génétique

ABI-FADEL Marianne, VILLEGIER Ludovic, ROCHAUD Severine, ROBIN Aurelie, RABES Jean-Pierre, DEVILLERS Martine, JUNIEN Claudine, BOILEAU Catherine, VARRET Mathilde

INSERM UR383 Hôpital Necker 149 rue de Sevres - Paris France

FINE MAPPING OF REGION 1P32 THAT CONTAINS THE THIRD MAJOR LOCUS FOR AUTOSOMAL DOMINANT HYPERCHOLESTEROLEMIA

Autosomal Dominant Hypercholesterolemia (ADH), one of the most frequent hereditary disorders, is characterized by an isolated elevation of LDL particles that leads to premature mortality from cardiovascular complications. It is generally assumed that mutations in LDLR and APOB genes account for ADH, however we have shown that ADH is genetically more heterogeneous. We identified 23 ADH families in which we excluded linkage to LDLR and APOB thus demonstrating the implication of a new locus we named "FH3". Genetic linkage was obtained in 6 pedigrees localizing FH3 in a 8 cM interval at 1p32-p34.1. This linkage result has been confirmed by S. Hunt *et al.* in a Utah pedigree. Taken together, the haplotype data define a 1 cM interval for FH3. By radiation hybrid mapping, 6 candidate genes (FABP3, SCP2, APOER2, PAFAH2, AMPK and EPS15) were located outside this interval demonstrating no identity with FH3. Through an e-mapping approach, we built a BAC contig that spans 3 Mb and contains 2 small non-overlapping areas. The analysis of the human sequence draft reveals more than 30 genes (cloned and predicted). We are currently sequencing these genes in the "FH3 families". Current heterogeneity tests estimate that 19% of 23 non-LDLR/non-APOB ADH families are linked to FH3, indicating the implication of a fourth locus called "FH4"; that we now have also mapped. Finally, we have also detected the possible involvement of a fifth major gene (FH5).

368. Cartographie Génétique

DESANDRE-GIOVANNOLI Annachiara¹, CHAOUCH Malika², VALLAT Jean-Michel³, TAZIR Meriem⁴, KASSOURI Nadia², HAMMADOUCHE Tarik⁵, SZEPETOWSKI Pierre¹, GRID Djamel⁶, LEVY Nicolas¹

¹ Inserm U491, Faculté de Médecine de la Timone, Marseille, France

² Service de Neurologie CHU Ben-Aknoun Alger, Algérie

³ Service de Neuropathologie, CHU Dupuytren, Limoges, France

⁴ Service de Neurologie, CHU Mustapha, Alger, Algérie

⁵ Institut Pasteur, Alger, Algérie

⁶ Genethon III, Evry, France

CMT AXONAL AUTOSOMIQUE RECESSIF LIE AU LOCUS 1Q21.2-Q21.3 ET EXPLORATION DES LOCI CONNUS DANS LES AR-CMT2 DANS DES FAMILLES ALGERIENNES

La maladie de Charcot-Marie-Tooth (CMT) est constituée d'un groupe de polyneuropathies héréditaires sensitivo-motrices très hétérogènes cliniquement et génétiquement. Elle est caractérisée par une atrophie musculaire et une faiblesse lentement progressives, atteignant principalement les muscles distaux des membres inférieurs de façon symétrique. La mesure des NCV (Vitesses de Conduction Nerveuse motrice) au niveau du nerf médian permet de distinguer deux formes de CMT : démyélinisante (CMT1) ou axonale (CMT2). A ce jour, de nombreux loci et différents modes de transmission ont été décrits: autosomique dominant, lié à l'X et autosomique récessif. Le premier locus pour une forme axonale autosomique récessive de CMT (AR-CMT2) a été identifié en 1q21.2-21.3 par linkage sur une grande famille consanguine Marocaine (Bouhouche *et al.*, 1999). Nous avons exploré 29 familles algériennes consanguines de CMT2 autosomique récessif et, afin de tester la liaison à la région 1q21.2-21.3, nous avons utilisé une approche par "homozygosity mapping" avec les marqueurs polymorphes D1S498, D1S305, D1S2715, D1S303, D1S2777, D1S2721, D1S2624 et D1S2635. La région d'homozygotie, incluant l'intervalle candidat, a permis d'identifier une liaison dans 2 familles avec un lod score > 3 (Zmax = 4.14 à Tetha = 0 pour le marqueur D1S2721) en analyse bi-point. Le phénotype présenté par les individus atteints et objectivé par la biopsie nerveuse et l'électrophysiologie correspond typiquement à une forme axonale de la maladie de Charcot-Marie-Tooth et nous rapportons donc l'identification de nouvelles familles AR-CMT2 liées au locus 1q21.2-21.3. Ces données suggèrent une fréquence d'environ 12% des AR-CMT2 liées à cette région. Un effort de clonage positionnel du gène est en cours dans la région minimale critique.

Par ailleurs, deux autres localisations préalablement rapportées dans les AR-CMT2 (8q13-q21 et 19q13), ont été testées à partir des mêmes familles. Nos résultats préliminaires pour ces deux localisations suggèrent une fréquence équivalente pour les formes liées au 8 et celles liées au 1, alors que les formes liées au chromosome 19 semblent plus anecdotiques. Enfin, pour plus de la moitié des familles explorées, aucune liaison génétique à un des loci connus n'a pu être mise en évidence, confirmant la très grande hétérogénéité de loci dans les neuropathies héréditaires sensitives et motrices, y compris au sein des formes rares que sont les AR-CMT2. Une analyse de liaison «génomique entier» est en cours afin d'identifier d'autres localisations.

369. Erreurs Innées du Métabolisme

DE LONLAY Pascale¹, Valnot Isabelle¹, Barrientos Antony², Gorbatyuk Marina², Tzagoloff Alexander², Taanman Jan-Willen³, Chrétien Dominique¹, Kadhom Nooman¹, Lombès Anne⁴, Ogier de Baulny Hélène⁵, Niaudet Patrick⁶, Munnich Arnold¹, Rustin Pierre¹, Rötig Agnès¹

1 INSERM U393, Hôpital Necker-Enfants malades, 149 rue de Sèvres Paris France

2 Department of Biological Sciences, Columbia University, New-York, NY 10027, USA

3 Royal Free and University College Medical School, Department of Clinical Neurosciences, Rowland Hill Street, London NW3 2PF, UK

4 INSERM U523, Institut de Myologie, 47 boulevard de l'Hôpital, Paris

5 Service de Neuropédiatrie, Hôpital Robert-Debré, 48 boulevard Sérurier, Paris

6 Département de Pédiatrie, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris

MUTATIONS DE BCS1, UN GÈNE D'ASSEMBLAGE DE LA CHAÎNE RESPIRATOIRE, DANS DES DÉFICITS DU COMPLEXE III.

Le complexe III de la chaîne respiratoire catalyse le transfert des électrons du complexe I et du complexe II au cytochrome c. Le complexe III est composé de 11 sous-unités codées par des gènes nucléaires à l'exception du cytochrome b d'origine mitochondriale. Les déficits de ce complexe sont relativement rares et les manifestations cliniques qui en résultent sont très variables. Si plusieurs mutations du gène du cytochrome b ont été décrites, aucune mutation d'une des sous-unités d'origine

nucléaire n'a encore été identifiée. Il semblerait donc que les gènes responsables des déficits en complexe III soient des gènes impliqués dans l'assemblage de ce complexe. On connaît une quinzaine de gènes d'assemblage du complexe III chez la levure, dont un seul, BCS1, a un homologue chez l'homme. Ce gène représente donc le seul gène candidat pour ces déficits. Nous avons identifié des mutations de BCS1 chez 6 patients de 4 familles indépendantes. Tous ces patients présentent une tubulopathie proximale néonatale et une insuffisance hépatique. Des études de complémentation chez la levure ont permis de valider l'effet délétère de ces différentes mutations. Ainsi BCS1 est le premier gène nucléaire responsable de déficits du CIII et représente une cause fréquente de ces déficits puisqu'un tiers de nos malades sont mutés pour ce gène.

370. Cartographie Génétique

AZZEDINE Hamid¹, Durosier G¹, Leutenegger L, Tazir M², Birouk N³, Bouhouche A³, Mayer M⁴, Salih M.A.M⁵, Mahmoudi D⁶, Masmoudi A⁶, Dubourg O^{1,7}, Vandenberg A⁸, Grid D⁹, Brice A¹, LeGuern E¹

1 INSERM U289 B,t. Pharmacie Hôpital de la Salpêtrière 47, Bd de l'hôpital - Paris France

2 Service de Neurologie Hôpital Mustapha Alger Algérie

3 Laboratoire de Neurogénétique, Hôpital des spécialités, Rabat Maroc

4 Hôpital Saint-Vincent de Paul Paris

5 Department of Pediatrics College of Medicine & KKHU King Saud University Saudi Arabia

6 Service de Neurologie Hôpital Mayot Alger Algérie

7 Unité Fonctionnelle de Pathologies Neuromusculaires Hôpital de la Salpêtrière

8 Université Rockefeller Lyon1 Hôpital de l'antiquaille Lyon

9 AFM-Généthon, Hôpital de la Salpêtrière

HÉTÉROGÉNÉITÉ GÉNÉTIQUE DE LA FORME AXONALE DE LA MALADIE DE CHARCOT-MARIE-TOOTH AUTOSOMIQUE RÉCESSIF : FRÉQUENCES OBSERVÉES DES LOCI CONNUS.

La maladie de Charcot-Marie-Tooth est une neuropathie périphérique présentant une grande variabilité aussi bien phénotypique que génétique. Elle est caractérisée par une amyotrophie et une faiblesse musculaire distale associées à des troubles sensitifs de même topographie.

Il existe deux types de CMT, la forme dysmyélinisante et la forme neuronale que l'on peut distinguer à l'examen électrophysiologique par la mesure de la vitesse de conduction du nerf médian. 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 9 gènes ont été rapportés. Trois loci ont été décrits pour la forme axonale de CMTAR en 1q21, 8q13 et 19q13.

Grâce à une collaboration internationale, nous avons sélectionné 34 familles avec consanguinité représentant un total de 125 individus dont 45 sont atteints. L'ensemble de ces familles a été testé avec des marqueurs microsatellites qui flanquent les loci en 1q21, 8q13 et 19q13.

La proportion des familles avec liaison au 1q21, 8q13 et 19q13 est respectivement de 9, 26 et 4 %. Il découle de cette étude que plus de 61 % des familles analysées ne sont associées à aucun des loci déjà connus.

Un tour du génome est en cours pour identifier les autres loci responsables de CMTAR axonal.

371. Cartographie Génétique

TOUTAIN Annick, Dessay Benoît, Ronce Nathalie, Moraine Claude

Service de Génétique, CHU de Tours Hôpital Bretonneau 2 boulevard Tonnelé - Tours France

SYNDROME DE NANCE-HORAN : AFFINEMENT DE LA LOCALISATION EN XP22.2 ET EXCLUSION DE SIX GÈNES CANDIDATS.

Le syndrome de Nance-Horan (NHS) est une affection liée à l'X rare caractérisée par une cataracte congénitale bilatérale associée à une microcornée et responsable d'une malvoyance sévère, des

anomalies dentaires caractéristiques, une dysmorphie faciale, et un retard mental dans 30% des cas. Plusieurs études de liaison publiées au début de la dernière décennie avaient permis de localiser le gène NHS en Xp22, et dans une première étude de 4 familles nous avons affiné la localisation en Xp22.31-p22.13, dans une région d'environ 15 cM (Toutain *et al.*, 1997). Nous présentons ici le résultat de l'analyse de liaison de 8 nouvelles familles qui nous a permis de réduire l'intervalle de localisation : ce résultat combiné à ceux d'une autre équipe situe le gène NHS dans un intervalle inférieur à 1 cM entre les marqueurs DXS1195 en télomérisque et DXS999 en centromérique. Nous présentons en outre les résultats de l'étude de six gènes candidats situés dans cet intervalle, SCML1, RAI2, SCML2, STK9, RS et PPEF1 : aucune mutation n'a été identifiée chez 16 patients non apparentés (12 cas familiaux et 4 cas sporadiques), excluant ainsi la responsabilité de ces gènes dans le syndrome de Nance-Horan.

372. Cartographie Génétique

VILLEGIER Ludovic¹, ABIFADEL Marianne¹, ALLARD Delphine¹, VARRET Mathilde¹, RABES Jean Pierre¹, KREMPF Michel², JUNIEN Claudine¹, BOILEAU Catherine¹

1 INSERM UR383 149 rue de Sèvres Hôpital Necker-Enfants Malades 10207 Paris France
2 CHU Hotel Dieu, Nantes

VERS L'IDENTIFICATION D'UN QUATRIÈME GÈNE MAJEUR DANS L'HYPERCHOLESTÉROLÉMIE FAMILIALE

L'hypercholestérolémie familiale (HCF) est une des maladies à transmission autosomique dominante les plus fréquentes caractérisée par une élévation du cholestérol-LDL. Il est communément admis que l'HCF résulte de défauts moléculaires dans deux gènes différents. Les mutations du gène LDLR conduisent à la FH (Familial Hypercholesterolemia); les mutations du gène APOB conduisent à la FDB (Familial ligand-Defective apolipoprotein B-100).

Un test d'homogénéité de la liaison génétique a révélé que l'HCF était génétiquement plus hétérogène. Un tour du génome sur deux familles non LDLR/ non APOB a montré que la famille HC2 avait un Lod score significatif en 1p32 (gène FH3), mais également que la seconde famille (HC6) n'était pas liée à ce locus, suggérant donc l'existence d'un quatrième gène impliqué dans l'HCF. Dans cette famille, nous avons exclu plus de 80% du génome et obtenu un lod score de 2,6 dans une région contenant donc très probablement le gène FH4. Nous avons saturé la région avec d'autres marqueurs polymorphes dans HC6 afin de définir un intervalle critique et dans d'autres familles HCF nonLDLR/nonAPOB/nonFH3 afin de confirmer cette localisation. Quatre autres familles nous ont permis de définir un intervalle de 3,5 cM. Nous sommes en train de réaliser la carte physique (contig de BACs issus du séquençage du génome humain) ainsi qu'un inventaire des gènes de la région. Grâce à une collaboration avec le centre national de séquençage, nous avons mis en place un séquençage systématique de la partie codante des gènes. Parallèlement, nous continuons le recrutement de nouvelles familles à travers un réseau de recherche national.

373. Cartographie Génétique

ELGAIED-BOULILA Amel¹, Masmoudi Saber¹, Charfedine Ilhem², Hmani Monira¹, Grati M'hamed³, Gorbel Abdel Monem², Drira Mohamed², Hardelin Jean-Pierre³, Ayadi Hammadi¹

1 Laboratoire de Génétique Moléculaire Humaine (LGMH) faculté de Médecine Rue Majida Boulila 3029 Sfax Tunisie
2 Service d'ORL, CHU HABIB BOURGUIBA
3 Unité de Génétique des Déficiences Sensorielles, Institut Pasteur, Paris, France

HETEROGENEITE ALLELIQUE DU GENE PDS DANS LE SUD TUNISIEN

Le syndrome de Pendred est une maladie autosomique récessive, il est caractérisé par une surdité neurosensorielle congénitale associée à une malformation de l'oreille interne, un goitre et un test au perchlorate positif. Le gène responsable de ce syndrome a été identifié sur le chromosome 7q31 : il s'agit du gène, PDS

(putative sulfate transporter), Il code pour un transporteur d'iode et de chlorure, la pendrine. Nous avons recensé 7 familles consanguines originaires du sud tunisien, comportant 54 individus atteints d'une surdité neurosensorielle congénitale dont 23 présentent un goitre évoquant le syndrome de Pendred. L'analyse des haplotypes et le calcul du lod score ont montré, pour 4 Familles, une coségrégation avec les marqueurs microsatellites qui flanquent le gène PDS. L'analyse des haplotypes et des séquences de ce gène a montré l'existence d'un même allèle portant la même mutation : une transition G /T dans l'exon 11. Cette mutation a été présente chez tous les sourds de 3 des 4 familles liées au locus du gène PDS. Ces résultats évoquent l'existence d'un fondateur commun pour ces trois familles. La quatrième famille liée au locus PDS présente un autre allèle et une autre mutation évoquant une hétérogénéité allélique. Les familles restantes non liées à ce gène subissent une exploration clinique spécifique afin de s'assurer qu'il s'agit bien du syndrome de Pendred. Dans ce cas on montrera l'existence d'une hétérogénéité génétique de ce syndrome.

Il ressort de notre étude, une hétérogénéité allélique et peut être même génétique du syndrome de Pendred dans le sud Tunisien.

374. Structure et Fonction Génique

LEGEAI-MALLET Laurence¹, Louise Zylberg², Catherine Benoist-Lassel¹, Arnold Munnich¹, Jacky Bonaventure¹
1 INSERM-U393 Hôpital des Enfants Malades Paris France
2 CNRS UMR 8570 Uniparis VII

LES MUTATIONS EXT RESPONSABLES DE LA MALADIE DES EXOSTOSES MULTIPLES SONT ASSOCIEES A DES ANOMALIES FONCTIONNELLES DES CHONDROCYTES

La maladie des exostoses multiples est une affection dominante qui se caractérise par la présence de tuméfactions osseuses dans la région juxta-métaphysaire des os longs.

L'identification de trois loci sur les chromosomes 8, 11 et 19 a révélé son hétérogénéité génétique. Deux gènes suppresseurs de tumeurs EXT1 et EXT2 ont été clonés et impliqués comme responsables de cette maladie chez plus de 80% des patients. Ces gènes codent pour deux glycosyltransférases appelées exostosines qui semblent former un complexe au niveau de l'appareil de Golgi et jouent un rôle essentiel dans la biosynthèse des héparanes sulfates.

Nous avons réalisé des études génétiques, histologiques et ultrastructurales de plusieurs exostoses. Après identification des mutations responsables, l'étude du tissu a montré un cartilage très acellulaire, un os de type trabéculaire très remanié et des anomalies du cytosquelette des chondrocytes caractérisées par des fibres d'actine anormalement développées et nombreuses. La détection en immunocytochimie d'ostéopontine dans 15 à 20% des cellules associées à la présence de phosphatase alcaline suggèrent que certains chondrocytes se trans-différencient en ostéoblastes. Cette hypothèse est confortée par la visualisation en immunocytochimie et électromicroscopie de fibres de collagène de type I, co-existant avec les collagènes de type II et X dans la partie cartilagineuse de l'exostose. L'ensemble de ces résultats indique que des mutations des gènes EXT entraînent une réinitiation du processus d'ossification endochondrale qui s'accompagne d'une synthèse ectopique de collagène de type I et d'une surexpression de collagène de type X. La formation des exostoses semble induire *in situ* une différenciation prématurée des chondrocytes et leurs trans-différenciation en ostéoblastes.

375. Structure et Fonction Génique

SANTUCCI-DARMANIN Sabine, Moens Peter, Lespinasse Françoise, Neyton Sophie, Paquis-Flucklinger Véronique
UMR CNRS/UNSA 6549, Faculté de Médecine Nice cedex 2 France

IDENTIFICATION DE DIFFÉRENTS PARTENAIRES DE LA PROTÉINE MSH4

AU COURS DES STADES PRÉCOCES DE LA PROPHASE DE MÉIOSE CHEZ LES MAMMIFÈRES.

Chez les eucaryotes, certaines protéines homologues aux protéines bactériennes MutS (MSH pour MutS Homolog) et

MutL (MLH pour MutL Homolog ou PMS), initialement étudiées pour leur rôle dans la réparation de l'ADN, participent aux mécanismes de recombinaison méiotique. En particulier, chez *Saccharomyces cerevisiae*, la protéine MSH4 est requise pour un taux normal de crossing-over. Nous avons cloné les homologues humain et murin du gène MSH4 de levure. Dans des conditions normales, MSH4 est exprimée exclusivement dans les cellules germinales et se localise sous forme de foyers répartis le long des chromosomes méiotiques à différents stades de la prophase de méiose.

Les protéines MSH et MLH étant connues pour agir sous forme de tétramères, il paraît essentiel de déterminer quels sont les partenaires de MSH4. Il est d'ores et déjà établi qu'au cours des étapes précoces de la prophase de méiose, MSH4 est associée à un autre homologue de MutS : MSH5. Nous avons entrepris de rechercher les homologues de MutL susceptibles de s'associer à l'hétérodimère MSH4-MSH5. Nous montrons ici : (i) que les homologues de MutL, PMS2 et MLH3, interagissent toutes deux et de façon indépendante avec la protéine MSH4 *in vitro* ; (ii) que les protéines PMS2 et MLH3 interagissent physiquement l'une avec l'autre. Ces résultats associés à des données de la littérature suggèrent qu'un hétérodimère constitué des protéines PMS2 et MLH3 s'associe avec l'hétérodimère MSH4-MSH5 pour former un tétramère fonctionnel au cours des stades précoces de la prophase de méiose.

Nous avons ensuite cherché à savoir si MSH4 et ses partenaires interagissent avec des enzymes connues pour participer aux mécanismes de recombinaison. Nous montrons ici que la protéine MSH4 interagit physiquement avec Rad51, une protéine homologue à la recombinase RecA bactérienne. De plus, nous avons observé une co-localisation de ces deux protéines sur les chromosomes méiotiques.

L'ensemble de ces résultats nous conduit à proposer un modèle concernant la fonction de la protéine MSH4 et de ses partenaires dans les étapes précoces de la recombinaison méiotique, un tel modèle devant nous permettre de mieux cibler la recherche de mutations dans le gène MSH4 chez des patients stériles.

376. Structure et Fonction Génétique

SAUT Noemie¹, Machev Nadejda¹, Longepied Guy¹, Navarro André¹, Terriou Philippe², Mattei Marie-Geneviève¹, Metzler-Guillemain Catherine³, Levy Nicolas¹, and Michael J. Mitchell¹

¹ Inserm U.491, Faculté de médecine, 27 bd Jean Moulin, Marseille, FRANCE.

² Institut de Médecine de la Reproduction, Marseille, FRANCE

³ Biologie de la Reproduction, Hôpital de la Conception, Marseille, FRANCE

DES MICRO- AUX NANO-DELETIONS DU CHROMOSOME Y: LOCALISATION DES FACTEURS D'AZOOSPERMIE (AZF)

Les micro-délétions du chromosome Y sont les causes génétiques majeures connues actuellement de l'infertilité masculine chez l'homme. Une micro-délétion de l'intervalle AZFc est retrouvée chez approximativement 10% des hommes azoospermiques ou oligozoospermiques sévères caractérisée par une numération de spermatozoïdes < à 5.10⁶/ml. L'intervalle AZFc a une structure complexe composée de grands segments dupliqués qui partagent 99,97% d'identité nucléotidique, et dans lequel les gènes candidats sont présents en deux à quatre copies: DAZ en quatre copies, BPY2 en trois copies et CDY1 en deux copies. Les étendues de toutes les délétions décrites à ce jour sont presque identiques, et elles enlèvent l'ensemble des copies de DAZ, BPY2 et CDY1. L'absence de délétions partielles identifiées dans l'intervalle empêche l'identification du gène AZFc. Afin de réduire la région critique pour la fonction AZF nous avons recherché des délétions qui n'enlèvent qu'une partie des gènes dans l'intervalle AZFc: les NANO-DELETIONS. Nous avons d'abord montré l'existence de ces nano-délétions par analyse en Southern blot et FISH. Nous avons, dans un second temps, développé des tests de PCR-quantitative et criblé 350 hommes infertiles. Dans 3% des cas, nous avons identifié une délétion, et montré qu'il existe plusieurs types de délétions différentes. Certaines de ces délétions ont été observées chez 200 hommes fertiles témoins, mais nous avons identifié d'autres

nano-délétions exclusivement chez des hommes infertiles. Ces nano-délétions nous ont permis de délimiter une région critique réduite pour le gène AZF dans l'intervalle AZFc.

377. Structure et Fonction Génétique

DOUDEMONT Julien, DISSET Antoine, TUFFERY-GIRAUD Sylvie, CLAUSTRES Mireille, ROMÉY Marie-Catherine
1 Laboratoire de génétique moléculaire I.U.R.C. 641 Av. du doyen Gaston Giraud - Montpellier France

IDENTIFICATION ET CARACTÉRISATION FONCTIONNELLE DES FACTEURS DE TRANSCRIPTION IMPLIQUÉS DANS L'ACTIVATION DE LA TRANSCRIPTION DU GÈNE CFTR.

La régulation de l'expression du gène CFTR (Cystic Fibrosis Transmembrane conductance Regulator) est extrêmement complexe. Les profils d'expression, *in vivo*, de l'ARNm et de la protéine CFTR suggèrent une régulation temporelle et spatiale du gène. Cependant, malgré de nombreuses études, les mécanismes impliqués dans la régulation de l'activité transcriptionnelle du gène CFTR sont mal connus.

Nous avons récemment montré qu'une variation de séquence (-102T/A) identifiée dans le promoteur minimal du gène CFTR, chez des patients présentant un phénotype atténué de mucoviscidose, affecte l'activité transcriptionnelle via des mécanismes de régulation non encore élucidés impliquant le facteur de transcription Yin Yang 1 (YY1)(1). Plusieurs hypothèses peuvent être considérées : YY1 pourrait induire une courbure de l'ADN qui faciliterait ou empêcherait les interactions avec d'autres facteurs de transcription ; YY1 pourrait interagir de manière compétitive ou en synergie avec les protéines susceptibles de se lier à la région nucléotidique étudiée, contenant le motif CARG-like ou SRE-like pour serum response element .

Grâce à une analyse des interactions ADN/protéines *in vitro* plus exhaustive, nous avons récemment identifié les facteurs de transcription qui se lient de manière spécifique à la séquence sauvage (allèle 102T), comprenant les sites CARG-like et CCAAT-like inversée, et ceux qui se fixent sur la séquence mutée, (allèle 102A) contenant le site CARG-like et la séquence consensus YY1 (données non encore publiées). Une analyse fonctionnelle est en cours afin d'élucider l'implication de chacun de ces facteurs dans la régulation de la transcription du gène CFTR.

1. Romey *et al.* J Biol Chem 2000, 275: 3561-3567

378. Structure et Fonction Génétique

GOUDOU Danièle, PERIN Jean-Pierre, RIEGER François, ALLIEL Patrick M
INSERM U-488, 80, rue du Général Leclerc - Le Kremlin Bicêtre France

NOUVEAUX MOTIFS RÉTROVIRAUX ENDOGÈNES HUMAINS DE TYPE HERV-7Q/W

Objectif : Identification de nouveaux membres appartenant à la famille rétrovirale endogène humaine HERV-7q/W, qui a intégré le génome des primates il y a 30 millions d'années .

Résultats : Nous avons détecté un ensemble de motifs rétroviraux endogènes de type HERV-7q/W, identifiés sur chacun des chromosomes humains. Parmi les 150 séquences régulatrices de type LTR présentant une homologie avoisinant les 90% sur plus de 700 nucléotides, on retrouve certaines situées en 5' (ATP8B1, serotonin receptor 3A, Nuclear RNA export factor 3, ADAMTS1) ou au ctér (HT012, interleukin-1 like, diubiquitine, TUSP, serine/thréonine protéine kinase) de certains gènes. Nous avons aussi caractérisé de longs cadres de lecture ouverts codant pour des motifs ou des polypeptides analogues au domaine env de la séquence HERV-7q, appelé envérine ou syncytine : en particulier un polypeptide putatif de 59kDa, située sur le chromosome X et une forme délétée de la partie centrale de l'envérine située sur le chromosome 10.

Conclusion : De par leur nombre, leur préservation, et leur localisation, certains de ces motifs rétroviraux endogènes seraient susceptibles de modifier le ciblage tissulaire, ou le développement normal et pathologique de l'Homme. En

particulier, les séquences LTR, pourraient moduler l'expression de certains gènes ou modifier la structure d'un transcrite et éventuellement de la protéine. De même, des séquences similaires à l'envérine pourraient conserver certaines des fonctions biologiques de cette protéine, dont certaines déjà démontrées (fusiogénicité, activité superantigène, immunomodulation).

Soutien de Tryba S.A, et associations Alliance et Sillon MultiImages.

Brevets INSERM, FR98 07920 et PCT/FR99/01513.

379. Structure et Fonction Génique

GIRODON Emmanuelle^{1,2}, **LEHMANN-CHE Jacqueline**², **MARTIN Josianne**¹, **AZMY Nourredine**¹, **MEDINA Rachel**¹, **GOOSSENS Michel**^{1,2}, **FANEN Pascale**²

1 Service de biochimie-génétique hôpital Henri Mondor CRETEIL FRANCE

2 INSERM U468 hôpital Henri Mondor CRETEIL

DESCRIPTION CLINIQUE ET FONCTIONNELLE D'UN TRIPLE MUTANT DU GÈNE CFTR : D443Y-G576A-R668C

Près de 1000 mutations du gène CFTR, impliquées dans des phénotypes variés, de la mucoviscidose classique de l'enfant à la stérilité masculine isolée par absence des canaux déférents (ABCD), et près de 150 polymorphismes ont été décrits. La nuance entre mutation pathogène et polymorphisme est quelquefois assez ténue, en particulier pour les variations faux-sens, et l'existence de plusieurs variations de séquence sur le même chromosome (allèles complexes), complique encore l'interprétation. Nous rapportons la description d'un allèle complexe associant trois mutations faux-sens, D443Y-G576A-R668C (exons 9-12-13), jusqu'à présent décrites indépendamment ou associées deux-à-deux. L'association à un haplotype commun et les différentes associations observées chez 21 patients tendent à montrer que ces 3 variations sont survenues l'une après l'autre sur un même gène ancestral. Les trois allèles simples mutants et les allèles complexes sont transfectés transitoirement dans des cellules HeLa. La biosynthèse et le degré de maturation de la protéine CFTR sont évalués par immunoprécipitation et la conductance Cl⁻ AMPc-dépendante est étudiée par une technique de vidéoimagerie couplée à une sonde fluorescente sensible aux ions Cl⁻. L'étude de la relation génotype-phénotype chez ces patients et les études de relations structure-fonction dans un système d'expression hétérologue des protéines CFTR normales ou mutées montrent que le simple mutant R668C et le double mutant G576A-R668C ne semblent pas avoir d'effet délétère, alors que le triple mutant D443Y-G576A-R668C a un effet délétère certain et modéré, qui, associé en trans à une mutation sévère, peut être responsable d'une mucoviscidose modérée ou d'une infertilité masculine par ABCD.

380. Structure et Fonction Génique

FERGELOT Patricia¹, **ABGUEGUEN Emmanuelle**¹, **ORHANT Magali**¹, **Jouan Hélène**², **GICQUEL Isabelle**¹, **FERRAN Hélène**¹, **GRIMBER Gisèle**³, **BAHRAM Seiamak**⁴, **LE GALL Jean-Yves**¹, **MOSSER Jean**¹

1 UMR 6061 Génétique et Développement, faculté de médecine, Rennes France

2 Service d'anatomie Pathologique, CHU de Rennes

3 U 380 INSERM Génétique et Pathologie Expérimentales, ICGM, Paris

4 INSERM-creS centre de recherche d'Immunologie et d'Hématologie, Strasbourg cedex

ETUDE PAR TRANSGÉNÈSE DE LA FONCTION D'HFE1 DANS L'ABSORPTION INTESTINALE DU FER

La découverte du gène de l'hémochromatose, HFE1, en 1996, loin de répondre aux questions sur la physiopathologie de la maladie et plus généralement sur la régulation du métabolisme du fer, a ouvert de nouveaux champs d'investigation en raison de la nature même du produit du gène, une protéine apparentée à la chaîne lourde des antigènes d'histocompatibilité de classe I, interagissant avec le récepteur de la transferrine. Dans

l'hémochromatose HFE1, l'absorption intestinale excessive du fer est à l'origine de la surcharge systémique. Le modèle animal que nous développons par transgénèse vise à explorer le rôle de la protéine HFE par le biais d'une expression ciblée du gène dans l'intestin, sous le contrôle d'un promoteur spécifique des entérocytes (Fabpi : fatty acid binding protein). Trois lignées Fabpi-HFE sont étudiées.

Dans 2 lignées, le transgène s'exprime dans les entérocytes différenciés des villosités duodénales (lignées villosités) et, de façon surprenante, les mâles transgéniques présentent une augmentation de la saturation de la transferrine. Dans la troisième lignée, le transgène s'exprime plus profondément dans les cellules des cryptes (lignée crypte), mimant la localisation décrite pour la protéine endogène et pour ces souris la saturation de la transferrine est retrouvée plus basse que chez les témoins. Les souris transgéniques ont été croisées avec des souris HFE^{-/-} (knock-out), pour obtenir des souris n'exprimant plus HFE que dans l'intestin. Une surcharge hépatique en fer est retrouvée constamment chez les souris Fabpi-HFE villosités sur fond HFE^{-/-}, dès trois mois sous alimentation standard en fer, mais pas chez les HFE^{-/-} contrôles. Les souris de la lignée crypte sur fond HFE^{-/-}, en cours d'analyse, devraient, en théorie, réverser le phénotype hémochromatose des souris HFE^{-/-}.

Le maintien de l'expression d'HFE dans les villosités que l'on peut considérer comme ectopique par rapport à l'expression de la protéine décrite chez l'Homme entraîne donc un phénotype de surcharge. L'expression d'HFE dans les cryptes est donc indispensable à son rôle d'inhibiteur de l'absorption du fer. L'étude de la fonction d'HFE va se poursuivre dans ces modèles à l'échelle moléculaire par une approche transcriptomique, permettant de comparer dans les lignées transgéniques l'expression de gènes impliqués dans le métabolisme du fer, en considérant différents degrés de différenciation cellulaire des entérocytes et le stock tissulaire en fer.

381. Structure et Fonction Génique

GASTALDI Marguerite, Patrice Roll, Annick Massacrier, Sandrine Pereira, Pierre Cau, Pierre Szeptetowski
INSERM U491 Faculté de Médecine de la Timone 27 Bd J Moulin - Marseille France

IDENTIFICATION AND CHARACTERIZATION OF HUMAN STX1B2 GENE, A NEW MEMBER OF THE SYNTAXIN FAMILY

Members of the syntaxin family are key components of the machinery that mediates membrane fluxes and exocytosis. A new human syntaxin gene, STX1B2, was identified. It is composed of ten coding exons and spans a genomic area of more than 10.7 kb. STX1B2 encodes a protein of 288 amino acids that possesses the signature of the syntaxin family of proteins, including a conserved C-terminal coiled-coil domain. It belongs to an evolutionary subgroup comprising the syntaxin 1A and 1B proteins, which are neuron-specific isoforms implicated in neurotransmitter release. Determination of tissue distribution by Northern blot analysis revealed highest expression of STX1B2 in brain. Alternative splicing with intron retention was also detected by RT-PCR. This led to the existence of a predicted alternative protein lacking the C-terminal transmembrane domain of STX1B2 in some human tissues as well as in several cerebral tumors. The STX1B2 gene was mapped onto chromosome 16p11, in a region containing a major gene responsible for benign familial infantile convulsions (BFIC), paroxysmal dyskinesia, or both associated (ICCA syndrome).

382. Thérapie Génique et Pharmacogénétique

RUSTIN Pierre¹, **Munnich Arnold**¹, **Rötig Agnès**¹, **Sidi Daniel**²
1 INSERM U393, Hôpital Necker-Enfants Malades Paris France
2 Département de Pédiatrie, Hôpital Necker

RÉDUCTION DE L'HYPERTROPHIE CARDIAQUE DANS L'ATAXIE DE FRIEDREICH PAR UN TRAITEMENT PAR L'IDÉBÉNONE

L'ataxie de Friedreich est une maladie neurodégénérative responsable d'une ataxie cérébelleuse et d'une cardiomyopathie.

Le gène responsable de la maladie code une protéine de fonction encore mal connue, la frataxine. La perte de fonction de la frataxine est due à une amplification de triplets GAA dans le premier intron de son gène et génère un stress oxydatif ainsi qu'un déficit combiné d'une enzyme du cycle de Krebs, l'aconitase, et des complexes I, II et III de la chaîne respiratoire. Il a été montré chez quelques patients que l'idébénone, un analogue à courte chaîne des quinones à effet antioxydant, protège le muscle cardiaque du stress oxydatif. Nous avons étudié une grande série de patients atteints d'ataxie de Friedreich afin d'identifier les facteurs potentiels qui contrôlent l'effet du médicament sur la masse et la fonction du ventricule gauche.

Un traitement par idébénone (5 mg/kg/j) a été administré à 38 patients âgés de 4 à 22 ans (20 garçons et 18 filles). Les échocardiographies ont été réalisées avec le même scanner avant et après traitement par idébénone. Au bout de 6 mois de traitement, l'échocardiographie a montré une réduction de plus de 20% de la masse du ventricule gauche chez environ la moitié des malades ($p < 0,001$). Aucune corrélation entre la réponse à l'idébénone, l'âge, le sexe, les paramètres échographiques initiaux ou le nombre de triplets GAA n'a pu être établie.

383. *Thérapie Génique et Pharmacogénétique*

ARNOLD Anne-Sophie, Jean-Marie Warter, Philippe Poindron, Jean-Pierre Gies
Université Louis Pasteur, Faculté de Pharmacie BP24, 74 Route du Rhin - Illkirch France

VERS UNE THERAPIE CELLULAIRE MUSCULAIRE POUR LES AMYOTROPHIES SPINALES INFANTILES.

Les amyotrophies spinales infantiles (SMA : Spinal Muscular Atrophy) sont des maladies neuromusculaires caractérisées par une dégénérescence des motoneurons conduisant à une atrophie musculaire qui peut être létale selon la forme de la maladie. Le gène responsable de cette maladie est le gène SMN (Survival Motor Neuron) muté chez 98 % des patients SMA. Nous utilisons au laboratoire un modèle de coculture hétérologue nerf-muscle (constitué de cellules satellites humaines innervées par des explants de moelle épinière de Rat) qui nous permet de reconstituer une unité motrice fonctionnelle. Ce système dégénère lorsque les cellules musculaires proviennent de patients SMA, alors qu'il se maintient pendant 1 an quand ces dernières sont saines. Nous avons démontré au laboratoire que les cellules responsables de cette dégénérescence sont les cellules satellites. A partir de ces résultats, nous avons envisagé la transfection de la forme normale du gène SMN dans des cellules musculaires SMA comme éventuelle solution contre la dégénérescence des cocultures. La première étape de ce projet a été de construire le plasmide pEGFP-C3/SMN permettant l'introduction du gène SMN dans les cellules satellites. Nous avons ensuite comparé l'efficacité de 3 vecteurs synthétiques pour transfecter des myoblastes humains primaires. Il s'agit de 2 lipides cationiques (le FuGENE et l'Effectene), et d'un polycation (le PEI 22 kDa). L'efficacité de transfection a été estimée par tri des cellules au FACS. Nous avons également évalué l'effet du serum sur les taux de transfection et la survie des cellules en effectuant les expériences en présence de différentes quantités de SVF (0%, 5% ou 10%) dans le milieu de culture. Aucune différence significative entre ces 3 agents n'a pu être mise en évidence pour un taux donné de serum, ainsi que pour différents taux de serum pour un agent donné. Ceci concerne aussi bien l'efficacité de transfection que le taux de survie des cellules. De telles expériences ont conduit par exemple à 6,6 % de cellules transfectées pour un rapport Effectene/ADN de 1/25. Le plasmide pEGFP-C3/SMN portant le gène de résistance à la néomycine, nous avons pu sélectionner les cellules surexprimant SMN en les cultivant dans un milieu contenant cet antibiotique. Ceci est prometteur pour la suite de nos expériences. En effet, la première étape est franchie : les myoblastes humains primaires peuvent être transfectés par des vecteurs synthétiques tels que les lipides cationiques et polycations utilisés dans cette étude. Le transfert de gène *ex vivo* dans des cellules musculaires, suivi de la transplantation de ces cellules dans le muscle pourrait donc être envisageable. Ce concept est important pour le développement futur de protocoles sûrs et efficaces de thérapie

génique ciblant le muscle, beaucoup plus accessible, plutôt que le motoneuron. Il ouvre différentes possibilités de traitement génique de maladies comme les amyotrophies spinales infantiles.

384. *Bioéthique*

DURR Alexandra¹, Evrard Isabelle², Gargiulo Marcela¹, Capecchi Tecla¹, Lahlou Khadija¹, Feingold Josue¹

¹ Département de génétique, cytogénétique et embryologie Hôpital de la Salpêtrière - Paris France
² INSERM U 289

LE DIAGNOSTIC PRÉSYMPTOMATIQUE : FACTEURS PRÉDICTIONNELS DE LA DÉCISION

Objectif : La consultation du diagnostic présymptomatique de la maladie de Huntington a accueilli depuis 1993 690 personnes demandant un test présymptomatique dont seulement 350 ont finalement décidé de connaître leur statut. Les facteurs qui peuvent amener une personne à poursuivre ou non sa demande de diagnostic présymptomatique sont déterminants pour leur prise en charge dans le cadre d'une maladie grave et de révélation tardive. Nous avons voulu savoir s'il existait une relation entre la qualité de vie, mesurée par l'indicateur de santé perceptuelle de Nottingham, chez des personnes se présentant pour une première consultation d'information et leur décision de poursuivre leur démarche jusqu'au test sanguin, et déterminer les différences entre ces deux populations.

Résultats : 166 personnes ont été incluses dans l'étude entre janvier 1996 et juin 2000 dont 111 ont continué la démarche jusqu'au résultat. Aucune différence significative entre les deux groupes n'a pu être mise en évidence pour les différentes variables de l'échelle de qualité de vie. En revanche, la proportion de parents est significativement plus élevée dans le groupe qui poursuit la démarche (64% versus 45%, $p < 0,05$) et la connaissance récente du risque est un prédictif de l'abandon de la démarche (67% versus 19% $p < 0,01$).

Conclusion : Ce n'est pas une mauvaise qualité de vie qui pousse les personnes à risque à faire le test présymptomatique. La structure pluridisciplinaire de prise en charge et le temps de réflexion sont importants à respecter, particulièrement dans le cas des personnes qui ont appris récemment leur risque. Paradoxalement, ce sont surtout les personnes ayant déjà des enfants qui vont plus souvent faire le test que ceux qui n'en ont pas encore.

385. *Bioéthique*

GARGIULO Marcela, CAPECCHI Tecla, LAHLOU Khadija, EVRARD Isabelle, FEINGOLD Josué, DURR Alexandra
Département de génétique, cytogénétique et embryologie - Paris France

MALADIE DOMINANTE À RÉVÉLATION TARDIVE : L'INFORMATION DU RISQUE DANS LES FAMILLES

Dans la maladie de Huntington comme dans d'autres pathologies à révélation tardive, le test présymptomatique est réservé aux personnes majeures. Le décret du 23 Juin 2000 interdit la réalisation d'un test présymptomatique chez un mineur. Notre étude vise à connaître les attitudes des parents devant un éventuel test présymptomatique chez leurs enfants, et de savoir comment l'information sur le risque est donné aux enfants, à quel âge, et quels sont les réactions de l'enfant lorsqu'il apprend son risque de 50% *a priori*.

Nous avons effectué une enquête auprès des familles à l'aide d'un questionnaire qui a été publié dans les bulletins associatives. Nous avons reçu 148 réponses, dont 88 personnes concernées directement par la maladie (24 personnes atteints, 9 porteurs asymptomatiques, et 55 personnes à risque) et 60 conjoints. Seulement 21% ont été informés du risque par les parents. Par contre, 78% disent avoir informé leurs enfants sur le risque, ce qui signifie un changement intergénérationnel. L'information a été donnée en moyenne à 32 ans, l'âge du début de la maladie en moyenne. Les personnes à risque et leurs conjoints ne sont pas d'accord sur le moment d'information, puisque les conjoints souhaitent informer leurs enfants du risque dès la petite enfance ($p < 0,05$). Pour transmettre l'information, l'aide d'un médecin ou

psychologue est souhaité par 50% des personnes. La nécessité d'un support écrit est souhaité par 80%. Le test avant la majorité n'est ni souhaité par les parents ni par les conjoints des personnes à risque dans 60% des réponses. La connaissance du risque n'entraîne pas de réactions catastrophiques chez les enfants, seulement 25% sont affectés par leur statut à risque.

386. Bioéthique

BARUTEAU Alban-Elouen¹, **BARNAY Emilie¹**, **FAIVRE Laurence²**, **NIVELON Annie²**, **FRANCOIS Irène¹**, **BLETTRY Bernard¹**

¹ Certificat d'Ethique, Déontologie et Responsabilité Médicale CHU Dijon - Dijon France

² Centre de Génétique, Hôpital d'Enfants, Dijon

L'ANNONCE DU RÉSULTAT DU DIAGNOSTIC PRÉNATAL DU SYNDROME DE L'X FRAGILE : PROBLÈME DIFFICILE POUR LE GÉNÉTICIEN

L'annonce du résultat du diagnostic prénatal d'une maladie génétique grave constitue toujours un tournant décisif dans l'évolution d'une grossesse car elle confronte le couple au choix crucial d'interrompre ou de poursuivre la grossesse. Les diverses modalités d'annonce, le rôle du généticien et son vécu dans l'aide au cheminement parental vers la décision ont été étudiés à travers une enquête auprès de généticiens cliniciens. Réalisée au moyen de questionnaires, elle a permis de recevoir les réponses de 29 médecins. Les réponses montrent à la fois de nombreux points de convergence dans la conduite adoptée mais également des discordances dans les attitudes choisies. Les attitudes de consensus principales concernent 1) le souhait d'un conseil génétique préalable permettant de tempérer le traumatisme de l'annonce d'un résultat défavorable, 2) l'annonce du résultat aux deux parents ensemble (100%), 3) la proposition d'un soutien psychologique (93%), 4) le respect des convictions et du choix des parents (86%). En revanche, des différences d'attitudes médicales apparaissent : 1) Seuls 20 % des généticiens pensent ne tenir compte d'aucune conviction personnelle lors de l'annonce, 60 % tiennent compte de leur éthique personnelle, et 30 % de leurs convictions religieuses, morales ou philosophiques. Parallèlement, 80 % pensent que leur discours influence la décision parentale. 2) seuls 62% estiment qu'une proposition d'IMG est légitime pour une fille avec mutation complète, contre 86% s'il s'agit d'un garçon. Ces chiffres posent la question de la neutralité du message délivré, l'engagement personnel du médecin, ainsi que la perception variable de la "particulière gravité".

387. Conseil Génétique et Education

BERNARD Rafaëlle¹, **SIGAUDY Sabine¹**, **Roman Stéphane²**, **Taulier Daniel¹**, **Orgeas Catherine¹**, **Triglia Jean-Michel²**, **Lévy Nicolas¹**

¹ Département de Génétique Médicale, Hôpital d'enfants de la Timone - Marseille

² Service d'ORL pédiatrique, Hôpital d'enfants de la Timone, Marseille

RECHERCHE DE MUTATIONS DANS LES GÈNES CONNEXINE 26 (CX26) ET PENDRINE (PDS) DANS LES SURDITÉS CONGÉNITALES : STRATÉGIE, BILAN ET PERSPECTIVES

Une consultation de conseil génétique concernant les génosurdités a été mise en place en collaboration avec le service d'ORL pédiatrique et le CAMPS auditif de l'hôpital de la Timone. En fonction des données cliniques, paracliniques, de l'histoire familiale, et de la demande des familles ou des patients, est proposée une recherche de mutation dans le gène de la Connexine 26 et/ou de la Pendrine. La stratégie de recherche de mutation dans CX26 est basée sur la recherche initiale de la mutation prédominante (35delG), pour laquelle nous avons mis au point une nouvelle méthode de détection rapide basée sur la PCR fluorescente. Lorsque ce test est négatif le gène de la Connexine 26 est analysé par séquençage direct. Pour le gène de la Pendrine, qui comporte 20 exons, nous réalisons un criblage initial par technique de SSCP avant séquençage des fragments

présentant un profil anormal. Nous avons testé une quarantaine de patients et vérifié l'origine parentale des mutations identifiées dans 10 cas. Nous avons mis en évidence des mutations de CX 26 chez 8 patients et confirmé la prédominance de la 35 delG. Toutefois, nous avons également identifié d'autres variations de séquence plus rarement décrites, dont le caractère pathogène reste discuté pour certaines d'entre elles. Dans ce type de situation, le conseil génétique s'avère difficile et nécessite des explorations familiales cliniques et moléculaires complémentaires. Une dizaine de patients ont bénéficié d'une exploration du gène de la Pendrine, à ce jour une seule mutation a été retrouvée à l'état hétérozygote. Pour expliquer ce faible rendement, nous discuterons les limites d'une telle stratégie reposant sur la technique de SSCP et également les critères d'inclusion des patients dans l'étude. Par ailleurs, la question du diagnostic prénatal, techniquement accessible dans un certain nombre de cas, fait l'objet de demandes renouvelées de la part des familles et justifierait un nouveau débat.

388. Conseil Génétique et Education

CORDIER Marie-Pierre¹, **MICHEL-CALEMARD M²**, **TARDY V²**, **MOREL Y²**, **PLAUCHU H³**

¹ Service de Génétique Médicale Pavillon K hôpital Edouard Herriot - LYON France

² Biochimie endocrinienne INSERMU329, hôpital Debrousse, Lyon

³ Service de génétique, Hôpital Hotel-Dieu, Lyon

MOSAÏQUE GERMINALE CHEZ LE GRAND-PÈRE : UN PIÈGE POUR LE CONSEIL GÉNÉTIQUE DANS LES FAMILLES DE MALADIE RLX.

Dans les familles concernées par une pathologie récessive liée à l'X, les conductrices potentielles sont parfois nombreuses. Le calcul de leur risque prend en compte la généalogie, des examens cliniques et/ou paracliniques, et actuellement souvent une étude familiale en biologie moléculaire.

L'éventualité d'une mosaïque germinale ne doit pas être omise, laissant parfois un risque résiduel de récurrence que l'on ne peut éliminer que par la mise en évidence de la mutation responsable. Il est très difficile de chiffrer la fréquence de telles mosaïques. Sur nos 188 familles de dystrophinopathies, nous comptons 2 mosaïques germinales maternelles avérées.

La famille de DMD que nous rapportons illustre : l'importance d'un arbre généalogique complet; la réalité de la mosaïque germinale, ici présente chez un homme, événement rarement rapporté, mais dont l'éventualité ne doit pas être oublié dans le conseil génétique; l'intérêt de la mise en oeuvre des techniques actuelles de biologie moléculaire pour identifier la mutation, même dans les familles antérieurement étudiées.

389. Conseil Génétique et Education

SAUGIER-VEBER Pascale, **Drouot Nathalie**, **Ferenbach Séverine**, **Frebourg Thierry**

Laboratoire de Génétique Moléculaire, Service de Génétique, CHU de Rouen, 22, Boulevard Gambetta - Rouen

DÉTECTION DES DÉLÉTIONS HÉTÉROZYGOTES DU GÈNE SMN1 DANS LES FAMILLES ATTEINTES D'AMYOTROPHIE SPINALE INFANTILE PAR PCR MULTIPLEX FLUORESCENTE : BILAN DE L'ACTIVITÉ ET DES INDICATIONS

Les amyotrophies spinales infantiles (SMA) résultent, dans la plupart des cas, de délétions homozygotes du gène SMN1 (Survival Motor Neuron). La duplication du locus SMN complique la détection des hétérozygotes, ce qui a limité le conseil génétique. Nous avons donc adapté la PCR multiplex de courts fragments fluorescents à la détection des délétions hétérozygotes de SMN1. Les allèles morbides non détectés résultent de mutations ponctuelles et de duplications en cis masquant une délétion sur l'autre allèle. En tenant compte également des délétions *de novo*, le pourcentage des allèles morbides non détectables peut être estimé au maximum à 10%. L'impossibilité de repérer la totalité des allèles morbides conduit à imposer 1) de vérifier que le cas index présente une délétion homozygote de SMN1; 2) d'explorer simultanément les deux

conjoints. Cette méthode a permis d'optimiser le conseil génétique et de limiter les indications du diagnostic prénatal dans 137 familles correspondant à 400 sujets. Les couples avaient, le plus souvent, un risque a priori de 1/320 ou 1/240, les apparentés correspondant essentiellement aux oncles/tantes, frères/sœurs de sujets atteints. Dans la moitié des cas, l'analyse a été réalisée en cours de grossesse. D'autre part, cette méthode a permis de confirmer indirectement le diagnostic de SMA chez 27 cas index décédés par la caractérisation d'une délétion hétérozygote de SMN1 chez chacun des parents. Enfin, nous avons analysé 3 patients SMA, sans délétion homozygote de SMN1, pour identifier les porteurs d'une délétion hétérozygote chez qui une mutation ponctuelle sur le second allèle doit être recherchée.

390. Conseil Génétique et Education

RESEAU FRANCAIS MUCOVISCIDOSE des laboratoires de Génétique Moléculaire
Service de Biochimie-Génétique hôpital Henri Mondor - Créteil France

LE RÉSEAU FRANÇAIS MUCOVISCIDOSE DES LABORATOIRES DE GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE : ÉTAT DES LIEUX ET COMPTE-RENDU D'UN ATELIER DE CONSENSUS SUR LES PRATIQUES DES TESTS MOLÉCULAIRES

Trente cinq laboratoires pratiquent en France le diagnostic moléculaire de la mucoviscidose. Environ 8300 examens postnatals et 240 diagnostics prénatals à risque de 1/4 sont réalisés par an. Près de 50% des prescriptions concernent le dépistage d'hétérozygote chez des apparentés à des individus atteints et leur conjoint ; 18% les formes monosymptomatiques de l'adulte ; 17% les formes typiques et atypiques de l'enfant ; 12% les suspicions de mucoviscidose chez le fœtus. La plupart des laboratoires recherchent dans un premier temps les mutations les plus fréquentes, et, si nécessaire, effectuent eux-mêmes ou demandent à un autre laboratoire d'effectuer une recherche de mutations plus rares. Le réseau français, reconnu par la Ministère en charge de la Santé, reconnaît trois types de laboratoires, selon le niveau d'analyse du gène et selon leur implication dans le réseau et dans la recherche sur la mucoviscidose. Le réseau est connecté au réseau européen CFnetwork (J.J. Cassiman, Leuven), à travers le contrôle de qualité externe organisé chaque année, auquel tous les laboratoires français participent, et à travers une lettre d'information bisannuelle sur les actions du réseau européen. Deux ateliers réunissant les laboratoires du réseau se sont tenus à Créteil en Avril 1997 et à Lyon en Mai 1998. Un troisième doit se tenir à Créteil en décembre 2001 et a pour principal objectif de discuter, avec les cliniciens, les recommandations sur les bonnes pratiques de prescription et de réalisation des tests de génétique moléculaire, notamment à partir des recommandations européennes déjà publiées. Le compte-rendu de cet atelier sera exposé.

391. Cartographie

FLORI L., Kumulungui B., Aucan C., Sawadogo S., Esnault C., Traoré A.S., Fumoux F., Rihet P.

PALUDISME A *PLASMODIUM FALCIPARUM*: CONFIRMATION DE LA LIAISON ENTRE LA CHARGE PARASITAIRE SANGUINE ET LA REGION Q31-Q33 DU CHROMOSOME 5

Les stades sanguins asexués de *Plasmodium falciparum* sont responsables de l'essentiel de la pathologie chez les personnes infectées et les gènes responsables du contrôle de la charge parasitaire sanguine ne sont pas encore identifiés.

Le contrôle génétique de l'infection palustre à *Plasmodium falciparum* a été étudié dans deux populations urbaine et rurale vivant en zone endémique au Burkina Faso. Une analyse de ségrégation indique que la charge parasitaire sanguine est sous le contrôle de plusieurs gènes [1]. L'un des loci a été localisé dans la région q31-q33 du chromosome 5 dans la population urbaine et l'héritabilité de ce locus est estimée à 0.45 [2]. Cette région contient de nombreux gènes codant pour des molécules jouant

un rôle dans la réponse immunitaire, tels que l'IL-4, l'IL-13, l'IL-3, l'IL-5, l'IL-9, l'IL-12B, le GM-CSF ou l'IRF1.

Nous avons cherché à savoir si cette région était également impliquée dans le contrôle de la charge parasitaire sanguine dans la population rurale. Dans cette zone, l'intensité de transmission est 8 fois plus importante que dans la zone urbaine et la charge parasitaire sanguine est également plus élevée.

Nous avons étudié 19 marqueurs microsatellites couvrant une région de 27 cM chez 324 individus répartis en 44 familles. Nous avons reconstitué une carte physique de la région en nous basant sur les informations des banques de données (Human Draft Genome). Cette carte a été utilisée dans les analyses de liaison génétique et les analyses d'association allélique en présence de liaison génétique entre les 19 marqueurs et la charge parasitaire sanguine ajustée sur l'âge. L'analyse multipoint VC (Variance Components) a mis en évidence un pic de liaison ($p = 0.008$). Une association en présence de liaison génétique avec un marqueur situé à proximité du pic de liaison a été détectée avec la méthode QTDT ($p = 0.0003$). L'héritabilité de ce locus est égale à 0.5, ce qui signifie que ses variations sont responsables de 50% de la variance totale de la charge parasitaire sanguine.

Ces résultats confirment la liaison génétique entre la charge parasitaire sanguine et la région q31-q33 du chromosome 5 dans une population vivant en zone d'endémie. De plus, l'héritabilité du locus est similaire dans les deux zones rurale et urbaine. La densification des marqueurs dans cette région et l'utilisation de méthodes d'analyse d'association allélique en présence de liaison génétique permettront de localiser plus finement ces gènes.

[1] Rihet P., Abel L., Traoré-Leroux T., Aucan C. and Fumoux F., Human Malaria : Segregation analysis of blood infection levels in asuburban area and a rural area in Burkina Faso. Genetic Epidemiology, 1998. 15: 435-450.

[2] Rihet P., Traoré Y., Abel L., Aucan C., Traoré-Leroux T. and Fumoux F., Malaria in humans : *Plasmodium falciparum* blood infection levels are linked to chromosome 5q31-33, 1998. 63: 498-505.

392. Diagnostic Prénatal

Freund Maria Margarida¹, Ch. Verellen-Dumoulin²

¹ Centre de Génétique Médicale, 52 Av E. Mounier, UCL – 5220, 1200 Bruxelles, Belgique

² Affiliation Centre de Génétique Médicale, UCL – 1200 Bruxelles - Belgique

LE DEVENIR DES ANOMALIES NUMERIQUES DES CHROMOSOMES SEXUELS DIAGNOSTIQUÉES EN PRÉNATAL

Les dysgonosomies diagnostiquées en prénatal posent régulièrement des problèmes d'information adéquate des patients et soulève souvent des questions éthiques. L'expérience du Centre de Génétique quant au devenir des grossesses des fœtus porteurs d'une dysgonosomie couvre 1000 choriocentèses et 15.000 amniocentèses.

Sur les 1000 choriocentèses, toutes indications confondues (caryotype et biologie moléculaire), 24 présentent une anomalie numérique des gonosomes : 45,X (20 fois), présentant à l'échographie un hygroma et/ou un hydrops. Une seule patiente a opté pour la poursuite de la grossesse, donnant naissance à un enfant avec un important œdème des extrémités et une coarctation de l'aorte. Le caryotype avait été 45,X en culture directe et 46,XX en culture à long terme.

4 concernent les caryotypes suivants : XX/XXX (1 fois), XYY (1 fois) et XXY (2 fois). Les 4 grossesses ont été poursuivies. Pour un des fœtus XXY, un hygroma diagnostiqué 2 semaines avant le prélèvement avait régressé. L'enfant est né avec une Tétralogie de Fallot sévère.

Sur les 15.000 amniocentèses, toutes indications confondues, 55(0,38%) présentent une anomalie numérique au niveau des gonosomes : 45,X (13 fois), 47,XYY (10 fois), 47,XYY (9 fois), 47,XXX (8 fois) ainsi que 15 mosaïques.

On observe 14 (25%) interruptions dont 45,X (11 fois), 45,X/46,XX (1 fois), 47,XYY (1 fois), 47,XXY (1 fois).

Les grossesses pour lesquelles l'indication de l'amniocentèse n'était pas primordialement chromosomique ont toutes été poursuivies CMV (47,XY), triple test 1/50 chez une mère de 40 ans (47,XXX), drépanocytose (47,XXX), isoimmunisation (45,X/46,XY), (45,X/46,XX), (45,X/46,XXY).

La transmission des résultats s'effectue habituellement par un contact direct avec l'obstétricien et une consultation pour le couple dans les 24-48 heures.

En conclusion : l'indication, l'échographie, le résultat chromosomique et la consultation avec le généticien jouent un rôle essentiel dans le choix du maintien ou non de la grossesse. Si une malformation est suspectée à l'échographie et qu'il y a découverte d'une anomalie des chromosomes sexuels, la tendance est à l'interruption.

Si l'échographie est normale et si l'anomalie chromosomique est autre que la si redoutée trisomie 21, la tendance est de garder la grossesse.

Si l'échographie est normale et si le résultat est rassurant pour un motif non chromosomique (infectieux, isoimmunisation, ...), les couples ont également tendance à garder la grossesse.

393. Diagnostic Génétique

Chevalier-Porst F. Souche G., Dorche C., Bozon D.

Laboratoire de Biochimie Pédiatrique, Hôpital Debrousse Lyon France

IDENTIFICATION ET CARACTERISATION DE 4 GRANDES DELETIONS DU GENE CFTR

Nous rapportons l'identification complète de 4 grandes délétions du gène CFTR, dont la présence a été soupçonnée à la suite de l'observation de ségrégations anormales dans 3 familles et à la suite d'une étude systématique en Southern-Blot de malades à génotypes incomplets pour la 4ème. La méthodologie choisie pour permettre la caractérisation précise de ces délétions a combiné l'utilisation de polymorphismes intra géniques identifiés après séquençage pour étudier la ségrégation familiale et la méthode de Southern-blot avec des sondes ADNc chez les patients. Ces 2 approches nous ont permis d'identifier les bornes de ces 4 grandes délétions.

Elles portent toutes sur plusieurs exons : 2-10, 4-10, 16-17b, 22-24. Leurs tailles vont de 9,5 Kb à 95,7 kb. Trois ont été trouvées chez des hétérozygotes composites pour la mutation $\Delta F 508$ qui présentent tous des formes d'évolution sévère. La quatrième (del 16-17b) est trouvée chez un hétérozygote composite pour la mutation 3849+10 kb C>T, qui présente une évolution plus modérée avec une fonction pulmonaire assez conservée. Les origines ethniques de ces malades sont variées : France sud, Italie, Arménie.

Seulement une dizaine de grandes délétions ont été rapportées au Consortium. L'identification de nos 4 cas démontre que la fréquence de ce type d'anomalie génique est certainement sous estimée, car plus difficile à rechercher dans les maladies autosomiques. Pour les cas où les deux mutations n'ont pas été identifiées, l'étude de la ségrégation de polymorphismes intragéniques peut orienter vers la recherche de remaniements géniques importants.

394. Bioéthique

PIQUION Nicole

Unité de Cytogénétique CHU de Fort de France

L'INFORMATION ET LE CONSENTEMENT AUX SOINS DU PATIENT ASPECTS ETHIQUES ET JURIDIQUES - PRATIQUE EN CYTOGÉNÉTIQUE PRENATALE

Les modifications récentes de la jurisprudence initiées par l'arrêt du 25 février 1997 de la Cour de Cassation de Rennes, inversant la charge de la preuve de l'information du malade, ont généré de grandes perturbations au sein de la communauté médicale, bien que rejoignant des préoccupations éthiques et déontologiques premières.

Ces évolutions s'inscrivent dans un contexte où se réaffirme avec force le "droit des patients". Il se traduit par de nouvelles exigences réglementaires (Charte du patient hospitalisé - décret du 06 mai 1995 - Ordonnances JUPPE 1996,

avec la mise en place des démarches qualité dans le cadre de l'accréditation, de l'évaluation et de la satisfaction du patient).

Ce contexte socio - politique répond à l'évolution du statut du patient désormais client - consommateur, plus actif, plus responsable, et plus conscient de ses droits, aspirant à bénéficier des avancées de la science au moindre risque.

Cette évolution se traduit aussi par une judiciarisation de la médecine et une augmentation du nombre de plaintes, bien que n'atteignant pas les taux observés Outre - Atlantique. Cette attitude trouve sa source dans la survenue itérative des scandales récents de la Santé publique.

Après un bref historique, nous décrivons les modifications récentes dans ce domaine ainsi que leurs sources, juridiques, jurisprudentielles et déontologiques.

Nous proposerons à partir de notre pratique des examens de diagnostic anténatal cytogénétique, une réflexion sur les possibilités de concilier les exigences réglementaires en associant le patient, partenaire de plein droit de sa propre santé.

395. Diagnostic Génétique

Ray PF, Frydman N, Attié T., Bonnefont JP, Hamamah S, Kerbra V, Vekemans M, Romana S, Frydman R et Munnich A.

Génétique Médicale Hôpital Necker et Médecine de la reproduction Hôpital A. Bécclère, Paris

BILAN D'ACTIVITE DU DIAGNOSTIC PRE-IMPLANTATOIRE MOLÉCULAIRE A PARIS.

Le diagnostic pré-implantatoire (DPI) consiste en l'analyse génétique de une ou deux cellules prélevées sur des embryons au stades de 6-10 cellules obtenus par fécondation *in vitro*. Les embryons sains ou hétérozygotes sains sont réimplantés généralement au matin du quatrième jour après fécondation. Ce type de diagnostic s'adresse à certains couples à risque de transmettre une maladie génétique grave désireux d'éviter l'interruption d'un fœtus atteint après un diagnostic prénatal sur chorion ou amniocentèse. Bien que marginal, ce diagnostic précoce répond à une demande réelle de certains couples au passé douloureux ou aux patients combinant une infertilité nécessitant une prise en charge par la FIV et un risque génétique caractérisé.

La législation Française n'autorise la pratique du DPI que depuis 1999 et notre centre Parisien composé de l'association de quatre services appartenant aux hôpitaux Antoine Bécclère et Necker Enfants Malades a commencé son activité clinique en Janvier 2000. Nous avons pratiqué depuis 40 cycles de DPI pour des pathologies géniques comprenant la mucoviscidose, la myopathie de Duchenne, de la myotonie de Steinert, l'amyotrophie spinale et le déficit en OTC. Pour les maladies récessives liées à l'X pour lesquelles un diagnostic spécifique n'est pas possible le sexage des embryons est réalisé par FISH.

Plus de 200 embryons ont été analysés avec un taux de réussite diagnostique de 80%. Les 20% d'embryons pour lesquels un diagnostic n'avait pu être obtenu faisait généralement parti des embryons de pauvre morphologie et en cours de dégénérescence.

Au total cinq enfants sont nés et sont en bonne santé et deux grossesses sont en cours. La mise en place de cette nouvelle activité s'est faite rapidement et les conditions de travail s'améliorent quotidiennement. Le développement de chaque test moléculaire sur cellule unique demande un travail préliminaire important de mise au point et de validation. Nous espérons cependant continuer à améliorer nos résultats et notre service rendu aux patients afin de pouvoir répondre le plus rapidement possible à toutes les demandes légitimes de diagnostic pré-implantatoire moléculaire.

396. *Cytogénétique oncologique*

Taine, L. (1) Doco-Fenzy M. M. (2), Deminière C. (3) Notz-Carrere A. (4) Loustalot

A.M. (1), Blouin P. (3) Perel Y. (3) Belaud-Rotureau M.A. (5), Delrue M.A. (1), Lacombe D. (1), Vergnes P. (6), Boccon-Gibod L. (è), Saura R. (1)

1 Service de Génétique Médicale, C.H.U. Pellegrin bordeaux
2 Service de Génétique, Hôpital Maison Blanche, Reims
3 Service d'Anatomie-Pathologie, CHU, Pellegrin Bordeaux
4 Département de Pédiatrie, C.H.U Pellegrin . Bordeaux
5 EA 2406 Histologie et Pathologie Moléculaire, Université Victor Segalen, Bordeaux
6 Service de chirurgie Pédiatrique, C.H.U Pellegrin. Bordeaux
7 Service d'Anatomie-Pathologie, Hôpital d'enfants Armand –Trousseau, Paris.

TUMEUR STROMALE METANEPHRIQUE : ETUDE COMBINÉE EN CYTOGÉNÉTIQUE CONVENTIONNELLE, FISH ET MULTI-FISH

La tumeur stromale métanéphrique (TSM) est une entité anatomo-pathologique rare, la description récente, en 2000, par Argani *et al.* (1)

Tumeur rénale considérée comme bénigne de l'enfant son diagnostic différentiel, notamment avec celui de sarcome à cellules claires du rein est parfois difficile. La reconnaissance de cette entité est importante afin d'éviter une chimiothérapie ou une radiothérapie complémentaires.

Nous avons réalisé l'étude cytogénétique conventionnelle et moléculaire de la pièce d'exérèse d'une volumineuse tumeur rénale droite chez un enfant de 3 ans, tumeur dont le mode de présentation fut la découverte d'une abdominale associée à une hypertension et une hypercalcémie.

L'examen anatomo-pathologique initial suspectait un sarcome à cellules claires du rein mais une relecture permettait de porter de diagnostic de TSM.

Sur plusieurs centaines de mitoses examinées après trypsination, le caryotype tumoral présente, à l'état homogène, un remaniement complexe du 17q avec trisomie et tétrasomie partielle, associé en mosaïque à un remaniement 9q variable avec le plus fréquemment soit une association télomérique aléatoire sans délétion 9q de taille variable.

Il s'agit, à notre connaissance, d'une première observation cytogénétique de TSM qui permet d'accréditer l'hypothèse de marqueurs avec perte de 9q ou gain de 17q dans les TSM.

Argani P, Beckwith JB, (2000) – Metanephric stromal tumor. *Am. J. Surg Pathol* 24 : 917-926

397. *Diagnostic Génétique*

REBOUL MP¹, BIETH E², FAYON M³, BREMONT F⁴, LACOMBE D¹, IRON A¹

¹Génétique Médicale, CHU de Bordeaux ;

²Génétique Médicale, CHU de Toulouse ;

³Pédiatrie, CHU de Bordeaux ;

⁴Pédiatrie, CHU de Toulouse.

CONTRIBUTION A LA CONNAISSANCE DE LA SEVERITE DE LA MUTATION 1811+1,6KBA>G DU GENE CFTR A L'AIDE DE 12 PATIENTS MUCOVISCIDOSIQUES (2 HOMOZYGOTES ET 10 HETEROZYGOTES COMPOSITES)

La mutation 1811+1,6kbA>G, localisée dans l'intron 11 du gène *CFTR*, crée un nouveau site d'épissage qui entraîne l'apparition d'un exon surnuméraire. Contrairement aux mutations de classe I (absence de production de protéine *CFTR* normale) dans laquelle elle a été initialement rangée, elle « autorise » une synthèse réduite (2% environ) de protéine normale comme une mutation de classe V où ne figurent jusqu'ici que des mutations associées à des phénotypes modérés. La mutation 1811+1,6kbA>G a été initialement décrite en Espagne (fréquence autour de 2%) toujours chez des patients hétérozygotes composites avec phénotype sévère.

Pratiquement absente chez les patients mucoviscidosiques des autres grandes régions françaises, la mutation 1811+1,6kbA>G n'est pas rare dans l'échantillon des patients génotypés dans le Sud-Ouest de la France. Sa fréquence (entre 3 et 4 % des allèles CF) la place en 4^{ème} position après deltaF508, G542X et N1303K. Rapportée à l'effectif des chromosomes CF dont l'origine géographique Sud-Ouest est attestée, elle dépasse largement les 5%.

Nous avons pu réunir les tableaux cliniques de 12 mucoviscidosiques étudiés dans la région Sud-Ouest porteurs de la mutation 1811+1,6kbA>G, 10 hétérozygotes composites et surtout 2 homozygotes pour la mutation.

Les données (âge du diagnostic, taille et poids, test sudoral, insuffisance pancréatique, colonisation par *Pseudomonas aeruginosa*, autres signes cliniques) montrent que les patients porteurs de la mutation 1811+1,6kbA>G ont une forme sévère de la maladie comparable aux homozygotes deltaF508. Il s'agit donc bien d'une mutation de classe V responsable d'une mucoviscidose typique avec insuffisance pancréatique.

398. *Cytogénétique*

GINGLINGER E¹, GREGOIRE M.J.², DANET V., JONVEAUX P.¹, VIGNERON J.³

1 Hôpital du Munchberg laboratoire de cytogénétique 20, rue du Dr Laennec BP 1370 - Mulhouse France

2 Laboratoire de génétique médicale-EA 3441, CHU Nancy-Brabois, avenue du Morvan - Vandoeuvre France

3 Service de Néonatalogie, Maternité Régionale de Nancy

TRISOMIE 22Q TERMINALE : A PROPOS D'UNE OBSERVATION

La Trisomie 22q ter est une anomalie chromosomique rare et difficile à identifier, tant sur le plan clinique que cytogénétique ; de ce fait, elle est sûrement sous-diagnostiquée.

Nous présentons une observation de Trisomie 22qter survenue *de novo*, qui correspond aux descriptions phénotypiques antérieures.

Durant la grossesse, une amniocentèse est réalisée pour signes d'appel biologiques (marqueurs sériques élevés). Le caryotype foetal s'avère 46,XY. Secondairement, la découverte d'anomalies échographiques comportant un retard de croissance intra-utérin, une fente labio-palatine, un hypospadias, une artère ombilicale unique, amène à évoquer une Monosomie 4p, qui n'a pu être recherchée en période anténatale.

A la naissance, l'aspect dysmorphique semble en faveur de cette hypothèse : front fuyant, aspect en casque de guerrier grec, oreilles dysplasiques, hémangiomes des paupières, pouces d'implantation proximale. Il s'y associe des troubles neurologiques. L'analyse cytogénétique spécifique infirme le diagnostic de Monosomie 4p ; par contre, une Trisomie 22qter est identifiée.

A la lumière de notre observation, et de l'analyse de la littérature, nous essayons de définir un faisceau d'arguments pouvant orienter les investigations cytogénétiques. Il nous paraît important d'insister sur la confusion initiale qui peut être faite avec la Monosomie 4p comme le souligne Wieczorek dans un article récent.

Ainsi, l'association d'un RCIU, d'une FLP et d'un hypospadias, doit conduire, si une Monosomie 4p a été exclue, à évoquer une Trisomie 22qter, et à la rechercher par des techniques adaptées.

399. Diagnostic Génétique

REBOUL MP¹, **AMOURETTI M**², **LACOMBE D**¹, **IRON A**¹

¹Génétique Médicale, CHU de Bordeaux ; ²Hépatogastroentérologie, CHU de Bordeaux.

UN CAS DE PANCREATITE CHRONIQUE IDIOPATHIQUE ISOLEE CHEZ UN HETEROZYGOTE COMPOSITE (G542X/S1235R) POUR LE GENE CFTR.

Des facteurs génétiques de prédisposition semblent impliqués dans la pancréatite chronique idiopathique (PCI). On y note une prévalence significativement élevée des mutations du gène *CFTR*. Les relations génotype *CFTR*-phénotype PCI sont difficiles à établir: interférences avec la pancréatite alcoolique, limites dans l'exclusion des mutations,...

Nous rapportons ici le cas d'un patient PCI, non porteur de mutation du gène du trypsinogène cationique, *TRY4*, mais hétérozygote composite pour les mutations G542X et S1235R du gène *CFTR*. Le patient a un test sudoral normal. L'histoire et le tableau clinique de la maladie chez notre patient évoquent sans ambiguïté une PCI isolée sans autre signe accompagnant habituellement une anomalie du gène *CFTR* (bronchectasie, polypose nasale, agénésie des canaux déférents,...). G542X est une mutation fréquente, sévère, rencontrée – en association avec une autre mutation sévère – dans des formes typiques de mucoviscidose. S1235R est une variation rare, rapportée récemment comme ayant très probablement un effet délétère modéré.

A ce jour, il a été publié 7 cas de patients PCI non alcooliques porteurs de 2 mutations du gène *CFTR*. Mais seuls 3 d'entre eux ont une atteinte limitée au pancréas et sont hétérozygotes composites avec une mutation rare à effet délétère modéré et peuvent donc être rapprochés de notre patient chez lequel la mutation S1235R (en position trans par rapport à G542X) est très vraisemblablement responsable du phénotype de pancréatite chronique idiopathique. Ainsi, notre cas peut contribuer à une meilleure connaissance de la spécificité de certaines anomalies du gène *CFTR* dans le phénotype de PCI.

Index des Mots-Clefs (par communication)

- 11q14.3 : 224
 15q12-15 : 364
 16p12-q12 : 268
 1p36: 67
 21-hydroxylase: 291
 Adams-Oliver: 61
 Adénine phosphoribosyltransférase (APRT) : 260
 ADN fœtal : 7 ; 191
 ADN mitochondrial : 312 ; 323 ; 324 ; 284 ; 353
 ADN satellite : 35
 Agénésie du corps calleux : 31
 Akinésie fœtale : 206
 Alpha-antitrypsine : 257
 alpha-galactosidase A: 248
 ALS2: 239
 Alzheimer : 259
 Ambiguïtés sexuelles : 287
 Amyotrophie spinale : 241 ; 389
 Amyotrophie spinale distale : 365
 Anasarque : 30
 Andersen syndrome : 267
 Anémie : 159
 Aneuploidie : 38
 Aneuploïdies ovocytaires : 40
 Angiomes caverneux : 228
 Ankyloblepharon : 270
 Anneau chromosome 8 : 168
 Annonce du résultat : 343
 Anomalie abdominale : 83 ; 251
 Anomalie chromosomique : 135 ; 154
 Anomalie chromosomique déséquilibrée : 153
 Anomalie chromosomique héritée : 168
 Anomalie constitutionnelle : 174
 Anomalie du développement de la ligne médiane : 189
 Anomalie radiale : 78
 Anomalies cryptiques : 126
 Anomalies de fermeture du tube neural : 286
 Anomalies subtélomériques : 167
 APC : 314 ; 315 ; 346
 ARN de transfert : 312
 Arthrogrypose : 205
 Asplénie isolée : 65
 Association CHARGE : 120
 Asymétrie corporelle : 152
 Ataxie de Friedreich: 382
 Ataxies cérébelleuses : 276 ; 281
 ATP7B mutations : 265
 Atrésie des choanes : 78
 Atrophie optique : 227
 Atteinte oculaire : 84
 Autisme : 131 ; 223
 Auto-immunité thyroïdienne : 22
 Autosomique récessive : 83 ; 251
 Avance staturale : 37
 BCS1: 369
 Biopsie cutanée: 54
 BPES: 220
 Brachydactylie type C: 59
 Brain/nervous system: 8
 Bras court de chromosome 12: 148
 BRCA1: 327; 330; 335; 344
 Camurati-Engelmann : 234
 Cancer : 5 ; 181 ; 329 ; 336 ; 344
 Cancer colo-rectal : 328
 Cancer de l'ovaire : 347
 Cancer du sein : 347 ; 348
 Cancer du sein précoce : 330
 Cancer du sein/ovaire : 341
 CARD 15 : 15
 Cardiomyopathie : 49 ; 60 ; 360
 Cardiomyopathie hypertrophique familiale : 289 ; 290
 Cardiopathie : 214
 Carnitine palmitoyltransférase : 105
 Carte phénotypique : 124
 Cartilage : 374
 Cartographie par homozygotie ; 216
 Caryotype: 42; 174; 177; 181
 CATCH 22: 143
 Cavernomes: 100; 228
 CBAVD : 280 ; 304
 CDG syndrome : 106
 CDK4 : 338
 CDKN2A: 337; 338
 CDMP1: 59
 Cellules épithéliales : 142
 Cellules fœtales : 186
 Centromere : 41 ; 140
 Céroïde-lipofuscinoses : 231
 CFTR : 244 ; 247 ; 280 ; 304 ; 377 ; 379
 CGH: 120; 138; 166: 332
 Charcot-Marie-Tooth: 39; 354; 370
 Chien : 253
 Cholestase Intra-hépatique Gravidiq : 299
 Cholesterol: 16
 Chondrodysplasie: 63
 CHROMOSOME 11q: 145
 Chromosome 14: 98; 132
 Chromosome 18: 141
 Chromosome 2: 17
 Chromosome 20 : 169
 Chromosome 20 en anneau : 62 ; 128
 Chromosome 22: 157
 Chromosome 6: 163
 Chromosome X: 135
 Chromosomes acrocentriques : 35
 Clonage positionnel : 372
 CMTAR : 370
 Connexin 26 : 2 ; 311 ; 387
 Connexine 32 : 21
 Conseil génétique : 49 ; 85 ; 188 ; 275
 Conversion génique : 256
 Convulsions fébriles : 269
 Corps calleux : 77
 Corrélation génotype-phénotype : 266
 Craniosténose : 52 ; 230 ; 262
 Craniosténose complexe : 73
 CREBBP gene : 230
 Creutzfeldt-Jakob : 356
 Critères diagnostiques : 316
 Croissance : 18
 Cutis laxa : 76
 Cutis marmorata : 80
 Cycle cellulaire : 334
 Cystinose : 221; 252
 Cytogénétique moléculaire : 166
 Cytopathies mitochondriales : 4 ; 104 ; 369
 DAX1 : 113
 Déficience mentale liée au sexe (XLMR) : 222
 Déficit de b-oxydation : 107
 Déficit en APRT : 260
 Délétion : 67 ; 133
 Délétion 15q distale : 151
 Délétion 20p11-p12 : 199
 Deletion 22q11.2 : 129 ; 147
 Délétion 2q37 : 36 ; 101
 Délétion 9q34-qter : 125
 Delet ion chromosomique : 141
 Délétion télomérique : 123
 Délétions chromosomiques : 219
 Délétions du chromosome 14 : 98
 Deletions/Duplications d'exons : 348
 Démyélinisant : 354
 Dépistage : 209
 Dépistage néonatal : 291
 Dépistage prénatal : 48
 Dermatofibrosarcoma protuberans : 342
 DHPLC : 313 ; 353
 Diagnostic indirect : 319
 Diagnostic moléculaire : 293
 Diagnostic préconceptionnel : 40
 Diagnostic préimplantatoire : 274 ; 320 ; 322
 Diagnostic prénatal : 34 ; 38 ; 43 ; 46 ; 87 ; 155 ; 190 ; 193 ; 194 ; 196 ; 197 ; 199 ; 309
 Diagnostic prénatal précoce : 210
 Diagnostic présymptomatique : 317 ; 384
 Dilatation des bronches : 247
 Discordance foeto-placentaire : 185
 Disomie uniparentale : 257
 Duplication 15q11q13 : 146
 Duplication Xp22.3 : 171
 Duplication Xq28 : 115
 Dyserythroïèse : 159
 Dysgonosomies : 46
 Dysmorphie faciale: 76 ; 95
 Dysostose acrofaciale : 64
 Dysplasie à os grêles : 72
 Dysplasie acromésomelique : 210
 Dysplasie campomélique : 28
 Dysplasie ectodermique : 270
 Dysplasie fronto-métaphysaire : 79
 Dysplasie polyépiphysaire : 71
 Dystonie : 258
 Dystrophie musculaire : 69 ; 308
 Dystrophie musculaire congénitale : 363
 Dystrophie musculaire de Duchenne/Becker : 302 ; 388 ; 226
 Dystrophine: 226; 283
 Dystrophie musculaire d'Emery-Dreifuss : 225 ; 308
 DYT1: 258
 Ectrodactylie: 92
 ED1: 293
 Embryo-foetopathie due au Valproate : 11
 Empreinte génomique : 238
 Envérine : 378
 Epilepsie : 253
 Epilepsie pharmacorésistante : 128
 Erreur innée du métabolisme : 94
 Ethique : 43; 386
 Etude de liaison : 371
 Evaluation : 204
 Evaluation économique : 327
 Exostoses : 374
 Expansion : 249

- Extension d'amorce : 313
 Exstrophie cloacale : 125
 Facteurs de transcription : 109 ; 350
 Familial Mediterranean fever : 355
 FCS : 30
 Fente palatine : 68 ; 129
 Fer : 362
 FGFR2 : 73 ; 262
 FGFR3 : 243 ; 273
 FGS2 : 236
 Fibroblastes : 134
 Fibrose pleurale : 75
 Finlay-Marks : 93
 FISH : 142 ; 118 ; 175
 Fœtopathie virale : 296
 Foetopathologie : 27 ; 102 ; 296
 Forme sévère : 114
 Formes familiales : 100 ; 329
 Formes pédiatriques : 12
 Fucosyltransférases : 158
 Galactosemia : 310
 Gangliosidose : 203
 GEFS+ : 269
 Gène CTNS : 252
 Gène de la CPT1A : 105
 Gene dosage : 310
 Gène HFE : 245
 Gène MDR3 : 299
 Gène MECP2 : 222 ; 263 ; 275
 Gène UBE3A : 297
 Gènes candidats : 111
 Gènes suppresseurs de tumeur : 103 ; 213
 Génétique : 289
 Génétique clinique : 127
 Génétique médicale : 85
 Génétique moléculaire : 18
 Génopathie vasculaire : 242
 GJB2 : 23
 GJB6 : 23
 Gliomes : 24 ; 339
 Haplotype : 373
 Haplotypes complexes : 244
 Hémiplégié infantile : 13
 Hémochromatose : 245 ; 279 ; 380 ; 305
 Hémoglobine à affinité diminuée : 300
 Hémoglobinopathies : 300
 Hétérochromatine : 140
 Hétérogénéité clinique : 188
 Hétérotaxie : 65
 HFE1 : 380
 Histoire familiale : 345
 HMSN-LOM : 237
 HNPCC : 331
 Holoprosencéphalie : 14 ; 86 ; 189
 Homme : 158
 Human syntaxin gene : 381
 HVACC : 358
 Hybridation in Situ : 112 ; 153
 Hydramnios : 195
 Hydranencéphalie : 206
 Hygroma kystique : 47
 Hypercholestérolémie familiale : 229 ; 246 ; 367 ; 372
 Hyperostose corticale : 213
 Hyperplasie congénitale des surrénales : 287
 Hypochondroplasie : 243
 Hypophosphatasie : 232
 Hypoplasie cérébelleuse : 89
 Hypoplasie du cœur gauche : 145
 Hypotonie néonatale : 70
 ICCA syndrome : 268
 Idiopathiques : 359
 Impact du diagnostic prénatal : 187
 Impact psycho-social : 343
 Inactivation des X : 115 ; 255
 Incontinentia Pigmenti : 10
 Infertilité masculine : 294
 Instabilité chromosomique : 5 ; 336
 Instabilité micro-satellitaire : 328
 Insuffisance Ovarienne Prématuration : 117
 Interruption Médicale de Grossesse : 27
 Intestin : 362
 Inversion : 130
 Inversion chromosome X : 136
 Isolated patients : 218
 Jumeaux monozygotes discordants : 184
 Lames A/C : 225
 LDLR : 246
 Leucémie myéloïde chronique : 175
 Leucoaraïose : 13
 Leucodystrophie : 240
 Leucodystrophie sans cause : 224
 Leucoencéphalopathie : 26
 LGMD : 285
 Liaison génétique : 366
 Lipoblastome : 182
 Lipome : 179
 Liposarcome : 41
 Lissencéphalie : 77
 Localisation : 4
 Localisation génétique : 365
 Locus INK4a : 334
 Loss of heterozygosity : 25
 Lymphome du manteau : 177
 Lymphomes B diffus a grandes cellules : 180
 Lysosome : 1
 Macrocéphalie : 80
 Maladie à prions : 250
 Maladie auto-immune : 361
 Maladie de Caffey : 213
 Maladie de Fabry : 1 ; 248 ; 321
 Maladie de Gaucher : 94 ; 209
 Maladie de Hirschsprung : 17 ; 358
 Maladie de Huntington : 44 ; 249 ; 385
 Maladie de Menkes : 261 ; 319
 Maladie de Rendu-Osler : 242 ; 278
 Maladie de Wilson : 265
 Maladie multifactorielle : 361
 Maladie osseuse condensante : 234
 Maladies à prions : 250
 Malformation corticale : 366
 Malformations congénitales : 187
 Mapping : 367
 Marqueur : 161
 Marqueur chromosomique : 198
 Marqueurs microsatellites : 32
 MAV : 178
 McKusick Kaufman : 74
 MEFV : 355
 Méiose : 375
 Méiose masculine : 172
 Melanome : 326
 Méningiome : 183
 Mérosine : 363
 M-FISH : 138
 MICRODELETION : 294
 Microdélétion 22 : 143
 Microphthalmie : 364
 Microsatellites : 322
 Mitochondrial NeuroGastroIntestinal Encephalomyopathy : 284
 Modèle murin : 221
 Molécules d'adhésion : 357
 Moles complètes : 32
 Monosomie 5p : 156 ; 164
 Monosomie 6 p partielle : 139
 Monosomie 9q : 116
 Monosomie 22qter : 144
 Mort foetale in utero : 208
 Mosaïcisme : 62 ; 169
 Mosaïque : 152 ; 160 ; 192 ; 346
 Mosaïque 45,X / 46,XX : 90
 Mosaïque somatique : 277
 Mosaïque tissulaire : 165
 Mouvements oculaires anormaux : 88
 MSH2 : 331
 MSH4 : 339
 Mucoviscidose : 208 ; 274 ; 303 ; 390
 Multiplex RT-PCR : 340
 Muscle : 107
 Mutation : 288 ; 352
 Mutation dominante : 232
 Mutation E200K : 356
 Mutation faux sens : 335
 Mutation MELAS : 325
 Mutation mitochondriale : 351
 Mutations : 231 ; 303 ; 321 ; 323 ; 324
 Mycobactérie : 271
 Myopathie : 6
 Myopathie de Miyoshi : 285
 Myopathie Facio-scapulo-humérale : 12
 Myopathies a révélation tardive : 292
 NDRG1 : 237
 NDUFV2 : 104
 NEMO : 10
 Néoplasie endocrinienne multiple : 295
 Néphroblastome : 178
 Neurofibromatose : 349
 Neurogénétique : 217
 Neuropathie héréditaire avec hypersensibilité à la pression : 39
 Nuque épaisse : 47
 Oligodactylie postaxiale : 64
 Omphalocèle : 29
 Oncogenes : 173
 OPA1 : 227
 ORF15 : 298
 Origine maternelle : 146
 Ossification : 71
 Ostéochondrodysplasie : 53
 Ostéodystrophie Hériditaire d'Albright : 282
 Osteogenese imparfaite : 102
 p16INK4a : 326
 Paragangliome : 333
 Paralysie périodique hypokaliémique : 266
 Paraplégie spastique : 66 ; 239
 Parkin gene : 218
 Patched : 108
 PAX6 : 288
 PCR : 19
 PCR temps réel : 123
 Peutz-Jeghers : 349
 Phosphomannomutase : 106
 Placenta : 203
 POF2 : 117
 polyglobulie de Vaquez : 176
 Polyglutamine : 217
 Polymorphisme : 352 ; 360
 Polypose Adénomateuse Familiale : 314 ; 315
 Porphyrie Cutanée : 279
 Prédisposition au cancer : 341
 Premature ovarian failure : 220
 Préséniline : 259
 PROMM : 301
 Promoteur : 377

- Protéines de l'hétérochromatine : 172
Pseudo-Ostéodystrophie héréditaire d'Albright : 36
Psychologie et génétique : 317
Qualité de vie : 384
Rad51 : 24
Réarrangements MLL : 340
Recombinaison méiotique : 375
Région 11p15 : 20
Remaniement chromosomique multiple : 170
Remaniements chromosomiques équilibrés : 111
Remaniements télomériques : 112
Répresseurs : 350
Réseau : 390
Retard mental : 8 ; 55 ; 61 ; 66 ; 69 ; 96 ; 97 ; 110 ; 119 ; 136 ; 167 ; 171 ; 216 ; 254 ; 318
Retard mental lié à l'X : 56 ; 130
Retard statural : 97 ; 151, 149
Rétinoblastome : 332 ; 345
Rétrovirus endogènes : 378
Réversion sexuelle : 113
Rhabdomyosarcome : 235
RPGR : 298
Rythmes circadiens : 51
Sang maternel : 186
SCA: 276 ; 281
Scalp-ear-nipple: 93
Sclérose en plaques : 357
Sclérose endostale : 89
Sclérose latérale amyotrophique : 241
Scoliose : 91 ; 359
SDHD : 333
Segment antérieur : 109
Sequeçage : 283
Sérum maternel : 191
Sexe : 7
SMA: 383
SMD: 63
SMN: 383; 389
snp detection: 305
Sondes subtélomériques : 126
Souris : 6
SOX10 : 21
SOX9 : 28
Spectre du CAV : 200
Spina Bifida : 11
Splénomégalie myéloïde ; 42 ; 176
STAT1 : 271
Stilling-T_{rk}-Duane : 91
Structure-fonction : 379
STX1B2 : 381
Surdité : 2 ; 311 ; 351
Susceptibilité génétique : 22
Symptômes rares : 57
Syndrome 49, XXXXY : 309
Syndrome Aicardi Gouttieres : 296
Syndrome CACH : 240
Syndrome ATR-X : 56
Syndrome d'Angelman : 133 ; 277 ; 297 ; 320
Syndrome de Bardet-Biedl : 74 ; 87
Syndrome de Blau : 15
Syndrome de cat-eye : 114 ; 127
Syndrome de CHAR : 163
Syndrome de Cockayne : 60
Syndrome de Coffin-Siris : 254
Syndrome de Costello : 88 ; 103 ; 235
Syndrome de croissance excessive : 307
Syndrome de Desbuquois : 53
Syndrome de Fechtner : 233
Syndrome de Goltz : 211
Syndrome de Gorlin : 108
Syndrome de Jacobsen : 137
Syndrome de Kabuki : 57 ; 99
Syndrome de Klinefelter:118
Syndrome de la nuque tombante : 325
Syndrome de Lujan – Fryns : 96
Syndrome de Marfan : 54 ; 316
Syndrome de Nance-Horan : 371
Syndrome de Neu-Laxova : 205
Syndrome de Pallister-Killian : 193
Syndrome de Pendred : 373 ; 387
Syndrome de Rett : 223 ; 263
Syndrome de Prader-Willi : 238
Syndrome de Rubinstein Taybi : 230
Syndrome de Roberts : 212
Syndrome de Simpson-Golabi- Behmel : 307
Syndrome de Shprintzen Goldberg: 95
Syndrome de Smith-Lemli-Opitz : 16
Syndrome de Smith-Magenis : 51
Syndrome de Stickler : 68 ; 195
Syndrome de Turner : 90 ; 99 ; 184
Syndrome de Walker-Warburg : 214
Syndrome de Wiedemann-Beckwith : 20 ; 29
syndrome de Wolff parkinson white: 290
Syndrome d'Epstein : 233
Syndrome des cornes occipitales : 261
Syndrome FG : 236
Syndrome malformatif : 84
Syndrome oro-facio-digital : 58
Syndrome velo-cardio-facial : 147
Syndrome X fragile : 256 ; 318 ; 386
Telangiectasie : 75
Télangiectasie Hémorragique Hériditaire : 278
Telomere : 110 ; 119
Telomere interstitiel humain : 150
Test prédictif : 44 ; 337
Tests présymptomatiques: 292 ; 385
Tetraphocomélie : 212
Thalassemia: 25
Therapeutic abortion: 194
Thérapie : 382
TP63 : 92
Transfert de gènes : 9
Translocation : 70 ; 162
Translocation cryptique : 137
Translocation déséquilibrée : 165
Translocation réciproque : 267
Translocation réciproque équilibrée : 131
Translocation robertsonnienne (13q 14q) de novo : 149
Translocation sauteuse : 185
TRF1 : 150
Triploidie en mosaïque : 134
Trisomie : 132 ; 157 ; 160
Trisomie 13 : 192
Trisomie 14q distale : 155
Trisomie 15qter : 37
Trisomie 16p : 154
Trisomie 16q : 124 ; 198
Trisomie 19q : 116
Trisomie 21 : 3 ; 48, 196 ; 200
Trisomie 21 fœtale : 148
Trisomie 21, 18, 13 : 34
Trisomie 2p partielle : 286
Trisomie 3p : 156 ; 164
Trisomie 8 : 31
Trisomie 8 p partielle : 139
Trisomie partielle 14q22 : 190
Trisomie 9 qter : 144
Trouble autistique : 101
Tumeur de Darier-Ferrand : 342
Tumeur endocrine : 295
Tumeurs adipocytaires : 179
TWIST: 52
Vecteurs AAV: 9
XLMR : 255
ZNF9 : 301