FÉVRIER 2006
Hors série n° 2
p 1 > 190
volume 22

> www.medecinesciences.org

3èmes ASSISES DE GÉNÉTIQUE HUMAINE ET MÉDICALE

Présidente,
Comité d'Organisation :
Pr. Mireille CLAUSTRES
Montpellier

Présidente,
Comité Scientifique :
Pr. Sylvie ODENT
Rennes

26-27-28 JANVIER 2006
LE CORUM - MONTPELLIER

Recueil des Abstracts

www.assises-genetique.org

EDK
EDITIONS MÉDICALES ET SCIENTIFIQUES

3èmes Assises de Génétique Humaine et Médicale
MONTPELLIER LE CORUM
26 - 28 janvier 2006

COMITÉ LOCAL D'ORGANISATION

Présidente : Mireille CLAUSTRES - Co-Présidents : Jacques DEMAILLE, Pierre SARDA

Ounissa AIT-AHMED, Christophe BEROUD, Philippe BERTA, Patricia BLANCHET, Gwenaelle COLLOD-BEROUD, Christine COUBES, Albertina DE SARIO, Marie DES GEORGES, Anne GIRARDET, Philippe KHAU VAN KIEN, Geneviève LEFORT, Gérard LEFRANC, Franck PELLESTOR, Pascal PUJOL, Anne-Françoise ROUX, Naomi TAYLOR, Jamal TAZI, Isabelle TOUITOU, Sylvie TUFFERY-GIRAUD.

COMITÉ SCIENTIFIQUE

Présidente : Sylvie ODENT

Laurent ABEL, Ségolène AYME, Alain BERNHEIM, Dominique BONNEAU, Alexis BRICE, Mireille CLAUSTRES, Jérôme COUTURIER, Thierry FREBOURG, Marie GONZALES, Didier LACOMBE, Annie LAQUERRIERE, Martine LE MERRER, Nicolas LEVY, Joël LUNARDI, Stanislas LYONNET, Sylvie MANOUVRIER, Catherine NOGUES, Henri PLAUCHU, Marie-France PORTNOI, Pierre SARDA, Hagay SOBOL, Dominique STOPPA-LYONNET, Isabelle TOUITOU, Catherine TURLEAU.

FÉDÉRATION DE 9 ASSOCIATIONS DE GÉNÉTIQUE HUMAINE ET MÉDICALE (FAGHEM)

Président : Arnold MUNNICH

Société Française de Génétique Humaine. Présidente : Ségolène AYME
Collège National des Enseignants et Praticiens de Génétique Médicale. Président : Didier LACOMBE
Association des Cytogénéticiens de Langue Française. Président : Philippe JONVEAUX
Association Nationale des Praticiens en Génétique Moléculaire. Président : Michel GOOSSENS
Groupe de Génétique Médicale des 3èmes Jeudi. Président : Henri PLAUCHU
Club de Conseil Génétique de Langue Française. Présidente : Christine VERELLEN-DUMOULIN
Société Française de Foeto-pathologie. Président : Férechté ENCHA-RAZAVI
Groupe Français de Cytogénétique Oncologique. Président : Alain BERNHEIM
Groupe Génétique et Cancer. Présidente : Catherine NOGUES

Remerciements

Le Comité d'Organisation des Assises de Génétique souhaite remercier les Associations de Malades pour s'être déplacées afin de faire connaître leurs actions :
AFM, AFSR, ALLIANCE MALADIES RARES, AMMi, APTEPF, ASSOCIATION NATIONALE DE L'X FRAGILE, ASSOCIATION COLINE, ASTB, FAIT21, FMO, FRANCE CHOROIDEREMIE, GENERATION 22, GENESPOIR, HNPCC, ORPHANET, PRADER-WILLI France, PXE France, SOS RETINITE, VLM

Nous remercions également les partenaires industriels pour leur participation active aux Assises de Génétique 2006 :
ABBOTT, AGILENT TECHNOLOGIES, ALPHELYS, APPLIED BIOSYSTEMS, AMPLITECH SARL, APPLIED IMAGING Ltd, ARRAY GENOMICS, SAURAMPS & ELSEVIER, EPPENDORF, GENIAL GENETIC, GENZYME, ERDITI, HC FORUM, LEICA MICROSYSTEMS, METASYSTEMS GmbH, MP BIOMEDICALS, PERKINELMER, PFIZER, PROMEGA, ROCHE DIAGNOSTICS, STRATAGENE, TECAN France SAS, TEPNEL, TKT EUROPE, TRANSGENOMIC.

AFM
CHU Montpellier Centre Hospitalier Universitaire
Faculté de Médecine Montpellier-Nîmes
Fondation de France
Inserm Institut national de la santé et de la recherche médicale
Liberté • Égalité • Fraternité République Française
Ministère de la Recherche
la Région Languedoc Roussillon
UM1 Université Montpellier 1
Ville de Montpellier

Éditorial

Message des deux présidentes

Mireille Claustres, Sylvie Odent

Chers Collègues et Amis,

Nous vous souhaitons cordialement la bienvenue pour ces 3èmes *Assises de Génétique Humaine et Médicale* que nous avons le plaisir d'accueillir à Montpellier. Cette manifestation, organisée tous les deux ans sous l'égide de la FAGHEM, fédération de neuf Associations de génétique humaine et médicale, est devenue un événement majeur et incontournable pour la Génétique Francophone. Les Assises permettent en effet aux acteurs des diverses disciplines de la génétique humaine de se rencontrer. Elles offrent aussi aux jeunes chercheurs et praticiens une opportunité unique de présenter leurs travaux. Un effort particulier a été fait pour permettre à de nombreux étudiants de pouvoir assister aux Assises, et un « coin des étudiants » leur est cette année réservé.

Un espace est dédié aux principales Associations de Malades et de Familles concernées par les maladies génétiques, et nous avons la chance de bénéficier des conditions exceptionnelles de l'auditorium du Corum pour un concert donné en leur honneur.

Le conseil scientifique est heureux d'avoir pu inviter des orateurs prestigieux afin de vous offrir un programme scientifique attractif réactualisant les connaissances en matière de recherche et leurs applications en génétique humaine. Le nombre et la qualité des résumés soumis étant exceptionnels, 66 ont été retenus en communications orales (dont 18 en séances plénières et 48 en sessions simultanées). Six Prix viendront récompenser les efforts de nos plus jeunes collègues.

L'édition 2006 des Assises fête aussi les 50 ans de la découverte que l'espèce humaine présente 46 chromosomes.

Nous espérons très sincèrement que vous aurez plaisir à vous retrouver au cœur d'une ville méditerranéenne historique, berceau de la médecine de langue française avec sa Faculté de Médecine du XIIIe siècle, dans un Languedoc-Roussillon offrant ses plages, lagunes, vignobles, garrigues et montagnes. ◊

Pr Mireille Claustres
Montpellier
Présidente du comité d'Organisation

Pr Sylvie Odent
Rennes
Présidente du Comité Scientifique

Revue internationale de biologie et de médecine

3èmes Assises de Génétique Humaine et Médicale
26-28 janvier 2006
Le Corum - Montpellier - France

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

COMITÉ DES FONDATEURS

Pour la partie française :
- *Ministère des affaires étrangères (MAE)*
- *Ministère de la recherche (MR)*
- *Délégation générale à la langue française (DGLF)*
- *Institut national de la santé et de la recherche médicale (INSERM)*
- *Centre national de la recherche scientifique (CNRS)*

Pour la partie québécoise :
- *Ministère des relations internationales (MRI)*
- *Ministère du développement économique, de l'innovation et de l'exportation (MDEIE)*
- *Ministère de la santé et des services sociaux (MSSS)*
- *Ministère de l'éducation*
- *Fonds de la recherche en santé du Québec (FRSQ)*

Avec la contribution financière du Fonds québécois de la recherche sur la société et la culture (FQRSC)

ÉDITEUR FRANCE
Éditions EDK
33, rue Bezout
75014 Paris
Tél. : 01 53 91 06 06
Fax : 01 53 91 06 07
editorial@edk.fr

ÉDITEUR QUÉBEC
SRMS
500, rue Sherbrooke Ouest, bureau 800, Montréal, Québec H3A 3C6, Canada
Tél. : (1) (514) 288 22 47
Fax : (1) (514) 288 05 20
medecine.sciences@bellnet.ca

SOMMAIRE

ÉDITORIAL

I Message des deux présidentes
Mireille Claustres, Sylvie Odent

1 - CONFÉRENCES

1 A - Cœur et génétique (C1 - C4)
1 B - Apport des modèles animaux en génétique humaine (C5 - C8)
2 C - Avancées thérapeutiques et génétique (C9 - C12)

2 - COMMUNICATIONS ORALES SESSIONS PLÉNIÈRES

3 A - Session plénière 1 (CO1 - CO6)
5 B - Session plénière 2 (CO7 - CO12)
7 C - Session plénière 3 (CO13 - CO18)

3 - COMMUNICATIONS ORALES SESSIONS SIMULTANÉES

10 1 - Session Génétique moléculaire (CO19 - CO26)
13 2 - Session Génétique clinique (CO27 - CO34)
16 3 - Session Développement et diagnostic prénatal (CO35 - CO42)
19 4 - Session Oncogénétique (CO43 - CO50)
21 5 - Session Génétique chromosomique (CO51 - CO58)
24 6 - Session Conseil génétique et société et Génétique des maladies complexes (CO59 - CO66)

INDEX DES ANNONCEURS : Stratagene, p. II. - Tepnel Diagnostics, p. IV - Roche, p. VI. - Transgenomic, p. VIII. - Bulletin d'abonnement, 3e couv. - Applied Biosystems, 4e couv.

Revue internationale de biologie et de médecine

3èmes Assises de Génétique Humaine et Médicale
26-28 janvier 2006
Le Corum - Montpellier - France

DIRECTEUR DE LA PUBLICATION
Jean-Claude Dufour
ÉDITRICE
Martine Krief-Fajnzylberg
DIRECTEUR D'ÉDITION
François Flori
RÉDACTION
RÉDACTEURS EN CHEF
Gérard Friedlander (Paris)
Michel Bouvier (Montréal)
RÉDACTRICE EN CHEF ADJOINTE
Simone Gilgenkrantz (Paris)
ADJOINTE À LA RÉDACTION
Christiane Malo (Montréal)

M/S MAGAZINE
Simone Gilgenkrantz (avec Evelyne Ferrary) (Paris)
Lucie Parent (Montréal)

M/S REVUES
Gérard Friedlander (avec Emmanuelle Chollet et Michel Garbarz) (Paris)
Michel Bouvier (avec Christiane Malo) (Montréal)

M/S FORUM
Hervé Chneiweiss (Paris)

SECRÉTARIAT DE RÉDACTION
Isabelle Rouxel (Paris)
Martine Deshaies (Montréal)

COMITÉ ÉDITORIAL
Jean-Claude Ameisen (Paris)
Raymond Ardaillou (Paris)
Armand Bensussan (Paris)
Pascale Borensztein (Paris)
Sylvain Chemtob (Montréal)
Hervé Chneiweiss (Paris)
André-Pierre Contandriopoulos (Montréal)
Alain Ehrenberg (Paris)
Jacques Epelbaum (Paris)
Pascal Ferré (Paris)
Thierry Galli (Paris)
Lucie Germain (Montréal)
Hélène Gilgenkrantz (Paris)
Gaétan Guillemette (Sherbrooke)
Richard Hamelin (Paris)
Stéphane Hatem (Paris)
Jean-Pierre Julien (Montréal)
Nathalie Lamarche (Montréal)
François Lespérance (Montréal)
Olivier Lortholary (Paris)
Anne-Marie Moulin (Paris)
Patrice E. Poubelle (Sainte-Foy)
François Rousseau (Québec)
Daniel Sinnet (Montréal)

COMITE DE DIRECTION
Michel Bergeron (Montréal)
Daniel G. Bichet (Montréal)
Jacques Drouin (Montréal)
Francis H. Glorieux (Montréal)
Jean-Pierre Grünfeld (Paris)
Axel Kahn (Paris)
Jean-François Lacronique (Paris)
Marc Peschanski (Évry)
Gérard E. Plante (Sherbrooke)
Philippe Sansonetti (Paris)
Hubert Vaudry (Mont-St-Aignan)
COMITÉ DE PARRAINAGE
Jean Bernard
Jean Dausset, prix Nobel
Christian De Duve, prix Nobel
Roger Guillemin, prix Nobel
Jean Hamburger †
Henri-Géry Hers
François Jacob, prix Nobel
Charles-Philippe Leblond
Marcel Roche
Claude C. Roy
COMITÉ SCIENTIFIQUE
Michel Aubier (Paris)
Richard Béliveau (Montréal)
Joël Bockaert (Montpellier)
Jacques de Champlain (Montréal)
Marcel Dorée (Montpellier)
Denis Duboule (Genève)
Michel Goldman (Bruxelles)
Bertrand Jordan (Marseille)
Jean-Claude Kaplan (Paris)
Fernand Labrie (Québec)
Thierry Lacaze-Masmonteil (Clamart)
André Lacroix (Montréal)
Marion Leboyer (Créteil)
Daniel Ménard (Sherbrooke)
Arnold Munnich (Paris)
Jean-Paul Ortonne (Nice)
Jacques Piette (Liège)
Jacques Pouysségur (Nice)
Rémy Quirion (Montréal)
Marek Rola-Pleszczynski (Sherbrooke)
Bernard Rossier (Lausanne)
Guy Rousseau (Bruxelles)
Jacques R. Simard (Sainte-Foy)
Pierre Sirois (Sherbrooke)
Alain Tedgui (Paris)
Germain Trugnan (Paris)
Gilbert Vassart (Bruxelles)
Éric Vivier (Marseille)

4 - POSTERS

27 1 - Conseil génétique, Génétique et société (P1 - P25)
35 2 - Développement et diagnostic prénatal (P26 - P93)
56 3 - Génétique chromosomique (P94 - P163)
76 4 - Génétique clinique (P164 - P248)
102 5 - Génétique des maladies complexes (P249 - P282)
113 6 - Génétique moléculaire (P283 - P445)
164 7 - Oncogénétique (P446 - P513)
188 8 - Erratum/Développement (P514)
188 9 - Erratum/Génétique moléculaire (P515)

INDEX

189 Index des auteurs soumissionnaires

International journal of biology and medicine

3rd Human and Medical Genetics Congress
January 26-28, 2006
Le Corum - Montpellier - France

IMPRIMEUR FRANCE
Corlet, Imprimeur, S.A.
ZI route de Vire,
14110 Condé-sur-Noireau, France
N° 89087

SERVICE ABONNEMENTS
Interconnexion-Éditions EDK
BP 78
31151 Fenouillet Cedex, France
Fax : 05 61 37 16 01
edk@edk.fr
> Pour le Québec, Canada,
États-Unis, Mexique :
Médecine/Sciences
500, rue Sherbrooke Ouest,
bureau 800, Montréal,
Québec H3A 3C6, Canada
Tél. : (1) (514) 288 22 47
Fax : (1) (514) 288 05 20
medecine.sciences@bellnet.ca
PUBLICITÉ FRANCE
EDK
Inès Baklouti
Tél. : 01 40 64 20 24
Fax : 01 40 64 20 50
ibaklouti@edk.fr
PUBLICITÉ QUÉBEC
PharMedia Inc.
Yvon La Croix
Tél. : (1) 514 626 00 24
Télécopieur : (1) 514 626 33 08
pillman@sympatico.ca
Copyright© "Médecine / Sciences Inserm - SRMS". Publication périodique mensuelle. Tous droits de reprographie à des fins de vente, de location, de publicité ou de promotion réservés à l'éditeur.
Indexée dans Index Medicus/Medline
Indexée dans les Current Contents, série Life Sciences
Indexée dans EMBASE/Excerpta Medica
Indexée dans la base PASCAL
Indexée dans CABS
Indexée dans BIOSIS
Commission paritaire n° 1107 T 81597
EDK, Paris, Dépôt légal : à parution
ISSN n° 07670974

CONTENTS

EDITORIAL

I Message of the two presidents
Mireille Claustres, Sylvie Odent

1 - CONFERENCES

1 A - Heart and genetics (C1 - C4)
1 B - Animal models contribution in human genetics (C5 - C8)
2 C - Pogress in therapeutics and genetics (C9 - C12)

2 - ORAL COMMUNICATIONS PLENARY SESSIONS

3 A - Plenary Session 1 (CO1 - CO6)
5 B - Plenary Session 2 (CO7 - CO12)
7 C - Plenary Session 3 (CO13 - CO18)

3 - ORAL COMMUNICATIONS SIMULTANEOUS SESSIONS

10 1 - Molecular genetics Session (CO19 - CO26)
13 2 - Clinical genetics Session (CO27 - CO34)
16 3 - Development and Prenatal diagnosis Session (CO35-CO42)
19 4 - Oncogenetics Session (CO43 - CO50)
21 5 - Chromosomal genetics Session (CO51 - CO58)
34 6 - Genetics council and society, and Complicated diseases genetics Session (CO59 - CO66)

4 - POSTERS

27 1 - Genetics council, Genetics and society (P1 - P25)
35 2 - Development and Prenatal diagnosis (P26 - P93)
54 3 - Chromosomal genetics (P94 - P163)
74 4 - Clinical genetics (P164 - P248)
102 5 - Complicated diseases genetics (P249 - P282)
113 6 - Molecular genetics (P283 - P445)
164 7 - Oncogenetics (P446 - P513)
188 8 - Erratum/Development (P514)
188 9 - Erratum/Molecular genetics (P515)

INDEX

189 Author Index

1
CONFÉRENCES

A. Cœur et génétique

■C1. CŒUR ET DÉVELOPPEMENT

Margaret Buckingham
Département de Biologie du Développement, URA CNRS 2578, Institut Pasteur, 25, rue du Dr Roux, 75015 Paris, France

La morphogenèse du cœur dépend de gènes de régulation dont les phénotypes des mutants n'affectent souvent de façon inattendue qu'un compartiment du cœur. Un autre paramètre important dans ce processus est cellulaire et concerne à la fois l'origine et le comportement des cellules qui vont contribuer aux différentes parties du cœur. Nous avons mis en évidence, chez les mammifères, la présence d'un deuxième champ cardiaque, situé dans le mésoderme pharyngé, qui est une source importante de cellules du myocarde. Depuis sa découverte en 2001, tout un réseau génétique est en émergence, qui caractérise les sous-populations de ces cellules. En parallèle avec les expériences d'explants et de marquage cellulaire qui ont démontré la présence du deuxième champ cardiaque, une analyse clonale rétrospective nous a permis de montrer la présence de deux lignages de cellules de myocarde dont la contribution aux différentes parties du cœur est comparable avec celle des deux champs cardiaques [1].
Le myocarde de la voie efférente du cœur est dérivé exclusivement du deuxième lignage. Les marqueurs transgéniques nous ont permis de distinguer les cellules du mésoderme pharyngé qui contribuent à cette partie du cœur, dont un transgène en particulier qui marque une sous-population de ces cellules. Le suivi de l'expression de ce transgène ainsi que d'un marqueur fluorescent injecté dans la voie efférente, nous a permis de mettre en évidence une rotation du myocarde pendant le développement de cette structure. Une telle rotation que nous démontrons directement chez la souris, a été suggérée chez l'homme par des mesures anatomiques. L'analyse de certains mutants, tels *Splotch (Pax3)* ou *Pitx2c* indique que les malformations du pôle artériel du cœur sont associées avec l'absence de rotation du myocarde. Ce phénomène peut donc jouer un rôle important dans les maladies congénitales avec un mauvais positionnement des gros vaisseaux du cœur chez l'homme [2].

Références

1. Buckingham M, Meilhac S, Zaffran S.Building the mammalian heart from two sources of myocardial cells. *Nat Rev Genet* 2005 ; 6 : 826-835.
2. Bajolle F, Zaffran S, Kelly RG, Hadchouel J, Bonnet D, Brown NA, Buckingham M (2005). Rotation of the myocardial wall of the outflow tract is implicated in the normal positioning of the great arteries. Circulation Research, en révision.

■C2. GÉNÉTIQUE DES CARDIOPATHIES CONGÉNITALES

Damien Bonnet
Cardiologie pédiatrique, Necker-Enfants Malades, Paris, France

Les avancées dans le domaine de la génétique des cardiopathies congénitales ont permis de mieux comprendre les mécanismes de développement de ces malformations. Cependant, l'identification de mutations dans un certain nombre de facteurs de transcription associées à des cardiopathies congénitales a introduit une grande confusion dans la façon de décrire et de classer les cardiopathies en fonction de leur mécanisme embryologique supposé. L'outil moléculaire qui est aujourd'hui le plus utilisé dans la pratique quotidienne est l'hybridation in situ à la recherche d'une délétion du chromosome 22q11. Il est routinier d'effectuer cette recherche dans les cardiopathies de type conotroncal. Grâce à ce dépistage, les caractéristiques cliniques cardiaques et extra-cardiaques des patients ayant cette délétion 22q11 sont devenues plus précises. Un certains nombre de phénotypes spécifiques ont pu être associés à cette anomalies, ce qui a conduit à une modification du conseil prénatal. La seconde notion qui est apparue est l'hétérogénéité génétique des cardiopathies congénitales. Elle a été largement démontrée dans les syndromes cœur-mains mais aussi dans beaucoup d'autres types de malformation. Bien que cette hétérogénéité génétique rende l'approche génétique plus complexe pour une malformation donnée, elle a conduit à la révision des phénotypes cardiovasculaires et à la mise en évidence de relations phénotype-génotype méconnue. La troisième notion est dérivée de l'exemple des hétérotaxies viscéro-atriales ou isomérismes dans lesquels la détermination de l'asymétrie gauche-droite est perturbée. Si ces malformations d'une grande complexité anatomique sont très hétérogènes génétiquement, elles peuvent être décrites totalement à partir d'un algorithme simple. Cet exemple a permis de simplifier la compréhension des mécanismes de développement de certaines malformations cardiaques compliquées. Enfin, la connaissance de l'anomalie moléculaire à l'origine de certaines cardiopathies évolutives a donné des clefs pour comprendre la physiologie de ces malformations. Dans le cas du syndrome de Williams ou des mutations ponctuelles du gène de l'élastine, l'étude de la mécanique de la paroi artérielle a permis de réviser la conception du remodelage artériel dans cette affection.

■C3. LES ARYTHMIES HÉRÉDITAIRES

Hervé Le Marec
CHU Guillaume et René Laënnec, Clinique Cardiologique, Saint-Herblain, France

Les maladies rythmiques héréditaires forment un groupe de maladies qui ont en commun d'exposer au risque de mort subite les sujets atteints.
Depuis l'identification des premiers gènes du syndrome du QT long, il y a maintenant dix ans, l'approche clinique et moléculaire des maladies rythmiques a montré qu'elles formaient un groupe très hétérogène tant sur le plan clinique que génétique.
Aujourd'hui, les syndromes du QT long pour lesquels 8 gènes ont déjà été identifiés, les syndromes du QT court, les syndromes de Brugada, les tachycardies ventriculaires catécholergiques, la fibrillation auriculaire, les troubles de conduction, forment autant d'entités cliniques différentes.
Les connaissances acquises sur ces différentes anomalies montrent que, comme dans de nombreuses autres maladies héréditaires, l'expression phénotypique et la pénétrance sont variables mais ne préjugent en rien de l'expression et la sévérité chez les autres membres de la famille.
La prévention et le traitement des sujets atteints ont transformé le pronostic de ces maladies, ce qui justifie l'enquête familiale systématique et le diagnostic moléculaire.

■C4. PHYSIOPATHOLOGIE ET PRISE EN CHARGE MULTIDISCIPLINAIRE DES CARDIOMYOPATHIES HÉRÉDITAIRES

Philippe Charron
Département de Génétique, Cytogénétique et Embryologie ; Faculté Paris VI ; Inserm U621 ; CHU La Pitié-Salpêtrière, 47, bd de l'Hôpital, 75651 Paris Cedex 13, France

Les Cardiomyopathies, maladies du muscle cardiaque associées à une dysfonction diastolique et/ou systolique, sont caractérisées par une forte morbimortalité. La Cardiomyopathie Dilatée est une cause commune d'insuffisance cardiaque et constitue l'une des principales indications de transplantation cardiaque. La Cardiomyopathie Hypertrophique, pouvant évoluer vers une tachyarythmie ventriculaire, favorisée par l'effort, est considérée comme la première cause de mort subite chez l'athlète. La Cardiomyopathie Restrictive est une cause beaucoup plus rare d'insuffisance cardiaque. Ces diverses pathologies ont une origine volontiers génétique, une transmission le plus souvent autosomique dominante, et une expression cardiaque typiquement retardée. Les gènes en cause sont de mieux en mieux connus. Les conséquences fonctionnelles des mutations sont encore insuffisamment étayées mais divers concepts émergent mettant en lumière le dysfonctionnement du sarcomère, et celui des relations entre le sarcomère et le cytosquelette. Les travaux issus des études moléculaires ont aussi permis de réévaluer l'histoire naturelle et le spectre clinique des cardiomyopathies. Enfin, la prévalence de certains gènes a permis un transfert de technologie vers les services de biochimie génétique, et la réalisation d'un test génétique à visée médicale se discute dans certaines situations spécifiques. Tous ces progrès ont permis d'améliorer grandement la pertinence des informations données aux patients et à leur apparentés lors des consultations de conseil génétique.

B. Apport des modèles animaux en génétique humaine

■C5. Criblage thérapeutique et *C. elegans*

Jonathan Ewbank
Centre d'Immunologie de Marseille-Luminy, Université de la Méditerranée, Inserm U631, CNRS UMR 6102, Marseille, France

Le nématode *Caenorhabditis elegans* est un organisme multicellulaire complexe. Malgré la distance évolutive qui sépare *C. elegans* de l'homme, 70 % des voies de signalisation sont partagés entre les deux espèces et le ver possède un orthologue pour la majorité des gènes associés à des maladies héréditaires humaines. Avec la simplicité de sa culture et grâce aux outils disponibles en génétique et en génomique fonctionnelle, *C. elegans*

est devenu un modèle inestimable pour nombreuses pathologies humaines. Cette présentation va montrer les possibilités offertes par *C. elegans* en criblage thérapeutique, à travers plusieurs exemples réels.

■C6. LES DÉFENSES ANTIMICROBIENNES DE LA DROSOPHILE : UN MODÈLE D'ÉTUDE POUR L'IMMUNITÉ INNÉE

Jules Hoffmann
IBMC, UPR 9022 du CNRS, 15, rue René-Descartes, 67084 Strasbourg Cedex, France

On sait de longue date que les insectes sont particulièrement résistants aux infections microbiennes. Les mécanismes moléculaires qui sous-tendent cette résistance ont été étudiés depuis une quinzaine d'années, particulièrement chez la drosophile. Grâce à de multiples efforts de mutagenèse, on a pu dégager une première image cohérente, certes fragmentaire, des défenses antifongiques et antibactériennes. Cette image, qui fera l'objet de la présentation, implique les données suivantes : (1) toute infection déclenche la transcription de nombreux gènes (plusieurs centaines) par l'activateur NF-κB ; parmi les gènes induits, figurent ceux qui codent pour des puissants peptides antifongiques et antibactériens ; (2) NF-κB peut être lui-même activé par deux voies distinctes : (a) l'une de ces voies répond aux infections fongiques et bactériennes à Gram-négatif et est déclenchée quand les inducteurs bactériens (peptidoglycan, β-glucane) sont reconnus par des protéines circulantes ; la reconnaissance active à son tour une cascade protéolytique qui conduit au clivage d'une cytokine (Spaetzle) qui se fixe et active le récepteur transmembranaire Toll conduisant à l'activation de NF-κB ; (b) une deuxième voie est induite par les bactéries à Gram-négatif qui sont directement reconnues par un récepteur transmembranaire différent de Toll et appelé PGRP-LC, qui active par une cascade de signalisation intracellulaire (proche de celle du récepteur de TNF chez les mammifères) NF-κB. La drosophile comporte trois membres de la famille NF-κB, et les voies (a) et (b) activent chacune un membre spécifique de cette famille, expliquant que les gènes induits sont dans une large mesure différents pour les deux voies. L'exposé comparera ces données aux vues actuelles sur la réponse immunitaire innée des mammifères.

Références

Hoffmann JA. The Immune Response of *Drosophila*. *Nature* 2003 ; 426 : 33-38.
Dostert C, Jouanguy E, Irving P, Troxler L, Galiana-Arnoux D, Hetru C, Hoffmann JA, Imler JL. The Jak-STAT signaling pathway is required but not sufficient for the antiviral response of *Drosophila*. *Nature Immunology* 2005 ; 6 : 646-953.

■C7. L'EMBRYON D'OISEAU, UN MODÈLE POUR L'ÉTUDE DU DÉVELOPPEMENT NORMAL OU PATHOLOGIQUE

Marie-Aimée Teillet
Collège de France, UMR 7128 : Laboratoire d'embryologie cellulaire et moléculaire, Nogent-sur-Marne, France

L'embryologiste Étienne Wolff écrivait en 1936, en avant-propos à son ouvrage sur les bases de la tératogenèse expérimentale : « Produire à volonté des malformations, c'est faire un grand pas dans la voie de l'explication ». Depuis cette époque pionnière, l'embryon d'oiseau, principalement celui de poulet, a été le modèle de prédilection pour l'étude du développement embryonnaire dans le Laboratoire créé par E. Wolff à Nogent-sur-Marne qui fut dirigé ensuite par Nicole Le Douarin, et dans de nombreux autres laboratoires. Disponible en quantité quasi illimitée, il présente en plus l'avantage d'être accessible à l'observation et à l'expérimentation dès un stade précoce et jusqu'à son complet développement. Avec la mise au point de marqueurs immunologiques et moléculaires, on dispose maintenant d'outils précis et fiables pour l'étude de problèmes variés allant de l'origine et de la migration des cellules jusqu'aux interactions cellulaires pour le développement de chaque tissu et organe. Les résultats acquis avec la génétique dans les autres modèles, principalement la souris, le poisson zèbre et la drosophile, peuvent être exploités chez l'oiseau avec des techniques de sur-expression ou de sous-expression ciblées dans l'espace et dans le temps, dont la mise en œuvre est relativement facile. On peut maintenant « produire à volonté des malformations » non pas en utilisant des agents tératogènes comme les rayons X, à la manière d'Étienne Wolff, mais en modifiant l'expression de gènes candidats. Il est possible ainsi d'analyser le rôle de ces gènes au cours des étapes cruciales du développement. L'embryon d'oiseau constitue un modèle moderne, efficace, peu coûteux, donc plein d'avenir pour des études génétiques.

■C8. APPORT DU MODÈLE MURIN EN GÉNÉTIQUE HUMAINE

Hélène Puccio
Université Louis-Pasteur Strasbourg 1, UMR 7104 : Institut de génétique, biologie moléculaire & cellulaire, Illkirch Graffenstaden, France

La création et l'étude de modèles animaux sont des étapes cruciales dans l'étude des pathologies humaines. Plus particulièrement, les souris génétiquement modifiées sont devenues des outils précieux pour l'étude de la génétique humaine. Ces souris donnent un système expérimental pour la caractérisation du processus pathologique, et permettent d'accomplir les étapes essentielles pour la validation d'approches thérapeutiques avant l'essai sur l'homme. Des exemples de modèles murins pour des maladies monogéniques neurodégénératives ou musculaires seront présentés, en discutant leurs avantages et inconvénients.

C. Avancées thérapeutiques et génétique

■C9. THÉRAPIES ENZYMATIQUES SUBSTITUTIVES DES MALADIES LYSOSOMALES

Dominique P. Germain
Hôpital Européen Georges-Pompidou, Département de Génétique, Paris, France

Le lysosome fut découvert en 1955 par Christian De Duve. La première démonstration par Hers d'un lien entre un déficit enzymatique et une maladie de surcharge (glycogénose de type II ou maladie de Pompe) a ouvert la voie à une série de découvertes essentielles qui ont culminé avec le traitement de la maladie de Gaucher par perfusions de beta-glucosidase acide au début des années 90. Aujourd'hui la thérapie enzymatique recombinante est une réalité pour la maladie de Fabry, la mucopolysaccharidose de type I (MPS I) et la mucopolysaccharidose de type VI (MPS VI). Chez les patients atteints de MPS I, la laronidase (alpha-L-iduronidase humaine recombinante) améliore la fonction respiratoire et les capacités physiques, réduit l'hépatomégalie et l'accumulation de glycosaminoglycanes et présente un profil de sécurité favorable. Des essais cliniques de phase I, II et III conduits chez des patients atteints de MPS VI ont démontré la sécurité et l'efficacité de la galsulfase (arylsulfatase B humaine recombinante) qui améliore significativement le test de marche de 12 minutes et réduit l'excrétion urinaire de dermatan sulfate. L'alpha-glucosidase a fait l'objet d'essais cliniques dans la maladie de Pompe : les données disponibles montrent que l'enzyme nettoie efficacement le glycogène du muscle cardiaque et des fibres de type I du muscle squelettique, mais pas des fibres de type II, en partie en raison de perturbations de l'endocytose et de l'autophagie. Des essais cliniques avec des enzymes recombinantes sont en cours pour la MPS II et sur le point de débuter pour la maladie de Niemann-Pick de type B, tandis que des bio-similaires ont été développés pour la maladie de Gaucher. Plusieurs défis persistent pour les thérapies enzymatiques substitutives, avec au premier plan le traitement du système nerveux central. Des stratégies alternatives, telles que la réduction de substrat ou l'emploi de molécules chaperones pour les enzymes instables dégradées par le protéasome sont en cours d'évaluation.

■C10. MODULATION PHARMACOLOGIQUE DES ALTÉRATIONS DE LA TRANSCRIPTION OU DE L'ÉPISSAGE

Judith Melki
Laboratoire de Neurogénétique Moléculaire, Inserm E-223, Université d'Évry et Paris XI et Unité de Génétique Médicale, Centre Hospitalier Sud Francilien, Évry, France

Le répertoire des maladies génétiques dues ou conduisant à des altérations de la transcription ou du métabolisme des ARN ne cesse de s'agrandir. Il inclut 1) les maladies causées par des mutations de gènes altérant l'épissage ou la dégradation de leurs ARNs ; 2) les maladies dues à la déficience de protéines impliquées dans le métabolisme des ARNs. Le retard mental lié à la fragilité du chromosome X (FRAXA), l'amyotrophie spinale ou une forme de rétinite pigmentaire sont des exemples ; 3) les maladies à triplet telles que FRAXA ou l'ataxie de Friedreich sont des affections dans lesquelles les expansions nucléotidiques non codantes interfèrent avec l'expression du gène en cause ; 4) enfin, certaines mutations produisent des ARN toxiques. Tel est le cas de la dystrophie myotonique de Steinert de type I ou 2 caractérisées par des expansions de CTG ou de CCTG non codants.

Ces différents mécanismes soulignent l'intérêt majeur des stratégies de recherches thérapeutiques basées sur la surexpression des gènes ou la modulation de l'épissage ou de la dégradation des ARNs. À coté des approches assez spectaculaires de thérapie génique visant non plus à remplacer un gène déficient mais à interférer avec l'épissage de celui-ci par saut d'exons pour éviter un codon stop ou la synthèse d'un motif toxique d'une protéine, l'approche pharmacologique a des potentialités certaines. Elle repose sur les méthodes de plus en plus puissantes de criblage à haut débit de molécules sur des modèles cellulaires appropriés et la disponibilité croissante de chimiothèques. De plus, l'analyse du répertoire des transcrits résultant de l'épissage alternatif de l'ensemble des gènes combinée à l'analyse du profil d'expression des gènes à l'aide de puces à ADN devrait permettre de tester la sensibilité et la spécificité des molécules candidates.

■C11. QUELLE UTILISATION DES CELLULES SOUCHES EN 2006 ?

Michel Pucéat
Centre de Recherches de Biochimie Macromoléculaire, CNRS FRE 2593, Montpellier, France

Les cellules souches embryonnaires isolées à partir du stade blastocyste de l'embryon (formé au stade 36 cellules chez la souris, 18 cellules chez l'homme) ont la capacité de s'auto renouveler et de se différencier en n'importe quel type cellulaire.

Les cellules souches humaines offrent un modèle unique de développement précoce. Leur manipulation génétique aisée ou l'isolement de ces cellules à partir de blastocystes surnuméraires diagnostiqués comme porteurs d'anomalies génétiques (suite au diagnostique préimplantatoire et ne faisant plus l'objet de projet parental) permettent d'envisager leur utilisation en laboratoire pour une meilleure compréhension des pathologies congénitales et génétiques. Les cellules souches embryonnaires portent également un grand espoir dans le domaine biomédical : traitement des maladies dégénératives par thérapie cellulaire, tests de toxicité et d'effets tératogènes de molécules pharmaceutiques, production de vaccins... Un exemple de chacune de ces utilisations potentielles sera exposé.

Afin de profiter de tous les avantages biologiques de ces cellules, il est nécessaire de bien connaître leurs caractéristiques phénotypiques dont leur stabilité génétique et leurs potentialités de différenciation in vitro et in vivo. Les promesses mais aussi les difficultés de cette recherche seront présentées.

■C12. LES NOUVELLES THÉRAPIES EN DÉVELOPPEMENT : HEURTS ET MALHEURS

Ségolène Aymé et Valérie Thibaudeau
INSERM SC11, 102, rue Didot, 75014 Paris, France

Les maladies monogéniques sont maintenant non seulement correctement diagnostiquées grâce aux progrès de l'identification des gènes en cause mais aussi traitées, y compris par des approches pharmacologiques classiques. Le changement paradigmatique intervenu est celui de l'adoption d'un règlement européen sur les médicaments orphelins qui permet aux industriels d'être assuré d'une exclusivité commerciale de 10 ans et d'un prix pour leur produit leur assurant un marché viable économiquement malgré son étroitesse. Un tel règlement était en vigueur aux USA depuis 17 ans lorsque le règlement européen a été adopté en avril 2000 et il avait montré son effet déterminant dans le développement de solutions thérapeutiques. Ces cinq ans dernières années 22 autorisations de mise sur le marché ont été données en Europe et 300 produits sont en développement. Certains sont des molécules innovantes, d'autres des indications orphelines de produits déjà sur le marché pour d'autres indications. Au total ce sont plus de 200 maladies qui bénéficient d'un traitement aujourd'hui sur les marchés européens et américains. Cette dynamique est un formidable espoir pour les malades qui ne va pas sans créer des tensions. Des centaines d'autres maladies pourraient être elles aussi traitées. Comment faire pour susciter des recherches académiques et pour les faire émerger ? Plusieurs initiatives vont dans ce sens : de grands groupes pharmaceutiques acceptent maintenant le principe de laisser des chercheurs tester des molécules pour des maladies rares, molécule dont le développement est arrêté chez eux. Un site, orphanXchange.org, recense tous les projets en développement qui recherchent un partenariat industriel, y compris les indications orphelines potentielles. On peut donc espérer une accélération des arrivées sur le marché et des nouveaux protocoles. Cependant d'autres tensions se font jour : le règlement européen sur les essais cliniques renchérit le coût des essais que bien des promoteurs publics ne peuvent plus couvrir. Les coûts engendrés par ces nouvelles approches thérapeutiques sont difficiles à supporter pour des budgets régionalisés contraints. Le débat est ouvert sur les critères d'évaluation coût/efficacité à utiliser pour accepter le remboursement de ces thérapeutiques. Ainsi, seulement 5 ans après l'adoption du règlement européen, la menace d'une non disponibilité pour le malade des innovations est une menace réelle. Comment nos sociétés vont se positionner face à cette situation sera révélatrice des valeurs que nous pouvons défendre dans le contexte économique actuel. La situation actuelle sera présentée.

2
COMMUNICATIONS ORALES
SESSIONS PLÉNIÈRES

A. Session plénière 1

■CO1 / 25. Implication du gène CUL7 dans le syndrome 3M

C. Huber (1), D. Dias-Santagata (2), A. Glaser (3), K. Wu (2), X. Xu (2), K. Pearce (3), R. Wang (2), M. Le Merrer(1), P. J. Scambler (3), A. Munnich (1), Zhen-Qiang Pan (2), R. Winter (3), V. Cormier-Daire (1) and the clinical consortium on 3 M syndrome
(1) Département de Génétique et INSERM U393, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France ; (2) Department of Oncological Sciences and of Human Genetics, The Moun Sinai School of Medicine, New York, USA ; (3) Genes, Development and Disease Theme, Institute of Child Health, London

Le syndrome 3M (OMIM 273750) est une maladie autosomique récessive, caractérisée par un retard de croissance pré et post-natal, une dysmorphie faciale, une macrocéphalie relative, une intelligence normale et un bilan endocrinien normal. Au cours du développement, des manifestations osseuses apparaissent tels qu'un aspect grêle des os longs, une augmentation de la hauteur des vertèbres et un retard d'âge osseux. En utilisant une stratégie de cartographie par homozygotie dans une série de 5 familles consanguines porteuses du syndrome 3M, une région d'homozygotie commune de 3,84 Mb a été identifiée sur le chromosome 6 en 6p21.1 (Zmax = 12,4 à Teta = 0 au locus D6S271). Au sein de cette série, 3 familles d'origine tunisienne ont un haplotype commun définisant une région de déséquilibre de liaison de 0,47 Mb. Après exclusion de plusieurs gènes candidats par leur fonction, le gène CUL7 est apparu comme un bon candidat en raison de l'existence d'un model murin invalidé pour cul7 caractérisé par un retard de croissance intra-utérin (RCIU) en fin de gestation, associé à une léthalité néonatale en rapport avec une détresse respiratoire. Le séquençage direct de CUL7 au sein de 29 familles a permis de mettre en évidence 25 mutations du gène CUL7, comprenant 19 mutations non sens et 6 mutations faux sens. La protéine CUL7 intervient dans la formation du complexe ubiquitine ligase E3, associant les protéines Skp1, Fbx29/Fbw8 et ROC1. Ce complexe joue un rôle dans le processus d'ubiquitination de protéines cibles. L'étude de l'expression de l'ARNm de CUL7 en Northern montre une forte expression du gène dans le rein et le cerveau fœtal, le placenta, et dans le rein, le pancréas et le cœur de l'adulte. L'analyse en RT-PCR confirme que CUL7 est exprimé dans les trophoblastes, les lymphoblastes, les ostéoblastes, les chondrocytes et dans les fibroblastes. Par ailleurs, l'expression de l'ARNm de CUL7 dans les fibroblastes de 3 de nos patients, porteurs de mutations différentes, montre une expression diminuée de CUL7. Des études fonctionnelles montrent que 2 mutations identifiées R1445X et H1464P, toutes 2 localisées dans la région qui code pour le domaine de liaison à ROC1, diminuent la capacité de la protéine CUL7 à recruter ROC1 et la formation de chaînes polyubiquitinées.

Cette étude met en évidence pour la première fois l'implication d'une culline dans une pathologie humaine et suggère qu'un défaut d'ubiquitination peut avoir un rôle dans la pathogénie des RCIU chez l'homme.

Mots-clés : retard de croissance, culline, ubiquitination.

■CO2 / 295. DÉFICITS BIOAMINERGIQUES DANS LE SYNDROME DE RETT : DE LA PHYSIOPATHOLOGIE AUX APPROCHES THÉRAPEUTIQUES

J.C. Roux (1), V. Saywell (1), H. Burnet (2), S. Zanella (2), M. Bévengut (2), M. Barthelemy-Requin (2), A. Moncla (1-3), J. Mancini (4), G. Hilaire (2) et L. Villard (1)
(1) INSERM U491, 27, bd Jean-Moulin, Faculté de Médecine de la Timone, Marseille ; (2) CNRS FRE 2722, Groupe d'Étude des Réseaux Moteurs, Marseille ; (3) Departement de Génétique Médicale de La Timone, Marseille ; (4) Département de Neurologie Pédiatrique Hôpital de La Timone, Marseille

Le syndrome de Rett est un grave désordre neurologique d'origine génétique qui touche essentiellement les filles (1/15 000 naissances). Le gène responsable (MECP2) code pour une protéine (la MEthyl-CpG-binding-Protein 2) ayant une fonction supposée de répresseur transcriptionel. Les patientes présentent un développement normal pendant les 6 à 18 premiers mois après la naissance qui s'arrête par la suite avec un arrêt brutal du développement du cerveau associé à un profond handicap mental. Des problèmes supplémentaires sont rencontrés comme des troubles locomoteurs, une mauvaise régulation thermique, une mauvaise circulation sanguine et des phases

d'hyperventilation suivies de périodes d'apnées profondes indiquant de profonds déficits du système nerveux autonome. Afin de progresser dans la compréhension de la physiopathologie du syndrome de Rett, nous avons décidé d'utiliser un modèle de souris invalidées pour le gène Mecp2 [1] afin d'étudier la respiration et son contrôle, une fonction autonome facilement quantifiable. Nos résultas montrent chez les souris Mecp2 déficientes que la respiration est normale à la naissance et au cours du premier mois postnatal. Les semaines suivantes, les souris Mecp2 déficientes commencent à présenter des apnées qui vont augmenter en nombre et intensité jusqu'à la mort de l'animal. Nous avons disséqué les structures bulbo-pontiques impliquées dans le contrôle respiratoire et mis en évidence que les souris présentant des apnées récurrentes ont des déficits profonds en bioamines (catécholamines et sérotonine). Nous avons ainsi identifié la cause probable des troubles respiratoires. Nos données histologiques indiquent clairement que le nombre de neurones catécholaminergiques bulbaires (groupes A1C1 et A2C2) est réduit alors que le nombre de neurones sérotoninergiques est conservé indiquant une possible baisse d'activité de ces derniers. Nos résultats offrent pour la première fois, des informations capitales concernant l'origine des troubles respiratoires. Par ailleurs, nos résultats offrent une premier piste afin de corriger pharmacologiquement certains troubles du système nerveux autonome présents chez les enfant Rett. L'étape suivante de notre travail consiste actuellement à traiter pharmacologiquement les souris Mecp2-déficientes présentant des signes avancés d'anomalies respiratoires afin de tenter de restaurer une fonction normale.

Mots-clés : Rett syndrome, bioamines, respiration.

Référence

1. Guy J *et al. Nat Genet* 2001 ; 27 : 322-6.

■CO3 / 244. HOLOPROSENCÉPHALIE : 10 ANS D'ÉTUDE CLINIQUE ET GÉNÉTIQUE À PARTIR D'UNE COHORTE DE 340 PATIENTS (1996-2006)

L. Pasquier (1), C. Bendavid (2, 3), C. Dubourg (2, 3), S. Jaillard (1, 4), I. Gicquel (3), L.M. Coupé (1), F. Le Duff (5), C. Henry (4), V. David (2, 3), S. Odent (1)

(1) Unité de Génétique Médicale, CHU Rennes ; (2) Laboratoires de Génétique Moléculaire, CHU Rennes ; (3) UMR 6061 CNRS, Faculté de Médecine, Rennes ; (4) Laboratoire de Cytogénétique, CHU Rennes ; (5) Département Informatique Médicale, CHU Rennes

L'holoprosencéphalie (HPE) est la malformation cérébrale congénitale la plus fréquente de l'espèce humaine avec une prévalence estimée à 1/250 embryons et 1/16 000 enfants nés vivants. Elle correspond à une anomalie de clivage des hémisphères cérébraux qui s'accompagne souvent d'anomalies de la face (ophtalmologique, fente...) et de malformations viscérales ou squelettiques.

L'étiologie de l'HPE est d'une grande hétérogénéité regroupant des causes environnementales et génétiques très diverses et non exclusives. Depuis 1996, notre groupe travaille sur la variabilité clinique et génétique de l'holoprosencéphalie. Grâce à un réseau de collaborateurs en France et en Europe, environ 800 prélèvements au total (fœtus, enfants et parents), nous ont été envoyés associés à un phénotype typique d'HPE ou faisant partie du spectre.

Sur 338 prélèvements de cas index (malformation cérébrale présente ou anomalies de la ligne médiane et caryotype standard normal), 65 anomalies ont été identifiées avec 51 mutations ponctuelles et 14 microremaniements (délétions ou duplications retrouvées sur 159 patients ayant la malformation cérébrale typique) soit une fréquence globale de près de 20 %. La prévalence des gènes impliqués est dans l'ordre décroissant SHH (32 anomalies soit 49 %), ZIC2 (27 %), SIX3 (17 %) et TGIF (6 %). Les 27 formes familiales confirment l'extrême variabilité phénotypique et renforcent l'hypothèse d'une pathologie multifactorielle. Le diagnostic prénatal moléculaire réalisé dans 4 familles reste donc prudent et a été accompagné d'une imagerie fœtale renforcée. Une base de données informatique a facilité l'identification de nouveaux phénotypes (Aprosencéphalie/Atélencéphalie et gène SIX3), de corrélations génotypes-phénotypes (anomalies cérébelleuses et gène SHH) et a permis de proposer une stratégie de criblage moléculaire.

Ce travail ouvre des nouvelles perspectives sur la compréhension du développement normal et pathologique du cerveau humain.

Mots-clés : holoprosencéphalie, corrélation génotype-phénotype, malformations cérébrales.

■CO4 / 1029. CARACTÉRISATION DE MICRO-REMANIEMENTS CHROMOSOMIQUES DANS DES TROUBLES AUTISTIQUES SYNDROMIQUES

M.-L. Jacquemont (1), D. Sanlaville (1), R. Redon (2), M. Rio (1), V. Cormier-Daire (1), S. Lyonnet (1), J. Amiel (1), G. Borck (1), M. Vekemans(1), N.P. Carter (2), A. Munnich (1), L. Colleaux (1), A. Philippe (1)

(1) Département de Génétique et INSERM U393, Hôpital Necker-Enfants Malades, 149, rue de Sèvres, 75015 Paris, France ; (2) Wellcome Trust Sanger Institute, Wellcome Trust Genome Campus, Hinxton, Cambridge CB10 1SA, UK

Les troubles appartenant au spectre autistique (Trouble Envahissant du Développement ou TED) se caractérisent par une triade symptomatique associant une altération qualitative des interactions sociales, une altération des capacités de communication, et des activités et intérêts, stéréotypés et répétitifs (DSM-IV, APA, 1994). Leur prévalence est de 1 à 3/1 000 dans la population générale. Le trouble autistique correspond à la forme la plus typique et la plus sévère. L'agrégation familiale, l'excès important de jumeaux monozygotes concordants par rapport aux jumeaux dizygotes et l'association à des syndromes génétiques connus sont des arguments en faveur de l'existence de facteurs génétiques dans cette forme clinique. Cependant, les bases moléculaires de la très grande majorité des cas restent encore inexpliquées. Environ 5 % des personnes autistes sont porteuses d'une anomalie chromosomique visible cytogénétiquement, les anomalies les plus fréquemment décrites étant la duplication 15q11-q13 et les délétions 2q37 et 22q13.3. De nombreuses autres anomalies ont été décrites. Toutefois, en raison du pouvoir de résolution des analyses classiques, ces anomalies restent sous-diagnostiquées. La révolution génomique a conduit au développement de nouveaux outils pour l'étude d'anomalies chromosomiques complexes à l'échelle pan-génomique. L'une de ces technologies émergentes, la CGH (Comparative Genomic Hybridisation) sur puces à ADN ou « CGH-array » représente une avancée majeure pour l'exploration des chromosomes humains dans leur ensemble et en une seule analyse. Cette technique rapide et sensible repose sur le principe de l'hybridation comparative entre l'ADN d'un patient et l'ADN d'un individu sain et sur l'utilisation d'une lame de verre sur laquelle sont fixés un très grand nombre de fragments d'ADN. Elle permet de caractériser des anomalies chromosomiques de très petite taille (1 à 5 Mb). L'objectif de notre projet de recherche était d'évaluer par CGH-array, la fréquence et le profil des remaniements chromosomiques de petite taille dans une population de patients appartenant au spectre autistique et présentant l'un des signes suivants : malformations mineures ou majeures (dysmorphie faciale ou des extrémités, malformations viscérales), avance ou retard staturo-pondéral (TED syndromique). Dans le cadre d'une collaboration avec le Sanger Institute (Cambridge), nous avons étudié par CGH-array 29 patients présentant un TED syndromique en utilisant une puce à ADN réalisée à partir de clones répartis sur l'ensemble du génome avec une résolution moyenne d'une mégabase. Nous avons identifié 10 micro-remaniements pathogènes chez 10 patients (34 % du total) : 7 délétions (1q31, 1p36, 3q27.2-q29, 4q21q22, 4q21q23, 5p15.2, 7q11), et 3 duplications (15q11q13, 21q22, Xq25). La taille de la perte ou du gain de matériel varie de 200 kb à 16 Mb (1 clone à 19 clones). Aucune délétion ou duplication récurrente n'a été mise en évidence dans cette cohorte de patients. Les principales caractéristiques cliniques associées à ces micro-remaniements chromosomiques seront détaillées. Outre l'importance de ces résultats pour le diagnostic et le conseil génétique, ils ouvrent la voie d'une étude clinique approfondie afin de préciser les phénotypes associés à ces différents remaniements et de définir de nouveaux syndromes génétiques. Enfin, l'analyse moléculaire détaillée des régions remaniées pourrait permettre identifier quelques-uns des gènes dont l'expression anormale participe au phénotype comportemental.

Mots-clés : autisme, hybridation génomique comparative, aberration chromosomique.

■CO5 / 422. LA DUPLICATION DU GÈNE DU PRÉCURSEUR DE L'AMYLOÏDE (APP) EST LA CAUSE MAJEURE DES FORMES AUTOSOMIQUES DOMINANTES PRÉCOCES DE LA MALADIE D'ALZHEIMER ASSOCIÉES À UNE ANGIOPATHIE AMYLOÏDE CÉRÉBRALE

A. Rovelet-Lecrux (1), D. Hannequin (1, 2), G. Raux (1), N. Le Meur (3), A. Laquerrière (4), A. Vital (5), C. Dumanchin (1), S. Feuillette (1), A Brice (6), M. Verceletto (7), F. Dubas (8), T. Frébourg (1), D. Campion (1,9)

(1) Inserm U614-IFRMP, Faculté de Médecine de Rouen ; (2) Département de Neurologie, CHU de Rouen ; (3) Laboratoire de Cytogénétique, EFS Normandie, Bois-Guillaume ; (4) Laboratoire d'Anatomie Pathologique, CHU de Rouen ; (5) Laboratoire d'Anatomie Pathologique, CHU de Bordeaux ; (6) Inserm U679, Hôpital de la Salpétrière, Paris ; (7) Département de Neurologie, CHU de Nantes ; (8) Département de Neurologie, CHU d'Angers ; (9) Département de Recherche, CHSR, Sotteville les Rouen

Les formes autosomiques dominantes à début précoce de la maladie d'Alzheimer (Autosomal Dominant Early Onset Alzheimer Disease ou

ADEOAD) peuvent, dans certains cas, s'accompagner d'une angiopathie amyloïde cérébrale (AAC), à l'origine d'hémorragies intra-cérébrales. Des mutations des gènes de la protéine précurseur de l'amyloïde (APP) et des préséniliines 1 et 2 (PSEN 1 et 2) sont à l'origine des ADEOAD mais sont très rarement retrouvées dans les formes associant une AAC. L'association maladie d'Alzheimer et AAC étant observée dans la trisomie 21, nous avons émis l'hypothèse qu'une altération du dosage génique du gène APP, localisé sur le chromosome 21q21, pourrait être à l'origine de maladie d'Alzheimer sans mutation détectable des gènes PSEN et APP. Pour tester cette hypothèse, nous avons analysé le locus APP chez des patients présentant une démence par QMPSF (Quantitative Multiplex PCR of Short Fluorescent Fragments), une méthode permettant la détection des duplications et basée sur l'amplification simultanée de courts fragments génomiques dans des conditions quantitatives. Cette analyse fut réalisée dans 12 familles avec ADEOAD, dont 5 correspondaient à des ADEOAD-AAC, chez 70 patients présentant une maladie d'Alzheimer familiale de forme tardive et chez 100 sujets témoins. Dans 5/5 cas d'ADEOAD associée à une AAC, nous avons pu mettre en évidence une duplication du locus APP ségrégeant avec la maladie. Cette duplication du locus APP a été confirmée par FISH et analyse par PCR quantitative fluorescente de marqueurs microsatellitaires situés dans la région 21q21. L'étude par QMPSF de 24 gènes adjacents au locus APP nous a permis de mettre en évidence une hétérogénéité de taille de cette duplication dans les différentes familles. En effet, la région dupliquée a une taille minimale variant de 585 kb à 6,37 Mb (observable alors en caryotype haute-résolution) et inclut de 5 à 12 gènes, localisés à l'extrémité centromérique de la région DSCR, impliquée dans le syndrome de Down. L'examen clinique rétrospectif de patients, même de ceux présentant la plus grande duplication, a confirmé l'absence de traits phénotypiques du syndrome de Down. Chez tous les patients avec duplication, l'âge de début de la démence était de 52 +/- 4 ans. Nous avons pu réaliser des études immunohistochimiques de 5 cerveaux de patients présentant cette duplication du locus APP et nous avons constaté la présence d'abondant dépôts amyloïdes sous forme de plaques mais surtout dans la paroi vasculaire, cette angiopathie amyloïde résultant essentiellement d'une accumulation de peptide Abeta 40. Cette étude montre donc que la duplication du gène APP constitue la cause majeure de maladie d'Alzheimer accompagnée d'AAC. Dans le cadre de la trisomie 21, elle démontre que le surdosage génique d'une petite région du chromosome 21 suffit à induire la formation de dépôts amyloïdes, telle que ceci est observé chez les patients présentant un syndrome de Down. Après les publications récentes concernant la triplication ou la duplication du gène de l'alpha synucléine dans la maladie de Parkinson, cette étude est la seconde preuve de l'importance des altérations du dosage génique dans le déterminisme génétique des maladies neurodégénératives résultant de l'accumulation d'une protéine ou d'un peptide.

Mots-clés : Alzheimer, APP, Duplication.

■CO6 / 1144. RÔLE DU GÈNE MYH DANS LA POLYPOSE ADÉNOMATEUSE COLORECTALE

S. Olschwang (1), Buecher (2), H. Blanché (3), G. Thomas (4)
(1) Institut Paoli-Calmettes, Marseille ; (2) CHU, Nantes ; (3) CEPH, Paris ; (4) NCI, Washington

Introduction : La polypose adénomateuse familiale (FAP) est une prédisposition héréditaire majeure au cancer colorectal liée à l'altération constitutionnelle du gène APC, définie par l'existence de plusieurs centaines d'adénomes colorectaux, se développant progressivement à la période pubertaire, et l'apparition progressive d'adénomes duodénaux et de tumeurs extra-digestives regroupées sous le terme de syndrome de Gardner. La position de la mutation constitutionnelle le long de la séquence codante conditionne l'expression phénotypique, en définissant en particulier une forme atténuée de la maladie, appelée AFAP, d'apparition plus tardive et se limitant au développement d'adénomes coliques, préférentiellement à droite, et duodénaux. Très proche sur le plan phénotypique, a été décrite plus récemment une forme récessive de polypose adénomateuse liée à l'altération constitutionnelle du gène MYH, appelée MAP. But : Par l'analyse systématique du gène MYH chez 406 patients porteurs de plus de 5 adénomes colorectaux, sans altération constitutionnelle du gène APC, nous proposons de préciser les critères d'identification de la polypose MAP et les risques associés [1, 2]. Patients et méthodes : 406 patients non liés génétiquement ont été répartis en 3 catégories selon la densité de la polypose colorectale : 5-15 adénomes (135 cas), 15-50 adénomes (92 cas) ; > 50 adénomes (102 cas). Un cancer colorectal était présent chez 252 patients ; l'interrogatoire révélait la présence d'antécédent familiaux dans 233 cas, sur au moins 2 générations dans 165 cas. Le gène MYH a été analysé par séquençage des 16 exons. Résultats : 17 mutations différentes ont été identifiées ; 74 patients étaient porteurs d'au moins une mutation, soit 22,5 % des patients pour lesquels une description phénotypique était disponible. Ces patients se répartissaient équitablement dans les 3 catégories, qu'ils soient porteurs d'une mutation mono- ou bi-allélique, indépendamment de la présence ou non d'une histoire familiale, sur 1 ou plusieurs générations. L'analyse des apparentés de ces patients a permis d'identifier un total de 149 personnes porteuses d'au moins une mutation. L'âge au diagnostic des adénomes et des cancers colorectaux était indépendant du nombre d'allèles mutés et du type de mutation, en moyenne de 43 ans pour les adénomes et 50 ans pour les cancers, avec une densité d'adénomes nettement plus importante en cas de mutation bi-allélique, mais sans excès important de cancer dans cette catégorie. Les cancers étaient localisés principalement à droite (60 %) et souvent multifocaux (23 %). La découverte des adénomes et des cancers était la plupart du temps concomitante. Conclusion : Le risque de cancer colorectal associé à l'altération du gène MYH est indépendant du nombre d'allèles mutés ; il est faible avant 30 ans (4 %) et la dégénérescence des adénomes est vraisemblablement rapide. Le risque d'adénomes duodénaux est également élevé (30 %), avec un risque de dégénérescence élevé (9,3 %). Le risque de cancers extra-digestifs n'est pas significatif. Il n'y a pas de corrélation phénotype-génotype. La polypose MAP est donc une prédisposition héréditaire majeure au cancer colorectal, à transmission autosomique dominante comme les autres prédispositions au cancer colorectal actuellement connues, avec un effet « additif » des mutations pour la densité des adénomes colorectaux. Elle est responsable de 22,5 % des polyposes adénomateuses sans tumeurs extra-digestives.

Mots-clés : polypose adénomateuse, gène MYH, expression phénotypique.

Références

1. Croitoru *et al. J Natl Cancer Inst* 2004 ; 96 : 1631-4.
2. Nielsen *et al. J Med Genet* 2005 ; 42 : e54.

B. Session plénière 2

■CO7 / 41. ÉTUDE DE CORRÉLATION GÉNOTYPE-PHÉNOTYPE À PARTIR D'UNE COHORTE INTERNATIONALE DE 821 PROBANTS PORTEURS D'UNE MUTATION DU GÈNE *FBN1*

L. Faivre (1, 2), G. Collod-Beroud (3), A. Child (4), B. Callewaert (5), C. Binquet (1), E. Gautier (1), E. Arbustini (6), A. Kiotsekoglou (4), P. Comeglio (4), C. Beroud (3), C. Bonithon-Kopp (1), D. Halliday (7), M. Claustres (3), C. Muti (8), H. Plauchu (9), P. Robinson (10), L. Ades (11), J. De Baecker (5), P. Coucke (5), U. Francke (12), A. De Paepe (5), G. Jondeau (8), C. Boileau (13)
(1) Centre d'investigation clinique, épidémiologie clinique ; (2) Centre de Génétique, CHU Dijon, France ; (3) IURC, Montpellier, France ; (4) Cardiological Sciences, St. George's Hospital, London, UK ; (5) Medical Genetics, Ghent University Hospital, Belgium ; (6) Molecular Diagnostic Unit, Policlinico San Matteo, Pavia, Italy ; (7) Biochemistry, University of Oxford, UK ; (8) Consultation pluridisciplinaire Marfan, Hôpital Ambroise-Paré, Boulogne, France ; (9) Génétique, Hôtel Dieu, Lyon, France ; (10) Medizinische Genetik, Universitatsklinikum Charité, Berlin, Germany ; (11) Paediatrics, Royal Alexandra Hospital, Sydney, Australia ; (12) Genetics and Pediatrics, Stanford University Medical Center, USA ; (13) Génétique moléculaire, Hôpital Ambroise-Paré, Boulogne, France

Une mutation au sein du gène *FBN1* peut être responsable du syndrome de Marfan et d'une grande variété de phénotypes plus modérés pouvant comprendre un ou plusieurs signes cliniques du même spectre. La prise en charge des patients est compliquée par l'âge de début et la sévérité variable des manifestations aortiques, ainsi que leur caractère inconstant. Les facteurs modulant la sévérité phénotypique inter ou intrafamiliale, restent à déterminer. La base de données UMD-FBN1 a permis une étude collaborative internationale comprenant 821 probants porteurs d'une mutation *FBN1*, ayant pour but d'étudier les corrélations entre le génotype et le phénotype. L'âge moyen au dernier suivi est de 28 ans (0-72 ans). 21 % des patients ont une atteinte squelettique majeure, 60 % une atteinte squelettique mineure, 55 % une atteinte ophtalmologique majeure, 78 % une atteinte cardiaque majeure, 47 % une atteinte cutanée mineure, 8 % une atteinte pulmonaire mineure et 57 % une atteinte durale majeure. Une série de paramètres qualitatifs et quantitatifs concernant les systèmes squelettique, cardiovasculaire, ophtalmologique, cutané, pulmonaire et dural est comparée pour différents types ou localisations de mutations. Les patients porteurs une mutation tronquante du gène *FBN1* présentent un phénotype squelettique, aortique, cutané et pulmonaire plus sévère que les patients porteurs d'une mutation faux sens ($p < 0,01$), alors que la probabilité de présenter une ectopie du cristallin est plus faible ($p < 0,0001$). La probabilité de présenter une ectopie du cristallin est significativement plus élevée chez les patients porteurs d'une mutation faux sens impliquant une cystéine

comparativement aux autres mutations faux sens ($p < 0,0001$), de même que chez les patients porteurs d'une mutation en 5' du gène versus 3' ($p < 0,01$). Un phénotype plus sévère (âge au diagnostic plus précoce du syndrome de Marfan, de la dilatation aortique, de la chirurgie aortique, de l'ectopie du cristallin, de la chirurgie orthopédique et ophtalmologique) et une survie plus altérée sont démontrés pour les patients porteurs d'une mutation dans les exons 24 à 32, correspondant à la région néonatale, comparativement aux mutations localisées dans les autres exons ($p < 0,01$). Seuls les probants ont été inclus afin de ne pas sur représenter l'effet d'une mutation et minorer la possible influence d'une intervention médicale plus précoce chez un apparenté et les tests statistiques utilisés (test du chi2 ajustés selon mantel haenszel, Kaplan Meier, test non paramétrique du log-rank) tiennent compte du différentiel d'âge de suivi d'un groupe à l'autre. Cette étude est réalisée à partir de la plus grande série internationale de mutations du gène *FBN1* et la taille de l'échantillon a permis d'écarter les principales sources de biais en rapport avec les particularités évolutives de cette affection. Elle permet d'indiquer des groupes à haut risque cardiaque et ophtalmologique, permettant un suivi plus adapté des patients porteurs d'une mutation *FBN1*.

Mots-clés : syndrome de Marfan, corrélations phénotype-génotype, gène *FBN1*.

■CO8 / 165. ARRAY-CGH : UNE NOUVELLE APPROCHE DANS LE DIAGNOSTIC GÉNÉTIQUE DE PATIENTS AVEC MALFORMATIONS CARDIAQUES CONGÉNITALES

Bernard Thienpont (1), Luc Mertens (2), Benedicte Eyskens (2), Derize Boshoff (2), Nicole Maas (1), Jean-Pierre Fryns (1), Marc Gewillig (2), Joris Vermeesch (1), Koen Devriendt (1)

(1) Center for Human Genetics ; (2) Pediatric Cardiology Unit, University Hospital Leuven, Leuven, Belgium

Nous rapportons les résultats de l'analyse de 43 patients par la méthode d'array-CGH. Les patients sélectionnés présentaient une cardiopathie congénitale avec retard mental ou de développement et/ou une (des) malformation(s) majeure(s) associée(s) ou des signes dysmorphiques. L'analyse dysmorphologique et le caryotype standard ou des examens complémentaires génétiques ou non n'ont pas permis l'établissement d'un diagnostic étiologique. La technique d'array-CGH a été réalisée grâce au panel 1-Mb de BAC/PAC du Sanger Institute.

Toutes les anomalies détectées (à l'exception des polymorphismes connus) ont été confirmées par FISH (délétions ou duplications de plus de 2-Mb) ou par qPCR (duplications de moins de 2-Mb).

De nouvelles anomalies ont été détectées chez 10/43 patients (23 % de ce groupe de patients très sélectionnés). Chez 7 patients (16 %), l'anomalie détectée est responsable du phénotype sans équivoque : 4 délétions interstitielles (taille comprise entre 2 et 12-Mb), 1 duplication interstitielle (taille de 3 Mb), 1 délétion terminale 5q (taille de 7 Mb) et 1 translocation non équilibrée (9q/20q) ont été identifiées. Parallèlement à ces anomalies causales, des modifications supplémentaires ont été détectées pour lesquelles l'interprétation est incertaine, dont une duplication maternelle héritée sur le chromosome X, une duplication paternelle héritée en 22q11.2 et une monosomie 7 chez un patient avec suspicion de syndrome de Fanconi mais avec des résultats normaux de DEB et de tests à la mitomycine. Cette étude montre que la méthode d'array-CGH permet la détection d'anomalies submicroscopiques chez une proportion importante de patients avec malformation cardiaque congénitale et un phénotype « chromosomique ». Néanmoins, l'interprétation de certaines anomalies reste problématique et nécessite des investigations complémentaires. Une collaboration étroite entre le laboratoire de cytogénétique et le généticien clinicien sera essentielle au transfert de cette technologie à la pratique clinique.

Mots-clés : caryotype moléculaire, cardiopathie, microdeletion.

■CO9 / 16. LE PAYS COMME PREMIER FACTEUR DE RISQUE POUR L'AMYLOSE RÉNALE DANS LA FIÈVRE MÉDITERRANÉENNE FAMILIALE. UNE ÉTUDE INTERNATIONALE DE 2 482 CAS ENREGISTRÉS DANS LA BASE DE DONNÉES METAFMF

I. Touitou, T. Sarkisian, M. Medlej-Hashim, M. Tunca, A. Livneh, D. Cattan, F. Yalcinkaya, S. Ozen, H. Majeed, H. Ozdogan, D. Kastner, D. Booth, E. Ben-Chétrit, D. Pugnère, C. Michelon, F. Séguret, R. Gershoni-Baruch, pour le groupe international d'étude sur les corrélations phénotype-génotype dans la FMF* * Membres : H. Ajrapetyan, N. Akar, S. Akar, I. Aksentijevitch, A. Aldea, M. Alessio, O. Altiok, E. Altyok, S. Amselem, A. Bakkaloglu, A. Berdeli, N. Besbas, M. Birlik, R. Brick, J. Buades, N. Cakar, J.M. Campistol, J. Casademont, C. Cazeneuve, H. Chaabouni, D. Constandinos, C. Costi, C. Deltas, M. Dervichian, J. Demaille, C. Domingo-Rittore, P. Dujols, H. El Shanti, G. Federico, S. Grandemange, M. Ekim, G.L. Forni, P.N. Hawkins, A. Kanta, O. Kasapcopur, I. Koné-Paut, K. Konstantopoulos, M. Ksantini, H. Lachmann, M. La Regina, R. Manna, I. Mansour, B. Masdoua, A. Megarbané, J.P. Méry, T. Mijares, S. Mir, A. Mor, L. Moral, G. Neri, C. Notarnicola, L. Obici, N. Ozkayin, F. Pellestor, M.G. Pomponi, D. Rigante, I. Rosner, M. Rozenbaum, E. Rossou, M. Ruiz, C. Sarrauste de Menthière, A. Stabile, R. Topaloglu, R. Toribio, N. Tweezer-Zaks, O. Vougiouka, E. Yilmaz *Hôpital Arnaud-de-Villeneuve, Montpellier, France (Drs Touitou, Michelon, Séguret) ; The Center of Medical Genetics, Yerevan, Armenia (Dr Sarkisian) ; Faculty of Medicine, Saint Joseph University, Beirut, Lebanon (Dr Medlej-Hashim) ; The Dokuz Eylul University, Izmir, Turkey (Dr Tunca) ; The Sheba Medical Center, Ramat Gan, Israel (Dr Livneh) ; The Centre Hospitalier de Villeneuve Saint Georges, France (Dr Cattan) ; The Ankara University Medical School, Ankara, Turkey (Dr Yalcinkaya) ; The Hacettepe University, Ankara, Turkey (Dr Ozen), University of Jordan, Amman, Jordan (Dr Majeed) ; The Cerrahpasa Medical Faculty, Istanbul, Turkey (Dr Ozdogan) ; Genetics and Genomics Branch NIAMS/NIH, Bethesda, USA (Dr Kastner) ; The Hadassah University Hospital, Jerusalem, Israel (Dr Ben-Chétrit), The Westmead Millennium Institute Sydney, Australia (D. Booth) ; The Institut de Génétique Humaine, Montpellier, France (D. Pugnère) ; The Rambam Medical Center, Haifa, Israel (R. Gershoni-Baruch)*

Contexte

La Fièvre Méditerranéenne Familiale (FMF) est causée par des mutations récessives dans le gène MEFV. La FMF est une maladie potentiellement fatale parce que certains patients développent une amylose rénale. Cette complication a été principalement associée à la mutation M694V dans de précédentes publications, mais ces études différaient dans leur conception, étaient petites ou n'incluaient que peu ou pas de co-variables.

Méthodes

Des questionnaires en ligne ont été remplis dans la base de donnée METAFMF par 35 centres appartenant à 14 pays. Nous avons conduit une analyse multivariée dans le but de tester les génotypes MEFV et de nombreux facteurs épidémiologiques pour le risque d'amylose rénale dans la FMF.

Résultats

Le projet METAFMF a recueilli des données concernant environ la moitié des patients FMF génétiquement confirmés dans le monde jusqu'en mai 2003. La néphropathie amyloïde était présente chez 260/2 482 des cas validés. Dans la population d'étude totale, le pays de recrutement était le facteur de risque principal pour cette manifestation (OR = 3,2 ; 95 % IC = 1,8 à 5,8), suivi par les facteurs suivants : homozygotie pour MEFV, statut de cas index, et durée de la maladie. Lorsque les pays furent étudiés séparément, MEFV a montré un effet aggravant, protecteur ou nul sur l'apparition de l'amylose rénale, alors que le groupe ethnique, la consanguinité, le genre, le statut cas index, et la durée de la maladie étaient impliqués de façon diverse mais cohérente.

Conclusions

Le pays de recrutement, plus que le génotype MEFV, est un modificateur clé pour le risque d'amylose rénale dans la FMF. Ce risque, parallèle aux taux de mortalité infantile, pourrait cacher des causes liées au développement économique et à la qualité de l'environnement.

Mots-clés : FMF, Risk Factor, Renal Amyloidosis.

■CO10 / 1143. DES MUTATIONS DE LA CHAÎNE LOURDE DE MYOSINE 11 RESPONSABLES D'UN SYNDROME ASSOCIANT ANÉVRISME DE L'AORTE THORACIQUE ET/OU DISSECTION AORTIQUE (AAT/DA), PERSISTANCE DU CANAL ARTÉRIEL ET RIGIDITÉ AORTIQUE

L. Zhu (1, 2), P. Khau Van Kien (1, 3), R. Vranckx (4), A. Lalande (5), N. Boisset (6), F. Mathieu (1), M. Wegman (7), L. Glancy (7), F. Brunotte (5), J.M. Gasc (1), P. Bruneval (8), J.E. Wolf (3), J.M. Michel (4), X. Jeunemaitre (1)

(1) Département de Génétique, HEGP-AP-HP/INSERM U36, Collège de France, Paris ; (2) Ruijin Hospital/Shanghai Jiaotong University School of Medecine, Shangai, Chine ; (3) Laboratoire de Physiopathologie et de Pharmacologie Cardio-Vasculaire expérimentale, Université de Bourgogne/Service de Cardiologie II, CHU Dijon ; (4) INSERM U698/CHU Bichat, APHP, Paris ; (5) Centre d'IRM, CHU Dijon/Laboratoire de Biophysique, Université de Bourgogne, Dijon ; (6) Département de Biologie Structurale IMPMC, UMR CNRS 7590, Université Pierre et Marie Curie, Paris ; (7) Section of Cardiology, Department of Medecine, Louisiana State University Health Center, New Orleans, USA ; (8) Service d'anatomopathologie, HEGP-AP-HP, Paris

Nous avons récemment décrit deux grandes familles présentant une association autosomique dominante d'anévrisme de l'aorte thoracique et/ou dissection aortique (AAT/DA) et de persistance du canal artériel (PCA).

Nous avons ensuite localisé le locus responsable de la maladie sur le bras court du chromosome 16, en 16p12.2-p13.13.
Nous montrons désormais que la maladie est causée par des mutations du gène MYH11, affectant la région « coil-coiled » C-terminale de la chaîne lourde de myosine du muscle lisse (SM-MHC), une protéine contractile spécifique des cellules musculaires lisses. Tous les patients présentant une mutation à l'état hétérozygote, même asymptomatiques (sans AAT/DA et PCA) ont une réduction marquée de la compliance artérielle mesurée en IRM. Chez les sujets de moins de 35 ans, la valeur seuil de 1,3 mm^2/mmHg, permet de discriminer les sujets porteurs de la mutation de leur apparentés. L'examen anatomo-pathologique de deux échantillons aortiques pathologiques recueillis lors d'interventions chirurgicales, montre de larges plages de dégénération mucoïde de la média avec une raréfaction des cellules musculaires lisses. Nous montrons, en plus des arguments déduits des données de la littérature, un effet dominant négatif par les arguments suivants : anomalies de reconnaissance immunologique de SM-MHC, altérations des fibres de myosine en microscopie électronique, co-localisation au niveau des queues de myosine des protéines mutées et sauvages exprimées dans les cellules musculaires lisses et altération de leurs propriétés de co-immunoprécipitation.
La compliance aortique mesurée en IRM, constitue un excellent biomarqueur de la prédisposition chez les sujets jeunes. Les mutations humaines du gène MYH11 fournissent le premier exemple d'une altération primaire d'une protéine contractile spécifique du muscle lisse à l'origine d'une maladie vasculaire héréditaire, pour lequel nous proposons le nouveau concept « d'artériomyopathie primaire ».

Mots-clés : anévrisme/dissection aortique, persistance du canal artériel, cellule musculaire lisse.

■CO11 / 1049. EXPRESSION VARIABLE DES MUTATIONS CODANTES ET NON CODANTES AU LOCUS MAJEUR DANS UN MODÈLE OLIGOGÉNIQUE : RET ET LA MALADIE DE HIRSCHSPRUNG

A. Tullio-Pelet (1), J. Amiel (1), G. Antinolo (2), S. Borrego (2), G. Burzynski (3), I. Ceccherini (4), E. Emison (5), C. Eng (6), R. Fernandez (2), M. Garcia-Barcelo (7), P. Griseri (4), R. Hofstra (3), C. Kashuk (5), F. Lantieri (4), P. Tam (7), K. West (5), A. Chakravarti (5), S. Lyonnet (1) pour le Consortium International de la Maladie de Hirschsprung
(1) Dept Génétique et Unité INSERM U393, Paris, France ; (2) UC Genetica y Reproduccion, HH UU Virgen del Rocio, Seville, Spain ; (3) Dept Medical Genetics, Univ Groningen, The Netherlands ; (4) Lab di Genetica Molecolare, Ist Gaslini, Genova, Italy ; (5) Inst Genetic Medicine, Johns Hopkins Univ Baltimore, USA ; (6) Dept Molecular Genetics, Ohio State Univ, Columbus, USA ; (7) Dept Surgery, Genome Research Centre, Univ Hong Kong, China

La maladie de Hirschsprung (MH) est une malformation congénitale fréquente (1/5 000 naissances) caractérisée par une absence du système nerveux entérique sur une portion plus ou moins étendue de l'intestin. L'absence de neurones peut résulter d'une anomalie de migration, de prolifération, de différentiation ou de survie des cellules des crêtes neurales qui colonisent le tractus digestif selon un trajet cranio-caudal au cours de la septième à la douzième semaine de gestation. En fonction de la longueur de l'aganglionose, on décrit des formes courtes (80 % des cas, l'aganglionose ne dépassant pas la charnière recto-sigmoïdienne) et des formes longues de la MH (20 % des cas, l'aganglionose atteignant le colon, voire l'intestin grêle). Les caractéristiques épidémiologiques de la MH dans sa forme isolée (non syndromique), et les analyses de ségrégation ont fait proposer un modèle d'hérédité oligogénique à locus majeur, selon les arguments suivants : i) une héritabilité proche de 100 %, ii) une majorité de cas sporadiques, les formes familiales ne représentant que 20 % des cas iii) un sex ratio déséquilibré en défaveur des garçons (4 garçons/1 fille dans les formes courtes), et iv) un risque global de récidive de 4 % qui varie selon le paradoxe de Carter. Après la cartographie et l'identification du locus RET, les études de liaison génétique réalisées montrent que plus de 98 % des formes familiales sont compatibles avec ce locus. Cependant, des mutations hétérozygotes d'effet dominant touchant les séquences codantes et entraînant une perte de fonction du gène majeur, n'ont été trouvées que dans 50 % des formes familiales et seulement 15 % des cas sporadiques. L'absence de base moléculaire dans la majorité des cas, permet donc d'évoquer le rôle d'un ou plusieurs allèle(s) hypomorphe(s) fréquents à ce locus qui, à l'état hétérozygote voire homozygote, contribuerai(en)t de façon significative à la prévalence de la maladie. Afin d'identifier ce ou ces allèle(s), un consortium international a été crée, regroupant 6 équipes et 3 continents (Europe de l'Ouest, Amérique du Nord et Chine). Nous avons génotypé 14 SNPs au locus RET, répartis le long des 65 Kb de sa séquence génomique, chez 876 cas de MH et leurs parents. Les génotypes et haplotypes ont été analysés par un test de déséquilibre de transmission. Les résultats montrent un déséquilibre de transmission majeur dans la région 5' du gène, couvrant un domaine de 23,5 Kb, allant du promoteur à l'exon 2. Le maximum de déséquilibre de transmission ($p < 10\text{-}9$) se situe au sein de l'intron 1 (long de 23 kb), dans une région non codante, conservée inter-espèce, ayant probablement une activité d'activateur transcriptionnel. Nos résultats montrent que cet allèle hypomorphe, ou un haplotype plus étendu auquel il est associé, représente la contribution la plus élevée au risque de MH quelle que soit la population. Ces données suggèrent aussi que la pénétrance des allèles de prédisposition dépend de la nature de la mutation au locus RET : i) mutations de séquence codante dans les formes familiales touchant autant filles que garçons avec une pénétrance élevée ii) allèle hypomorphe de l'intron 1 dans les formes courtes sporadiques du petit garçon où la majorité des enfants atteints est homozygote pour ce polymorphisme. Enfin, la variation de la distribution de ce polymorphisme en fonction de l'origine géographique rend compte de la prévalence de la MH dans les différentes populations. Au total, l'ensemble de ces données, combiné aux études non paramétriques ayant permis d'identifier 2 loci modificateurs (3p21 et 19q12), nous permettent de proposer un modèle oligogénique à locus majeur (RET), dont les allèles mutants ont une pénétrance variable, pour expliquer les caractéristiques génétiques d'une malformation considérée comme représentative d'un mode d'hérédité complexe.

Mots-clés : oligogénisme, maladie de Hirschsprung, allèles hypomorphes.

■CO12 / 168. MUTATIONS DES GÈNES DU SYSTÈME RÉNINE-ANGIOTENSINE ET DYSGÉNÉSIE TUBULAIRE RÉNALE

Olivier Gribouval (1), Marie Gonzales (2), Thomas Neuhaus (3), Jacqueline Aziza (4), Éric Bieth (5), François Feuillet (6), Saloua Makni (7), Hatem Ben Amar (8), Raymonde Bouvier (9), Frédérique Dijoud (10), Élisabeth Ollagnon-Roman (11), Madeleine Joubert (12), Corinne Antignac (1), Marie Claire Gubler (1)
(1) Inserm U574, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris ; (2) Unité de Fœtopathologie, Hôpital Saint-Antoine, Paris ; (3) University Children's Hospital, Zurich ; (4) Laboratoire d'Anatomie Pathologique et (5) Service de Génétique Médicale, Hôpital Purpan, Toulouse ; (6) Service de Médecine Infantile, Hôpital d'Enfants, CHU Brasbois, Vandœuvre-les-Nancy ; (7) Service de Génétique Médicale, Hôpital Habib Bourguiba, Sfax ; (8) Service de Néonatologie, Hôpital Hedi Chaker, Sfax ; (9) Laboratoire d'Anatomie Pathologique, Hôpital Édouard-Herriot, Lyon ; (10) Laboratoire d'Anatomie Pathologique, Hôpital Debrousse, Lyon ; (11) Centre de Diagnostic Anténatal, Hôpital de la Croix-Rousse, Lyon ; (12) Service d'Anatomie Pathologique, Hôtel-Dieu, Nantes

La dysgénésie tubulaire rénale (DTR) récessive autosomique est une néphropathie sévère s'exprimant au cours de la vie fœtale par une anurie persistante responsable d'anamnios et de mort périnatale. Elle est associée à un retard d'ossification des os du crâne. La néphropathie est caractérisée histologiquement par l'absence ou la présence d'un nombre très réduit de tubes proximaux différenciés. L'observation de lésions semblables dans les reins fœtaux ischémiques ou chez les fœtus exposés à des drogues bloquant la formation ou l'action de l'angiotensine II, peptide actif du système rénine-angiotensine (SRA), et la mise en évidence d'une expression rénale très anormale de rénine chez les sujets atteints de DTR, nous ont conduit à poser l'hypothèse d'une dérégulation constitutionnelle du SRA à l'origine de la maladie. Cette hypothèse a été confirmée par l'identification de mutations, à l'état homozygote ou hétérozygote composite, des gènes AGT, REN, ACE, et AGTR1, codant respectivement l'angiotensinogène, la rénine, l'enzyme de conversion de l'angiotensine 1, et le récepteur de type I de l'angiotensine II, chez les patients (fœtus ou nouveau-nés) appartenant à 9 familles. Il s'agit de la première identification de néphropathie mendélienne liée à des anomalies génétiques du SRA, système majeur de régulation de la pression artérielle. Les lésions rénales et l'anurie précoce seraient la conséquence de la diminution de la pression de perfusion du rein fœtal. Ces observations démontrent l'importance du SRA dans le développement rénal chez l'homme.

Mots-clés : dysgénésie tubulaire rénale, système rénine-angiotensine, mutations.

C. Session plénière 3

■CO13 / 55. IDENTIFICATION DE MUTATIONS DE LA DYNAMINE 2 DANS LA FORME DOMINANTE DE LA MYOPATHIE CENTRONUCLÉAIRE

Marc Bitoun (1), Svetlana Maugenre (1), Pierre-Yves Jeannet (2), Xavier Ferrer (3), Pascal Laforêt (1), Michel Fardeau (1), Bruno Eymard (1), Norma B. Romero (1), Pascale Guicheney (1)

(1) INSERM U582, Institut de Myologie, IFR14, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, UPMC, Paris, France ; (2) Département de Pédiatrie, Unité Neuropédiatrique, CHUV, Lausanne, Suisse ; (3) Département de Neurologie, CHU du Haut-Lévêque, Bordeaux, France

Les myopathies centronucléaires (MCN) constituent un groupe de myopathies congénitales cliniquement et génétiquement hétérogènes. Plus de 200 mutations du gène codant la myotubularine ont été rapportées dans la forme néonatale sévère liée au chromosome X. En revanche, la cause génétique des formes autosomiques, moins graves, était encore indéterminée. Par une approche de génétique inverse dans 3 familles atteintes de la forme autosomique dominante de la MCN, nous avons identifié un locus lié à la pathologie sur le chromosome 19 en position 19p13.2. Le criblage de gènes candidats présents dans cette région nous a permis d'identifier des mutations faux sens dans la séquence du gène de la dynamine 2 (DNM2). Quatre mutations différentes ont été trouvées chez 50 patients, issus de 11 familles, atteints de la forme autosomique dominante ou de cas sporadiques. La dynamine 2 est une GTPase de haut poids moléculaire (100 kDa), impliquée dans l'endocytose et le trafic membranaire ainsi que dans la dynamique du réseau d'actine et la structure du centrosome. Toutes les mutations sont restreintes à un domaine protéique nommé domaine intermédiaire (ou Middle domain) adjacent au domaine d'homologie à la Pleckstrin où des mutations ont récemment été identifiées dans une forme de la maladie de Charcot-Marie-Tooth. La production et l'expression de protéines mutantes in vitro ont montré une réduction de leur localisation centrosomale. Une des hypothèses actuelles est donc que les mutations de la DNM2 provoquent la MCN en interférant avec une des fonctions du centrosome. Ces résultats ouvrent la voie vers la compréhension de la physiopathologie de cette myopathie.

Mots-clés : myopathie, mutations, génétique moléculaire.

■CO14 / 30. ABSENCE CONGÉNITALE DE GLUTAMINE PAR DÉFICIT HÉRÉDITAIRE EN GLUTAMINE SYNTHÉTASE : UNE NOUVELLE MALADIE MÉTABOLIQUE RESPONSABLE D'UNE MALFORMATION CÉRÉBRALE SÉVÈRE ET D'UN DÉCÈS PRÉCOCE

J. Häberle (1), B. Görg (2), A. Toutain (3), F. Rutsch (1), E. Schmidt (1), J.-F. Benoist (4), A. Gélot (5), A.-L. Suc (6), W. Höhne (7), F. Schliess (2), D. Häussinger (2), H.-G. Koch (1)

(1) Universitätsklinikum Münster, Klinik für Kinderheilkunde und Jugendmedizin, Münster ; (2) Heinrich Heine University Düsseldorf, Clinic for Gastroenterology, Hepatology and Infectiology, Düsseldorf ; (3) Service de Génétique, Centre Hospitalier Universitaire Bretonneau, Tours ; (4) Service de Biochimie-Hormonologie, Hôpital Robert-Debré, Paris ; (5) Unité de Neuropathologie, Hôpital Armand-Trousseau, Paris ; (6) Département de Pédiatrie, Centre Hospitalier Universitaire Clocheville, Tours ; (7) Charité, Universitätsmedizin Berlin, Institut für Biochemie, Berlin

La glutamine synthétase (GS, EC 6.3.1.2) est une enzyme exprimée de façon ubiquitaire dans les tissus avec une activité élevée dans le foie, le cerveau, le muscle et le rein, et qui est impliquée dans l'épuration de l'ammoniac, les échanges azotés et la synthèse endogène de glutamine. Un déficit héréditaire en glutamine causé par un défaut primaire de la GS n'avait jamais été décrit jusqu'à présent. Nous rapportons les premières observations de déficit héréditaire en GS chez deux nouveau-nés non apparentés d'origine turque. Le patient 1, de sexe masculin, est né de parents cousins germains. Dès la naissance, il a eu un mauvais examen neurologique et est décédé à 2 j de vie d'insuffisance cardiaque et de défaillance multiviscérale. Il présentait une malformation cérébrale très particulière associant une dilatation ventriculaire, une pachygyrie sévère, de grands kystes paraventriculaires et des lésions diffuses marquées de la substance blanche. En outre il avait une discrète dysmorphie faciale, des OGE hypoplasiques, une micromélie avec des rétractions articulaires et sur les radiographies de squelette des métaphyses irrégulières et évasées. Le patient 2, de sexe féminin, a eu également une atteinte neurologique précoce avec des convulsions dès le premier jour de vie et avait une gyration cérébrale très anormale avec des kystes sous-épendymaires. Elle a présenté une défaillance multiviscérale avec une acidose tubulaire rénale, une diarrhée sévère et un rash érythémateux généralisé, et est décédée dans la 4e semaine de vie. Chez les deux patients, le taux de glutamine était effondré ou nul dans le sérum, l'urine et le LCR alors que le taux de glutamate était normal. Les parents avaient un taux de glutamine normal. Une mutation faux-sens localisée dans l'exon 6 du gène de la GS, à proximité du site actif très conservé, a été détectée à l'état homozygote chez chacun des patients (respectivement R324C and R341C). L'activité GS dans les cellules lymphoblastoïdes du patient 1 et dans des cellules COS-7 exprimant la mutation du deuxième patient était effondrée malgré une surexpression de la protéine mutée. Dans chaque cas, les deux parents étaient hétérozygotes pour la mutation correspondante, et l'activité GS dans les cellules lymphoblastoïdes des parents du patient 1 était diminuée à 68 % et 47 % respectivement, ce qui est en accord avec une hérédité autosomique récessive.

Mots-clés : métabolisme des acides aminés, glutamine, glutamine synthétase.

■CO15 / 1064. ANALYSE DE SÉGRÉGATION DE MUTATIONS DE L'ADN MITOCHONDRIAL DURANT LE DÉVELOPPEMENT EMBRYOFŒTAL HUMAIN

J. Steffann (1), N. Gigarel (1), V. Paquis (2), C. Bouchet (1), J. Corcos (1), N. Frydman (3), E. Feyereisen (4), D. Geneviève (1), A. Benachi (5), Y. Dumez (5), G. Tachdjian (3), R. Frydman (3), A. Rötig (1), A. Munnich (1), J.-P. Bonnefont (1)

(1) Service de génétique, Inserm U393, et (5) Service de gynécologie-obstétrique, hôpital Necker-Enfants Malades, 75743 Paris Cedex 15 ; (2) Service de génétique, CHU de Nice, 06202 Nice Cedex 3 ; (3) Service de biologie et génétique de la reproduction, et (4) Service de gynécologie-obstétrique hôpital Antoine-Béclère, 92141 Clamart Cedex

Les maladies héréditaires résultant de mutations de l'ADN mitochondrial (ADNmt) sont des affections souvent graves à taux de récidive élevé en raison de leur mode d'hérédité « maternel ». La gravité variable et le caractère pluritissulaire des atteintes cliniques tiennent en partie à la coexistence de molécules d'ADNmt sain et mutant en proportion variable dans les différents tissus d'un individu (hétéroplasmie). Aucun traitement efficace de ces affections n'étant actuellement disponible, il existe une demande importante en matière de diagnostic prénatal (DPN) et préimplantatoire (DPI) de ces affections, alors que très peu de données sont disponibles dans la littérature. Nous rapportons notre expérience concernant les mutations mt.3243A>G et mt.8993T>G de l'ADNmt. La mutation mt.3243A>G est responsable du syndrome MELAS (encéphalomyopathie, acidose lactique et pertes de connaissance) ou d'un syndrome « surdité-diabète ». La mutation mt.8893T>G est à l'origine des syndromes NARP (neuropathie, ataxie et rétinite pigmentaire) et de Leigh (encéphalopathie, acidose lactique et nécrose des noyaux gris centraux). 1°) 18 DPN (9 MELAS et 9 NARP) ont été réalisés pour 12 femmes à des termes variés de la grossesse (villosités choriales et/ou liquide amniotique). Chez 5 femmes qui ne portaient pas de mutation dans leur sang, l'analyse prénatale n'a pas mis en évidence d'ADNmt mutant. Les 7 enfants nés sont en bonne santé (recul de 3 mois à 7 ans). Sept femmes étaient hétéroplasmiques (10-70 %), et ont bénéficié de 11 DPN. Le taux d'ADN mutant était indétectable dans 2 cas, très élevé dans 4 cas, et intermédiaire (10-65 %) dans 5 cas. Il n'existait pas de concordance entre les taux d'ADNmt mutant maternel et fœtal. Une stabilité apparente des taux à différents stades de grossesse et dans différents tissus a été démontrée chez les 4 fœtus ayant fait l'objet de prélèvements itératifs, en particulier pour les taux extrêmes de mutation (0 ou 95 %). Quatre grossesses ont été interrompues en raison d'un taux d'hétéroplasmie très élevé et l'analyse des différents tissus de 2 produits d'interruption de grossesse (NARP) est en cours. Six enfants sont nés de femmes hétéroplasmiques (ADN mutant variant de 0 à 30 % en prénatal) et sont asymptomatiques avec un recul de 1 à 6 ans. Une grossesse est en cours. Ainsi, un taux d'hétéroplasmie fœtale $\leq$ 30 % des mutations NARP et MELAS semble prédictif d'un pronostic postnatal favorable, sous réserve de l'absence de recul suffisant. 2°) Nous avons réalisé le premier DPI rapporté à ce jour pour une mutation de l'ADNmt, chez un couple dont la femme portait la mutation NARP (17 % dans le sang). Trois embryons ont été obtenus et 2 blastomères ont été analysés pour chaque embryon. Un embryon portait la mutation NARP à un taux d'environ 100 %, alors que l'ADNmt mutant était indétectable chez les 2 autres embryons. Les résultats d'analyse des 2 blastomères étaient concordants pour chaque embryon et le taux d'ADN mutant vérifié sur le reste de l'embryon atteint était de 95 %. Les 2 embryons « sains » ont été transférés, à l'origine d'une grossesse, et la vérification sur liquide amniotique puis sang de cordon n'a pas mis en évidence d'ADN mutant. Cette donnée est en accord avec le résultat d'analyses d'ovocytes de femmes portant la mutation NARP (données personnelles et de la littérature), qui avaient montré soit la présence de taux très élevés de mutation soit l'absence d'ADNmt mutant. Ainsi, les approches de DPN/DPI des mutations NARP et MELAS semblent avoir une valeur prédictive vis à vis du phénotype clinique postnatal ; le DPN conventionnel expose à la difficile interprétation de taux intermédiaires de mutation, ce qui pourrait ne pas être le cas de stades plus précoces (DPI) ; enfin, comme le montre notre étude de ségrégation d'un polymorphisme hétéroplasmique de l'ADNmt à des stades précoces de l'embryogenèse, il est probable que ces résultats ne soient pas extrapolables à d'autres variants de l'ADNmt.

Mots-clés : ADN mitochondrial, diagnostic préimplantatoire, diagnostic prénatal.

■CO16 / 222. LES GAINS DE GLYCOSYLATION SONT RESPONSABLES D'UN LARGE GROUPE DE MALADIES HUMAINES CHIMIQUEMENT COMPLÉMENTABLES

G. Vogt (1), A. Chapgier (1), Kun Yang (1, 2), Nadia Chuzhanova (3, 4), Jacqueline Feinberg (1), Claire Fieschi (1, 5), Stéphanie Boisson-Dupuis (1), Alexandre Alcais (1), Orchidée Filipe-Santos (1), Jacinta Bustamante (1), Ludovic de Beaucoudrey (1), Ibrahim Al-Mohsen (6), Sami Al-Hajjar (6), Abdulaziz Al-Ghonaium (6), Parisa Adimi (7), Mehdi Mirsaeidi (7), Soheila Khalilzadeh (7), Sergio Rosenzweig (8, 17), Oscar de la Calle Martin (9), Thomas R. Bauer (10), Jennifer M. Puck (11), Hans D. Ochs (12), Dieter Furthner (13), Carolin Engelhorn (14), Bernd Belohradsky (14), Davood Mansouri (7), Steven M. Holland (8), Robert D. Schreiber (15), Laurent Abel (1), David N. Cooper (4), Claire Soudais (1), Jean-Laurent Casanova (1, 2, 16)

(1) Laboratory of Human Genetics of Infectious Diseases, University of Paris René Descartes INSERM U550, Necker Medical School, 156, rue de Vaugirard, 75015 Paris, France ; (2) French-Chinese Laboratory of Genomics and Life Sciences, Ruijin Hospital, Shanghai Second Medical University, Shanghai, China ; (3) Biostatistics and Bioinformatics Unit. Cardiff University, Cardiff CF14 4XN, UK ; (4) Institute of Medical Genetics, Cardiff University, Cardiff CF14 4XN, UK ; (5) Department of Immunopathology, Saint Louis Hospital, 75010 Paris, France ; (6) Pediatric Infectious Diseases and Immunology Units, Department of Pediatrics, King Faisal Specialist Hospital & Research Centre, Riyadh, Saudi Arabia ; (7) National Research Institute of Tuberculosis and Lung Diseases, Shaheed Beheshti University of Medical Sciences, Dar-Abad, 19556 Tehran, Iran ; (8) Laboratory of Clinical Infectious Diseases, National Institutes of Health, Bethesda, Maryland 20892, USA ; (9) Service of Immunology, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona, Spain ; (10) National Cancer Institute, National Institutes of Health, Bethesda, Maryland 20892, USA ; (11) National Human Genome Research Institute, National Institutes of Health, Bethesda, Maryland 20892, USA ; (12) Department of Pediatrics, University of Washington, Seattle, Washington 98109, USA ; (13) Department of Pediatrics, Klinikum Wels, 4600 Wels, Austria ; (14) Department of Pediatrics, Hospital for Sick Children, 80337 München, Germany ; (15) Department of Pathology and Immunology, Washington University, Saint Louis, Missouri 63110, USA ; (16) Pediatric Immunology & Hematology Unit, Necker Hospital, 75015 Paris, France ; (17) Present address : Servicio de Inmunologia, Hospital Garrahan, Buenos Aires, Argentina

Les mutations entraînant un gain de glycosylation ont toujours été considérées comme rares et la pathogénicité de la nouvelle chaîne carbohydrate n'a jamais été formellement établie. Nous avons identifié trois enfants présentant le syndrome de susceptibilité mendélienne mycobactérienne qui sont homozygotes pour une mutation faux sens dans le gène de la chaîne 2 du récepteur de l'interferon gamma (IFNGR2) créant un nouveau site de glycosylation sur la protéine IFNgR2. La molécule de carbohydrate ajoutée était à la fois suffisante et nécessaire pour abolir la réponse à l'interféron gamma. Nous avons ensuite criblé *in silico* la banque « Human Gene Mutation Database » afin d'identifier de potentielles mutations faux-sens pouvant entraîner un gain-de-glycosylation ; à partir de 10 047 mutations dans 577 gènes codant pour des protéines circulant à travers la voie sécrétoire, nous avons identifié 142 mutations candidates (~ 1,4 %) dans 77 gènes (~ 13,3 %). Six protéines mutantes choisies aléatoirement pour validation portaient toutes une nouvelle N-glycosylation. De façon inattendue et fascinante, une proportion importante de mutations causales dans les maladies génétiques humaines semblerait donc être liée à la création de nouveaux sites de glycosylations. Leurs effets pathogéniques pourraient être la conséquence directe de l'addition d'une nouvelle chaîne de carbohydrate et non de la modification *per se* de l'acide aminé ouvrant ainsi la voie à une thérapie chimique ciblée.

Mots-clés : glycosylation, génétique, humain.

■CO17 / 321. CORRECTION FONCTIONNELLE EX VIVO DES ÉPIDERMOLYSES BULLEUSES DYSTROPHIQUES RÉCESSIVES PAR EXPRESSION RÉGULÉE DU COLLAGÈNE VII EN UTILISANT UN RÉTROVIRUS SÉCURISÉ

Matthias Titeux (1), Antonia Zanta-Boussif (2), Ariane Rochat (3), Audrey Décha (1), Valérie Pendaries (1), Laure Tonasso (1), Yann Barrandon (3), Olivier Danos (2) et Alain Hovnanian (1, 4)

(1) INSERM U563, Hôpital Purpan, Toulouse, France ; (2) Généthon III, Évry, France ; (3) EPFL-CHUV, Lausanne, Suisse ; (4) Service de génétique médicale, Hôpital Purpan, Toulouse, France

Notre objectif est de développer les phases pré-cliniques essentielles pour une thérapie génique ex vivo des épidermolyses bulleuses dystrophiques récessives (EBDR, OMIM #226600). Les EBDR sont des maladies héréditaires de la peau par perte de fonction du gène COL7A1. Ce gène code le collagène de type VII, le composant des fibres d'ancrage qui forment des structures clef permettant l'adhérence entre l'épiderme et le derme sous-jacent. Les EBDR se manifestent dès la naissance par des décollements bulleux et des complications locales et systémiques qui compromettent le pronostic vital. L'approche choisie utilise un vecteur rétroviral sécurisé (SIN, Self INactivating) pour transférer l'ADNc de COL7A1, sous contrôle de son promoteur endogène, dans les cellules souches épidermiques et dans les fibroblastes dermiques en conservant sa régulation naturelle. Grâce à ce vecteur, nous avons obtenu une grande efficacité de transduction des kératinocytes et de fibroblastes primaires de patients EBDR, sans sélection. Les kératinocytes transduits ont la capacité de former des épithéliums différenciés dans un système de peau équivalente comprenant une matrice de fibrine extraite de plasma humain contenant des fibroblastes corrigés permettant une greffe totalement autologue chez les patients. Nous avons démontré in vivo une expression à long terme du collagène VII recombinant ainsi que la formation de fibres d'ancrage dans ces systèmes de peau équivalente génétiquement corrigés après transplantation chez la souris nude. L'analyse de l'expression de différents marqueurs de la différenciation épidermique révèle que les peaux équivalentes génétiquement corrigées présentent un profil de différenciation normal. Les vecteurs sécurisés utilisés, la spécificité d'expression tissulaire du collagène VII ainsi que les systèmes de peaux équivalentes utilisés constituent des atouts clés en vue d'une application clinique. À terme, celle-ci vise à réaliser, dans les zones les plus sévèrement atteintes, des greffes de peau équivalente constituées de kératinocytes et de fibroblastes autologues génétiquement corrigés.

Mots-clés : thérapie génique, épidermolyse bulleuse dystrophique, collagène VII.

■CO18 / 157. DÉVELOPPEMENT D'UN KINOGRAMME POUR LE CIBLAGE MOLÉCULAIRE DES INHIBITEURS DE KINASES

A. Killian (1), F. Le Pessot (2), F. Di Fiore (3), F. Blanchard (2), A. Lamy (2), G. Raux (1), J.-M. Flaman (1), B. Paillot (3), R. Sesboüé (1), P. Michel (3), J.-C. Sabourin (1, 2), T. Frebourg (1, 2)

(1) Inserm U614, Faculté de Médecine de Rouen ; (2) Laboratoire de Génétique Somatique des tumeurs, Service d'Anatomie et de Cytologie Pathologiques, CHU de Rouen ; (3) Service d'Hépato-Gastroentérologie, CHU de Rouen

Le développement des thérapeutiques ciblées sur les protéines kinases constitue une avancée majeure dans le traitement des cancers. Des études récentes ont révélé que des altérations activatrices telles que les mutations ponctuelles ou l'augmentation du nombre de copies des gènes codant pour les protéines kinases étaient probablement des marqueurs prédictifs de la réponse au traitement, beaucoup plus fiables que l'immunohistochimie. Dans le but de faciliter la détection, en routine, de l'amplification des gènes codant pour les principales kinases ciblées, nous avons développé une nouvelle méthode, le kinogramme. Le kinogramme est basée sur une version somatique de la QMPSF (Quantitative Multiplex PCR of Short fluorescent Fragments). Nous avons sélectionné 16 gènes codant pour des kinases, contre lesquelles des inhibiteurs ont été déjà développés par l'industrie pharmaceutique : RAF1 (3p25), PDGFRA (4q12), KDR (4q12), KIT (4q12), PDGFRB (5q31), EGFR (7p12), MET (7q31), FGFR1 (8p11), PTK2 (8q24), MAP2K1 (15q21), IGF1R (15q26), PLK1 (16p12), AURKB (17p13), ERBB2 (17q21), MAP2K2 (19p13) et AURKA (20q13.2-q13.3). Nous avons amplifié simultanément, en un seul tube, 16 courts fragments exoniques correspondant à ces 16 gènes en utilisant des conditions quantitatives de PCR et des amorces marquées par un fluorochrome. Nous avons également intégré dans cette QMPSF 2 gènes contrôles PCBD2 (5q31.1) et HMBS (11q23). Après migration électrophorétique sur séquenceur automatique, pour chaque patient, le profil de QMPSF ou « kinogramme » obtenu à partir du tissu tumoral a été superposé à celui obtenu à partir du tissu non tumoral colique. Nous avons étudié un total de 58 tumeurs colorectales. Dans une majorité de tumeur (36/58), nous avons détecté une augmentation du nombre de copies d'au moins un des 16 gènes étudiés. En particulier, une augmentation du nombre de copies des gènes AURKA, PTK2, MET et EGFR a été détecté dans 48, 36, 33 et 28 % des tumeurs, respectivement. De façon inattendue, nous avons mis en évidence une augmentation du nombre de copies de plus d'un gène codant pour une kinase ciblée dans 27 tumeurs (46,5 %). En particulier, l'amplification concomitante de EGFR, AURKA et MET ont été observée dans 22 % des tumeurs analysées. Ce kinogramme permet de détecter en routine l'amplification des gènes codant pour les kinases contre lesquelles des thérapeutiques ciblées sont utilisées ou en cours de développement. Cette étude révèle que les gains de copies de gènes codant pour des kinases ciblées sont beaucoup plus fréquents que les mutations ponctuelles. Sous réserve que l'amplification de ces cibles soit prédictive de la réponse au traitement, cette méthode devrait faciliter le ciblage moléculaire des patients devant bénéficier de ces nouveaux traitements. D'autre part, l'amplification simultanée de plusieurs cibles, dans une tumeur, est un argument moléculaire en faveur de la combinaison de thérapeutiques ciblées dans les cancers.

Mots-clés : kinase, QMPSF, kinogramme.

3
COMMUNICATIONS ORALES
SESSIONS SIMULTANÉES

1. Session Simultanée « Génétique Moléculaire »

■CO19 / 250. RÉSEAU « MALADIES MITOCHONDRIALES » : ÉTUDE RÉTROSPECTIVE DU NOMBRE DE PATIENTS DIAGNOSTIQUÉS SUR LE PLAN MOLÉCULAIRE DURANT LA PÉRIODE 1988-2004

P. Amati-Bonneau (1), S. Allouche (2), C. Batandier (3), J.-M. Begue (4), C. Bellanné-Chantelot (5), G. Briand (6), M. Brivet (7), P. Clerc-Renaud (8), O. Douay (1), V. Dumur (6), D. Feldmann (9), P. Frachon (10), C. Godinot (11), C. Jardel (12), P. Lestienne (13), T. Letellier (14), A. Lombès (10), J. Lunardi (3), M. Malgat (14), Y. Malthièry (1), C. Marsac (15), M.-L. Martin-Negrier (16), J.-P. Mazat (14), M.-F. Montfort (17), B. Mousson de Camaret (8), V. Paquis-Fluckinger (18), P. Reynier (1), R. Rossignol (14), A. Rötig (19), P. Rustin (20), G. Simard (1), A. Slama (7), G. Stepien (21), D. Sternberg (12), S. Tapia (22)
(1) Laboratoire de Biochimie et Biologie Moléculaire, CHU d'Angers ; (2) Laboratoire de Biochimie et Biologie Moléculaire, CHU de Caen ; (3) Laboratoire de Biochimie et Biologie Moléculaire, CHU de Grenoble ; (4) Laboratoire de Biochimie et Biologie Moléculaire, CHU de Rennes ; (5) Service de Cytogénétique, Hôpital St-Antoine, Paris ; (6) Laboratoire de Biochimie et Biologie Moléculaire, CHU de Lille ; (7) Service de Biochimie A, Hôpital du Kremlin-Bicêtre, Paris ; (8) Laboratoire de Biochimie Pédiatrique, Hôpital Debrousse, CHU de Lyon ; (9) Laboratoire de Biochimie, Hôpital A. Trousseau, Paris ; (10) INSERM U582, CHU de la Pitié-Salpêtrière ; (11) CNRS-UMR 5534, Lyon ; (12) Laboratoire de Biochimie et Biologie Moléculaire, CHU de la Pitié-Salpêtrière ; (13) CNRS FRE 2618, Bordeaux INSERM ; (14) INSERM U688, Bordeaux ; (15) Laboratoire CERTO, CHU Necker, Paris ; (16) Laboratoire d'Anatomie Pathologique, CHU de Bordeaux ; (17) Laboratoire de Biochimie et Biologie Moléculaire, CHU de Marseille ; (18) Laboratoire de Génétique, CHU de Nice ; (19) INSERM U393, CHU Necker, Paris ; (20) INSERM U676, Hôpital Robert-Debré, Paris ; (21) INSERM U484, Clermont-Ferrand ; (22) Laboratoire Pasteur-Cerba, Cergy-Pontoise

Le réseau « Maladies Mitochondriales » regroupe l'ensemble des biologistes français impliqués dans l'étude des déficits de la chaîne respiratoire et de la pyruvate déshydrogénase ainsi que trois associations de malades. Il a été crée en 2000, bénéficie du soutien du GIS – Institut des maladies rares, de l'AFM et de l'Association contre les maladies mitochondriales (AMMi). Il constitue l'une des cinq composantes du réseau national « maladies neurologiques, musculaires, neurosensorielles et retards mentaux » financé par la DHOS. Les objectifs du réseau sont l'organisation du contrôle de qualité, la création d'un registre des maladies mitochondriales, l'évaluation des nouvelles technologies diagnostiques telles les puces de séquençage de l'ADNmt et l'organisation de journées thématiques destinées à la diffusion des connaissances sur ce groupe de pathologies particulièrement vaste, hétérogène et évolutif. Peu de données épidémiologiques sont aujourd'hui disponibles pour estimer la prévalence des pathologies de la chaîne respiratoire. Les études les plus récentes suggèrent qu'elle pourrait se situer entre 1/3 500 et 1/8 000 individus en Europe.
Durant la période 1988-2004, les membres de notre réseau ont diagnostiqué sur le plan moléculaire 1 912 malades dont 1 658 porteurs de mutations de l'ADNmt et 254 porteurs de mutations de l'un des gènes nucléaires actuellement explorés. La répartition de ces malades par type de mutation est la suivante : 23 % pour la mutation 3243A>G (MELAS et diabète mitochondrial), 23 % pour les délétions de l'ADNmt (myopathies oculaires, syndrome de Kearns-Sayre, maladie de Pearson, myopathies), 2,6 % pour la mutation 8993T>C/G (NARP et syndrome de Leigh), 1,5 % pour la mutation 8344A>G (MERRF), 0,4 % pour les déplétions de l'ADNmt, 2,3 % pour les gènes nucléaires de maintenance de l'ADNmt, 2,6 % pour les gènes nucléaires de structure et d'assemblage des complexes de la chaîne respiratoire (syndrome de Leigh) et 2,6 % pour les mutations des gènes de la PDH (syndrome de Leigh). Enfin, 36 % des patients sont atteints de neuropathies optiques héréditaires en rapport avec des mutations de l'ADNmt (neuropathie optique héréditaire de Leber) ou du gène OPA1 (atrophie optique autosomale dominante) et 5,6 % des patients sont porteurs de diverses mutations rares de l'ADNmt incluant celles en rapport avec les surdités mitochondriales. On considère à ce jour que moins de 20 % des patients atteints d'un déficit de la chaîne respiratoire bénéficient d'un diagnostic moléculaire car l'étude exhaustive de l'ADNmt, qui devrait tendre à se généraliser, est rarement réalisée, tandis que les gènes nucléaires responsables de ces maladies sont potentiellement très nombreux et demeurent relativement peu connus et peu explorés. Cette étude, la première à être réalisée à l'échelle d'un pays, constitue pour notre réseau la première étape avant la mise en place au cours de l'année 2006 d'un registre des maladies mitochondriales intégrant les données cliniques, biochimiques et moléculaires.

Mots-clés : pathologie mitochondriale, diagnostic moléculaire, réseau diagnostic.

■CO20 / 124. LES MICROREMANIEMENTS DÉTECTÉS PAR QMPSF, MLPA ET CGHARRAY REPRÉSENTENT UN MÉCANISME FRÉQUENT DE L'HOLOPROSENCÉPHALIE : NOUVELLES STRATÉGIES DIAGNOSTIQUES

Claude Bendavid (1-3), Christèle Dubourg (1-3), Isabelle Gicquel (1), Laurent Pasquier (2), Marie-Renée Durou (3), Stéphanie Mottier (1), Sylvie Jaillard (4), Catherine Henry (4), Sylvie Odent (2), Véronique David (1-3)
(1) UMR 6061 CNRS, Faculté de Médecine, Rennes ; (2) Service de Génétique Médicale, CHU Rennes ; (3) Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHU Rennes ; (4) Laboratoire de Cytogénétique, CHU de Rennes

L'holoprosencéphalie (HPE) est l'une des malformations cérébrales les plus fréquentes (1/16 000 naissances vivantes ; 1/250 produits d'avortements) et résulte d'un défaut de clivage médian du cerveau antérieur. L'analyse moléculaire des 4 gènes majeurs (SHH, ZIC2, SIX3, TGIF) par dHPLC et QMPSF a mis en évidence 14 % de mutations ponctuelles et 8,5 % de microdélétions chez les fœtus HPE à caryotypes normaux ; chez les sujets HPE nés vivants, ces anomalies représentent respectivement 23 % et 4,5 % des cas. Cette fréquence des microdélétions dans les gènes connus de l'HPE semblait dès lors ouvrir une approche prometteuse pour la recherche de nouveaux gènes candidats par cartographie délétionnelle. Du fait que deux des gènes majeurs (SHH et TGIF) ainsi que six autres loci candidats connus pour l'HPE sont en position subtélomérique, nous avons émis l'hypothèse que des microremaniements situés dans toute région subtélomérique pourraient être responsables d'HPE. C'est pourquoi nous avons mis en œuvre une technique de PCR quantitative, la MLPA (Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification), et utilisé le kit « SALSA P036B Human Telomers » (MRC Holland) pour étudier une cohorte de 70 fœtus et 120 enfants nés vivants. Cette étude nous a permis de démontrer l'existence de microdélétions et/ou duplications subtélomériques chez les patients HPE non seulement dans les régions déjà connues (7q, 18p, 1q, 20p, 21q), mais aussi dans les subtélomères 1p, 5q, 7p, 8p, 9q, 16p, 17q, 18q, 22q, et dans la zone subcentromérique 15q. Ces résultats ont secondairement été confirmés par l'utilisation du kit « SALSA P070 Human Telomers » (MRC Holland) ciblant des séquences adjacentes à celles du kit P036B, et par FISH subtélomérique quand des lignées cellulaires étaient disponibles. Nous présenterons également l'approche par PCR quantitative multiplexe utilisée pour borner certaines de ces régions, notamment en 7q, 7p et 1p, ainsi que nos résultats préliminaires obtenus par CGH array. Plusieurs cas présentent l'association d'une duplication et d'une délétion sur deux extrémités subtélomériques différentes, comme (7pdel ;7qdup). La présence de ces doubles réarrangements chez un même individu conforte l'hypothèse multigénique déjà évoquée pour l'holoprosencéphalie et apporte un nouvel argument génotypique à la grande variabilité phénotypique observée dans cette pathologie.
Ces résultats renforcent la nécessité d'intégrer la recherche de microdélétions dans le diagnostic de l'holoprosencéphalie et la pertinence d'une approche pangénomique par CGH array pour identifier les loci de nouveaux gènes candidats.

Mots-clés : holoprosencéphalie, microremaniements, MLPA.

■CO21 / 202. UNE PUCE À ADN DE RE-SÉQUENÇAGE POUR LE DÉPISTAGE MOLÉCULAIRE RAPIDE ET EFFICACE DE LA CARDIOMYOPATHIE HYPERTROPHIQUE

S. Fokstuen (1), R. Lyle (1), A. Munoz (1), C. Gehrig (1), R. Lerch (2), J. Sztajzel (2), F. Mach (2), M. Beghetti (3), W.J. McKenna (4), A. Perrot (5), K.J. Osterziel (5), S.E. Antonarakis (1), U. Sigwart (2), J.-L. Blouin (1)
(1) Service de Génétique Médicale, Hôpitaux Universitaires de Genève ; (2) Service de Cardiologie, Hopitaux Universitaires de Genève ; (3) Unité de Cardiopédiatrie, Hopitaux Universitaires de Genève ; (4) The Heart Hospital, University College London ; (5) Charité, Universitätsmedizin Berlin

La cardiomyopathie hypertrophique (CMH) est une maladie autosomique dominante caractérisée par une hypertrophie asymétrique du ventricule gauche prédominant sur le septum interventriculaire. La prévalence chez le jeune adulte est estimée à environ 1/500. La pénétrance est incomplète et l'expression clinique très variée. La gravité de la CMH est représentée par le risque de mort subite qui peut constituer la première manifestation de la maladie. Au niveau moléculaire la CMH est caractérisée par une hétérogénéité génétique et allélique très importante. À ce jour différentes mutations ont été identifiées dans au moins 14 gènes. Ceci rend la recherche de mutations par les méthodes classiques d'analyse moléculaire sérielle particulièrement longue et laborieuse. Le développement récent des puces à ADN de re-séquençage permet d'analyser simultanément plusieurs gènes. Nous avons développé une telle puce pour le dépistage moléculaire rapide et efficace de la CMH. Notre puce contient tous les exons codants (160), sites d'épissage et régions promotrices de 12 gènes mutés dans la CMH. Nous présentons les résultats d'une série de 40 patients atteints de CMH. L'âge moyen est de 44 ans (2-73 ans), 38 % ont une anamnèse familiale positive pour la CMH, l'épaisseur moyenne du septum interventriculaire se situe à 21 mm (15-33 mm) et 50 % présentent un gradient au repos. Le « call rate » était de 95 % pour un total de 25 087 paires de bases double brin par puce. Nous avons identifié un total de 129 variants dont 64 se trouvent uniquement chez un seul patient. L'évaluation à ce jour de ces variants met en évidence plusieurs mutations faux-sens et non-sens connues (surtout dans les gènes MYH7 et MYBPC3) ou de novo, des mutations d'épissage ainsi que des mutations dans des promoteurs. Nous avons également hybridé avec succès un assemblage d'amplicons contrôles contenant des mutations préalablement identifiées chez des patients. L'ensemble de ces résultats indique que la puce à ADN de re-séquençage est une méthode très prometteuse de diagnostic moléculaire de la CMH. Elle devrait permettre une détection rapide, efficace et peu onéreuse des substitutions nucléotidiques qui représentent 87 % de toutes les mutations retrouvées dans la CMH. L'évaluation ultérieure et la validation de l'outil sont actuellement en cours.

Mots-clés : cardiomyopathie hypertrophique, puce à ADN de re-séquençage, diagnostic moléculaire.

■CO22 / 395. RPGR, UN NOUVEAU GÈNE RESPONSABLE DE DYSKINÉSIE CILIAIRE (DCP), IMPLIQUÉ CHEZ DES PATIENTS PRÉSENTANT UNE DCP ASSOCIÉE À UNE RÉTINITE PIGMENTAIRE

Anne Moore (1, 2), Estelle Escudier (2, 3), Gilles Roger (4), Aline Tamalet (5), Béatrice Pelosse (6), Sandrine Marlin (4), Annick Clément (5), Maciej Geremek (7), Bertrand Delaisi (8), Anne-Marie Bridoux (1), André Coste (2), Michal Witt (7), Bénédicte Duriez (1), Serge Amselem (1)
(1) Inserm U654 ; (2) Inserm U651, Hôpital Henri-Mondor, Créteil ; (3) Département de Génétique-Cytogénétique-Embryologie, Groupe hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris ; (4) Service d'Oto-Rhino-Laryngologie ; (5) Service de Pneumologie Pédiatrique ; (6) Service d'Ophtalmologie, Hôpital Trousseau, Paris ; (7) Institute of Human Genetics, Polish Academy of Sciences, Poznañ, Pologne ; (8) Service de Gastro-entérologie-Mucoviscidose et Nutrition Pédiatriques, Groupe Hospitalier Universitaire Robert Debré

Les dyskinésies ciliaires primitives (DCP) sont des maladies génétiques rares, principalement transmises selon un mode autosomique récessif, et caractérisées par des infections chroniques des voies aériennes dues à des défauts de la structure et de la fonction des cils. À ce jour, seuls deux gènes codant des chaînes de dynéine, DNAI1 et DNAH5, ont été impliqués chez quelques individus atteints d'une DCP caractérisée par une absence des bras de dynéine externes touchant la totalité des cils.
Nous avons étudié une famille non consanguine dans laquelle deux frères présentent une DCP – diagnostiquée durant l'enfance et caractérisée par des défauts partiels des bras de dynéine – associée à une rétinite pigmentaire (RP) qui s'est déclarée secondairement, alors que leur mère présente des signes patents de RP. L'existence d'une structure axonémale dans les photorécepteurs et dans les cils respiratoires suggère que certains gènes responsables de RP pourraient également être impliqués dans les DCP. À cet égard, le gène RPGR localisé au locus RP3 (Xp21.1), principal locus des RP liées à l'X (XLRP), code une protéine localisée au niveau du cil connecteur des photorécepteurs et à la base des cils dans les cellules ciliées respiratoires.
Une analyse de liaison, réalisée à l'aide de marqueurs microsatellites associés au locus RP3, a révélé une parfaite ségrégation de ces marqueurs avec le phénotype pathologique. Les 19 exons de RPGR ont alors été séquencés, révélant l'existence, chez les deux frères, d'une délétion de 48 pb emportant la fin de l'exon 6 et le site donneur d'épissage adjacent (630_IVS+9del). Cette mutation, jamais décrite chez des patients souffrant de XLRP, est présente à l'état hétérozygote chez la mère de ces enfants. Dans le but d'étudier le retentissement de cette délétion intragénique sur l'épissage des transcrits RPGR, les transcrits, obtenus à partir d'ARN totaux provenant d'un brossage nasal réalisé chez un des deux garçons, ont été amplifiés par RT-PCR. Le séquençage des ADNc correspondant à la région encadrant l'exon 6 a permis de montrer l'activation d'un site cryptique d'épissage localisé dans cet exon, en amont du site physiologique et qui, si les transcrits sont traduits, entraînerait la synthèse d'une protéine sévèrement tronquée (192 acides aminés au lieu de 815).
RPGR est donc un nouveau gène responsable de DCP ; les patients présentent un phénotype complexe associant une DCP – caractérisée par des défauts ciliaires partiels – à une RP. Ces résultats, qui soulignent l'importance de RPGR dans le développement des structures axonémales des cellules ciliées respiratoires et des photorécepteurs, ont des conséquences cliniques importantes : les signes ophtalmologiques caractéristiques des RP doivent être recherchés chez les patients atteints de DCP et inversement, des signes évocateurs de DCP doivent être recherchés chez les patients atteints de RP. Par ailleurs, ces résultats apportent la première démonstration claire d'une transmission liée à l'X des DCP, une nouvelle donnée à prendre en compte pour le conseil génétique apporté aux familles atteintes de DCP ou de RP.

Mots-clés : dyskinésie ciliaire primitive, rétinite pigmentaire, cil.

■CO23 / 406. TRAFIC INTRACELLULAIRE ANORMAL ET MUTATIONS DANS LE COMPLEXE COG (CONSERVED OLIGOMERIC GOLGI) DÉFINISSENT UN NOUVEAU GROUPE DE MALADIES CONGÉNITALES DE GLYCOSYLATION (CDG)

Matthijs Gert (1), Foulquier François (1), Zeevaert Renate (1, 2), Jaeken Jaak (2), Ungar Daniel (3), Krieger Monty (4), Annaert Wim (5)
(1) Center for Human Genetics and (2) Center for Metabolic Diseases, University of Leuven, Belgium ; (3) Dept. of Molecular Biology, Princeton University NJ, USA ; (4) Biology Dept., Massachusetts Institute of Technology (MIT), Cambridge MA, USA ; (5) Membrane Trafficking Laboratory, Flanders Interuniversity Institute for Biotechnology (VIB) and University of Leuven, Belgium

Les maladies Congénitales de Glycosylation, dénommées CDG, sont un groupe de maladies génétiques rares, caractérisées par des déficiences dans de nombreuses enzymes, transporteurs ou autres protéines fonctionnelles impliquées dans la voie de glycosylation. Jusqu'à aujourd'hui, plus de 15 déficiences ont été décrites principalement au niveau du reticulum endoplasmique (type I), et également dans l'appareil de Golgi (type II). Cependant, alors que ces CDG ont des déficiences au niveau des gènes qui produisent les protéines impliquées directement dans la voie de glycosylation, de récents travaux ont montré que ces anomalies pouvaient également être dues à un trafic intracellulaire anormal de certaines glycosyltransférases et transporteurs golgiens. En effet, la fonction de l'appareil de Golgi est dépendante de la localisation correcte des enzymes de glycosylation ainsi que d'autres protéines résidentes. Le complexe COG (Conserved Oligomeric Golgi) joue un rôle clef dans le transport vésiculaire. Nous avons identifié deux patients atteints de CDG type II avec deux déficiences différentes dans les sous unités COG (COG1 et COG8). Ces patients ont une maladie multi-systémique avec une atteinte neurologique plus ou moins sévère. Nous avons démontré que les mutations responsables déstabilisent les autres sous unités de ce complexe, et par conséquent, l'intégrité globale du complexe COG, et qu'elles affectent la localisation de certaines glycosyltransférases golgiennes. Nous concluons que les déficiences dans ce complexe défininssent un nouveau groupe de pathologies de glycosylation.

Mots-clés : glycosylation, golgi complex, metabolic disease.

■CO24 / 388. LA SUMOYLATION DU FACTEUR DE TRANSCRIPTION SOX10 MODULE SON ACTIVITÉ TRANSCRIPTIONNELLE

Mathilde Girard, Michel Goossens
INSERM U654, Créteil, France

SOX10 est un facteur de transcription de la famille des facteurs SOX. Il est exprimé par les cellules de crête neurale au moment de leur émergence, puis par leurs dérivés formant les ganglions sensoriel, sympathique et entérique, les melanocytes et les cellules gliales du système nerveux. Des mutations hétérozygotes de SOX10 sont à l'origine du syndrome de Waardenburg de type IV (WS4), associant la maladie de Hirschsprung (aganglionose intestinale) et le syndrome de Waardenburg (défauts de pigmentation et surdité neuro-sensorielle). L'observation chez certains patients WS4 d'un phénotype neurologique périphérique et/ou central a amené la définition du syndrome PCWH, pour « Peripheral demyelinating neuropathy, Central dysmyelinating leukodystrophy, Waardenburg

syndrome and Hirschsprung disease ». La réalisation d'un crible double hybride a révélé un aspect insoupçonné de la régulation de SOX10 : la sumoylation. La sumoylation est une modification post-traductionnelle hautement dynamique consistant en l'attachement d'un petit peptide, SUMO, à une protéine cible. Cette modification a diverses conséquences fonctionnelles sur les protéines cibles et affecte entre autres la stabilité, l'activité et la localisation de facteurs de transcription spécifiques. La sumoylation se produit sur un site consensus de type psiKXE où psi indique un acide aminé hydrophobe, K est la lysine d'attachement de SUMO et E est un glutamate. La protéine SOX10 a trois sites potentiels de sumoylation, tous sont fonctionnels et permettent la sumoylation de SOX10 in vivo. La sumoylation n'affecte pas la localisation sub-cellulaire de SOX10, mais module son activité transcriptionelle. En effet, la mutation des trois sites de sumoylation de SOX10 augmente de manière significative l'activation transcriptionelle de deux de ses gènes cibles, GJB1 (codant la connexine32) et MITF. La sumoylation de SOX10 semble avoir différentes conséquences sur sa fonction selon le site d'attachement de SUMO. La sumoylation module les interactions de la protéine SOX10, incluant sa propre dimérisation et son interaction avec ses cofacteurs EGR2 et PAX3. La sumoylation est la première modification post-traductionnelle décrite pour SOX10 qui permet une régulation fine de sa fonction, en accord avec les rôles multiples attribués à ce facteur. Ce travail permet de mieux comprendre la fonction de SOX10 au niveau moléculaire et révèle un nouvel aspect de sa régulation.

Mots-clés : SOX10, SUMO, régulation transcriptionnelle.

■CO25 / 1130. PHOX2B ET SYNDROMES DYSAUTONOMIQUES CHEZ L'HOMME : CORRÉLATION GÉNOTYPE/PHÉNOTYPE ET CONSÉQUENCES FONCTIONNELLES

Delphine Trochet (1), Seok Jong Hong (2), Jin Kyu Lim (2), Jean-François Brunet (3), Arnold Munnich (1), Kwang-Soo Kim (2), Stanislas Lyonnet (1), Christo Goridis (3), Jeanne Amiel (1)

(1) Université Paris-Descartes, Faculté de Médecine ; INSERM ; AP-HP, Hôpital Necker-Enfants Malades, INSERM U393 ; (2) Molecular Neurobiology Laboratory, MRC 216, McLean Hospital, Harvard Medical School, Belmont, Massachussetts, USA ; (3) CNRS UMR 8542, Département de Biologie, École Normale Supérieure, Paris

Le développement du système nerveux autonome qui contrôle les fonctions végétatives est sous la dépendance du facteur de transcription à homéodomaine PHOX2B. Chez la souris invalidée pour ce gène, les structures du système nerveux autonome sont absentes. Chez l'homme, nous avons identifié des mutations hétérozygotes du gène PHOX2B dans plusieurs dysautonomies isolées ou associées selon des combinaisons variables : hypoventilation alvéolaire centrale congénitale (HVACC ou syndrome d'ondine) ou retardée (HVAC), maladie de Hirschsprung (MH), et tumeurs du système nerveux sympathique (ganglioneurome et neuroblastome). Les mutations identifiées se répartissent en trois types : i) expansion au sein d'une série de 20 alanines variant + 5 à + 13 alanines, ii) mutations décalant le cadre de lecture, iii) mutations faux sens de l'homéodomaine. Les mutations par expansion d'alanines sont toujours associées à un phénotype ventilatoire et représentent 95 % des mutations identifiées dans l'HVACC isolée ou syndromique. La sévérité du phénotype ventilatoire est corrélée à la taille de l'expansion dans la mesure où les patients présentant une forme retardée d'HVAC ont, jusqu'à maintenant, toujours une expansion de + 5 alanines lorsqu'une mutation est identifiée. De plus, la dépendance ventilatoire est plus sévère chez les patients présentant une expansion de grande taille. Enfin, les patients présentant l'association HVACC+MH n'ont jamais d'expansion de + 5 alanines et présentent soit une expansion (de + 6 à + 13 alanines) soit des mutations « décalage de phase ». Les mutations par expansion d'alanines ont déjà été identifiées dans 8 autres pathologies du développement chez l'homme, elles ont pour conséquence une agrégation cytoplasmique et/ou nucléaire de la protéine. En revanche, la fonction physiologique des séries d'alanine est inconnue à ce jour. Les mutations décalant le cadre de lecture sont plus rares (6 %) et peuvent être identifiées chez des patients ne présentant pas de phénotype ventilatoire, elles prédisposent au phénotype tumoral. Afin de mieux comprendre les conséquences moléculaires de ces 3 types de mutations, nous avons étudié la capacité des protéines mutées à lier et à transactiver le promoteur de la dopamine-beta-hydroxylase (DBH, cible transcriptionnelle directe de PHOX2B) par retard sur gel et dosage de l'activité luciférase. Les protéines mutantes résultant de mutations par décalage de phase ou de mutation faux sens de l'homéodomaine sont stables et localisées dans le noyau mais la trans-activation et la liaison à l'ADN sont abolies. L'activité trans-activatrice des mutants avec expansion d'alanines diminue proportionnellement à l'augmentation de la taille de l'expansion. Ces résultats sont corrélés à la formation d'oligomères par les protéines mutantes observée par gel filtration. De plus, par immunofluorescence nous montrons que les expansions de + 9 alanines et au delà s'agrègent dans le cytoplasme jusqu'à entraîner une exclusion nucléaire de la protéine pour la mutation de + 13 alanines. Le traitement des cellules par la Geldanamycine, une drogue stimulant les « heat shock proteins » (HSP) diminue significativement le nombre et la taille des agrégats. La protéine PHOX2B-+13 alanines n'exerce pas d'effet dominant négatif majeur sur la protéine sauvage puisque la co-transfection avec la protéine sauvage montre une activité luciférase semblable à celle de la protéine sauvage seule. De plus, le facteur de transcription PHOX2A, paralogue de PHOX2B et interagissant avec lui par hétérodimerisation, n'est pas localisé au sein des agrégats cytoplasmiques en immunofluorescence. En conclusion, tous les types mutationnels entraînent une perte de trans-activation partielle ou totale du promoteur de la DBH. Cependant, nous ne pouvons pas exclure un gain de fonction ou une toxicité cellulaire pour les mutations par expansion d'alanines.

Mots-clés : système nerveux autonome, PHOX2B, polyalanine.

■CO26 / 1099. LA MUTATION c.892C>T DU GÈNE LMNA DANS LA MALADIE DE CHARCOT-MARIE-TOOTH DE TYPE 2B1 : EFFET FONDATEUR ET MÉCANISMES PATHO-PHYSIOLOGIQUES

Y. Poitelon (1), T. Hamadouche (1), A. De Sandre-Giovannoli@ (2), E. Genin (3), M. Tazir (4), M. Chaouch (5), D. Grid (6), N. Serradj (7), S. Kozlov (8), M. Jamon (7), C. Stewart (8), V. Delague (1) et N. Lévy (1, 2)

(1) Inserm U491, Faculté de Médecine de Marseille, Marseille, France ; (2) Département de Génétique Médicale, Hôpital d'enfants de la Timone, Marseille, France ; (3) INSERM U535, Hôpital Paul-Brousse, Villejuif, France ; (4) Service de Neurologie, Centre Hospitalier Universitaire Mustapha ; (5) Service de Neurologie, Centre Hospitalier Universitaire de Ben-Aknoun, Alger, Algeria ; (6) Généthon III, Évry, France ; (7) Génomique Fonctionnelle, Pathologies, Comportements, P3M, UMR CNRS Marseille, France ; (8) Cancer and Developmental Biology Lab, National Cancer Institute, Frederick

Le gène LMNA code les Lamines de type A, dont les deux isoformes majeures sont les Lamines A et C. Ces protéines ubiquitaires sont les principaux constituants de la lamina nucléaire, réseau filamenteux accolé à la face interne de la membrane nucléaire. Neuf pathologies ont été associées à des mutations du gène LMNA. Elles sont regroupées sous le terme de laminopathies, et peuvent être des affections systémiques ou bien spécifiques d'un seul tissu. La maladie de Charcot-Marie-Tooth de type 2B1, polyneuropathie périphérique axonale à transmission autosomique est l'une de ces laminopathies, car elle est due à la mutation c.892C>T dans l'exon 5 du gène LMNA. Cette mutation est actuellement la seule a provoquer une neuropathie de façon isolée. Cette pathologie a été essentiellement identifiée dans une région restreinte dans la partie nord-occidentale de l'Algérie, et à partir des quatre familles consanguines ayant permis d'identifier la mutation, nous avons génotypé les marqueurs flanquant la mutation c.892C>T. Nous avons pu établir qu'il s'agit d'une mutation fondatrice apparue entre 353 et 628 ans après J.-C. D'autre part, nous avons essayé d'avancer dans la compréhension des mécanismes patho-physiologiques spécifiquement impliqués dans la pathogenèse de cette neuropathie. Pour cela, nous avons utilisé dans un premier temps des cultures de cellules humaines d'un patient et dans un second temps un modèle murin Knock-In porteur de la mutation LMNA c.892C>T. À partir de cultures de fibroblastes et de cellules lymphoblastiques humaines, nous avons focalisé notre étude sur les deux fonctions majeures des Lamines : leur rôle dans le maintien de la structure nucléaire et leur rôle dans la régulation de l'expression génique. Nos observations ont montré que les noyaux des fibroblastes de patients CMT2B1 ne présentaient pas les anomalies nucléaires caractéristiques de nombreuses autres laminopathies. En revanche, nous avons étudié l'expression génique via des plaques microfluidiques (LDA) spécifiquement dédiées à l'étude de cette pathologie. Nous avons observé une diminution significative de l'expression du gène LMNA dans les cellules lymphoblastiques. Nous avons également remarqué que différents gènes physiologiquement exprimés sous le contrôle d'un promoteur contenant un élément de réponse au sérum (SRE) étaient dérégulés : les gènes des familles FOS, JUN et EGR. Parallèlement à la diminution d'expression de ces gènes, on observe une augmentation de l'expression d'autres gènes régulés par le facteur de différentiation adipocytaire SREBP1 : HMGCR (3-hydroxy-3-methylglutaryl-Coenzyme A réductase) et PPARG (peroxisome proliferative activated receptor, gamma). Ces données suggèrent que l'interaction entre les Lamines A/C et SREBP1 serait perturbée, permettant ainsi à SREBP1 d'activer la transcription de ses cibles de façon plus importante. On peut donc supposer que ces cibles, si elles sont plus actives, induisent une diminution de la liaison du facteur de réponse au sérum (SRF) sur ces séquences cibles : les SRE, et que la sous-expression des

gènes sous le contrôle d'un SRE influe sur la survie neuronale. Enfin, concernant le modèle KI, les analyses comportementales, morphologiques et fonctionnelles sont encore en cours afin de déterminer les différents aspects phénotypiques qui caractérisent ce modèle. Les résultats seront discutés en regard des observations obtenues à partir des cellules de patients.

Mots-clés : laminopathie, Charcot-Marie-Tooth, CMT2B1.

2. Session Simultanée « Génétique Clinique »

■CO27 / 1158. IDENTIFICATION DES MUTATIONS DU PROTO-ONCOGÈNE HRAS CHEZ UNE SÉRIE DE PATIENTS PORTEURS D'UN SYNDROME DE COSTELLO : UNE ÉTUDE COLLABORATIVE

Sigaudy Sabine (1), Delrue Marie-Ange (2), Annachiara Desandre-Giovannoli (1), Amandine Boyer (1), Marianne Till (3), Albert David (4), Gabriel Vittu (5), Alain Verloes (6), Raoul Hennekam (7), Delphine Héron (8), Sylvie Odent (9), Bruno Leheup (10), Laurence Faivre (11), Odile Boutte (12), Arnold Munnich (13), Didier Lacombe (2), Nicole Philip (1), Nicolas Lévy (1), Benoit Arveiller (2)

(1) Département de Génétique Médicale, Hôpital Timone Enfant, Marseille ; (2) Service de Génétique Médicale, CHU Pellegrin-Enfant, Bordeaux ; (3) Service de Génétique, Hôpital Debrousse, Lyon ; (4) Service de Génétique Médicale, Hôtel Dieu, Nantes Cedex 1 ; (5) Clinique Médicale Infantile, Hôpital Saint-Antoine, Lille ; (6) Service de Génétique, Hôpital Robert-Debré, Paris, France ; (7) Department of Pediatrics and Clinical Genetics, Academic Medical Center, Amsterdam, The Netherlands ; (8) Service de Génétique, Hôpital de La Salpétrière, Paris ; (9) Service de Génétique Médicale, Hôpital SUD, Rennes ; (10) Service de Médecine Infantile et de Génétique Clinique, hôpital d'Enfants, Vandœuvre ; (11) Centre de Génétique, CHU de Dijon, Dijon ; (12) Service de Génétique Médicale, Hôpital Jeanne-de-Flandre, Lille ; (13) Service de Génétique Médicale, Hôpital Necker-Enfant Malades, Paris

Le syndrome de Costello est une affection génétique rare qui se manifeste par une croissance prénatale excessive, un retard de croissance postnatal, un faciès grossier, une peau lâche, un retard de développement et une personnalité joviale et sociable. L'histoire naturelle de la maladie très caractéristique se déroule en deux phases successives. Au cours de la première qualifiée de phase « marasmatique », des difficultés nutritionnelles avec des troubles de la succion et de la déglutition, entrainent un état de dénutrition extrême. Lors de la deuxième phase, qualifiée de « pseudothésaurismose », la dysmorphie faciale devient plus évidente : racine du nez déprimée, narines antéversées, macrostomie, lèvres épaisses, oreilles basses, lobules larges et projetés en avant et les difficultés alimentaires s'amendent. Il existe fréquemment une myocardiopathie alors que les autres atteintes viscérales sont plus rares. La papillomatose décrite dans la publication princeps représente la manifestation la plus caractéristique de l'affection mais elle peut apparaître tardivement au cours de la vie. Un nombre significatif de patients atteints de syndrome de Costello a développé des tumeurs malignes, suggérant qu'en plus de la susceptibilité aux tumeurs bénignes épithéliales à type de papillomatose, ces patients sont aussi prédisposés aux tumeurs malignes. Il s'agit le plus souvent de rhabdomyosarcomes de type embryonnaire de localisation abdomino-pelvienne.

La plupart des patients sont des cas sporadiques évoquant des mutations de novo dominantes. Les cas de récurrence sont rares mais témoignent de l'existence probable de mosaïques germinales.

Jusqu'à présent le diagnostic reposait sur l'évolution particulière de la maladie, la dysmorphie faciale spécifique et l'anomalie ectodermale avec une peau flasque et hyperpigmentée. Récemment ont été mises en évidence par une équipe japonaise des mutations activatrices dans le proto-oncogène HRAS [1].

Nous présentons les caractéristiques cliniques et les résultats de l'analyse moléculaire du gène HRAS chez une trentaine de cas typiques. Nos résultats confirment ceux de la publication initiale, à savoir l'existence d'un « hotspot » de mutations dans l'exon 1 et le caractère de novo des mutations chez les patients dont les prélèvements parentaux étaient disponibles.

Mots-clés : syndrome de Costello, proto-oncogène, HRAS.

Référence

1. Aoki Y, Niihori T, Kawame H, Kurosawa K, Ohashi H, Tanaka Y, Filocamo M, Kato K, Suzuki Y, Kure S, Matsubara Y. Germline mutations in HRAS proto-oncogene cause Costello syndrome. *Nat Genet* 2005 ; 37 : 1038-40.

■CO28 / 1055. SPECTRE DES MUTATIONS DU GÈNE CHD7 DANS LE SYNDROME CHARGE ET PROFIL D'EXPRESSION AU COURS DU DÉVELOPPEMENT

D. Sanlaville (1), H. Etchevers (1), D. Genevieve (1), V. Abadie (2), C. Baumann (3), D. Bonnet (4), H. Dollfus (5), L. Faivre (6), P. Hubert (7), M. Gonzales (8), D. Lacombe (9), J. Martinovic (1), S. Marlin (10), J. Roume (11), A. Toutain (12), Y. Dumez (13), A. Munnich (1), F. Encha-Razavi (1), M. Vekemans (1), J. Amiel (1), T. Attié-Bitach (1), S. Lyonnet (1)

(1) Département de Génétique et Unité INSERM U393, Hôpital Necker-Enfants Malades, 149, rue de Sèvres, AP-HP 75015 Paris ; (2) Service de Pédiatrie générale, Hôpital Necker-Enfants Malades, 149, rue de Sèvres, AP-HP 75015 Paris ; (3) Service de Génétique, Hôpital Robert-Debré, 48, bd Serrurier 75019 Paris ; (4) Service de Cardiologie Pédiatrique, Hôpital Necker-Enfants Malades, 149, rue de Sèvres, AP-HP 75015 Paris ; (5) Service de Génétique Médicale, Hôpital de Hautepierre 67098 Strasbourg ; (6) Centre de Génétique Hôpital d'enfants, avenue Maréchal de Lattre de Tassigny 21034 Dijon ; (7) Service de Réanimantion, Hôpital Necker-Enfants Malades, 149, rue de Sèvres, AP-HP 75015 Paris ; (8) Unité de Fœtopathologie, Hôpital Saint-Antoine, AP-HP, 75012 Paris ; (9) Pédiatrie et Génétique Médicale, CHRU Pellegrin-Enfants, place Amélie-Raba-Léon 33076 Bordeaux ; (10) Hôpital Trousseau, 26, avenue du Dr Arnold Netter, 75012 Paris ; (11) Service d'histologie, embryologie, CHI Poissy, St-Germain-en-Laye, 10, rue du champ Gaillard, Poissy ; (12) Service de Génétique CHU de Tours, Hôpital Bretonneau, bd Tonnellé 37000 Tours ; (13) Service d'Obstétrique, Hôpital Necker-Enfants Malades, AP-HP, 75015, Paris

La dénomination CHARGE désigne une association malformative complexe décrite par Hall (1979) et dont l'acronyme anglais proposé par Pagon (1981) signifie : C, colobome ; H, cardiopathie ; A, atrésie des choanes ; R, retard statural et de développement ; G, hypoplasie génitale ; E, anomalies des oreilles. La fréquence du syndrome CHARGE est estimée entre 1/10 000 et 1/20 000 naissances. La très grande majorité des cas est sporadique, mais plusieurs arguments évoquaient une cause génétique. En 2004, par une approche de CGH microarray, Vissers *et al.* ont mis en évidence une délétion cryptique en 8q12 chez deux patients CHARGE qui a permis d'identifier le gène CHD7 dont des mutations hétérozygotes ont été trouvées chez une majorité des patients. Nous avons entrepris l'étude moléculaire du gène CHD7 dans une cohorte nationale de 80 patients subdivisée en trois sous-groupes : i) diagnostic posé en période prénatale (n = 10), ii) diagnostic posé en période postnatale (n = 64) et iii) patients présentant une association CHARGE-DiGeorge (n = 6). Nous avons d'ores et déjà identifié pour chacune des sous-cohortes, respectivement 10, 30 et 4 mutations hétérozygotes. Ces mutations surviennent de novo et sont tronquantes, suggérant un mécanisme d'haplo-insuffisance au locus CHD7. Par ailleurs, nous avons étudié l'expression du gène CHD7 au cours du développement embryonnaire humain précoce. Alors que le gène CHD7 code pour une protéine contenant deux motifs chromodomaines laissant supposer une action chromatinienne et une expression uniquitaire, le profil d'expression obtenu chez l'homme est spécifique et corrélé avec les signes cliniques observés. En particulier, CHD7 est exprimé dans les canaux semi-circulaires et les bulbes olfactifs. Cette étude collaborative française, nous permet ainsi d'améliorer les critères diagnostiques du syndrome CHARGE qu'il soit d'expression fœtale ou post-natale, de confirmer un modèle génétique autosomique dominant avec mutations de novo, de proposer une attitude diagnostique en période prénatale, d'émettre des hypothèses sur l'association CHARGE-Digeorge et, enfin, d'apporter des éléments de réflexion sur la fonction de ce gène au cours du développement.

Mots-clés : syndrome CHARGE, gène CHD7, développement.

■CO29 / 169. LE SYNDROME DE CURRARINO : ANALYSES CLINIQUE ET GÉNÉTIQUE DE 30 CAS

C. Crétolle (1), M. Zerah (2), C. N. Fékété (3), S. Lyonnet (1)

(1) Département de Génétique, INSERM U393, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris ; (2) Département de Neurochirurgie, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris ; (3) Département de Chirurgie Pédiatrique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris

Introduction

Le syndrome de Currarino (SC) est une pathologie rare, définie par l'association d'une anomalie du sacrum, d'une malformation ano-rectale et d'une tumeur pré-sacrée. Il se transmet sur un mode autosomique dominant, à pénétrance incomplète et expressivité variable. Des complications graves parfois létales, à type d'abcès pré-sacrés et de méningites aiguës peuvent survenir, notamment chez les patients a- ou pauci-symptomatiques pour lesquels le diagnostic n'avait pas été évoqué auparavant. Dans la moitié des cas, il a été rapporté des mutations du gène homéotique *HLXB9* (locus 7q36), codant pour la protéine HB9, facteur de transcription de 403 acides

aminés, impliqué dans le développement de la partie caudale de l'embryon et intervenant dans la maturation des motoneurones. Nous rapportons une étude clinique et génétique portant sur une cohorte de 30 cas de SC. Notre objectif était de définir de nouveaux critères phénotypiques du SC et d'établir un lien entre le phénotype et le génotype afin de favoriser la précocité du diagnostic, d'anticiper ainsi la survenue de complications et, à terme, d'améliorer la prise en charge clinique et génétique de ces patients et de leur famille.
Patients et méthodes
L'étude a porté sur 30 patients (14 garçons et 16 filles), dont 12 cas multiplex. Un caryotype standard, une étude par FISH au locus du gène *HLXB9* et le séquençage du gène *HLXB9* ont été effectués dans tous les cas.
Résultats
Tous les patients sauf deux avaient une malformation sacro-coccygienne. Une malformation ano-rectale (MAR) était présente chez 24/30 patients, de type MAR basse avec un anus infundibulaire dans 19/24 cas. Une tumeur pré-sacrée était diagnostiquée dans 20/30 cas à un âge moyen de 5 ans. Elle communiquait avec les méninges dans 12 cas et il existait une moelle attachée basse dans 19/30 cas. Dans 15/30 cas, une anomalie chromosomique ou moléculaire du gène *HLXB9* a été identifiée : 12/30 patients, dont 11 issus de formes multiplex, avaient une mutation ponctuelle hétérozygote de la séquence codante du gène *HLXB9* avec un impact probable sur la fonction de la protéine HB9 (6 frameshifts : 53_54InsC, 336_337InsC, 584DelA, 720DelG, 740_741DelGC, 792_793InsA ; 3 non-sens : 632A>T, 836C>A, 858G>T ; 3 faux-sens : 844C>T, 859G>T, 892C>G). Trois cas sur 30 avaient une anomalie chromosomique au locus 7q36.
Conclusion
Un SC doit être évoqué dès lors qu'il existe une malformation du sacrum, et à plus forte raison si une MAR est associée. Une IRM médullaire doit alors être pratiquée à la recherche d'anomalies d'insertion de la moelle terminale et/ou d'une tumeur pré-sacrée qui peut communiquer avec l'espace méningé et engendrer de graves complications. La biologie moléculaire peut aider à la détection précoce de cas a- ou pauci-symptomatiques issus de formes multiplex. L'ensemble de ces données confirme l'existence d'anomalies du gène *HLXB9* dans la moitié des cas de syndrome de Currarino, et par extension, la forte probabilité de son implication dans le développement du pôle caudal de l'embryon. La recherche d'anomalies génétiques intéressant d'autres gènes candidats devrait permettre d'expliquer les cas de SC non mutés pour *HLXB9*, et apporter des précisions sur les évènements moléculaires impliqués dans la formation de la partie caudale de l'embryon.

Mots-clés : syndrome de Currarino, malformation sacrée, moelle attachée basse.

■CO30 / 209. RECHERCHE DE MUTATIONS DE MECP2 : ÉVALUATION DE LA VALIDITÉ DU SCORE CLINIQUE DE HUPPKE CHEZ 128 PATIENTES SUSPECTES DE SYNDROME DE RETT

J. Gosselin (1), P. Bounaix (2), C. Philippe (2), P. Jonveaux (2), Réseau Clinique (3), B. Leheup (1)
(1) Service de Médecine infantile 3 et de Génétique Clinique, Hôpital d'enfants, CHU de Nancy ; (2) Laboratoire de cytogénétique, CHU de Nancy ; (3) L'ensemble des cliniciens et biologistes correspondants

Objectifs
Évaluer la validité du score clinique de Huppke dans le cadre de la sélection éventuelle de patients suspects de présenter un syndrome de Rett avant de leur proposer une analyse génétique du locus MECP2. Rechercher une éventuelle corrélation entre le score clinique de Huppke et le type de mutation trouvé
Méthodes
Parmi les 511 patients, garçons et filles ayant bénéficié d'une évaluation du locus MECP2, ont été retenues 216 filles âgées de 1 à 20 ans. L'ensemble des cliniciens biologistes et cliniciens référents ont été sollicités pour établir a posteriori le score clinique de Huppke (Huppke P, Köhler K, Laccone F, Hanefeld F. Indication for genetic testing : a checklist for Rett syndrome. *J Pediatr* 2003 ; 142 : 332-5). 128 réponses ont été retournées. Lorsque certaines données cliniques étaient manquantes, le score théorique maximum était retenu. Les données cliniques ont été analysées en comparaison des données de l'analyse génomique du locus MECP2. La région promotrice, les 4 exons codants pour les transcrits MECP2A/B et les régions introniques flanquantes, ainsi que les régions 5' et 3' UTR ont été amplifiées par PCR (8 fragments) avant étude en DHPLC et éventuel séquençage direct. En complément, la détection de grands réarrangements (délétions ou de duplications intragéniques) a été effectuée par QMPSF.
Résultats
Parmi les 128 patientes cliniquement définies 62 avaient une mutation délétère reconnue, 4 un polymorphisme considéré comme neutre et 62 ne présentaient pas d'anomalies reconnues. Si le seuil de 8 pour le score de Huppke avait été retenu, au moins 10 des 62 patientes présentant une mutation n'auraient pas été sélectionnées pour une étude moléculaire. Il n'y a pas de corrélation significative entre le type de mutation (mutation faux-sens versus mutation tronquante, mutation du domaine TRD versus mutation du domaine MBD) et le score de Huppke.
Conclusion
L'utilisation rétrospective du score de Huppke n'est donc pas validée pour sélectionner les patientes suspectes d'un syndrome de Rett dans le cadre de l'étude du locus MECP2.

Mots-clés : syndrome de Rett, MECP2, score clinique

■CO31 / 258. DUPLICATION DE LA RÉGION MECP2 : NAISSANCE D'UN NOUVEAU SYNDROME DE RETARD MENTAL LIÉ AU CHROMOSOME X

H. Van Esch (1), M. Bauters (2), J. Ignatius (3), M. Raynaud (4), C. Moraine (4), C. Schwartz (5), M. Zenker (6), A. Vianna-Morgante (7), P. Marynen (2), J.-P. Fryns (1), G. Froyen (2)
(1) Clinical Genetics Department, Centre for Human Genetics, Leuven, Belgium ; (2) Human Genome Laboratory, Centre for Human Genetics, Leuven, Belgium ; (3) Department of Clinical Genetics, Oulu University Hospital and Oulu University, Finland ; (4) Centre Hospitalier Universitaire de Tours, Service de Génétique, Tours, France ; (5) Greenwood Genetic Center, Greenwood, South Carolina, USA ; (6) Institute of Human Genetics, Erlangen, Germany ; (7) Departamento de Genética e Biologia Evolutiva, Universidade de São Paulo, Brasil

Récemment, nous avons identifié par array-CGH une duplication de petite taille de la région Xq28 dans 4 familles dont les hommes atteints présentent un retard mental sévère associé à une spasticité progressive, une absence de langue et une susceptibilité aux infections entraînant le décès à un âge jeune. La taille des duplications varie de 0,4 à 0,8 Mb et contient plusieurs gènes dont le gène MECP2. Les duplications ségrègent dans les familles et les femmes porteuses sont asymptomatiques en raison d'une inactivation complète du chromosome X.
À ce jour, nous avons étudié 6 familles supplémentaires avec duplication de la région MECP2 permettant une meilleure corrélation génotype-phénotype. Nos données indiquent que parallèlement à une perte de fonction partielle ou complète de MECP2, une augmentation du dosage génique conduit également à un phénotype morbide. Par ailleurs, les duplications de la région MECP2 apparaissent fréquemment chez des hommes avec retard mental sévère, justifiant un dépistage dans ce groupe de patients.

Mots-clés : retard mental, MECP2, array-CGH.

■CO32 / 466. EFFET DE SEUIL POUR LA TOXICITÉ DES RÉPÉTITIONS CGG CHEZ LES HOMMES PORTEURS D'UNE PRÉMUTATION FMR1 ET ATTEINT DU SYNDROME FXTAS

S. Jacquemont (1), M. Leehey (2), R. Hagerman (3), L.A. Beckett (4), P. Hagerman (5)
(1) Service de Génétique, Centre Hospitalier Universitaire, Nantes ; (2) Department of Neurology, University of Colorado Health Sciences Center, Denver, Colorado ; (3) MIND Institute and Department of Pediatrics, University of California Davis Medical Center, Sacramento, California ; (4) Department of Public Health Sciences, University of California Davis, California ; (5) Department of Biochemistry and Molecular Medicine, University of California Davis School of Medicine, Davis, California

Le syndrome FXTAS (Fragile X-associated tremor/ataxia syndrome) est un trouble neurodégénératif récemment identifié chez les porteurs de la prémutation du gène FMR1 (55-200 répétitions CGG). Le syndrome FXTAS est complètement distinct du syndrome de l'X Fragile et touche essentiellement les hommes après l'âge de 50 ans, cependant plusieurs cas de femmes atteintes ont été rapporté. Les principaux signes cliniques du syndrome associent une ataxie cérébelleuse et un tremblement intentionnel auxquels peuvent s'ajouter une neuropathie sensitivo motrice, une dysautonomie et un déclin cognitif. Les premières caractérisations de ce syndrome sont basées sur l'étude d'individus apparentés au 2e degré à un enfant atteint du syndrome de l'X fragile. Ces études familiales présentent un biais en ce concerne la taille de la répétition CGG. Ce biais est absent dans les études de « screening » qui ont identifié les cas de FXTAS dans des cohortes de patients, suivis pour des troubles neurologiques sans histoire familiale d'X fragile. Nous avons réalisé une méta-analyse de 13 publications, rapportant les résultats de screening de la prémutation FMR1 chez 3 134 patients suivi pour les troubles neurologiques suivant : maladie de parkinson, tremblement essentiel, ataxie cérébelleuse, MSA. Seul, le groupe de patients de sexe masculin, atteints d'ataxie cérébelleuse à début tardif présente un excès de prémutation FMR1 (16/872) statistiquement

significatif : Odds Ratio = 15,9 ; 95 % CI = 2,1-119,6. Ces résultats permettent de mettre en place des critères de dépistage de la prémutation en clinique neurologique. Nous avons réalisé une méta-analyse de la distribution de la taille des allèles prémutés, dans la population générale et chez les individus atteints de FXTAS avec ou sans biais de transmission (études familiales et études de patients neurologiques). Cette analyse montre un excès significatif d'allèles de grande taille chez les patients FXTAS par rapport à la distribution observée dans la population générale ($p < 0,001$). Nous montrons que la toxicité de la répétition CGG est soumise à un probable effet de seuil avec une décroissance rapide voire une absence de répercussion phénotypique sous le « seuil » des 70 répétitions CGG. Ces données ont une implication importante pour le conseil génétique ainsi que pour l'estimation de la prévalence du syndrome FXTAS dans la population générale.

Mots-clés : Premutation, ataxie, FMR1, ARNm.

■CO33 / 231. FORME(S) INFANTILE(S) DE DYSTROPHIE MYOTONIQUE DE STEINERT

Heron D. (1), Whalen S. (1), Mallet A. (1), Jacquette A. (1), Angeard N. (2), Radvanyi H. (3), Eymard (2)
(1) Département de Génétique ; (2) Institut de Myologie, Hôpital de La Salpêtrière, Paris ; (3) Service de Biochimie Génétique, Hôpital Ambroise-Paré, Boulogne, France

La myotonie de Steinert ou dystrophie myotonique de type 1 (DM1) est une affection autosomique dominante à expression très variable pour laquelle il existe un phénomène d'anticipation lié à l'expansion instable d'un trinucléotide CTG dans la région 3' du gène DM protein kinase. On distingue habituellement quatre formes cliniques : chez l'adulte une forme « classique » et une forme tardive pauci-symptomatique, et chez l'enfant une forme congénitale (de transmission quasi-exclusivement maternelle) et plus récemment décrite une forme infantile définie par l'absence de signes néonataux et un début entre 1 et 10 ans, de transmission maternelle ou paternelle. Néanmoins, en dehors de la forme congénitale, la classification de la maladie de Steinert chez l'enfant reste confuse, la présentation clinique et l'histoire naturelle des formes infantiles étant peu décrites. De plus, l'expérience clinique fait suspecter qu'il existe probablement un continuum clinique, de la forme congénitale sévère typique à des formes infantiles tardives. Afin de préciser les caractéristiques cliniques et génétiques de la ou des forme(s) infantile(s) de DM1, nous avons étudié de façon prospective une cohorte de 44 patients (20 filles et 24 garçons) âgés de 6 à 18 ans, présentant une forme pédiatrique non congénitale de DM1, référés à l'Institut de myologie. La transmission était maternelle dans 20 cas et paternelle dans 24.
Les résultats montrent que :
1. Le principal motif de consultation était les difficultés d'apprentissage en particulier sur le plan scolaire (80 %).
2. Les principaux symptômes observés étaient une lenteur (95 %), une hypersomnie (70 %), une fatigabilité (70 %), et/ou une dysarthrie (55 %).
3. L'examen clinique mettait en évidence fréquemment une myotonie (95 %) et/ou une atteinte faciale (82 %), mais ces signes ne correspondaient pas à une plainte fonctionnelle des patients.
4. 15 patients sur 41 (36 %) avaient des symptômes modérés en période néonatale, ce qui permet d'identifier une forme infantile précoce de DM1, de transmission maternelle ou paternelle, dont la sévérité en terme de difficultés scolaire, retard mental et atteinte musculaire est intermédiaire entre la forme congénitale et la forme infantile classique.
5. Les études de génétique moléculaire mettent en évidence une expansion de triplets CTG comprise entre 200 et 1 800 (moyenne : 679), alors que l'expansion de triplets CTG des parents transmetteurs allait de 65 à 100 (moyenne : 380).
Cette étude, qui correspond à la plus grande cohorte de patients présentant une forme infantile de DM1 confirme (1) l'existence d'un continuum clinique des formes pédiatriques de DM1, (2) une présentation clinique non musculaire et peu spécifique (difficultés d'apprentissage), (3) des signes cliniques évocateurs fréquents mais non rapportés spontanément par les patients.
La fréquence de cette forme de la maladie est probablement sous-évaluée, car le diagnostic en est difficile du fait de la non spécificité de la présentation clinique. Néanmoins, ce diagnostic doit être évoqué devant des troubles des apprentissages, et étayé par l'établissement d'un arbre généalogique soigneusement documenté et par un examen clinique orienté de l'enfant, voire des parents. Un diagnostic précoce de cette affection a une importance considérable pour la prise en charge en particulier psychoéducative et le conseil génétique. Par ailleurs, plusieurs sous-groupes de cette cohorte ont fait l'objet d'une étude extensive concernant (1) le profil neuropsychologique (n = 36), (2) les difficultés de lecture et d'orthographe (n = 23), (3) l'évaluation du sommeil (n = 20) et seront également rapportés.

Mots-clés : forme infantile de maladie de Steinert, caractéristiques cliniques et génétiques, difficultés scolaires.

■CO34 / 88. LES FORMES JUVÉNILES DE MALADIE D'HUNTINGTON : À PROPOS DE 29 CAS

P. Ribaï (1, 2), K. Nguyen (1), V. Hahn-Barma (3), I. An (3), M. Vidailhet (3), A. Legout (4), C. Dodé (5), A. Brice (1, 2, 3, 6), A. Dürr (1, 2)
(1) Département de Génétique, Cytogénétique et Embryologie, AP-HP, Hôpital de la Salpêtrière, Paris ; (2) INSERM 679, Institut Fédératif de Recherche en Neurosciences (IFRS), Hôpital de la Salpêtrière, Paris ; (3) Fédération de Neurologie, AP-HP, Hôpital de la Salpêtrière, Paris ; (4) Département de Neurologie, Centre Hospitalier du Mans, Le Mans ; (5) Laboratoire de Biochimie et Génétique Moléculaire, Institut Cochin, Paris ; (6) Faculté de Médecine de la Salpêtrière, Université Pierre et Marie Curie, Paris

Contexte : La maladie d'Huntington (MH) est une maladie neurodégénérative autosomique dominante. Chez la plupart des patients, elle débute entre 30 et 50 ans et est causée par une expansion du trinucléotide CAG dans le gène IT15 situé sur le chromosome 4. Plus l'expansion est grande, plus l'âge de début est précoce. La MH juvénile (MHJ) est définie par un début des symptômes avant l'âge de 21 ans et représente moins de 10 % des patients atteints de MH. Alors que les patients adultes portent en général 36 à 60 répétitions CAG, les patients atteints de MHJ en possèdent plus de 60. 80 à 90 % des cas juvéniles résultent de transmissions paternelles au cours desquelles la tendance à l'expansion est marquée. Contrairement à la MH classique qui se manifeste chez l'adulte par la présence de mouvements choréiques, de troubles psychiatriques et cognitifs, dans la MHJ le tableau clinique est dominé par une rigidité extrapyramidale, une dystonie, un syndrome cérébelleux et/ou des crises d'épilepsie.
Objectifs : Rapporter les caractéristiques génétiques et cliniques d'une cohorte de patients atteints.
Patients et méthodes : Parmi les 1 452 patients atteints de MH enregistrés dans notre banque d'ADN, nous en avons identifié 29 ayant débuté la maladie avant l'âge de 21 ans et portant une expansion CAG anormale dans le gène IT15. Le nombre de répétitions CAG, l'âge et le signe inaugural, ainsi que les signes neurologiques, cognitifs et psychiatriques au cours de la maladie ont été recueillis. Le cas échéant, l'âge et la cause du décès des patients ont été répertoriés. Les mêmes données ont été recueillies pour chaque parent transmetteur. Pour la comparaison des moyennes et des fréquences, nous avons utilisé les tests ANOVA, le test de chi2 ou le test de Fisher.
Résultats : La proportion de patients atteints de MHJ s'élève à 2 % (29/1452) dont le 1/4 (7/28) avec une transmission maternelle. Bien que les patients avec transmission paternelle présentaient une expansion plus grande que lors des transmissions maternelles (65 versus 51, $p = 0,002$), ils avaient débuté la maladie à un âge similaire ($13,29 \pm 5,5$ ans versus $17,14 \pm 2,2$, $p = 0,086$). De même, l'âge de début des pères et des mères transmetteurs (38 ± 11 ans versus 33 ± 8, $p = 0,55$) et l'anticipation entre les couples pères-enfants et mères-enfants (25 ± 11 ans, $n = 16$ versus 18 ± 9 ans, $n = 3$, $p = 0,27$) étaient similaires. Nous avons trouvé une grande proportion (46 %, 13/28) de patients avec moins de 60 répétitions CAG, dont 6 avaient une transmission paternelle.
En outre, aucun patient n'avait débuté la maladie par une rigidité, signe classiquement prédominant dans la MHJ. Les signes les plus fréquents (65,5 %, 19/29) au début de la maladie étaient psychiatriques et cognitifs. Les signes moteurs ne représentaient que 34,5 % (10/29) des signes de début, mais le plus souvent atypiques tels que tremblements myocloniques (3), altération de l'écriture (1), mouvements atypiques des épaules (1) et chutes (2). Trois patients n'avaient pas d'histoire familiale au moment de leur diagnostic.
Les patients ont été examinés à un âge moyen de $25,5 \pm 8$ ans (9-40). Durant leur évolution, la plupart présentaient un tableau clinique similaire à celui classiquement décrit dans la MHJ, excepté pour la sévérité des signes psychiatriques et quelques présentations cliniques atypiques. Sept patients avaient effectué plus d'une tentative de suicide. Une patiente a présenté un syndrome cérébelleux pur et progressif avec atrophie cérébelleuse à l'imagerie cérébrale. Onze sont décédés de causes diverses à un âge moyen de 28 ± 9 ans (13-41).
Conclusions : Les transmissions maternelles et les expansions de moins de 60 CAG ne sont pas inhabituelles dans la MHJ. Aucun patient n'a débuté la maladie par une rigidité, mais la plupart par des signes cognitifs. L'absence d'histoire familiale, le manque de spécificité et la nature atypique des signes au début et au cours de la maladie ont contribué à allonger le délai du diagnostic.

3. Session Simultanée « Développement et diagnostic prénatal »

■CO35 / 1507. ÉTUDE MULTICENTRIQUE DE 26 CAS DE TUMEURS CARDIAQUES FŒTALES DÉCOUVERTES PAR L'ÉCHOGRAPHIE PRÉNATALE : DIAGNOSTIC MOLÉCULAIRE DE LA SCLÉROSE TUBÉREUSE DE BOURNEVILLE

Triau Stéphane (1), Malinge Marie-Claire (2), Gonzales Marie (3), Guichet Agnès (2), Bersani Audrey (2), Pinson Lucile (2), Desse Dorothée (2), Séverine Péculier (2), Dollfus Hélène (4), Gaillard Dominique (5), David Albert (6), Toutain Annick (7), Delezoide Anne-Lise (8), Bonneau Dominique (2)
(1) UF de Fœtopathologie, Fédération de pathologie cellulaire et tissulaire, CHU Angers ; (2) Service de Génétique, CHU Angers ; (3) Laboratoire d'embryologie pathologique et de cytogénétique, Hôpital Saint-Antoine, Paris ; (4) Service de Génétique médicale, CHU Strasbourg ; (5) Service de Génétique et de Biologie de la reproduction, CHU Reims ; (6) Service de Génétique médicale, CHU Nantes ; (7) Service de Génétique, CHU Tours ; (8) Service de biologie du développement ; Hôpital Robert-Debré Paris

Introduction :
Les tumeurs cardiaques fœtales, visualisables par l'échographie prénatale dès 20 semaines d'aménorrhée, sont très rares. Leur prévalence est estimée à 1/10 000. Les plus fréquentes sont des rhabdomyomes (70 à 80 %), en rapport dans 33 à 70 % des cas avec une sclérose tubéreuse de Bourneville (STB).
Le but de cette étude a été de rechercher des mutations des gènes TSC 1 et TSC 2 chez 26 fœtus porteurs de tumeurs cardiaques diagnostiquées lors des échographies prénatales, de confronter les résultats de l'étude moléculaire à l'examen fœtopathologique et échographique, de déterminer la prévalence de la STB en fonction des caractéristiques de ces tumeurs.
Matériel et méthodes : L'étude a porté sur 26 fœtus. L'ADN a été extrait à partir de sang fœtal, de tissu ou de liquide amniotique. La recherche des mutations a été réalisée par DHPLC, puis séquençage des exons à tracé modifié en DHPLC pour tous les exons des gènes TSC 1 et TSC 2. Les résultats ont été confrontés aux données échographiques et, lorsque cela était possible, aux données de l'examen fœtopathologique réalisé après interruption médicale de grossesse.
Résultats/Discussion : Les tumeurs cardiaques étaient multiples dans 21 cas (81 %) et uniques dans 5 cas (19 %).
1/ Tumeurs multiples (21 cas) : Un examen fœtopathlogique a été réalisé dans 18 cas. À l'examen histologique, les tumeurs correspondent toujours à des rhabdomyomes multiples, ce qui confirme le diagnostic de STB. Pour les trois cas sans examen fœtopathologique (2 grossesses en cours, un accouchement à terme) une mutation de TSC2 a été retrouvée dans un cas. On peut donc affirmer le diagnostic de STB dans 90 % des cas (19/21) lors de la découverte de tumeurs cardiaques multiples à l'échographie prénatale.
La mutation causale a été identifiée dans 13 cas /21 (62 %). Le gène TSC2 est impliqué dans 12 cas et TSC1 dans 1 cas. Il s'agit d'une forme familiale dans un cas (transmission paternelle) et de formes sporadiques dans 7 cas. Il n'a pas été possible de conclure quant au mode de transmission dans 5 cas (ADN parentaux non disponibles).
Dans 8 cas, aucune mutation n'a été détectée dans les deux gènes chez les fœtus. Cependant le résultat de l'examen histologique des tumeurs (rhabdomyomes) confirme le diagnostic de STB ; la présence de grands réarrangements devra donc être recherchée.
Dans 2 cas, le diagnostic de STB n'a pas pu être confirmé. L'un concerne un fœtus pour lequel il n'a pas été mis en évidence de mutation alors que les parents ont refusé l'examen fœtopathologique ; l'autre est une grossesse en cours pour laquelle aucune mutation n'a été identifiée.
2/ Tumeurs uniques (5 cas) : Un examen fœtopathlogique a été réalisé dans ces 5 cas.
Aucune tumeur n'a été identifiée dans 2 cas : il s'agissait d'un trouble de la compaction du myocarde associé à une fibro-élastose sous endocardique pour l'un et à des images échographiques construites pour l'autre. Il n'a alors pas été retrouvé de mutation de TSC1 et TSC2. Le diagnostic de STB a été réfuté dans ces 2 cas.
Le diagnostic de rhabdomyome a été confirmé à l'examen histologique dans 3 cas. Pour l'un d'eux, la tumeur macroscopiquement unique était associée à des rhabdomyomes multiples à l'examen microscopique, sans mutation identifiée. Une mutation a été observée dans le gène TSC2 dans les 2 autres cas. Il s'agit toujours de formes sporadiques.
Conclusion : Lors de la découverte de tumeurs cardiaques multiples à l'échographie prénatale, le diagnostic de sclérose tubéreuse de Bourneville peut-être affirmé dans au moins 90 % des cas. Ce diagnostic sera prouvé par la biologie moléculaire et/ou l'examen de ces tumeurs qui correspondent toujours à des rhabdomyomes.

Lorsqu'on observe une tumeur unique à l'échographie prénatale, il s'agit d'une STB dans 3 cas sur 5, d'une autre anomalie dans 2 cas sur 5.

Mots-clés : sclérose tubéreuse de Bourneville, rhabdomyome, TSC 1, TSC 2, tumeur cardiaque, biologie moléculaire.

■CO36 / 1114. ANOMALIES CHROMOSOMIQUES ET DISOMIE UNIPARENTALE : RECHERCHE DE DISOMIE UNIPARENTALE DANS 131 CAS D'ANOMALIES CHROMOSOMIQUES DÉPISTÉES EN DIAGNOSTIC ANTÉNATAL

Montagnon M., Koubi V., Kleinfinger P., Géromel V., Szpiro-Tapia S., Bazin A.
Département de Génétique, Laboratoire Pasteur-Cerba, Cergy Pontoise

Une disomie uniparentale (DUP) complète, définie par la présence de deux chromosomes homologues de même origine parentale, est responsable d'anomalies phénotypiques lorsque le chromosome concerné est soumis à empreinte génomique parentale. Parmi les différents mécanismes possibles à l'origine de la formation d'une DUP, le plus fréquent est la correction d'une trisomie du zygote. Certaines anomalies chromosomiques considérées comme de bon pronostic comportent un risque particulier d'être associées à une DUP qui modifiera ce pronostic. Ce sont soit des anomalies de structure apparemment équilibrées (translocations impliquant un chromosome 14 ou/et 15), soit des anomalies déséquilibrées (marqueurs surnuméraires dérivés de chromosomes 14 ou 15, ou certaines trisomies en mosaïque). Une DUP a été recherchée dans 131 cas d'anomalies chromosomiques dépistées en anténatal parmi 6 4861 caryotypes fœtaux sur liquide amniotique (juillet 1999 à juillet 2005). L'analyse de la ségrégation des microsatellites (PCR), a permis de rechercher : – une DUP du chromosome 14 dans 80 cas : 70 translocations robertsoniennes héritées (57) ou de novo (13), 6 marqueurs surnuméraires dérivés du chromosome 14 et/ou du chromosome 22 hérités (2) ou de novo (4), 2 translocations réciproques héritée (1) ou de novo (1), 2 inversions paracentriques héritées ; – une DUP du chromosome 15 dans 33 cas : 12 translocations robertsoniennes héritées (8) ou de novo (4), 15 marqueurs surnuméraires dérivés du chromosome 15 hérités (6) ou de novo (9), 3 translocations réciproques héritées (2) ou de novo (1), une insertion interchromosomique de novo, 2 duplications 15q11q13 maternelles ; – une DUP du chromosome 11 dans 8 cas : 4 translocations réciproques héritées (3) ou de novo (1), 4 inversions paracentriques héritées (2) ou de novo (2) ; – une DUP du chromosome 7 dans 8 cas : 7 translocations réciproques héritées (3) ou de novo (4), une inversion péricentrique héritée ; – une DUP du chromosome 16 dans 7 cas : une trisomie en mosaïque, un marqueur surnuméraire de novo dérivé du chromosome 16, 5 translocations réciproques héritées (4) ou de novo (1) ; – une DUP du chromosome 20 dans 3 cas de trisomie 20 en mosaïque ; – une DUP du chromosome 2 dans 1 cas d'inversion péricentrique héritée. Au total, la recherche de DUP s'est avérée positive dans 3 cas. 1er cas : DUP maternelle du chromosome 15 (syndrome de Prader Willi). Le caryotype fœtal réalisé pour risque sérique maternel de trisomie 21, montrait un marqueur surnuméraire dérivé du chromosome 15 de novo : 47,XX,+mar.ish der(15)(SNRPN-,D15Z1+), en mosaïque avec présence d'une 2e lignée cellulaire normale et d'une 3e lignée porteuse d'une trisomie 15, confirmée par l'analyse cytogénétique et moléculaire à partir de tissus fœtaux après IMG. 2e cas : hétérodisomie maternelle du chromosome 16. Le caryotype fœtal réalisé pour risque sérique maternel de trisomie 21, montrait une trisomie 16 en mosaïque : 47,XX,+16 [7]/46,XX [42]. 3e cas : hétérodisomie maternelle du chromosome 14. Le caryotype fœtal réalisé pour signe d'appel échographique (retard de croissance intra-utérin) montrait une translocation robertsonienne de novo entre un chromosome 13 et un chromosome 14 : 45,XX,der(13 ;14)(q10 ;q10). Le mécanisme de formation de la DUP retenu pour ces trois cas est la correction post-zygotique d'une trisomie après non-disjonction méiotique maternelle. Ces résultats illustrent la rareté des DUP et néanmoins la nécessité de les rechercher en anténatal lors de la découverte d'anomalies chromosomiques à priori de pronostic favorable, mais susceptibles d'être associées à une DUP, voire à une lignée trisomique cryptique, qui en modifient le pronostic.

Mots-clés : disomie uniparentale, anomalies chromosomiques, pronostic.

■CO37 / 167. DÉVELOPPEMENT D'UN MODÈLE DE MALADIE D'ALZHEIMER ET DES TAUOPATHIES SECONDAIRES DANS LA DROSOPHILE

O. Blard (1), M. Lecourtois (1), A. Boutajangout (2), J.P. Brion (2), D. Campion (1), T. Frébourg (1)

(1) Inserm U614, IFRMP, Faculté de Médecine de Rouen ; (2) Laboratoire d'Histologie, Neuropathologie et Neuroanatomie, Université Libre de Bruxelles

Les tauopathies regroupent plus de 20 pathologies neurodégénératives dont la maladie d'Alzheimer et les démences fronto-temporales liées au chromosome 17 (FTDP17) et sont caractérisées histologiquement par la présence de dégénérescences neurofibrillaires (DNF). Les DNF correspondent à l'accumulation intraneuronale de filaments hélicoïdaux constitués essentiellement de protéine tau anormalement phosphorylée qui s'agrège. Dans les cerveaux de patients atteints de maladie d'Alzheimer, le niveau de tau hyperphosphorylé est 4-8 fois plus élevé que dans les cerveaux contrôles, suggérant que la protéine anormalement phosphorylée est résistante à la dégradation. En utilisant un modèle de tauopathie précédemment développé dans la drosophile, dans lequel la protéine tau humaine est surexprimé dans toutes les cellules de l'œil et notamment ses cellules nerveuses, nous avons étudié la relation entre l'état de phosphorylation de la protéine tau humaine et sa dégradation par le protéasome. Nous avons pu mettre en évidence que l'inactivation génétique partielle de l'activité du protéasome chez la drosophile, via l'utilisation de l'allèle dominant négatif DTS5, conduit à une accumulation de formes oligomériques de tau hyperphosphorylé. D'autre part, nous avons montré que la surexpression de la kinase Shaggy (Sgg), homologue chez la drosophile de la kinase humaine GSK-3b, une des kinases principales de tau, conduit à l'hyperphosphorylation de tau et à la formation d'oligomères de tau hyperphosphorylé qui sont dégradables par le protéasome. De manière inattendue, lorsque nous avons inhibé l'activité de la kinase GSK-3b/Sgg, via la surexpression d'un allèle dominant négatif de ce gène, nous avons constaté une accumulation spectaculaire d'oligomères de tau hyperphosphorylé, qui sont résistants à la dégradation. L'ensemble de ces résultats suggère que les phosphorylations de tau par les différentes kinases ont un impact différent sur la dégradation de tau par le protéasome. Ces données nous permettent de proposer un modèle pour les tauopathies selon lequel, sous l'effet de facteurs toxiques (stress oxydatif, exposition au peptide amyloïde...), la phosphorylation anormale de tau, par une kinase autre que GSK-3b/Sgg, et qui reste à identifier, conduit à une accumulation progressive d'oligomères de tau hyperphosphorylé qui seraient résistants à la dégradation par le protéasome, à son agrégation au sein du neurone et potentiellement à la mort neuronale.

Mots-clés : Alzheimer, drosophile, tau.

■CO38 / 324. RECHERCHE DE MUTATIONS DANS LE GÈNE FLNA. CORRÉLATIONS PHÉNOTYPE/GÉNOTYPE

Sole Guilhem (1, 2), Coupry Isabelle (1), De-Bruxelles Sabrina (2), Burgelin Ingrid (1), Hubert Christophe (1), Lacombe Didier (1), Arveiller Benoit (1), Goizet Cyril (1, 2)
(1) Laboratoire de Génétique Humaine, Développement et Cancer, Université Victor Ségalen Bordeaux 2, 33076 Bordeaux ; (2) Fédération des Neurosciences Cliniques, Hôpital Pellegrin-Tripode, CHU de Bordeaux, 33076 Bordeaux

Introduction : Les protéines de la famille des filamines interagissent avec l'actine et permettent de moduler la forme et mobilité cellulaire. FLNA, le gène codant pour la filamine A, est situé sur le chromosome X. Les mutations de ce gène peuvent être responsables d'anomalies de migration neuronale de type hétérotopies nodulaires périventriculaires ou d'un spectre polymalformatif touchant plus particulièrement le squelette. L'objectif de notre étude est d'identifier de nouvelles mutations de FLNA chez des patients suspects de filaminopathies et de les corréler au phénotype clinique. Matériels et méthodes Notre étude porte sur une série de 50 patients suspects de filaminopathie. 35 présentent des Hétérotopies Nodulaires Périventriculaires (HNP) parfois associées à d'autres malformations cérébrales (en particulier de la fosse postérieure), 11 un syndrome Oto-Palato-Digital 1 ou 2 (OPD), 1 un syndrome de Melnick-Needles (MNS) et trois syndromes polymalformatifs liés à l'X. FLNA comporte 48 exons. Un screening par DHPLC (Denaturing High Performance Liquid Chromatography) est d'abord réalisé à la recherche de variants hétérozygotes, puis un séquencage des ceux-ci. Résultats Nous avons mis en évidence 5 mutations différentes responsables d'HNP. La première touche un site d'épissage, deux autres entraînent un décalage du cadre de lecture et deux mutations faux sens. Dans un cas, les HNP s'associent à une dysmorphie faciale et dans un autre à une malformation de la fosse postérieure. Aucune n'a été décrite dans la littérature, actuellement. Par ailleurs, nous avons identifié 4 mutations faux-sens expliquant l'ensemble des tableaux OPD et MNS. Discussion Les anomalies du développement cérébral sont une cause rare d'épilepsie de l'adulte. Les HNP sont la première cause de malformation de la substance grise de l'adulte. La majorité des mutations de FLNA responsable d'HNP décrites jusqu'à présent conduisent à la formation d'une protéine tronquée, conformément à ce que nous avons retrouvé. Pour un des cas, celles-ci sont associées à une hypoplasie cérébelleuse. D'autres types de malformation de la fosse postérieure, de type méga-grande citerne ont été décrits comme étant liés à FLNA. Par opposition, la majorité des mutations décrites dans les syndromes OPD et MNS sont de type faux-sens, conformément à nos résultats. Conclusion Nous avons pu identifier plusieurs nouvelles mutations de FLNA, associées à des phénotypes mal connus. Ce travail confirme l'intérêt de la poursuite de l'étude de ce gène dans les cas d'HNP et de syndromes polymalformatifs du spectre OPD, afin de mieux déterminer les conséquences physiopathologiques de chaque type de mutations.

Mots-clés : filamine A, hétérotopies nodulaires périventriculaires, syndrome Oto-Palato-Digital.

■CO39 / 21. LA DROSOPHILE COMME MODÈLE D'ÉTUDES PHYSIOPATHOLOGIQUES : RÔLE DE TÉQUILA, L'ORTHOLOGUE DU GÈNE DE RETARD MENTAL NEUROTRYPSINE, DANS LA FORMATION DE LA MÉMOIRE À LONG TERME

G. Didelot (1), F. Molinari (2), E. Milhiet (3), J. Neveu (1), D. Comas (1), P. Tchénio (3), A. Munnich (2), T. Préat (1), L. Colleaux (2)
(1) DEPSN, CNRS, Gif-Sur-Yvette ; (2) INSERM U393 et Département de Génétique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris ; (3) Laboratoire Aimé Cotton, CNRS, Orsay

La Neurotrypsine est une sérine protéase exprimée majoritairement dans les neurones du cortex cérébral, de l'hippocampe et de l'amygdale. Une mutation tronquante du gène humain est responsable d'une forme récessive autosomique de retard mental sévère isolé. Si diverses expériences chez la souris suggèrent que cette protéine puisse être impliquée dans des phénomènes de plasticité neuronale, la fonction exacte de la Neurotrypsine reste cependant encore mal connue. Pour mieux comprendre les bases physiopathologiques du défaut cognitif observé chez les patients porteurs de mutation Neurotrypsine, nous avons construit des drosophiles mutées pour le gène Tequila, l'orthologue chez la drosophile du gène Neurotrypsine humain. La puissance des outils disponibles tant du point de vue biochimique, génétique (transgenèse, ARN interférence) ou comportemental fait en effet de la drosophile un système modèle très attractif pour disséquer les processus moléculaires et cellulaires qui médient l'apprentissage et la mémorisation. Plusieurs tests de mémorisation sensorielle, basés sur des protocoles de conditionnement de type Pavlovien pendant lesquels les animaux sont entraînés à associer une odeur à un choc électrique, permettent en effet d'étudier les conséquences de l'absence ou de la sur-expression d'une protéine sur les capacités d'apprentissage et de mémorisation. Nous avons choisi d'utiliser la technique d'ARN interférence pour diminuer spécifiquement l'expression de Tequila dans les corps pédonculés ou « mushroom bodies » (MB), une structure paire impliquée dans l'apprentissage et la mémoire olfactifs chez la drosophile. Les MB sont parfois considérés comme l'analogue fonctionnel de l'hippocampe des vertébrés. Nos résultats démontrent que, si la sous-expression de Tequila n'altère ni la morphologie des MB ni les capacités d'apprentissage et de mémorisation à court terme, en revanche, les mouches mutantes ont une diminution très nette de leurs capacités de mémorisation à long terme (MLT). De plus, des expériences de RT-PCR quantitatives montrent que, chez les mouches sauvages, l'expression de Téquila augmente transitoirement pendant la mise en place de la MLT. Enfin, l'utilisation de systèmes d'inactivation conditionnelle nous a permis de montrer que ce défaut de MLT n'est pas lié à un défaut développemental et, surtout, qu'il s'agit d'un phénomène réversible. Ces résultats illustrent l'intérêt de la drosophile pour étudier les conséquences physiopathologiques des mutations Neurotrypsine. De plus, ils suggèrent que Tequila, et donc Neurotrypsine, pourrait jouer un rôle critique dans la régulation de la formation de la MLT.

Mots-clés : retard mental, modèle Drosophile, sérine protéase.

■CO40 / 316. INTÉRÊT DE L'ANALYSE DU PREMIER GLOBULE POLAIRE CHEZ LES PATIENTES PORTEUSES D'UNE TRANSLOCATION 13-14

F. Vialard, D. Molina-Gomes, M. Bergere, I. Hammoud, J. Roume, F. Bru, R. Lombroso, J. Selva
Département de biologie de la reproduction, cytogénétique, génétique médicale et de gynécologie obstétrique, CHI Poissy-Saint-Germain, 10, rue du Champ Gaillard, 78303 Poissy Cedex

Introduction : La translocation robertsonienne 13-14, la plus fréquente de l'espèce humaine, est une indication au diagnostic préimplantatoire (DPI) chez les patientes prises en charge en assistance médicale à la procréation (AMP) pour infertilité. Ce DPI peut aussi être discuté à la suite d'une succession d'événements pathologiques (FCS, IMG) chez les patientes

fertiles. Cependant, le délai de prise en charge reste important en France. De plus certaines patientes ne peuvent avoir accès à cette technique en raison de leur âge. Le diagnostic préconceptionnel sur 1er globule polaire, dans le cadre d'une AMP peut donc être une alternative en France au DPI dans ces situations. Patientes : Nous rapportons cette démarche chez 4 patientes incluses en ICSI pour infertilité masculine et chez une cinquième dont la démarche a été motivée par les antécédents pathologiques (3 FCS). Méthodes : Après blocage de l'axe hypophysaire par un agoniste de la GnRH et stimulation de l'ovulation par de la FSH recombinante, les ovocytes ont été analysés après perforation de la zone pellucide au laser Zylos TK laser Hamilton, puis biopsie du 1er globule polaire et FISH avec les sondes centromériques des acrocentriques 13/21 et 14/22 (Oncor). Le choix des sondes centromériques a été motivé par la demande d'un dépistage des anomalies du chromosome 21 parallèlement aux déséquilibres liés à la translocation.. Seuls les ovocytes, dont le 1er globule polaire a été diagnostiqué normal, ont été injectés. Un conseil génétique est systématiquement réalisé avant tout transfert embryonnaire pour expliquer les résultats et envisager le suivi de la grossesse. Résultats : 10 cycles ont été réalisés chez ces 5 patientes (1 à 3 par patiente), le taux d'anomalies a été en moyenne de 40,4 % (19 sur 47 ovocytes) avec des écarts allant de 80 % (12/15) chez la patiente ayant déjà eu 3 FCS à 15 % (2/13) chez une patiente prise en charge en AMP en raison d'une altération de la spermatogenèse de son conjoint. Dans cette situation, les taux d'anomalies varient entre 15 et 30 % (2/9) : 3 grossesses ont été obtenues ayant abouti à la naissance de 2 enfants et une GEU. Discussion : Cette analyse montre une grande hétérogénéité du taux d'anomalies ovocytaires entre les patientes porteuses d'une translocation 13-14 (15 à 80 %). L'analyse du 1er globule polaire effectuée sur l'ensemble de la cohorte ovocytaire semble donc avoir une valeur pronostique intéressante pour les chances de grossesses futures.

Mots-clés : 1er globule polaire, translocation (13 ;14), diagnostic préconceptionnel.

■CO41 / 1543. ÉTUDE GÉNÉTIQUE ET EMBRYOLOGIQUE DU GÈNE GLI3 : EXTENSION DU PHÉNOTYPE À L'AGNATHIE AVEC OLIGOSYNDACTYLIE

S. Mougou-Zrelli (1)*, S. Audollent (1)*, J. Martinovic (1), M. Le Merrer (1), A.-L. Delezoide (2), C. Ozilou (1), G. Goudefroye (1), O. Boute (3), M.-L. Chauvet (1), V. Cormier-Daire (1), L. Devisme (3), D. Geneviève (1), M. Gonzales (4), S. Lyonnet (1), G. Viot (1), O. Raoul (1), D. Sanlaville (1), A. Munnich (1), F. Razavi (1), M. Vekemans (1) et T. Attié-Bitach (1)

(1) Département de Génétique et INSERM U393, Hôpital Necker, Paris ; (2) Biologie du développement, Hôpital Robert-Debré ; (3) Génétique et fœtopathologie, CHU de Lille ; (4) Fœtopathologie, CHU Saint-Antoine, Paris

Les mutations du gène GLI3 conduisent au syndrome de Greig (cephalopolysyndactyly, GCPS), au syndrome de Pallister-Hall (PHS) et à une polydactylie postaxiale isolée type A/B. Le PHS a été initialement décrit comme une association létale associant un hamartome hypothalamique (HH), une polydactylie post-axiale (PD), une imperforation anale (IA) à un retard de croissance intra-utérin. Le GCPS, moins sévère, est caractérisé par une polydactylie et des anomalies crâniofaciales. Récemment, des corrélations phénotype-génotype ont été montrées à la fois pour la localisation et la nature des mutations du gène GLI3, suggérant différentes fonctions de ce gène au cours du développement.

Nous avons analysé le gène GLI3 chez 15 enfants adressés pour GCPS ou PHS, ainsi que 20 fœtus sélectionnés pour les critères diagnostics suivants : hamartome hypothalamique et polydactylie (8 cas), ou imperforation anale et 2 signes sur 5 parmi : retard de croissance intra-utérin, micropénis, anomalies des membres, cardiaque ou rénale (12 cas). Ces derniers étaient pour la plupart diagnostiqués comme des associations VACTERL.

Nous avons identifié une mutation hétérozygote tronquante du gène GLI3 chez 6/15 enfants (5 GCPS et 1 PHS) et 3 fœtus, ainsi qu'une grande délétion emportant GLI3 (GCPS). Toutes les mutations sont nouvelles et sont en accord avec les corrélations génotype-phénotype proposées. Parmi les fœtus, un cas de PHS typique a été confirmé. Chez un autre, l'association d'un RCIU, une polydactylie, une agénésie rénale bilatérale sans hamartome hypothalamique ou imperforation anale avait initialement conduit à la suspicion d'un syndrome de Smith-Lemli-Opitz (SLO). Le 3e cas fœtal présentait un phénotype sévère et atypique avec une agnathie et absence d'orifice buccal, une oligosyndactylie des 4 membres, un hamartome hypothalamique, une imperforation anale ainsi qu'une agénésie rénale et surrénalienne bilatérale et vaginale ; l'hypophyse et le corps calleux étaient également absents. L'analyse par CGH Microarray (1 Mb) était normale.

Pour finir, l'étude par hybridation in situ du patron d'expression du gène GLI3 au cours du développement humain précoce a confirmé son expression dans les arcs pharyngés puis la mandibule. Aucune mutation n'a été identifiée dans les cas d'association d'un HH et une PD faisant partie d'un autre syndrome (ODFVI, Meckel, côtes courtes-PD, SLO) ou dans les cas de VACTERL.

Nos résultats soulignent la létalité possible des mutations de GLI3 au cours du développement, élargissent le spectre phénotypique à des malformations crânio-faciales et des anomalies réductionnelles des membres, et montrent enfin le chevauchement phénotypique des syndromes de PH et SLO.

Mots-clés : GLI3, PHS, SLO.

■CO42 / 287. ACTION DES PERTURBATEURS ENDOCRINIENS SUR LE DÉVELOPPEMENT UROGÉNITAL CHEZ L'EMBRYON DE POULET

S. Biau (1), B. Roig (1), P. de Santa Barbara (2)

(1) Laboratoire Génie de l'Environnement Industriel LGEI, École des mines d'Alès ; (2) Institut de Génétique Humaine IGH UPR 1142 CNRS Montpellier

L'apparition constante de nouvelles substances dans l'environnement et issues de l'activité industrielle (dioxine, détergents, pesticides, métaux lourds...) mais également urbaine (hormones naturelles, hormones de synthèse...) entraîne l'accroissement des risques de pollution environnementale et des risques sanitaires associés. Parmi ces substances, les Perturbateurs Endocriniens (PE) font l'objet d'une préoccupation particulière de par leurs effets potentiels sur la santé, ils représentent un danger majeur qui est encore aujourd'hui mal estimé. Ces substances d'origine naturelle ou synthétique, altèrent les fonctions du système endocrinien et induisent des effets néfastes sur la santé d'un organisme sain, sa descendance, ou sur les populations. Bien que rejetées en très faibles doses (50 ng/l), ces substances restent actives (notamment par effet synergique) et sont soupçonnées de perturber le système endocrinien des animaux en contact avec elles, et d'une manière plus inquiétante, celui de l'Homme. Des études épidémiologiques en France, Finlande et Danemark ont mises en cause ces substances dans l'observation de taux importants de malformations sexuelles chez les nouveaux nés mâles. Dans ce contexte, nos objectifs sont de déterminer et de quantifier les PE dans les eaux naturelles et d'étudier l'action des doses déterminées sur le développement embryonnaire. L'objectif final étant la recherche de nouvelles cibles moléculaires pour un diagnostic rapide de présence de ces hormones. À l'issue d'une campagne d'étude sur une quarantaine de sorties station d'épuration, notre laboratoire a principalement détecté 3 substances : l'Estrone, l'Estriol (de types naturelles) et l'Éthynylestradiol (de type synthétique). Or à l'heure actuelle, il n'existe pas ou peu de données sur l'action de ces substances sur le développement embryonnaire chez l'Homme. Pour cela, il est apparu intéressant de regarder l'effet de ces substances sur un modèle animal expérimental (l'embryon de poulet). L'embryon de poulet est en effet utilisé depuis de nombreuses années comme un modèle pour l'étude embryologique. Les avantages liés à l'utilisation de ce modèle pour les études de tératologie sont de plusieurs ordres : 1) chaque embryon se développe indépendamment de l'environnement, 2) sa courte gestation (21 jours) permet d'obtenir des résultats rapidement, 3) la possibilité d'administrer directement une dose exacte de tératogène permet un control précis des procédures expérimentales. Notre méthodologie consiste à injecter une dose de chacune des substances (dans des doses comparables à celles retrouvés en sortie de station d'épuration), à un stade précoce (4 jours de développement) et de regarder les effets sur le développement de l'embryon en arrêtant son développement juste avant son terme (18 jours). Des défauts morphologiques ont été observés en ce qui concerne l'Estrone et l'Estriol mais aucun en ce qui concerne l'Éthynylestradiol (des études histologiques et moléculaires sont en cours). Pour l'Estriol, dans 60 % des cas, une persistance des canaux de MÜLLER chez le mâle ainsi qu'une hypertrophie d'un ou des oviductes chez la femelle sont apparus. Ces observations se retrouvent également avec l'Estrone mais avec un pourcentage légèrement plus faible (40 %). De plus, une atteinte rénale, est spécifiquement observée avec l'Estrone, celle-ci est caractérisée histologiquement par une dysplasie de ce tissu. Les études moléculaires complémentaires que nous menons devraient nous permettre de mieux déterminer quels éléments sont perturbés suite à l'ajout de ces PE à un stade précoce de l'embryogenèse et ainsi identifier les cibles mises en jeu. Ces malformations indiquent donc une grande perturbation au niveau de la mise en place du système urogénital et des reins. Ceci laisse penser que l'exposition de la femme enceinte à ces différentes substances et autres PE pourrait entraîner par la suite des malformations importantes chez le nouveau né.

Mots-clés : perturbateurs endocriniens, système urogénital, modèle animal.

4. Session Simultanée « Oncogénétique »

■CO43 / 203. ESTIMATION DU RISQUE DE CANCER ASSOCIÉ AUX GÈNES BRCA : ÉTUDE GENECAN

Sophie Hassid (1), Catherine Noguès (2), Jérome Carayol (3), Flora Alarcon (3), Martine Labbé (4), Ali Rezvani (5), Dominique Stoppa-Lyonnet (6), Pascaline Berthet (7), Jean-Paul Fricker (8), le Groupe Génétique et Cancer*, Nadine Andrieu (1), Catherine Bonaïti-Pellié (3)

(1) Inserm00-06/service de biostatistiques, Institut Curie, Paris ; (2)Centre René Huguenin, St. Cloud ; (3) INSERM U535, Villejuif, France ; (4) U605 INSERM, Villejuif ; (5) INSERM U557, Paris ; (6) Institut Curie, Paris ; (7) Centre François Baclesse, Caen ; (8) Centre Paul-Strauss, Strasbourg

Background : Depuis l'identification des gènes BRCA1 et BRCA2 de prédisposition au cancer du sein et de l'ovaire, de nombreuses études ont cherché à estimer la pénétrance des mutations de ces gènes. Les estimations varient considérablement d'une étude à l'autre, les estimations les plus fortes provenant d'études sur des familles comportant de nombreux cas de cancer. Cette hétérogénéité est probablement due à la différence dans les critères de recueil des familles d'une étude à l'autre, mais pourrait refléter des différences dans la nature et la position des mutations d'une population d'étude à l'autre, ou de facteurs familiaux (génétiques et/ou environnementaux) susceptibles de modifier l'effet d'une même mutation. Objectif : Un des objectifs de l'étude GENECAN est d'estimer le risque de cancer du sein/ovaire associé à une mutation d'un des gènes BRCA et d'étudier la variation de ce risque en fonction du gène muté et du type de mutation (nature, position, activité protéique connue ou prédite).

Données et méthode : Les familles ont été incluses dans l'étude entre 1997 et 1999, à partir de 11 centres de consultation d'oncogénétique, si ces familles remplissaient les critères recommandés pour la recherche d'une mutation (>= 2 cas apparentés au 1er degré de cancer du sein/ovaire, dont >= 1 cas de cancer du sein avant 40 ans ou de l'ovaire, ou de sein chez l'homme, ou bien >= 3 cas de cancer du sein/ovaire apparentés au 2e degré). Pour chaque famille, nous disposons d'un arbre indiquant pour chaque individu la présence ou non d'un cancer, sa localisation, l'âge au diagnostic, l'âge au moment de la construction de l'arbre, ou l'âge au décès et la cause si décédé. Un questionnaire épidémiologique sur la vie reproductive et le style de vie a été rempli par chaque consultante et par leurs apparentées au 1er degré disponibles. Si une mutation a été trouvée, nous disposons du génotype des individus testés.

Le schéma de recensement de ces familles, basé principalement sur des critères familiaux, est complexe et de plus, dépend de critères inconnus comme celui de se rendre à une consultation d'oncogénétique. Ce type de recensement s'avère difficile voire impossible à modéliser, et une mauvaise prise en compte du recensement pourrait introduire un biais lors de l'estimation de la pénétrance. Nous avons donc utilisé la méthode GRL (Genotype Restricted Likelihood) développée par J. Carayol *et al.* (2004), dont le principe, repose sur la vraisemblance des génotypes sachant les phénotypes et qui a l'avantage majeur de s'affranchir du mode de recrutement des familles.

Résultats : Les informations ont été recueillies pour 650 familles. Une mutation sur les gènes BRCA a été trouvée dans 213 familles. 132 familles (93 BRCA1, 40 BRCA2, dont 2 familles présentent les 2 gènes mutés) remplissent les conditions d'application de la méthode GRL (c-a-d >= 2 individus avec génotype connu). Parmi les familles mutées BRCA1, 321 cas de cancer du sein ont été diagnostiqués avec un âge moyen au diagnostic de 44 ans, et 69 cas de cancer de l'ovaire avec un âge moyen au diagnostic de 49 ans. Une mutation a été trouvée chez 151 des 165 cas de cancer du sein testés, chez 20 des 22 cas de cancer de l'ovaire testés et chez 93 des 254 apparentés non atteints de cancer testés. Parmi les familles mutées BRCA2, 192 cas de cancer du sein ont été diagnostiqué avec un âge moyen de 46 ans, et 11 cas de cancer de l'ovaire avec un âge moyen de 53 ans. Une mutation a été trouvée chez 3 des 47 cas de cancer du sein testés, 1 des 3 cas de cancer de l'ovaire testés, et 3 des 8 apparentés non atteints de cancer testés.

Le risque cumulé de cancer sera estimé à partir de cette population en fonction du gène muté et du type de la mutation, puis comparé aux pénétrances estimées dans les autres populations.

* Y.J. Bignon (Clt-Ferrand), A. Chompret (Villejuif), M. Frénay (Nice), C. Lasset (Lyon), J.L. Limacher (Strasbourg), M. Longy (Bordeaux), C. Maugard-Louboutin (Nantes).

Mots-clés : BRCA1/2, pénétrance, cancer du sein/ovaire.

■CO44 / 155. IMPACT DES POLYMORPHISMES MDM2 SNP309 ET TP53 ARG72PRO SUR L'ÂGE DE SURVENUE DES TUMEURS DANS LE SYNDROME DE LI-FRAUMENI

G. Bougeard (1, 2), S. Baert-Desurmont (1, 2), I. Tournier (1), S. Vasseur (1), C. Martin (2), L. Brugières (3), A. Chompret (4), B. Bressac-De Paillerets (5), D. Stoppa Lyonnet (6), C. Bonaïti-Pellié (7), T. Frebourg (1, 2)

(1) Inserm U614, Faculté de Médecine, Rouen ; (2) Service de Génétique, CHU de Rouen ; (3) Département d'Oncologie, Institut Gustave-Roussy, Villejuif ; (4) Département de Médecine, Institut Gustave-Roussy, Villejuif ; (5) Département de Génétique, Institut Gustave-Roussy, Villejuif ; (6) Département de Génétique, Institut Curie, Paris ; (7) Inserm U535, Villejuif

Le syndrome de Li-Fraumeni, qui résulte de mutations constitutionnelles du gène TP53, se caractérise par un large spectre de tumeurs d'apparition précoce (sarcomes des tissus mous, ostéosarcomes, tumeurs cérébrales, corticosurrénalomes, cancers du sein pré- ménopausiques). Récemment, le SNP309 (T > G) de MDM2, qui code pour un des principaux régulateurs de la protéine p53, a été associé à une augmentation de l'expression de MDM2 et à une apparition plus précoce des tumeurs chez les porteurs de mutations constitutionnelles de TP53. Puisque le variant 72Arg de la protéine p53 a une plus haute affinité vis à vis de MDM2 que le variant 72Pro, nous avons émis l'hypothèse que le polymorphisme p.Arg72Pro pouvait avoir également un impact sur l'âge de survenue des tumeurs chez les patients atteints de syndrome de Li-Fraumeni. Nous avons donc analysé l'effet de ces 2 polymorphismes chez 61 porteurs de mutation constitutionnelle de TP53, collectés par le réseau français sur le syndrome de Li-Fraumeni. L'âge moyen de survenue des tumeurs chez les porteurs de l'allèle G du SNP309 de MDMD2 (19,6 ans) était significativement différent de celui observé chez les patients homozygotes pour l'allèle T (29,9 ans, $p < 0,05$). Pour le polymorphisme au codon 72 de TP53, l'âge moyen de survenue des tumeurs chez les porteurs de l'allèle Arg (21,5 ans) était également significativement différent de celui observé chez les patients Pro/Pro (34,4 $p < 0,05$). De plus, nous avons observé un effet cumulé de ces 2 polymorphismes puisque l'âge moyen de survenue des tumeurs chez les patients portant au moins un allèle MDM2 G et au moins un allèle TP53 Arg (16,9 ans) était clairement différent de celui observé chez les patients de génotype MDM2 T/T et TP53 Pro/Pro (43 ans, $p < 0,02$). En résumé, nos résultats confirment l'impact de l'allèle MDM2 SNP309 G sur l'âge de survenue des tumeurs chez les porteurs de mutation constitutionnelle de TP53 et suggèrent que cet effet pourrait être amplifié par l'allèle TP53 72Arg, bien que cette dernière observation demande confirmation sur une plus grande série de porteurs de mutation de TP53. Les polymorphismes modifiant la dégradation de p53 représentent donc un des rares exemples de facteurs génétiques modificateurs identifiés à ce jour dans les prédispositions mendéliennes au cancer.

Mots-clés : Li-Fraumeni, TP53, MDM2.

■CO45 / 1519. SYNDROME DE LYNCH : CAS SPORADIQUE DE CANCER COLIQUE DIAGNOSTIQUÉ À L'ÂGE DE 18 ANS

O. Caron (1, 2), A. Neuville (3), A. Schneider (4), M.P. Gaub (4), M. Guiot (1), M.P. Chenard (3), T. Frebourg (5), J.E. Kurtz (6), J.P. Bergerat (6), J.L. Mandel (1)

(1) Laboratoire de Diagnostic Génétique, CHRU, Strasbourg ; (2) Consultation d'Oncogénétique, CHRU, Strasbourg ; (3) Département d'Anatomopathologie CHRU Strasbourg ; (4) Laboratoire de Biochimie, Biologie moléculaire, CHRU Strasbourg ; (5) Laboratoire de Génétique, CHU de Rouen ; (6) Département d'OncoHématologie Hôpitaux Universitaires de Strasbourg

Nous rapportons le cas sporadique d'une jeune femme âgée de 18 ans et atteinte d'un adénocarcinome colique très peu différencié pT4N1M1 avec envahissement du pancréas, de la veine mésentérique supérieure, d'une anse grêle et de la vésicule biliaire. Compte-tenu de l'âge très jeune, un immunomarquage à la recherche d'une perte d'expression des protéines MLH1, MSH2 et MSH6 a été réalisé, de même qu'un allélotypage tumoral. La tumeur arborait une instabilité des marqueurs microsatellites, et, étonnamment, une triple perte de MLH1, MSH2 et MSH6.

La consultation d'oncogénétique n'a pas retrouvée d'antécédents familiaux particuliers, mais la patiente étant d'origine camerounaise, elle disposait de peu d'informations sur ses nombreux demi-frères et demi-sœurs restés en Afrique.

Une recherche de mutation dans les gènes de réparation des mésappariements de l'ADN a été menée, qui a abouti à la mise en évidence d'une mutation non sens dans le gène hMLH1 (c.1624C>T, p.Gln542STOP, exon 14). L'analyse du gène hMSH2 n'a retrouvé aucune anomalie ponctuelle, et une recherche de grands réarrangements est actuellement en cours. En cas d'absence, l'analyse sera complétée par l'exploration du gène hMSH6, non envisagée a priori, car il est supposé que l'absence de protéine MSH6 est liée à l'absence de MSH2.

Le très jeune âge pourrait être expliqué par des facteurs génétiques ethniques, ou par la présence de deux anomalies simultanées dans les gènes de réparation de l'ADN. Cette dernière hypothèse est renforcée par le fait qu'une perte vérifiée de plusieurs protéines MMR a été constatée au sein

de la tumeur. Il s'agit probablement d'un des cas les plus jeunes de cancers du côlon survenu dans un syndrome de Lynch et peut être d'un très rare cas de digénisme rencontré dans ce type de prédisposition.

Mots-clés : Lynch, MLH1, MSH2.

■CO46 / 453. PLACE DU DIAGNOSTIC GÉNÉTIQUE DANS LE SYNDROME DE BIRT-HOGG-DUBÉ

S. Giraud (1), D. Bessis (2), A. Rossi (3), A. Bottani (4), A. Hovnanian (5), P. Delobre (1), S. Gad (6), O. Binet (7), J. Friedel (8), D. Lambert (9), R. Lévy (10), A. Méjean (11), S. Richard (6, 12), A. Calender (1) et le Réseau national « Cancers du rein héréditaires »

(1) Génétique, Hôpital E. Herriot, Lyon ; (2) Dermatologie, Hôpital St-Éloi, Montpellier ; (3) Génétique, Hôpital Charles-Nicolle, Rouen ; (4) Génétique, Hôpital de Genève, Genève ; (5) Génétique, Hôpital Purpan, Toulouse ; (6) Génétique Oncologique EPHE, UMR 8125, Institut Gustave Roussy, Villejuif et Faculté de Médecine Paris-Sud, Le Kremlin-Bicêtre ; (7) Dermatologie, Fondation Rothschild, Paris ; (8) Dermatologie, Centre Hospitalier, Chalons sur Saône ; (9) Dermatologie, CHU, Dijon ; (10) Oncologie, Clinique de l'Orangerie, Le Perreux ; (11) Urologie, Hôpital Necker, Paris ; (12) Consultation d'Oncogénétique Spécialisée, Service d'Urologie, Hôpital de Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre

Le syndrome de Birt-Hogg-Dubé (BHD) est une affection autosomique dominante rare, caractérisée par le développement d'hamartomes cutanés à type de fibrofolliculomes, de pneumothorax spontanés et de cancers du rein. L'expression de la maladie varie suivant les patients et en fonction de l'âge, ce qui en rend le diagnostic difficile. Le gène de prédisposition à ce syndrome, *BHD*, code une protéine nommée folliculine dont la fonction n'est pas connue à ce jour ; il est composé de 14 exons dont 11 codants. Les mutations germinales décrites jusqu'à présent sont essentiellement des mutations tronquantes et affectent particulièrement un tract poly-C situé dans l'exon 11. Depuis 2003 nous avons mis en place la recherche de mutations du gène *BHD* par séquençage à Lyon et analysé 47 cas index atteints de lésions évocatrices, de différentes familles. Une mutation du gène *BHD* a été mise en évidence chez 14 patients : 7 avaient des fibrofolliculomes et des antécédents familiaux évocateurs, 3 des fibrofolliculomes et un cancer du rein, 2 uniquement des fibrofolliculomes et un uniquement un cancer du rein chromophobe. La mutation était située dans le tract poly-C pour 8 patients. Nous avons identifié quatre nouvelles mutations dont une mutations faux sens dont le caractère délétère doit être confirmé. Dans quelques familles un dépistage génétique a pu être réalisé identifiant 20 nouveaux porteurs d'une mutation du gène *BHD* ; huit personnes sans mutation ont pu être rassurées. La maladie de BHD est un diagnostic difficile. L'analyse génétique peut apporter la preuve du diagnostic et permettre un dépistage familial. Avec les données de la littérature et nos résultats nous faisons le point sur les situations cliniques dans lesquelles la recherche de mutations du gène BHD peut être recommandée.

Mots-clés : Birt-Hogg-Dubbé, *BHD*, dépistage génétique.

■CO47 / 1535. ÉTUDE PGL.EVA : ÉVALUATION DES MÉTHODES DE DÉPISTAGE DU PARAGANGLIOME HÉRÉDITAIRE CHEZ LES SUJETS PRÉDISPOSÉS GÉNÉTIQUEMENT (PHRC NATIONAL 2004)

Anne-Paule Gimenez-Roqueplo (1), Xavier Jeunemaitre (1), Philippe Herman (2), Jean-Claude Carel (3), Marie Nocaudie-Calzada (4), Gilles Chatellier (5), Vincent Rohmer (6) et l'ensemble des membres des 22 centres investigateurs

(1) Département de Génétique et (5) Unité d'Épidémiologie et de Recherche Clinique, Hôpital Européen Georges-Pompidou ; (2) Service d'ORL, Hôpital Lariboisière ; (3) Service d'Endocrinologie Pédiatrique, Groupe Hospitalier Cochin-Saint-Vincent-de-Paul, Paris ; (4) Service de Médecine Nucléaire et d'Imagerie Fonctionnelle ; (6) Service d'Endocrinologie, CHU d'Angers

Les paragangliomes et les phéochromocytomes sont des tumeurs rares dont l'incidence annuelle est estimée respectivement à 1/30 000 et 1/10 000 qui se développent au niveau des sites paraganglionnaires de la tête et du cou ainsi qu'au niveau des ganglions sympathiques thoraco-abdominaux et de la glande médullosurrénale. Leur morbi-mortalité résulte de leur extension locorégionale aux structures nerveuses et vasculaires adjacentes, de leur hypervascularisation, du risque de récidives et de métastases à distance et du risque de complication cardiovasculaire majeure lorsque ces tumeurs sont sécrétantes. Le seul traitement curatif est l'exérèse chirurgicale précoce. Environ 30 % des paragangliomes sont héréditaires et sont alors plus souvent multifocaux, récidivants, malins, et précoces que les formes sporadiques. Les gènes responsables des formes familiales ont été récemment identifiés (2000-2002). Il s'agit des gènes codant pour trois sous-unités de la succinate deshydrogenase (SDHD, SDHB et SDHC) du complexe II mitochondrial. La possibilité d'un test génétique chez des sujets porteurs d'un paragangliome (d'apparence sporadique ou familiale) a modifié la prise en charge de ces patients.

Ces découvertes ont stimulé la création d'un réseau national multidisciplinaire de recherche clinique dédié à la prise en charge du paragangliome familial appelé PGL.NET labellisé par le comité GIS-Maladies Rares au mois de février 2003. Au 1er octobre 2005, 103 familles françaises ont déjà été identifiées comme porteuses d'une mutation sur un gène SDH (SDHD, SDHB ou SDHC). Le dépistage génétique présymptomatique au sein de ces familles a conduit à identifier un certain nombre de sujets à risque asymptomatiques. Ces sujets devront bénéficier d'un dépistage clinique dans le but de rechercher des petites lésions tumorales facilement accessibles à la chirurgie. Cependant, les procédures de dépistage clinique et de surveillance de la survenue des tumeurs chez ces sujets à risque ne sont pas validées.

Nous avons donc proposé lors de la campagne du PHRC national 2004 un projet intitulé PGL.EVA dont l'objectif primaire est d'établir des règles de consensus pour le dépistage des paragangliomes et des phéochromocytomes chez les sujets porteurs d'une mutation germinale sur un gène SDH. Ce projet déposé par la DRRC des Pays de Loire a été retenu et financé. Les premières inclusions ont débuté au mois de mai 2005. Nous allons réaliser une évaluation prospective des méthodes de dépistage biologiques et radiologiques du paragangliome héréditaire chez les sujets prédisposés génétiquement (porteurs d'une mutation sur un gène SDH). Les performances de différents examens biologiques (dosage des métanéphrines urinaires et de la chromogranine A plasmatique), scintigraphiques (scintigraphie 123I-mIBG, scintigraphie-111In-Pentetréotide) et radiologiques (angioIRM tête et cou, angioTDM abdominal) pour la détection de tumeurs de petite taille (centimétriques ou infra centimétriques) seront évaluées. Ce projet multicentrique intéresse plus de 80 investigateurs associés regroupés dans 22 centres multidisciplinaires français ainsi que le groupe d'étude des Tumeurs Endocrines (GTE), le réseau PGL.NET (GIS-Maladies Rares) et le groupe chirurgie endocrinienne-endocrinologie-médecine nucléaire (CEMEN).

■CO48 / 436. ANALYSE FONCTIONNELLE DE 10 MUTATIONS FAUX-SENS DE BRCA1 PAR UN TEST DOUBLE HYBRIDE

Coupier I. (1), Pagès-Berhouet S. (1), Bonazzi V. (3), Aresta S. (4), Camonis J. (4), Stoppa-Lyonnet D.

(1) Institut Curie, Paris ; (2) Service de Génétique-Unité d'oncogénétique, CHU Arnaud-de-Villeneuve, Montpellier ; (3) INSERM U509, Paris ; (4) Hybrigenics, Paris

Les anomalies constitutionnelles du gène BRCA1 peuvent conduire à une augmentation de risque de cancer du sein et de l'ovaire. Près de 1 000 mutations différentes de BRCA1 ont été identifiées. La plupart d'entre elles sont associées à une perte de fonction de la protéine secondaire à l'introduction d'un codon stop. Néanmoins, environ 24 % des mutations sont des mutations faux-sens substituant un acide aminé à un autre et dont la perte de fonction de la protéine correspondante est encore non précisée. Le caractère délétère des mutations faux-sens n'est donc pas clair. Afin de mieux caractériser 10 mutations faux-sens de BRCA1, nous avons examiné par une approche double hybride, les modifications d'interactions entre les partenaires protéiques de BRCA1 (proies) et une partie de BRCA1 contenant une mutation faux-sens crée par mutagenèse dirigée (appâts). Comme témoins positifs, nous avons choisi les mutations faux-sens délétères C61G et A1708E, comme témoins négatifs, nous avons retenu deux polymorphismes Q356R et M1652I. Résultats : comme attendu, les interactions entre les proies et les appâts contenant un faux sens délétère (C61G, A1708E) sont perdues, alors que ces interactions sont maintenues avec les appâts contenant une variation nucléotidique polymorphe. Parmi les 10 mutations faux-sens que nous avons examinées, cinq sont associées à une perte d'interaction avec les proies et cinq ne conduisent pas à une perte d'interaction. Conclusion : Notre approche double hybride nous a permis de classer la moitié des mutations faux-sens que nous avons examinées. Cette approche fonctionnelle est utile à la meilleur compréhension du caractère délétère des mutations faux-sens de BRCA1. Elle pourrait être une aide à la prise en charge clinique des femmes présentant une mutation faux-sens de BRCA1.

Mots-clés : BRCA1, faux sens, double-hybride.

■CO49 / 291. ÉTUDE DES RÉPERCUSSIONS DES VARIANTS RARES DE L'EXON 11 DU GÈNE BRCA1 SUR L'ÉPISSAGE

O. Anczuków (1), M. Buisson (1), O. Sinilnikova (1, 2), S. Mazoyer (1)

(1) Laboratoire de Génétique Moléculaire, Signalisation et Cancer, UMR5201 CNRS, Faculté de Médecine, Lyon ; (2) Hospices Civils de Lyon, Centre Régional Léon Bérard, Lyon

Le gène suppresseur de tumeurs *BRCA1* est impliqué dans la majorité des familles de cancer du sein associé au cancer de l'ovaire, et dans environ 30 % de familles de cancer du sein seul. Il a une séquence codante de 5,6 kb répartie sur 22 exons. L'un de ces exons, l'exon 11, est composé de 3 426 nt alors la taille moyenne des exons des gènes humains est de 145 nt. La majorité des mutations clairement délétères introduit un codon stop prématuré dans la séquence codante. Cependant, l'analyse du gène *BRCA1* à des fins diagnostiques conduit également à l'identification d'un nombre élevé de variants rares sur lesquels il est extrêmement difficile de se prononcer. En effet, les fonctions de *BRCA1* ne sont pas encore assez bien définies pour que l'on puisse déterminer quelles seront les répercutions d'un changement d'un acide aminé quelconque. Par ailleurs, on a pris récemment conscience qu'un changement d'un nucléotide dans une séquence enhancer ou silencer d'épissage exonique (ESE ou ESS respectivement) pouvait modifier le patron d'épissage, et être délétère au même titre que les mutations touchant les sites consensus d'épissage. Nous avons ainsi identifié une mutation non sens dans l'exon 18 de *BRCA1* qui entraîne le saut de cet exon. L'équipe d'A. Krainer (Cold Spring Harbor) a montré que cette mutation non sens détruisait une ESE. Bien qu'il existe plusieurs serveurs internet permettant de prédire l'existence d'ESE et d'ESS, les variants modifiant effectivement l'épissage ne peuvent être identifiés qu'expérimentalement. Cependant, pour cela, l'accès à l'ARN de cellules de patients est indispensable, ce qui représente une difficulté majeure étant donné que les analyses de recherche de mutation s'effectuent en grande majorité à partir d'ADN génomique. Nous avons entrepris de rechercher les conséquences au niveau de l'épissage d'une grande série de variants rares identifiés dans l'exon 11 de *BRCA1* dans des familles de cancer du sein et/ou de l'ovaire. L'objectif est double : 1) identifier parmi les variants de *BRCA1* ceux qui modifient l'épissage de l'exon 11, et donc résoudre l'origine de la prédisposition génétique au cancer du sein dans un certain nombre de familles ; 2) apporter des informations sur la façon dont un exon de grande taille est reconnu au moment de l'épissage, ce qui est un domaine complètement méconnu. Nous avons construit un minigène constitué d'un fragment du gène *BRCA1* allant de l'exon 10 à l'exon 12 (6,4 kb), dans lequel ces variants sont introduits indépendamment par mutagénèse dirigée. Ces minigènes sont transfectés transitoirement dans des cellules HeLa, et les ARN exprimés sont analysés par RT-PCR. Nous traitons les cellules avec un inhibiteur du mécanisme de dégradation des ARNm porteurs d'un codon de terminaison prématuré, afin de ne pas risquer de passer à côté d'un épissage ne conservant pas la trame de lecture. La base de données des mutations de *BRCA1* détectées dans les familles françaises recèle une centaine de variants rares et plus de 150 mutations tronquantes dans l'exon 11. Nous avons commencé par étudier les variants ayant le plus de probabilité de modifier l'épissage d'après une analyse in silico, notre objectif étant de les étudier tous. La confrontation des résultats expérimentaux et des prévisions in silico nous permettra de mieux appréhender la fiabilité de ces dernières, et d'optimiser la sélection des mutations tronquantes les plus susceptibles de modifier l'épissage, afin de les tester également. Chaque fois que nous identifierons une modification de l'épissage grâce à nos minigènes, nous chercherons à nous procurer un échantillon d'ARN d'un patient porteur du variant afin de confirmer ces résultats au niveau du gène endogène. Par ailleurs, nous collaborerons avec A. Krainer pour identifier quels facteurs intervenant dans l'épissage se fixent sur les sites de fixation que nous aurons identifiés. Nous présenterons les premiers résultats obtenus.

Mots-clés : BRCA1, épissage, mutation.

■CO50 / 145. DÉTECTION PAR ANALYSE FONCTIONNELLE DE MUTATIONS D'ÉPISSAGE DANS LE CANCER COLORECTAL HÉRÉDITAIRE NON POLYPOSIQUE

I. Tournier (1), A. Martins (1), C. Martin (2), J. Auclair (3), Q. Wang (3), M.-P. Buisine (4), S. Olschwang (5), T. Frebourg (1, 2), M. Tosi (1)
(1) Inserm U614, IFRMP, Faculté de Médecine, Rouen ; (2) Service de Génétique, CHU de Rouen ; (3) Centre d'Oncologie Génétique, Centre Léon-Bérard, Lyon ; (4) Laboratoire de Biochimie et de Biologie Moléculaire, CHU de Lille ; (5) Inserm UMR 599, Institut Paoli-Calmettes, Marseille

Le cancer colorectal héréditaire non polyposique (syndrome HNPCC) est la première cause de cancer colorectal héréditaire et résulte de mutations constitutionnelles des gènes de réparation de l'ADN, notamment MLH1, MSH2 et MSH6. La présence de nombreuses mutations faux-sens et la difficulté d'établir des tests simples de la fonction des protéines correspondantes représentent une limite majeure au diagnostic moléculaire du syndrome HNPCC. Par ailleurs, un certain nombre de ces variants pourraient avoir un effet sur l'épissage de l'ARN. Notre but est d'améliorer le diagnostic moléculaire du syndrome HNPCC, en optimisant la détection et l'interprétation de tous les défauts d'épissage, introniques ou exoniques des gènes MLH1 et MSH2, et de caractériser les défauts éventuels d'éléments ESE (exonic splicing enhancer) ou ESS (exonic splicing silencers). Nous avons répertorié en France environ 120 mutations des gènes MLH1 et MSH2, faux-sens ou silencieuses sur le plan traductionnel. Afin d'estimer leur conséquences sur l'épissage, nous avons entrepris le criblage de ces mutations par deux méthodes parallèles : une analyse fine par RT-PCR sur l'ARN obtenu du sang périphérique de patients et des tests fonctionnels d'inclusion ou exclusion d'exon, réalisés sur l'ADN génomique. Ces tests fonctionnels sont basés sur l'utilisation d'un vecteur d'expression, contenant un promoteur CMV et les exons 2 et 3 du gène SERPIN/G1, séparés par leur intron naturel, dans lequel des sites de clonage ont été insérés. Ainsi, pour chaque famille, les exons mutés et sauvage à tester sont amplifiés par PCR à partir de l'ADN génomique avec environ 150 pb de séquences introniques flanquantes. Les séquences amplifiées sont clonées dans le vecteur d'expression et transfectées de façon transitoire dans des cellules Hela. L'effet des mutations sur l'épissage est évalué par RT-PCR sur l'ARN des cellules transfectées et par séquençage direct des produits de RT-PCR. Ce test nous a permis de détecter les effets sur l'épissage de plusieurs mutations exoniques à la limite 3' d'exons, classées auparavant comme faux-sens et nous a permis également d'interpréter comme pathogènes certaines mutations introniques non canoniques. L'analyse complète de cette cohorte devrait nous permettre d'évaluer l'impact sur l'épissage des mutations qui touchent des éléments ESE ou ESS des gènes MLH1 et MSH2.

Mots-clés : mutations d'épissage non canoniques, exonic splicing enhancers, syndrome HNPCC.

5. Session Simultanée « Génétique Chromosomique »

■CO51 / 308. IDENTIFICATION D'UN NOUVEAU SYNDROME MICRODÉLÉTIONNEL SUR LE BRAS LONG D'UN CHROMOSOME 17 AVEC LA TECHNIQUE DE CGH ARRAY

Chantal Missirian (1, 2), Christine Francannet (3), Jacqueline Ambert (1), Nicole Philip (1, 2), Laurent Villard (2), Anne Moncla (1, 2)
(1) Département de Génétique Médicale, CHU Timone enfants, 264, rue Saint Pierre, 13385 Marseille, France ; (2) INSERM U491, Faculté de Médecine de la Timone, 27, bd Jean-Moulin, 13385 Marseille, France ; (3) Service de Génétique Médicale, CHU Hôtel Dieu, bd Léon-Malfreyt, 63058 Clermont-Ferrand, France

L'émergence très récente de la technique de CGH array ou puce à ADN permet de rechercher des remaniements chromosomiques crytiques dans des populations d'enfants présentant un retard mental idiopathique. La taille des remaniements identifiés dépendra du niveau de résolution de la puce utilisée, quel que soit le type (oligonucléotides de synthèse ou BACs). Après une période de mise au point de cette nouvelle technique au sein du Département de Génétique Médicale, nous avons testé 40 patients présentant un retard mental idiopathique, associé ou non à un syndrome polymalformatif. Parmi eux, deux patientes présentaient un tableau clinique similaire, associant un retard mental sévère, une microcéphalie, une dysmorphie faciale, des anomalies des extrémités et des phanères, et des troubles du comportement de type autistique. Une microdélétion interstitielle commune aux 2 patientes localisée au niveau du bras long d'un chromosome 17 a été identifiée. Ce résultat nous permet de décrire un nouveau syndrome microdélétionnel et de définir une région minimale critique d'une taille de 2,5 Mb. Le tableau clinique nous paraît suffisamment caractéristique pour pouvoir identifier de futurs patients sur orientation clinique.

Mots-clés : CGH array, syndrome microdélétionnel, chromosome 1.

■CO52 / 1037. TRANSLOCATIONS DÉSÉQUILIBRÉES DU CHROMOSOME 15 : UN NOUVEAU POINT DE CASSURE EN 15Q14 (BP6)

C. Mignon-Ravix (1), D. Depétris (1), P. Collignon (2), M.F. Croquette (3), C. Cuoco (4), B. Delobel (3), M. Krajewska-Walasek (5), P. Kroisel (6), A. Moncla (7), M.G. Mattei (1)
(1) Inserm U491, Faculté de Médecine, Marseille ; (2) Service de génétique médicale, Hôpital Front-Pré, Toulon ; (3) Laboratoire de Cytogénétique, Hôpital Saint-Antoine, Lille ; (4) Laboratorio di Citogenetica, Istituto G. Gaslini, Universita di Genova, Genova ; (5) Department of Medical Genetics, The Children's Memorial Health Institute, Warsaw ; (6) Department of Medical Biology and Human Genetics, Medical University of Graz ; (7) Département de Génétique, Hôpital Enfants-Timone, Marseille

La partie proximale du chromosome 15 est le siège de nombreux réarrangements qui entraînent des anomalies du nombre de copies de la région Prader-Willi/Angelman. Parmi ces réarrangements, les délétions, les duplications, les inversions dupliquées inv dup(15) et, dans une moindre mesure les triplications, sont les plus fréquentes et ont été bien caractérisées. Leur étude a permis d'identifier 5 points de cassure préférentiels (BP) localisés dans la région 15q11-q14 : deux sont proximaux (BP1 et BP2) et trois distaux (BP3, BP4 et BP5) : Les points de cassure proximaux BP1 et BP2 sont communs à tous les réarrangements. Concernant les points de cassure distaux, BP3 est plus particulièrement impliqué dans les délétions, les duplications et les inv dup(15) de petite taille, alors que les triplications et les inv dup(15) de grande taille résultent généralement de cassure en BP4 ou BP5. Des séquences répétées (LCR15) et des duplicons (large HERC2 duplicon) ont été identifiés au niveau de certains de ces points de cassure. Les séquences répétées sont connues pour favoriser les appariements illégitimes et seraient ainsi à l'origine de tels réarrangements sur le chromosome 15. Des translocations déséquilibrées sont aussi, bien que plus rarement, à l'origine de variations du nombre de copies de la région PW/A. Dans ce cas, un chromosome 15 tronqué est transloqué sur un autre chromosome, fréquemment sur l'extrémité télomérique de celui-ci. Aucune donnée n'est actuellement connue concernant les points de cassure impliqués dans ces translocations. Dans le but de révéler un éventuel point de cassure préférentiel sur le chromosome 15, nous avons étudié 8 translocations déséquilibrées de ce type : – 45,XY,t(1 ;15)(qter ;q13.1) – 45,XY,t(3 ;15)(qter ;q14) – 45,XX,t(10 ;15)(qter ;q14) – 45,XX,t(11 ;15) (qter ;q13.1) – 45,XY,t(13 ;15)(qter ;q14) – 45,XX,t(13 ;15)(pter ;q12) – 45,XX,t(15 ;21)(q14 ;qter) – 45,XY,t(15 ;22)(q12 ;pter). L'utilisation de l'hybridation in situ fluorescente et d'un panel de BACs spécifiques (Sanger Institute) nous a permis de caractériser, pour chaque translocation, le point de cassure localisé sur le chromosome 15. Dans 4/8 cas, les points de cassure étaient regroupés dans la bande 15q14 et inclus dans un intervalle d'environ 600pb définissant ainsi une nouvelle région de points de cassure : BP6. L'étude de cet intervalle est en cours à la recherche de séquences ou motifs particuliers qui pourraient expliquer la survenue d'appariements illégitimes entre cette région du chromosome 15 et l'extrémité télomérique d'autres chromosomes.

NB : Les translocations déséquilibrées du chromosome 15 sont des événements rares et cette étude n'a été possible que grâce à une collaboration Française (ACLF) et Européenne (ECA) impliquant notamment : G. Bourrouillou (CHU Purpan, Toulouse, France), B. De Fréminville (Hôpital Nord, Saint-Étienne, France), K. Devriendt (University Hospital Leuven, Leuven, Belgium), ECACC (European Collection of Animal Cell Culture), E. Gautier (Hôpital Américain, Neuilly), N. Joyé (Hôpital Saint-Antoine, Paris), P. Kleinfinger (Pasteur-CERBA, Cergy Pontoise), D. Martin-Coignard (Centre hospitalier, Le Mans), K. Miller (Institute of Human Genetics, Hannover, Germany), H. Moirot (Hôpital Charles-Nicolle, Rouen), M. Syrrou (Biology Medical School, Ioannina, Greece), L. Taine (CHU Pellegrin, Bordeaux).

Mots-clés : syndromes Prader-Willi/Angelman, région 15q14, translocations déséquilibrées.

■CO53 / 276. LARGES DÉLÉTIONS DANS LE SYNDROME DE SMITH-MAGENIS ET FENTE PALATINE : ÉTUDE PAR CGH-ARRAY DE 30 PATIENTS

C. Villenet (1), S. Quief (2), C. Roumier (2), H. de Leersnyder (3), S. Geffroy (4), S. Manouvrier (5), B. Delobel (6), B. Benzacken (7), P. Bitoun (8), J.-P. Kerckaert (1, 2), J. Andrieux (2, 4)

(1) Plateforme de Génomique fonctionnelle, CHRU de Lille ; (2) INSERM Unité 524, Institut de Recherches sur le Cancer de Lille ; (3) HdL Service de Génétique Médicale, Hôpital Necker Enfants-malades, Paris ; (4) Laboratoires de Génétique Médicale, Hôpital Jeanne-de-Flandre, CHRU de Lille ; (5) Service de Génétique Médicale, Hôpital Jeanne-de-Flandre, CHRU de Lille ; (6) Centre de Génétique Chromosomique, Université Catholique de Lille ; (7) Laboratoire de cytogénétique et Biologie de la Reproduction, Hôpital Jean-Verdier, AP-HP ; (8) Génétique Médicale, Hôpital Jean-Verdier, AP-HP

Le syndrome de Smith-Magenis (SMS) associe un retard psychomoteur avec des troubles du comportement caractéristiques incluant des troubles du sommeil, et une dysmorphie faciale. Ce syndrome est associé à une délétion chromosomique interstitielle de 4 Mb en17p11.2. Une région critique de 1 Mb a été identifiée contenant 20 gènes exprimés. L'haploinsuffisance de l'un d'entre eux, RAI1, semble être responsable des troubles comportementaux ainsi que des caractéristiques craniofaciales et ORL retrouvés dans le SMS avec délétion chromosomique. Grâce à une puce de 75 sondes amplimères de 300 pb dédiée à l'étude de pathologies onco-hématologiques couvrant les 22 Mb du chromosome 17, nous avons pu borner les délétions connues de 30 patients atteints du syndrome de Smith-Magenis avec une résolution moyenne de 300 kb. Trois de ces patients présentaient une délétion plus large, les données de la littérature estiment autour 10 % les SMS avec délétion plus large. La corrélation génotype-phénotype a montré que 2 de ces 3 patients présentaient une fente palatine, alors qu'aucun des patients avec une délétion de taille classique (90 % des cas) ne présentait de fente palatine. Deux des premiers patients décrits par Smith et Magenis présentaient une fente palatine, l'un des deux présentait une délétion cytogénétiquement plus large que la délétion classique. À ce jour les études de corrélation génotype-phénotype des patients présentant une délétion inférieure à 1,5 ou supérieure à 9 Mb n'ont pas mis en évidence de variation dans la sévérité du phénotype. La fréquence des fentes palatines dans le SMS peut également être estimée autour de 10 % d'après les données de la littérature. La plus petite zone commune des 2 patients SMS présentant une fente palatine est comprise entre 600 kb (distance entre les 2 sondes délétées : entre chr17 :15,408,038 et 17,052,919) et 1,6 Mb (distance entre les 2 sondes non délétées : entre chr17 : 16,080,514 et 16,656,289) ce qui donne de 8 à 17 gènes candidats à la jonction 17p11.2-17p12. Une étude de liaison dans une famille présentant un syndrome de van der Woude familial (Sertie *et al.*, 1999) suggère qu'un gène en 17p11.2-11.1 (proche de D17S1843 et de D17S953 : entre chr17 :15,905,100- et chr17 :-16,143,481) puisse avoir une coresponsabilité en association au gène VWS en 1q32-41 dans la survenue de fentes palatines. Une autre étude de liaison (Wyszynski *et al.*, 2003) donne une région entre D17S945 (chr17 :9,663,948-9,864,337) and D17S1293 (chr17 :29,484,119-29,684,616) avec un maximum de significativité entre D17S974 chr17 :10,359,391 et D17S1303 chr17 :10,900,360. Parmi les gènes candidats, Ubiquitin B precursor (UBB) (chr17 :16,225,091-16, 226,779) intervient dans la modification de protéines cellulaires par liaison covalente d'ubiquitine et est impliqué dans la progression du cycle cellulaire et la transdution du signal (Roos-Mattjus *et al.*, 2004). Dans d'autres syndromes avec fente palatine des gènes sont impliqués dans de tels processus. Dans la del(22)(q11.2), l'hémizygotie d'UFD1L qui code pour l'homologue humain d'UFD1p (ubiquitin fusion degradation 1 protein) de la levure participe aux anomalies du dévelopment du CATCH 22 (Pizzuti *et al.*, 1997 ; Botta *et al.*, 2001). UFD1L est impliqué dans la dégradation des protéines de fusion d'ubiquitine et est exprimé durant l'embryogénèse. La forme liée à l'X du syndrome d'Opitz G/BBB (caractérisé par des anomalies de la ligne médiane et notamment de fente palatine) est causée par des mutations dans le gène MID1 qui code pour une protéine TRIM/RBCC qui est ancrée au niveau des microtubules. Même si la physiopathologie reste encore à préciser, MID1 agit comme une E3 ubiquitin ligase, régulant la dégradation de PP2A (Protein phosphatases 2A) au niveau des microtubules (Berti *et al.*, 2004). Cette étude se poursuit afin de préciser l'implication d'UBB ou d'un autre gène de cette région dans la survenue de fente palatine. Remerciements : Association Smith-Magenis France et sa présidente.

Mots-clés : Smith-Magenis, fente palatine, CGH-array.

■CO54 / 89. SÉGRÉGATION MÉIOTIQUE CHEZ DES HOMMES PORTEURS D'INVERSIONS PÉRICENTRIQUES : ÉTUDE DE DEUX CAS ET REVUE DE LA LITTÉRATURE

F. Morel (1), N. Douet-Guilbert (1), C. Roux (2), M.-J. Le Bris (1), J. Amice (1), V. Amice (1), J.-L. Bresson (2), M. De Braekeleer (1)

(1) Service de Cytogénétique, Cytologie et Biologie de la Reproduction, CHU Morvan & UBO, Brest ; (2) Service de Génétique, Histologie, Biologie du Développement et de la Reproduction, CHU Saint-Jacques, Besançon

Introduction : Les inversions chromosomiques sont des anomalies de structure qui résultent de deux points de cassure sur un seul chromosome suivi d'une rotation de 180° du fragment chromosomique intermédiaire. Elles peuvent être paracentriques (points de cassure sur le même bras chromosomique) ou péricentriques (points de cassure situés de chaque côté du centromère). La fréquence dans la population générale est estimée à 1 à 2 %. Les sujets porteurs d'inversions chromosomiques sont phénotypiqueement normaux. Pendant la méiose, chez ces individus, l'appariement nécessite la formation d'une boucle. Un nombre impair de crossing-over à l'intérieur de la boucle se traduira par la formation de chromosomes recombinants avec des fragments dupliqués et des fragments délétés. Après fécondation, l'embryon sera donc trisomique partiel et monosomique partiel. Il en résultera une fausse couche ou la naissance d'un enfant possédant un syndrome malformatif associé à un retard mental. Le but de notre étude est d'étudier, par hybridation in situ fluorescente (FISH), la ségrégation méiotique chez deux hommes porteurs d'une inversion péricentrique et de réaliser la revue de la littérature.

Patients et méthodes : Le patient 1 âgé de 30 ans est adressé pour étude cytogénétique suite à la naissance d'un enfant présentant une trisomie

partielle 8p associée à une monosomie partielle 8q. Son caryotype est 46,XY,inv(8)(p12q24.3). L'examen de son sperme révèle une tératospermie. Ses spermatozoïdes ont été analysés en triple FISH avec les sondes télomériques 8p (spectrum green, Abbott, France), 8q (orange, Abbott) et la sonde centromérique du chromosome 9 (aqua, Abbott). Le patient 2 âgé de 36 ans est adressé pour infertilité primaire. Son caryotype est 46,XY,inv(12)(p11q23). L'analyse de son sperme montre une oligoasthénotératospermie (4,4 millions de spermatozoïdes/ml). L'échantillon de sperme a été étudié en triple FISH avec les sondes télomériques 12p (spectrum green, Abbott), 12q (orange, Abbott) et la sonde centromérique du chromosome 9 (aqua, Abbott).
Résultats : 2 601 spermatozoïdes ont été analysés pour l'inversion du chromosome 8 et 5 051 pour l'inversion du chromosome 12.
Les fréquences de spermatozoïdes non recombinants et recombinants sont respectivement de 60,94 % et 37,71 % pour l'inversion du chromosome 8 et de 91,41 % et 7,5 % pour l'inversion du chromosome 12. Aucune différence significative n'est mise en évidence entre les fréquences de spermatozoïdes recombinants présentant une duplication du bras p et une délétion du bras q et ceux présentant une délétion du bras p et une duplication du bras q.
Discussion : Les données de la littérature concernant l'étude cytogénétique de la ségrégation méiotique dans le sperme des hommes porteurs d'inversions péricentriques sont peu nombreuses. En effet, seuls 7 cas étudiés par fécondation hétérospécifique homme/hamster doré et 6 cas par FISH sont rapportés. La fréquence des gamètes déséquilibrés varie selon les cas entre 0 % et 54,30 %. Notre étude retrouve des fréquences de spermatozoïdes déséquilibrés très différentes chez les deux hommes porteurs d'une inversion péricentrique. C'est pourquoi, il nous paraît indispensable d'intégrer l'analyse du sperme en FISH dans l'exploration des hommes porteurs d'anomalies chromosomiques associées à des anomalies du spermogramme. Selon les résultats obtenus, il sera discuté avec les couples du recours ou non au diagnostic prénatal, au diagnostic pré-implantatoire, à des spermatozoïdes de donneur ou à l'adoption.

Mots-clés : inversion, spermatozoïde, FISH.

■CO55 / 1032. UN CORPS PML GÉANT AU SECOURS DE L'HÉTÉROCHROMATINE DANS LE SYNDROME ICF (IMMUNODEFICIENCY, CENTROMERIC ANOMALIES, FACIAL DYSMORPHY)

J.J. Luciani (1), D. Depetris (1), Y. Usson (2), C. Metzler-Guillemain (1), C. Mignon-Ravix (1), A. Megarbane (4), P. Sarda (5), M.J. Mitchell (1), J. Feunteun (6), A. Moncla (3), M.-G. Mattei (1)
(1) Inserm U491, Faculté de Médecine, Marseille ; (2) TIMC UMR5525CNRS, Faculté de Médecine, La Tronche ; (3) Département de génétique, Hôpital d'enfants Timone, Marseille ; (4) Département de génétique médicale, Université Saint-Joseph, Beyrouth ; (5) Service de génétique médicale, Hôpital Arnaud-de-Villeneuve, Montpellier ; Laboratoire de génétique oncologique, Institut Gustave-Roussy, Villejuif

Le syndrome ICF (MIM 242860) est une pathologie autosomique récessive associant une immunodéficience, des anomalies faciales plus ou moins marquées, un retard mental parfois sévère et des anomalies chromosomiques caractéristiques. Ce syndrome résulte de la mutation du gène DNMT3B codant pour une DNA-méthyltransférase spécialisée dans la méthylation des ADNs satellites riches en GC (Jeanpierre *et al.*, 1993 ; Xu *et al.*, 1999). L'hypométhylation de l'ADN satellite qui en résulte, conduit à un défaut de condensation et à des anomalies de l'hétérochromatine des chromosomes 1 (1qh) et 16 (16qh), plus rarement du chromosome 9 (9qh). Ces anomalies consistent en une élongation de l'hétérochromatine pouvant aller jusqu'à la cassure, des figures multiradiales et des micronoyaux. La présence conjointe d'ADN hypométhylé et d'anomalies de l'hétérochromatine dans les cellules des patients ICF, nous a conduit à rechercher une éventuelle altération de la distribution des protéines de l'hétérochromatine dans ce syndrome. Nous avons notamment étudié la distribution de la protéine HP1 (Heterochromatin Protein 1), constituant majeur de l'hétérochromatine, et présente chez l'homme sous trois isoformes : HP1alpha, beta et gamma. Nous avons pu montrer que 1) Dans les cellules ICF en phase G2, les isoformes de la protéine HP1 ont une distribution tout à fait atypique, formant un large corps nucléaire colocalisant avec les hétérochromatines 1qh et 16qh. Une telle colocalisation entre protéines HP1 et régions chromosomiques spécifiquement altérées dans le syndrome ICF suggère un ordre nucléaire ne relevant pas du simple hasard. 2) Chez tous les patients étudiés (6), la fréquence d'association des différentes hétérochromatines (1qh, 9qh, ou 16qh) avec ce corps nucléaire géant reflète la fréquence avec laquelle chacune d'elles participe aux anomalies chromosomiques. De plus, l'implication de chaque hétérochromatine dans ces deux types d'évènements apparaît comme spécifique d'un patient donné. 3) La caractérisation de ce corps nucléaire géant démontre que SP100 et ATRX, deux protéines interagissant avec HP1, sont présentes au sein de ce corps nucléaire géant.SP100 est elle-même associée à PML (ProMyeocytic Leukemia) et SUMO-1, ce qui permet d'identifier ce corps nucléaire comme un corps PML géant. Les corps PML, structures nucléaires désorganisées dans la Leucémie Aigüe Promyélocytaire, sont impliqués dans une multitude de fonctions mais leur rôle biologique précis reste cependant mal défini. La présence d'ATRX, de DAXX, et d'autres protéines de remodelage de la chromatine suggère que ce corps PML géant est impliqué dans l'organisation de l'hétérochromatine, à la phase G2. En conclusion : 1) L'étude du syndrome ICF révèle l'existence de liens fonctionnels entre hétérochromatine et corps nucléaires PML, tout particulièrement pendant la phase G2 du cycle cellulaire. Pendant cette phase, les corps PML englobent totalement l'ADN satellite tardivement répliqué et participent à la réorganisation/condensation de l'hétérochromatine correspondante. Dans les cellules ICF, l'hypométhylation de l'ADN satellite pourrait rendre cette étape de remodelage plus difficile, justifiant la présence d'un corps PML géant. 2) Le polymorphisme de l'hétérochromatine pourrait, en outre, jouer un rôle dans la variabilité phénotypique du syndrome ICF. En effet, dans un contexte d'hypométhylation, la grande taille d'une région hétérochromatique pourrait être un facteur d'agravation des problèmes de condensation déjà présents et résulter en un nombre accru d'anomalies chromosomiques.

Mots-clés : PML nuclear body, ICF syndrome, heterochromatin.

■CO56 / 179. DÉTECTION DE MICRODÉLÉTIONS ET DE MICRODUPLICATIONS GÉNOMIQUES PAR QMPSF CHEZ LES PATIENTS PRÉSENTANT UN RETARD MENTAL IDIOPATHIQUE

Pascale Saugier-Veber (1, 2), Alice Goldenberg (1), Valérie Drouin-Garraud (1), Céline de La Rochebrochard (3), Valérie Layet (4), Nathalie Drouot (1, 2), Brigitte Gilbert (5), Géraldine Joly-Hélas (3), Hélène Moirot (3), Annick Rossi (6), Nathalie Le Meur (6), Mario Tosi (2), Thierry Frebourg (1, 2)
(1) Service de Génétique, CHU de Rouen ; (2) Inserm U614, Faculté de Médecine de Rouen ; (3) Laboratoire de Cytogénétique, CHU de Rouen ; (4) Laboratoire de Cytogénétique, Hôpital du Havre ; (5) Service de Génétique, CHU de Poitiers ; (6) Laboratoire de Cytogénétique, Établissement Français du Sang, Bois-Guillaume

La description clinique puis cytogénétique des syndromes microdélétionnels a été suivie de la caractérisation de séquences recombinogènes localisées aux bornes des remaniements et à l'origine de recombinaison homologue non allélique. Ce mécanisme devrait en théorie générer en proportions égales délétions et duplications. Or peu de syndromes microduplicationnels ont été décrits à ce jour. Cette asymétrie de fréquence pourrait résulter en partie d'un biais méthodologique. Si la FISH a significativement amélioré le diagnostic des microdélétions suspectées sur des bases cliniques, la grande variabilité phénotypique des remaniements chromosomiques cryptiques, en particulier des duplications, nécessite le développement de méthodes de criblage, indépendamment de la présentation clinique. La CGH-array sera probablement dans ce cadre une méthode de référence mais le haut degré de polymorphisme du nombre de copies (copy number polymorphism ou CNP), récemment décrit dans le génome humain, complique singulièrement l'interprétation des analyses de CGH effectuées à visée diagnostique. Afin de faciliter la détection sélective de remaniements délétères, microdélétions ou microduplications, chez les patients atteints de retard mental (RM) idiopathique, nous avons développé une nouvelle technique reposant sur le principe de la QMPSF (Quantitative Multiplex PCR of Short fluorescent Fragments) et explorant simultanément 12 locus candidats impliqués dans le retard mental et connus pour être les cibles de réarrangements génomiques. Nous avons appliqué cette méthode à 293 patients. Dans un premier temps, nous avons criblé 153 patients avec RM syndromique initialement référés pour exploration des extrémités subtélomériques et sans remaniement subtélomérique et avons identifié une délétion du gène NSD1 en 5q35 chez un patient présentant un RM profond, une épilepsie sévère et, rétrospectivement, une dysmorphie faciale compatible avec le diagnostic de syndrome de Sotos. Dans la deuxième série, nous avons étudié 140 patients atteints de RM avec trouble du comportement, référés pour suspicion de syndrome de l'X Fragile et sans expansion au locus FRAXA et avons détecté une délétion 22q11 de 3 Mb chez un patient présentant un RM modéré et une dysmorphie faciale, et une duplication 17p11 de 4 Mb chez un patient présentant un RM modéré, des troubles du comportement, un strabisme et une dysmorphie non spécifique. Ainsi, cette nouvelle QMPSF devrait constituer un nouvel outil diagnostique chez les patients avec RM idiopathique, d'autant plus que cette méthode simple, rapide et peu coûteuse analysant une dizaine de locus en

une seule PCR, permet l'analyse de grandes séries de patients. Sa simplicité permet, pour chaque patient, de définir l'étendue du remaniement. La souplesse de la méthode permettra son actualisation régulière par l'incorporation de locus nouvellement reconnus comme cible de syndromes microdélétionnels et microduplicationnels. Enfin, cette QMPSF devrait permettre de mieux apprécier la fréquence des microduplications dans la population de patients atteints de RM.

Mots-clés : microduplication, microdélétion, QMPSF.

■CO57 / 278. ÉTUDE CLINIQUE, ANATOMO-PATHOLOGIQUE ET CYTOGÉNÉTIQUE D'UN CAS DE NAEVUS LIPOMATEUX SUPERFICIEL DE HOFFMAN-ZURHELLE : IDENTIFICATION D'UNE DÉLÉTION DE LA RÉGION 2p24

N. Cardot-Leccia (1), Antoine Italiano (2), C. Perrin (1), M.C. Monteil (3), E. Basc (2), F. Pedeutour (2)

(1) Laboratoire d'Anatomie Pathologique, CHU de Nice ; (2) Laboratoire de Génétique des tumeurs Solides, CHU de Nice et CNRS UMR 6543, Faculté de Médecine de Nice ; (3) Service de Chirurgie Plastique, Réparatrice et Esthétique, CHU de Nice

Le naevus lipomateux cutané superficiel de Hoffman-Zurhelle est une lésion hamartomateuse cutanée rare. On distingue trois types cliniques : – i) la forme multiple, dite classique, qui se présente sous l'aspect d'amas de papules ou nodules de consistance molle et de distribution linéaire. Les lésions sont habituellement congénitales mais peuvent apparaître à tout moment, généralement avant l'âge de 20 ans ; – ii) la forme solitaire ; – iii) une forme variante très particulière, le syndrome du « bébé Michelin » ou syndrome de Kunze Riehm (OMIM 156610).

Les caractéristiques histologiques sont identiques pour les trois formes, qui montrent des amas ectopiques de cellules adipeuses au sein d'un tissu collagène densifié par endroits dans le derme moyen. Le derme peut apparaître entièrement normal, mais cependant la densité des fibres de collagène, la quantité de fibroblastes et la vascularisation sont souvent plus importantes que dans la peau normale. Nous présentons ici un cas de forme multiple de naevus lipomateux superficiel localisé sur la fesse droite chez un homme de 44 ans qui avait présenté une lésion solitaire similaire au niveau du dos à l'âge de 29 ans. Les lésions nodulaires, dont la plus grande mesurait 3×2 cm, étaient groupées en plaque de dimensions 10×11 cm. Sur le plan histologique, il était observé des lobules adipeux dans le derme, accompagnés d'un épaississement des fibres de collagène et d'un nombre important de fibroblastes. Lors de l'exérèse, un fragment était réservé pour une culture cellulaire et une analyse cytogénétique. Le caryotype obtenu après 4 jours de culture cellulaire montrait une délétion de la portion distale du bras court d'un chromosome 2 : 46,XY,del(2)(p24), alors que le caryotype réalisé après 6 jours de culture ne montrait pas d'anomalie (46,XY), reflétant la pousse de fibroblastes normaux du stroma lésionnel. L'analyse complémentaire par hybridation in situ en fluorescence (FISH) montrait que la région de cassure était localisée entre les gènes ALK (2p23.1-23.2 ; NM_004304) et MYCN (2p24.3 ; NM_005378). Il s'agit, à notre connaissance de la première description d'une anomalie chromosomique acquise associée à un naevus lipomateux superficiel. La recherche de cette délétion par FISH sur le bloc d'inclusion en paraffine de la première lésion au niveau du dos chez ce patient est en cours. Nos résultats indiquent que la perte du fragment 2p24-pter est liée à la pathogenèse de la forme classique du naevus lipomateux multiple, et suggèrent qu'un gène suppresseur de tumeurs, lié à ce type rare est très particulier de tumeur bénigne, est localisé dans l'intervalle 2p24-pter. Nos résultats suggèrent également que la région génomique cible de la forme classique du naevus lipomateux cutané superficiel serait différente de celles impliquées dans le syndrome du bébé Michelin, dans lequel ont été décrites des anomalies constitutionnelles des chromosomes 7 et 11.

Mots-clés : deletion 2p, naevus lipomateux, hamartome.

■CO58 / 477. TYPAGE GÉNOMIQUE COMPARATIF DES MÉLANOMES CHOROÏDIENS ET DE LEURS MÉTASTASES PAR CGH-ARRAY

I. Huon (1), I. Lebigot (2), E. Manié (3), G. Pierron (1), L. Desjardins (4), S. Piperno-Neumann (5), J.-P. Thiéry (6), X. Sastre-Garau (7), E. Barillot (8), O. Delattre (3), J. Couturier (1)

(1) Service de Génétique ; (2) Centre de Ressources Biologiques ; (3) Plateforme de Génomique, INSERM U509 ; (4) Département d'Ophtalmologie ; (5) Département d'Oncologie Médicale ; (6) Département de Transfert ; (7) Département de Pathologie ; (8) Unité de Bioinformatique, Institut Curie, 75248 Paris Cedex 05

Le mélanome choroïdien est la plus fréquente des tumeurs malignes intra-oculaires. Environ 50 % des patients décèdent de métastases, le plus souvent hépatiques. Les données caryotypiques ont montré que 60 % des tumeurs oculaires portent une monosomie 3, en règle complète, et que ce sont presque exclusivement celles-ci qui développent des métastases. Dans une perspective de prise en charge optimale des patients, il importe donc de bien caractériser le profil génomique des tumeurs oculaires. Cette tumeur est aussi un modèle pour différencier les profils génomiques des localisations primitives et des métastases. Une série de 34 tumeurs oculaires et 22 métastases hépatiques, dont un couple tumeur oculaire – métastase, a été analysée sur plate-forme pan-génomique de BACs CGH-array, résolution moyenne 1,2 Mbases (CIT/INSERM U509). Dans 21 tumeurs oculaires (62 %), est présente une monosomie 3, partielle dans 2 cas ; dans 3 tumeurs, il n'est pas décelé de déséquilibres génomiques. La monosomie 3 est associée à des anomalies additionnelles systématisées : gains de 6p, 8q, et pertes de 1p, 6q, 8p, 16q, présentes dans plus de 20 % des cas. Les 10 tumeurs sans monosomie 3 s'en distinguent par des gains de chromosomes entiers : 6, 8, 11, 20, et 21. Vingt des 22 métastases (91 %) ont montré une monosomie 3, partielle dans un cas. Elles présentent, dans l'ensemble, les mêmes déséquilibres génomiques que les tumeurs oculaires avec monosomie 3, mais avec une fréquence plus élevée de pertes de 8p, et des gains de chromosome 5 entier. Les deux métastases sans monosomie 3 décelée présentent les mêmes anomalies additionnelles que les autres. Le couple tumeur oculaire – métastase montre les mêmes déséquilibres dans les deux localisations. Les tumeurs et la métastase présentant une délétion partielle du 3 amènent à définir une région minimale de 22 Mbases, en 3p24-26. Au total, ces résultats confirment que le mélanome choroïdien recouvre deux entités génomiques distinctes, différenciées par la monosomie 3, et démontrent que les métastases surviennent quasi-exclusivement à partir des tumeurs monosomiques. Le statut du 3 apparaît ainsi comme un marqueur pronostique majeur pour la prise en charge des patients atteints de mélanome choroïdien.

Mots-clés : mélanome choroïdien, génomique, CGH-array.

6. Session Simultanée « Conseil Génétique et Société » et « Génétique des maladies complexes »

■CO59 / 105. COMMENT DÉCOUPER AU MIEUX LES GRANDES GÉNÉALOGIES POUR LOCALISER LES FACTEURS DE RISQUE GÉNÉTIQUE DES MALADIES MULTIFACTORIELLES ?

C. Bellenguez (1), M. Ciullo (2), T. Nutile (2), V. Colonna (2), M.G. Persico (2), C. Bourgain (1)

(1) INSERM U535, Villejuif, France ; (2) Institute of Genetics and Biophysics A. Buzzati-Traverso, CNR, Naples, Italy

De nombreuses études génétiques de maladies multifactorielles sont aujourd'hui menées dans des généalogies étendues. Cependant, les logiciels d'analyse de liaison non paramétrique multipoint disponibles sont loin de pouvoir prendre en compte ces généalogies. Elles doivent donc être découpées en sous-familles. Ainsi, dans la récente étude de Ciullo [1] sur l'hypertension artérielle dans le village isolé de Campora (Italie du Sud), les 171 patients et 268 témoins sont reliés par un arbre généalogique comprenant 2 947 personnes. L'analyse de liaison des 1 122 marqueurs microsatellites répartis aléatoirement sur le génome n'a été possible qu'après découpage en 37 familles du pedigree complet. Une liaison a ainsi été détectée entre l'hypertension et le chromosome 8. Deux méthodes ont récemment été proposées pour découper de façon automatique les généalogies. La première est basée sur une analyse factorielle en composantes principales (MCP) [3], la seconde sur un algorithme d'extraction de cliques maximales [2]. Ces deux approches ont été développées dans le cadre de l'analyse de liaison de traits quantitatifs.

Au cours de notre travail, nous avons optimisé l'utilisation de ces deux méthodes pour l'analyse d'un trait qualitatif, l'hypertension artérielle, en utilisant les données de Ciullo *et al.* Si la méthode de Falchi est directement utilisable pour ce type d'analyse, nous avons dû adapter la méthode MCP. Plusieurs découpages d'un pedigree sont possibles selon les valeurs données aux paramètres des méthodes. Nous avons montré qu'un découpage basé sur les individus atteints plutôt que sur l'ensemble des individus phénotypés permettait d'améliorer sensiblement les résultats pour les deux méthodes. Alors que Ciullo *et al.* observaient un pic de Zlr à 3,66 non significatif après correction pour tests multiples sur le génome entier (p-value = 0,08), notre découpage optimisé permet d'observer un pic significatif à 5,27 (p-value = 0,0044) à la même position.

Les caractéristiques des deux découpages optimaux obtenus par MCP et par la méthode de Falchi sont assez différentes. Cependant, les pics de

liaison sont d'ampleur comparable (Zlr = 4,92 avec Falchi et Zlr = 5,27 avec MCP) bien que localisés à 6cM d'écart.
Nos résultats illustrent la grande sensibilité des analyses de liaison réalisées dans les grandes généalogies à la qualité des découpages. Ils montrent également que, découpées de façon optimale, ces généalogies offrent une bonne puissance de détection des facteurs de risque de maladies multifactorielles.

Mots-clés : grandes généalogies, découpage, hypertension.

Références

1. Ciullo M, Bourgain C, Nutile T, Bellenguez C, Colonna V, Astore M, Calabria A, Guardiola O, Iovino GL, Trimarco B *et al.* Complex diseases in isolated population of Cilento : study of hypertension in Campora. *Amer Soc Hum Genet* 2005.
2. Falchi M, Forabosco P, Mocci E, Borlino CC, Picciau A, Virdis E, Persico I, Parracciani D, Angius A, Pirastu M. A genomewide search using an original pairwise sampling approach for large genealogies identifies a new locus for total and low-density lipoprotein cholesterol in two genetically differentiated isolates of Sardinia. *Am J Hum Genet* 2004 75 (6) : 1015-31.
3. Pankratz VS, Iturria SJ. A pedigree partitioning approach to quantitative trait loci mapping of IgE serum level in the GAW12 Hutterite data. *Genet Epidemiol* 2001 ; 21 (suppl. 1) : S258-63.

■CO60 / 459. LE GÈNE CODANT LE RÉCEPTEUR BETA1-ADRÉNERGIQUE EST UN GÈNE MODIFICATEUR DE L'HYPERTROPHIE CARDIAQUE FAMILIALE

Villard Éric (1), Duboscq-Bidot Laëtitia (1), Charron Philippe (2), Nicaud Viviane (3), Tiret Laurence (3), Richard Pascale (4), Schwartz Ketty (5), Komajda Michel (6)

(1) Inserm U621 ; (2) Département de Génétique ; (3) Inserm U525 ; (4) UF Cardiogénétique Fédération de Génétique ; (5) Inserm U582 ; (6) Département de Cardiologie, CHU Pitié-Salpêtrière, Paris

Introduction : La cardiomyopathie hypertrophique (CMH) familiale est une maladie autosomique dominante associée à une hypertrophie ventriculaire (HVG) asymétrique affectant principalement le septum interventriculaire. De très nombreuses mutations morbides ont été identifiées au sein de nombreux gènes et sont associées à une grande hétérogénéité phénotypique. De plus, des sujets porteurs d'une même mutation présentent une hypertrophie de sévérité et de localisation variable suggérant que des facteurs modificateurs d'origine génétique jouent un rôle dans la gravité. Compte tenu du rôle potentiel que joue le système adrénergique dans l'HVG nous avons analysé l'effet du polymorphisme fonctionnel R389G du récepteur beta1-adrénergique (ADRB1_R389G) sur l'expression phénotypique de l'HVG chez des sujets présentant une CMH familiale. Matériel et méthodes : Nous avons identifiés 232 sujets issus de 63 familles indépendantes présentant une CMH et porteurs d'une mutation morbide causale identifiée au sein des gènes MYBPC3, MYH7, MYL2 ou TNNT2. Le phénotype a été évalué en échographie : l'épaisseur du septum interventriculaire (SIV), l'épaisseur maximum de la paroi ventriculaire (EPMax) et l'indice de Spirito-Marron ont été calculés. Les génotypes pour le polymorphisme ADRB1-R389G ont été déterminé par PCR-RFLP sur l'ADN génomique extrait du sang total des patients. L'analyse de variance comparant les moyennes des variables phénotypiques en fonction des génotypes a été conduite à l'aide du logiciel SAS. Certains paramètres ont été pris en compte comme co-variables : l'age, le sexe, la pression artérielle systolique et la surface corporelle. Résultats : L'hypertrophie ventriculaire gauche est significativement plus faible dans le groupe de patient de génotype GG (n = 28 patients) en comparaison avec les patients de génotype CC (n = 118) ou CG (n = 86), pour les trois paramètres évaluant l'hypertrophie (SIV, p = 0,0074 ; EPMax, p = 0,0066 ; Spirito-Maron, P = 0,021, calculés sous un modèle récessif). Cet effet n'est observable que chez les porteurs de mutations, et non pas dans une autre population contrôle, suggérant fortement un rôle modificateur de ce polymorphisme sur la masse ventriculaire gauche. Conclusion : Nous observons un effet significatif et protecteur du génotype GG du polymorphisme ADRB1_R389G pour les différents indicateurs d'hypertrophie mesurés dans notre population de CMH familiale. Ce polymorphisme génétique semble donc moduler l'expression cardiaque induite par diverses mutations de gènes codant des protéines sarcomériques, et rendre compte, au moins en partie, de la variabilité intrafamiliale observée.

Mots-clés : récepteur adrénergique, cardiomyopathie, gène modificateur.

■CO61 / 306. ANALYSES MUTATIONNELLES DU GÈNE PINK1 DANS LA MALADIE DE PARKINSON EN EUROPE ET EN AFRIQUE DU NORD

Suzanne Lesage (1), Pablo Ibáñez (1), Ebba Lohmann (1, 3), Emmanuel Broussolle (5), Guiseppe De Michele (6), Michel Borg (7), Yves Agid (1, 3, 4), Alexandra Dürr (1, 2, 3), Alexis Brice (1, 2, 3, 4) et le réseau PDG

(1) INSERM U679 (anciennement U289), Neurologie et Thérapeutique Expérimentale, CHU Pitié-Salpêtrière, AP-HP, 75013 Paris, France ; (2) Département de Génétique, Cytogénétique et Embryologie, CHU Pitié-Salpêtrière, AP-HP, 75013 Paris, France ; (3) Fédération de Neurologie, CHU Pitié-Salpêtrière, AP-HP, 75013 Paris, France ; (4) UFR, CHU Pitié-Salpêtrière, AP-HP, 75013 Paris, France ; (5) Service de Neurologie C, Hopital Neurologique de Lyon, 69003 Lyon, France ; (6) Department of Neurological Sciences, Federico II University, Naples, Italy ; (7) Service de Neurologie, CHU de Nice, 06002 Nice, France

Introduction : La maladie de Parkinson (MP) est une affection neurodégénérative progressive, caractérisée cliniquement par la triade bradykinésie, rigidité et tremblement de repos, dus à la dégénérescence des neurones dopaminergiques de la voie nigro-striatale. À côté des gènes de la parkine et de DJ-1, des mutations dans le gène PINK1 (PTEN-induced kinase) au locus Park6 ont été identifiées dans des familles présentant une transmission de type autosomique récessif et à début précoce. But du travail : Évaluer la fréquence relative des mutations dans le gène PINK1 dans un groupe de patients atteints de MP d'origine européenne et maghrébine et établir des corrélations génotype-phénotype. Matériel et méthodes : Nous avons sélectionné 177 patients atteints de MP (124 cas provenant de familles à transmission autosomique récessive et 53 cas issus d'unions consanguines) présentant un âge de début de la maladie précoce (&#8804 ; 60 ans). Ces familles sont essentiellement d'origine européenne (n = 144 dont 91 Français), maghrébine (n = 16) et d'autres pays (n = 17). Parmi ces patients, 90 sont porteurs de 1 ou 2 mutations du gène de la parkine après criblage de ce gène par dHPLC/séquençage et dosage semi-quantitatif pour la recherche de ré-arrangements exoniques. Sur les familles restantes, nous avons génotypé 3 microsatellites dans la région du locus Park6 pour réaliser des haplotypes et rechercher la présence d'une haplo-identité des marqueurs ou d'une homozygotie pour les familles consanguines, afin d'inclure/exclure ces familles pour le séquençage du gène PINK1. Le génome des familles pouvant être liées à Park6 est étudié par séquençage pour les 8 exons de PINK1. Résultats : Sur 87 familles non porteuses de mutations de la parkine, 34 semblent être liées au locus Park6. Dans 7 familles différentes, nous avons identifié 10 mutations délétères dans le gène PINK1 (5 mutations faux-sens, 2 non-sens et 3 avec des délétions changeant le cadre de lecture) dont 8 nouvellement identifiées. Toutes ces mutations sont à l'état homozygote ou hétérozygote composite. Une délétion de 32 paires de base dans l'exon1 est intéressante car elle touche le site d'adressage mitochondrial. Les comparaisons des 3 groupes, soit porteurs de mutations de la parkine (n = 114), soit porteurs de PINK1 (n = 12), soit porteurs d'aucune mutation (n = 79) ne montrent aucun signe phénotypique spécifique sauf pour les âges de début de la maladie qui sont plus précoces chez les porteurs de mutations de la parkine (30,3 ± 10,4 ans ; écart 7-58 ans) que chez les porteurs de mutations de PINK1 (34,8 ± 8,3 ans ; écart 21-52 ans) ou les porteurs d'aucune mutation (46,8 ± 12,1 ans ; écart 12-60 ans). Conclusion : Ces résultats suggèrent que PINK1 est le second gène le plus fréquemment impliqué (7/177 = 4 %) dans la maladie de Parkinson à début précoce avec un phénotype d'une progression lente mais non distinguable des patients porteurs de mutations de la parkine.

Mots-clés : maladie de Parkinson, PINK1, Parkine.

■CO62 / 51. L'HYPOPHOSPHATASIE MODÉRÉE : UNE MALADIE GÉNÉTIQUE FRÉQUENTE ?

E. Mornet (1, 2), I. Heath (2), A. Taillandier (1), J.L. Serre (2), B. Simon-Bouy (1)

(1) Laboratoire SESEP, Université de Versailles-Saint-Quentin en Yvelines, 78035 Versailles Cedex, France ; (2) Équipe Structure-fonction, EA2493, Université de Versailles-Saint-Quentin en Yvelines, 78035 Versailles Cedex, France

L'hypophosphatasie est une maladie héréditaire due aux mutations du gène de la phosphatase alcaline non tissu-spécifique (TNSALP). Elle affecte la minéralisation osseuse et dentaire et présente une variabilité clinique très importante, de la forme létale détectable avant la naissance jusqu'aux formes modérées détectées tard chez l'adulte (fractures récurrentes, chute prématurée des dents). Cette variabilité clinique résulte de l'hétérogénéité allélique du gène de la TNSALP sur lequel plus de 168 mutations sont aujourd'hui répertoriées dans la base de données internationale des mutations de ce gène [1]. Les formes sévères sont toujours transmises sur le mode récessif autosomique tandis que les formes modérées peuvent être transmises sur le mode récessif autosomique ou dominant autosomique. La seule étude épidémiologique réalisée à ce jour a été faite aux États-Unis à partir des registres de services pédiatriques hospitaliers il y a plus de 40 ans [2]. Elle indique que l'incidence des formes sévères à la naissance est de l'ordre de 1 sur 100 000. Par contre, l'incidence des formes modérées de la maladie n'a jamais été étudiée et est rendue difficile par le fait

que le diagnostic de ces formes est très peu souvent posé. Nous proposons ici une estimation de l'incidence des formes modérées d'hypophosphatasie calculée sur la base de l'incidence des formes sévères et de la proportion de mutations à effet dominant négatif.
Plus de 200 patients atteints de formes variées ont été étudiés au laboratoire entre 1996 et 2004, et 120 mutations ont ainsi été identifiées. L'effet de 41 d'entre elles a été testé par mutagenèse dirigée et transfection dans des cellules COS, et un effet dominant négatif a été recherché par co-transfection avec le gène normal, selon un protocole précédemment développé au laboratoire [3]. Quatorze mutations, soit 8,3 % de l'ensemble des mutations répertoriées dans la base de données internationale, présentaient un effet dominant négatif, responsable de l'expression de la maladie chez l'hétérozygote. Ce résultat permet d'estimer l'incidence des formes modérées d'hypophophatasie à 1 sur 1 896, soit une incidence 50 fois supérieure à celle des formes sévères. Cette valeur est une estimation basse puisqu'il faut ajouter les formes modérées transmises sur le mode récessif. En conclusion, l'hypophosphatasie dans sa forme modérée est sans doute une maladie héréditaire fréquente mais très peu diagnostiquée.

Mots-clés : hypophosphatasie, incidence, effet dominant négatif.

Références

1. The TNSALP Gene Mutations Database, http://www.sesep.uvsq.fr/Database.html
2. Fraser D. Hypophosphatasia. *Am J Med* 1957 ; 22 : 730-746.
3. Lia-Baldini AS, Muller F, Taillandier A, Gibrat JF, Mouchard M, Robin B, Simon-Bouy B, Serre JL, Aylsworth AS, Bieth E, Delanote S, Freisinger P, Hu JCC, Krohn HP, Nunes ME, Mornet E. A molecular approach to dominance in hypophosphatasia. *Hum Genet* 2001 ; 109 : 99-108.

■CO63 / 17. DIAGNOSTIC PRÉSYMPTOMATIQUE DANS LA MYOTONIE DE STEINERT ET LA MYOPATHIE FACIO-SCAPULO-HUMÉRALE : BILAN DE 6 ANS D'EXPÉRIENCE ET DISCUSSION

C. Colas (1), P. Laforêt (2), B. Eymard (2), M. Gargiulo (2), J. Feingold (1), M. Jean Pierre (3), H. Radvanyi (4), D. Héron (1)
(1) Département de Génétique, Hôpital Pitié-Salpêtrière-Paris ; (2) Institut de Myologie, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris ; (3) Service de Biochimie et Génétique, Hôpital Cochin, Paris ; (4) Service de Biochimie et Génétique, Hôpital Ambroise-Paré, Boulogne

Le diagnostic présymptomatique (DPS) consiste à déterminer le statut génétique d'un individu à risque pour une maladie héréditaire alors qu'il ne présente aucun signe de cette affection. Cette démarche concerne les maladies autosomiques dominantes, à révélation tardive, comme la maladie de Huntington. Elle est encadrée par un cadre législatif strict imposant une prise en charge multidisciplinaire compte tenu des problèmes médicaux, éthiques et sociaux qu'elle soulève. Elle ne peut se faire que s'il existe un bénéfice pour le sujet à connaître son statut, que ce bénéfice soit médical ou non. Le DPS existe depuis plusieurs années pour la dystrophie myotonique de Steinert (DM) et la myopathie facio-scapulo-humérale (FSH), deux maladies neuromusculaires de l'adulte, autosomiques dominantes, mais peu de données sont disponibles dans la littérature sur ce sujet. Nous présentons le bilan de 6 ans d'expérience dans le DPS de ces deux pathologies dans le service de génétique de l'hôpital La Pitié-Salpêtrière (Paris) entre 1997 et 2003. Les populations demandeuses d'un DPS, leurs caractéristiques socioprofessionnelles, médicales, psychologiques, leurs motivations sont étudiées puis comparées entres elles et aux données tirées de l'expérience de la maladie de Huntington. On discute le protocole de DPS utilisé dans le service, son évolution et l'importance de la temporalité avec l'instauration d'une période de réflexion. Enfin, on aborde les enjeux, les bénéfices et les problèmes du DPS dans ces deux pathologies et plus largement dans la société. 131 sujets ont été étudiés pour la DM et 50 pour la FSH. Dans la FSH on observe une situation proche de celle de la maladie de Huntington : une prédominance de femmes, des sujets jeunes, des motivations similaires et un fort taux d'abandon (42 %). Dans la DM, avec des caractéristiques de population similaire, on n'observe en revanche que très peu d'abandons (13 %). Les spécificités des différentes sous populations sont discutées : les mineurs, les situations de grossesse en cours, les sujets symptomatiques... Cette expérience permet de souligner la grande diversité des situations et l'importance d'une prise en charge par une équipe pluridisciplinaire habituée à accompagner les sujets demandeurs de DPS tout au long de leur démarche.

Mots-clés : diagnostic présymptomatique, myotonie de Steinert, myopathie facio-scapulo-humérale.

■CO64 / 74. CORRELATIONS GÉNOTYPE / PHÉNOTYPE DANS LA MALADIE DE RENDU-OSLER

G. Lesca (1, 2), C. Olivieri (3), N. Burnichon (4), M. Rabilloud (5, 2), F. Coulet (6), F. Soubrier (6), A. Calender (1, 2), S. Giraud (1), S. Rivière (7), C. Goizet (8), M.F. Carrette (9), O. Boute (10), B. Gilbert (11), G. Plessis (12), A. Toutain (13), J. Roume (14), L. Faivre (15), C. Danesino (3), E. Buscarini (16), H. Plauchu (2, 4) et le réseau maladie de Rendu-Osler
(1) Service de Génétique Moléculaire et Médicale, Hôpital Édouard-Herriot, Lyon ; (2) Université Claude Bernard Lyon I, Lyon ; (3) Genetica Medica, Università di Pavia, Pavia, Italie ; (4) France Service de Génétique, Hôpital de l'Hôtel-Dieu, Lyon ; (5) Service de Biostatistique, Hospices Civils de Lyon, Lyon ; (6) Fédération de Génétique et Cytogénétique, Groupe Hospitalier Pité-Salpêtrière, Paris ; (7) Service de Médecine Interne, Hôpital Saint-Éloi, Montpellier ; (8) Service de Génétique Médicale, CHU Pellegrin-Enfants, Bordeaux ; (9) Service de Radiologie Interventionnelle, Hôpital Tenon, Paris ; (10) Service de Génétique, CHU Hôpital Jeanne-de-Flandre, Lille ; (11) Service de Génétique Médicale, Hôpital Jean-Bernard, Poitiers ; (12) Service de Génétique, CHU Clémenceau, Caen ; (13) Service de génétique, Service de génétique, CHU Hôpital Bretonneau, Tours ; (14) Service de Génétique, CHU Ambroise Paré, Boulogne ; (15) Centre de Génétique, CHU du Bocage, Dijon ; (16) Gastoenterologia ed Endoscopia Digestiva, Ospedale Maggiore, Crema, Italie

La maladie de Rendu-Osler est une affection autosomique dominante dont la fréquence est d'environ 1/6 000 en France, et caractérisée par des malformations artérioveineuses (MAV). Les manifestations cliniques sont liées à l'âge et comportent des épistaxis, des télangiectasies cutanées et muqueuses, des MAV pulmonaires (MAVP), hépatiques (MAVH), cérébro-médullaires (MAVC) et des saignements digestifs. Elle est causée par des mutations germinales des gènes ENG et ALK1 définissant les variants cliniques HHT1 et HHT2, respectivement. Nous avons étudié les corrélations génotype-phénotype sur un groupe de 342 patients, 93 porteurs d'une mutation du gène ENG et 249 du gène ALK1, recrutés dans le cadre du réseau Rendu-Osler en France et en Italie du Nord. Le sex-ratio était 2:3, identique dans les deux sous-groupes. La répartition du type de mutation est très inégale dans les deux groupes, la proportion de mutations faux-sens étant considérablement plus élevé pour le gène ALK1. L'atteinte pulmonaire est plus souvent la manifestation inaugurale dans le groupe HHT1 alors que les manifestations hépatiques et gastro-intestinales sont inaugurales dans 10 et 5 % des patients du groupe HHT2 alors que ce n'est jamais le cas dans le groupe HHT1. Les épistaxis sont plus fréquents dans le groupe HHT1 et débutent significativement plus tôt alors que 9 % des patients HHT2 n'ont pas d'épistaxis. Le nombre de patients porteurs de télangiectasies est plus élevé pour HHT1 mais sans que la différence soit statistiquement significative. Les MAVPs sont significativement plus fréquentes pour le groupe HHT1 alors que les MAVHs le sont pour le groupe HHT2. L'atteinte gastro-intestinale est plus fréquente dans le groupe HHT2 sans que la différence soit significative. Nous avons également étudié les corrélations entre le type de mutation et le phénotype en séparant les patients en deux groupes : ceux porteurs d'une mutations conduisant à une protéine tronquée (non-sens, délétion, insertion, duplication avec décalage de cadre de lecture) et celles qui conservent la phase de lecture (faux-sens, délétion et insertions en phase). Les épistaxis, les télangiectasies et les MAVP sont significativement plus fréquentes dans le groupe des mutations tronquantes. Nous avons ensuite étudié les effets combinés du gène, du type de mutation ainsi que de l'âge et du sexe par régression logistique. Le principal facteur associé aux épistaxis et aux télangiectasies est le type de mutation sans autre effet additionnel. À l'opposé, le gène muté est le facteur principal pour les MAVPs tandis que le type de mutation joue une rôle plus modéré. De façon surprenante, l'influence principale sur les MAVH est déterminée par le sexe des patients.

Mots-clés : rendu-Osler, correlation genotype phenotype, conseil génétique.

■CO65 / 1142. L'ANNONCE D'UNE MALADIE GRAVE D'UN ENFANT EN PÉRIODE PRÉNATAL ET POST NATAL, CE QUE VIVENT LES MÉDECINS

Gargiulo M. (1), Aubert-Godard Anne (2), Monique Avant (3), Jean Gortais (4), Régine Scelles (2)
(1) Consultation de génétique, Institut de Myologie, Hôpital Pitié-Salpêtrière ; (2) Pr de Psychologie Université de Rouen ; (3) Psychologue ; (3) Maître de conférence, Paris VII

L'annonce d'une maladie grave souvent génétique est un moment crucial dans la vie des parents. Un grand nombre d'études convergent pour reconnaître la porté traumatique de cette annonce et son cortège de conséquences sur le plan psychologique et psychopathologique à court et moyen terme dans ces familles. Or, peu d'études ont été consacrées à ce que vivent les médecins eux-mêmes au moment de cette annonce. Notre étude rétrospective est centrée sur ce que les médecins annonceurs peuvent dire à propos des annonces qu'ils ont été amenés à faire selon que la pathologie était d'origine génétique ou non, selon qu'elle était découverte avant ou après

la naissance. Notre objectif était d'investiguer : leurs représentations du devoir et du savoir médical ; la manière dont ils se vivent eux-mêmes comme médecins ; homme, femme, père, mère, frère, sœur, au moment de l'annonce et enfin la façon dont ils se représentent l'effet de cette annonce sur chacun des membres de la famille.
Objecif : L'objectif de ce travail est d'explorer rétrospectivement la manière dont les médecins vivent le moment de l'annonce du diagnostic en période prénatal et post natal et comment ils se représentent ce que chacun des membres de la famille vit.
Méthodes : Nous avons interviewé 12 médecins (6 femmes et 6 hommes), incluant neuropédiatres, généticiens et obstétriciens, de différents consultations hospitalières des hôpitaux de Rouen du Havre et de Paris et 12 personnels soignants comprenant des infirmières, puéricultrices et cadres infirmiers. Les entretiens ont été réalisés à l'aide d'une grille d'écoute et enregistrés puis analysés avec une analyse de contenu thématique par quatre psychologues chercheurs. Nous avons également analysé les entretiens à l'aide d'un logiciel d'Analyse de Données Textuelles (ADT) ALCESTE.
Résultats : l'analyse du discours par (ALCESTE) met en évidence que : 1) « le temps » est central dans une classe de mots organisée autour du mot « consultation » (176 occurrences) Les verbes associés au temps sont, dans cette classe, « penser » « essayer » « informer ». Le mot « façon » (130 occurrences) est associé à la difficulté de trouver une « façon de dire » ; « d'informer » ; « de penser » le moment de l'annonce. Le discours des médecins comparés à celui des infirmières met en évidence que les médecins utilisent deux fois plus de mots évoquant le « drame et la fatalité, trois fois plus les mots évoquant la destruction » foutou ; dévastateur ; démolir ; destruction) six fois plus le mot évoquant l'horreur (infernal, épouvantable ; monstrueux).
Conclusion : L'analyse qualitative du discours des médecin met en évidence une certaine souffrance chez les médecins annonceurs ; elle s'exprime selon quatre thématiques que nous illustrerons par le discours des médecins interrogés : l'impuissance, la toute puissance, la contagion entre la sphère privé et professionnelle et la solitude du médecin devant l'acte d'annoncer. La personne à laquelle ils pensent le plus souvent est la mère, puis les parents, puis les frères et sœurs lorsque la maladie est génétique.

Mots-clés : annonce du diagnostic, souffrance des médecins, analyse du discours.

■CO66 / 117. L'ASPECT HUMAIN DU DIAGNOSTIC PRÉIMPLANTATOIRE ET LES VALEURS ÉTHIQUES DES PATIENT(E)S

Chantal Bouffard (1)
Service de génétique, Département de pédiatrie, Faculté de médecine et des sciences de la santé, Université de Sherbrooke, Québec (Canada)

Les représentations des couples qui optent pour le diagnostic préimplantatoire en France sont différentes de celles qui ont cours dans les milieux de la bioéthique. Et ce, plus particulièrement pour ce qui concerne les représentations de l'eugénisme, de l'enfant parfait, de l'embryon, des liens biologiques, de l'abus des biotechnologies de la reproduction, de leur inefficacité thérapeutique, de la vulnérabilité des patient(e), ainsi que de l'égoïsme et du narcissisme qui y sont associés.

Dans le cadre de l'anthropologie médicale, nous présentons les résultats préliminaires d'une recherche ethnographique multisite concernant les représentations du diagnostic préimplantatoire (PGD) chez les chercheurs, médecins et patients français. Cette recherche a été menée dans les 3 centres accrédités pour le diagnostic préimplantatoire en France : Strasbourg, Paris et Montpellier. Toutefois, dans les limites de cette présentation, nous ne tiendrons compte que des représentations des patient(e)s.

À travers les représentations des couples nous verrons que, malgré sa haute voltige technologique, le diagnostic préimplantatoire est loin d'être une pratique déshumanisante. Il est à la fois perçu et utilisé comme un acte d'amour et d'abnégation envers les conjoints et l'enfant à naître, un rite expiatoire permettant de pallier l'incapacité biologique de donner à leur enfant un corps qui va lui permettre d'intégrer la vie humaine sans être atteint d'une maladie grave, un rite de passage confirmant socialement la justification du couple et un moyen d'assumer les responsabilités parentales. Dans cet esprit, nous verrons comment le rituel du diagnostic préimplantatoire offre la possibilité de démontrer le courage, l'amour, le désir de conformité et l'esprit de sacrifice de chacun des membres d'un couple et comment, malgré ce qu'en pensent ses détracteurs, il confère un certain pouvoir aux patient(e)s.

En conclusion, nos résultats suggèrent qu'en France, les patient(e)s du diagnostic préimplantatoire sont en train de développer de nouvelles représentations de la reproduction, de l'embryon et des conceptions éthiques qui intègrent d'une façon cohérente les niveaux individuels, familiaux, culturels, sociaux, moraux, technologiques et médicaux. Ces représentations leur permettent aussi de concevoir le diagnostic préimplantatoire comme une pratique humaine qui offre, aux couples conscients des risques que courent les enfants qu'ils peuvent avoir ensemble, le moyen de les protéger d'une combinaison invalidante d'événements biologiques connus d'avance. Dans ces conditions, il apparaît difficile d'élaborer des lignes directrices ou des lois bioéthiques pour encadrer la génétique de la reproduction, sans connaître et tenir compte du point de vue et de l'expérience des patient(e)s, même si leurs représentations divergent de celles des experts qui président à l'élaboration des normes éthiques.

Mots-clés : diagnostic préimplantatoire, ethnographie, bioéthique.

4
POSTERS

1. Conseil Génétique, Génétique et Société

■P1 / 31. IMPACT DE L'ÉTUDE FAMILIALE SUR LE PRONOSTIC ET LE CONSEIL GÉNÉTIQUE CHEZ UN ENFANT PORTEUR D'UNE DÉLÉTION DES EXONS 50-51 DU GÈNE DE LA DYSTROPHINE

G. Lesca (1), H. Testard (2), N. Streichenberger (3), J.F. Pelissier (4), C. Lestra (5), P. Jonveaux (6), L. Michel-Calemard (7)
(1) Laboratoire de Génétique, Hôpital Édouard-Herriot, Lyon ; (2) Service de Pédiatrie, Centre Hospitalier, Annemasse ; (3) Laboratoire d'anatomie pathologique, Hôpital Neurologique et Neurochirurgical Pierre-Wertheimer, Lyon ; (4) Laboratoire d'Anatomie Pathologique, CHU Timone, Marseille ; (5) Laboratoire de biochimie, Hôpital Neurologique et Neurochirurgical Pierre-Wertheimer, Lyon ; (6) Laboratoire de Génétique, Hôpital d'Adultes Brabois, Vandœuvre-lès-Nancy ; (7) Laboratoire de Biochimie Endocrinienne et Moléculaire, Hôpital Debrousse, Lyon, France

Les délétions en phase du gène de la dystrophine, impliquant des exons codant pour le domaine central de la protéine, sont associées à un phénotype très variable, et sont parfois même retrouvées chez des individus asymptomatiques. En l'absence d'histoire familiale de dystrophie musculaire, le pronostic chez le cas index et le conseil génétique sont difficiles à établir avec précision.
Nous rapportons le cas d'un garçon de 4 ans ayant présenté des difficultés transitoires à la marche vers l'âge de 2 ans puis des épisodes de chutes depuis l'âge de 3 ans. L'examen clinique ne montrait pas de faiblesse musculaire ni d'anomalie à l'examen neurologique. La valeur des CPK était élevée (1 300 UI). L'électromyogramme était normal. Il n'y avait pas d'antécédent familial de maladie musculaire.

La biopsie musculaire montrait une rhabdomyolyse sans signes évocateurs de dystrophie musculaire. Les immunomarquages pour la dystrophine, la mérosine et la dysferline étaient normaux. Le western blot montrait une diminution du poids moléculaire des bandes correspondant à la dystrophine (Dys1 et 2) ainsi qu'une diminution de l'intensité des bandes correspondant à la dystrophine et aux alpha- et gamma-sarcoglycanes.

L'étude en PCR multiplex du gène de la dystrophine a mis en évidence une délétion des exons 50 et 51. Cette délétion est en phase, ce qui correspond en général à une dystrophie musculaire de type Becker. L'étude des marqueurs intragéniques et et la PCR quantitative suggéraient que la délétion était d'origine maternelle. L'étude familiale montrait que son grand-père, âgé de 69 ans et asymptomatique, était porteur de la délétion ainsi que trois autres hommes de la famille, âgés de 28 à 55 ans.

Ces données ont permis d'apporter un conseil génétique rassurant à cette famille. L'échographie cardiaque du patient était normale. Les symptômes ont totalement régressé. La tante maternelle, qui était enceinte, a décidé de poursuivre sa grossesse après avoir consulté. Cette observation montre l'importance de l'étude familiale, et en particulier de la recherche de la mutation causale chez les hommes sains de la branche maternelle, pour le conseil génétique des cas index présentant un tableau clinique modéré ou atypique de dystrophie musculaire.

Mots-clés : dystophinopathies, conseil génétique, délétion.

■P2 / 46. CONSEILLER EN GÉNÉTIQUE ET MÉDECINE PRÉDICTIVE – UN NOUVEAU MÉTIER

M.-A. Voelckel
Département de Génétique Médicale, CHU la Timone, Marseille

Le nouveau système européen des diplômes, LMD (« Licence – Master – Doctorat ») a été mis en place, dès la rentrée 2004 à l'Université de la Méditerranée – Aix-Marseille II.
Le Master Professionnel « Conseil en Génétique et Médecine prédictive » faisant partie de la mention de « Pathologie Humaine » a permis de former les premiers Conseillers en Génétique Français. La profession de Conseiller en Génétique est créée dans le cadre de la Loi de Santé Publique (2004) et s'inscrit dans les projets d'évolution des métiers de la santé. Ce métier, paramédical spécialisé, est un métier d'expertise à vocation hospitalière. Il est construit autour de la dimension humaine du conseil et des connaissances en génétique : oncogénétique et génétique médicale. Ces nouveaux professionnels travaillent en équipe, en étroite collaboration avec les médecins généticiens, et sous leur responsabilité. Ils doivent :
– Posséder une solide formation théorique en génétique et des connaissances sur les pathologies les plus fréquentes, leur permettant de répondre rapidement aux situations simples et de maîtriser les sources d'information dans une discipline en constante évolution.
– Maîtriser les modes d'hérédité et être capables de calculer un risque.
– S'initier aux techniques de communication et à la dimension psychologique du conseil.
– Connaître les règles éthiques et le cadre juridique de la discipline.
Les premiers étudiants se sont regroupés en une association (loi 1901) : l'AFCG. L'Association Française des Conseillers en Génétique – professionnels et étudiants, a été créée dans le but de promouvoir, d'organiser, de centraliser et de diffuser les informations concernant cette nouvelle profession.
http://www.orpha.net/associations/AFCG/cgi-bin/

Mots-clés : conseiller en génétique, nouveau métier, Master professionnel.

■P3 / 48. MALADIES RARES : DEUX PARTENARIATS POUR LA RECHERCHE THÉRAPEUTIQUE

M. Hibert
Université Louis-Pasteur, Illkirch

Avec les progrès rapides de la génétique humaine et le développement de nouveaux outils, souvent à grande échelle, de génomique et post-génomique, la compréhension des mécanismes physiopathologiques responsables des maladies rares devrait rapidement progresser dans les années à venir, ouvrant la voie de l'identification de nouvelles cibles thérapeutiques. Dans ce contexte, la recherche de molécules actives représente un enjeu majeur de la recherche thérapeutique. Le criblage robotisé constitue une stratégie de référence pour la découverte de principes actifs à des fins de recherche et de développement thérapeutique. Afin de favoriser le développement de cette stratégie dans le domaine des maladies rares, un partenariat a été mis en place entre le GIS – Institut des maladies rares, la chimiothèque nationale et la plate-forme de criblage de l'Institut Gilbert Laustriat à Strasbourg. Les chercheurs peuvent ainsi bénéficier d'une aide à la mise au point d'une stratégie de criblage et à la miniaturisation des tests biologiques. Ils ont également accès aux 30 000 molécules chimiques et 5 000 substances naturelles de la chimiothèque nationale. L'approche plus traditionnelle de découverte de médicaments consiste à tester de façon ciblée des molécules ou classes de molécules sur des cibles déjà bien identifiées par la dissection du mécanisme physiopathologique de la maladie. Afin de faciliter l'accès des chercheurs aux molécules développées par l'industrie pharmaceutique, un partenariat européen public/privé, « ERDITI » (European Rare DIseases Therapeutic Initiative) a été mis en place.
Quatre groupes pharmaceutiques sont partenaires d'ERDITI : Sanofi-Aventis, GlaxoSmithKline, Roche et Servier et une dizaine d'institutions européennes de recherche soutiennent cette initiative ERDITI propose un accès aux milliers de molécules d'intérêt développées par l'industrie pharmaceutique pour des maladies plus fréquentes et mettant en jeu des mécanismes biologiques similaires à ceux rencontrés dans les maladies rares. Il peut s'agir de molécules abandonnées à différents stades du développement pour des raisons diverses (toxicité, faible efficacité, raisons stratégiques...), mais également de molécules en cours de développement. ERDITI fournit un cadre de collaboration simplifié entre équipes académiques et industriels et garantit la continuité du processus depuis la recherche jusqu'au développement du médicament. Le partenariat repose sur une charte qui fournit un cadre de collaboration entre partenaires pharmaceutiques et académiques. Cette charte définit les conditions de transfert et d'utilisation des molécules, les droits de propriété intellectuelle des résultats et les droits de propriété industrielle.
Un appel d'offres permanent est ouvert à l'ensemble des chercheurs académiques européens travaillant sur une maladie rare ou un groupe de maladies rares qui souhaitent évaluer le potentiel thérapeutique d'une molécule ou d'une classe de molécule. Un dossier peut être déposé à tout moment. La demande doit concerner l'évaluation spécifique de composés in vitro ou sur un modèle animal reposant sur une hypothèse physiopathologique. Un conseil scientifique – composé d'experts des secteurs industriel et académique – étudie le bien fondé de la demande et fournit des conseils sur le choix des molécules ou sur la stratégie envisagée. Dès accord du conseil scientifique, le coordinateur d'ERDITI demande aux industriels partenaires l'accès aux molécules d'intérêt. Si un partenaire industriel souhaite fournir des molécules, un accord de transfert de matériel (MTA) est alors signé entre l'institution d'appartenance du chercheur et ce partenaire pharmaceutique. Le partenariat ERDITI, placé sous le patronage de l'European Science Foundation, est coordonné par le GIS – Institut des maladies rares et soutenu par le LEEM – Entreprises du Médicament. Les informations, texte de la charte et modèle de MTA sont disponibles sur le site www.erditi.org

Mots-clés : maladies rares, recherche thérapeutique, partenariat public/privé.

■P4 / 52. TEST PRÉSYMPTOMATIQUE CHEZ DES SUJETS MINEURS POUR DES PATHOLOGIES GÉNÉTIQUES AVEC OU SANS BÉNÉFICE MÉDICAL INDIVIDUEL DIRECT : EXPÉRIENCE DE LA PSYCHOLOGUE DU CENTRE DE GÉNÉTIQUE DE DIJON

Lorraine Joly, Frédéric Huet, Christel Thauvin-Robinet, Laurence Faivre
Centre de Génétique, Hôpital d'Enfants, CHU, Dijon

Une psychologue en centre de génétique retrace, au travers de six cas cliniques, ce qui a présidé à la création d'un protocole proposé aux consultants venant dans une démarche de test présymptomatique chez un mineur. Cette étude s'est basée sur : les répercussions psychologiques de trois demandes de test pour des pathologies génétiques pour lesquelles il existe une prévention ou un traitement médical connu (la maladie de Fabry, la maladie de Von Hippel Lindau, la dystrophie myotonique de Steinert) ; deux autres démarches sans aucun bénéfice médical attendu et uniquement sous-tendus par des bénéfices psychologiques (la dystrophie musculaire de Becker, X-fragile pour une jeune fille) ; une situation pour laquelle les bénéfices médicaux ou psychologiques énoncés par les parents pouvaient être discutables (retard mental par mutation du gène ARX). En France, la loi définit qu'un enfant ne peut avoir accès à un diagnostic présymptomatique que si lui ou sa famille en retire un bénéfice direct. Le manque de précision de la loi par rapport au type de bénéfice attendu (médical ou psychologique) et des demandes successives de diagnostic présymptomatique ont provoqué la nécessité pour le centre de génétique de construire un cadre qui permette que professionnels, parents et enfants puissent prendre le temps d'échanger autour de cette démarche et ses motivations manifestes et latentes. Il est donc né de cette réflexion d'équipe un protocole articulé en trois temps distincts dans un ordre chronologique bien repéré : consultation en binôme généticien et psychologue pour l'enfant et ses parents ; entretien psychologique pour l'enfant (le nombre d'entretien est variable en fonction de la situation) ; temps d'échange multidisciplinaire entre les différents professionnels du centre de génétique ; prise de sang ; rendu des résultats en consultation médicale ; possibilité de suivi psychologique. La notion d'âge des patients s'est révélé être un élément de discussion. Les demandes de diagnostic présymptomatique avec bénéfice médical individuel sont plus facilement acceptées, mais l'expérience a montré que l'encadrement psychologique ne doit malgré tout pas être négligé. Les demandes de diagnostic présymptomatique sans bénéfice médical individuel direct ne semblent pouvoir être acceptées que lorsque l'enfant est suffisamment mâture pour pouvoir parler de sa démarche. Ces tests n'ont entraîné aucune conséquence familiale ou individuelle grave. Deux adolescents poursuivent une prise en charge psychothérapique au centre de génétique. Ce protocole ne donne pas une réponse systématique au fait de faire connaître ou non à un enfant mineur son statut génétique pour une pathologie non encore symptomatique, mais permet d'aborder au mieux cette question avec chaque sujet rencontré.

Mots-clés : test présymptomatique, mineurs, psychologue.

■P5 / 61. ÉTUDE DÉMOGRAPHIQUE ET GÉNÉTIQUE D'UN EFFET FONDATEUR POUR LA MALADIE DE RENDU-OSLER

G. Lesca (1, 2), E. Genin (3), N. Burnichon (1), C. Blachier (1), G. Brunet (4), A. Calender (1, 2), S. Giraud (1), H. Plauchu (2, 5)
(1) Service de Génétique Moléculaire et Médicale, Hôpital Édouard-Herriot, Lyon ; (2) Université Claude-Bernard Lyon I, Lyon ; (3) INSERM U535, Villejuif ; (4) Département de démographie, Université Lyon II, Lyon ; (5) Service de Génétique, Hôtel-Dieu, Lyon

La maladie de Rendu-Osler est une affection autosomique dominante ubiquitaire dont la fréquence est globalement estimée à 1/10 000 habitants et causée par des mutations de deux gènes, ENG et ALK1, qui sont pour la plupart privées. Il existe toutefois de grandes disparités régionales dans la prévalence de la maladie. En 1962, J.P. Manipoud et J.M. Robert ont décrit 37 familles atteintes de la maladie dans la région Rhône-Alpes, 10 d'entre-elles étant originaires d'une zone géographique de 25 km de rayon. Une étude démographique à grande échelle fut entreprise entre 1977 et 1984 par H. Plauchu, A. Bideau et G. Brunet. Elle a montré que la concentration (au sens démographique du terme) la plus élevée de patients de cette zone provenaient de 5 villages contigus, situés dans la vallée de la Valserine, à l'extrême sud des montagnes du Jura. Sur une population de 1 063 habitants de ces villages, 52 sujets atteints furent dénombrés. De plus, beaucoup de familles atteintes de maladie de Rendu-Osler de la région avaient un ancêtre provenant de ces villages. Les arbres généalogiques ont pu être remontés jusqu'au début du XVIIe siècle, période à laquelle les registres paroissiaux furent établis dans la province et ont montré que 16 ancêtres communs rendaient compte de l'ensemble de ces familles (les données manquent au délà). La prévalence de la maladie fut estimée à 1/8 640 dans la région Rhône-Alpes (6 millions d'habitants). L'étude démographique fut ensuite étendue à d'autres régions françaises. Il a été suggéré que la fréquence relativement élevée des malades dans l'Est de la France puisse être liée à la migration hivernale d'un certain nombre d'hommes de la vallée de la Valserine allant travailler comme peigneurs de chanvre. Vingt-cinq ans plus tard, lorsque le diagnostic moléculaire de la maladie de Rendu-Osler a été mis en place, nous avons identifié la mutation 1112dupG du gène ALK1 dans 36 familles originaires de la région Rhône-Alpes, dont certaines étaient issues de villages situés à proximité de la vallée de la Valserine. Cette mutation n'a pas été rapportée dans d'autres pays, ni dans d'autres régions, ce qui rend peu vraisemblable l'hypothèse d'un lien historique entre la fréquence de la maladie dans vallée de la Valserine et dans l'Est de la France. La répartition géographique des familles porteuses de cette mutation montre qu'elles sont centrées autour de la région de Bellegarde sur Valserine et dans les petits centres urbanisés voisins et qu'elles sont également fortement représentées dans l'agglomération lyonnaise et retrouvées de façon diffuse dans les départements de Savoie, Haute-Savoie et de l'Isère. De plus, cette mutation cohabite avec d'autres (privées et impliquant les deux gènes), y compris dans les zones géographiques où elle est fortement représentée. Nous avons montré que l'ensemble des familles porteuses de cette mutation avaient un haplotype commun, confirmant qu'il s'agit bien d'un effet fondateur. L'âge de la mutation fut estimé, à partir des longueur des haplotypes partagés par les malades, à 32 (24-45) générations, ce qui correspondrait à 800 ans environ (600-1125). Il est vraisemblable qu'elle ait été introduite dans la vallée par l'un des premiers habitants, implantés autour de l'abbaye cistercienne fondée en 1140. Sa prévalence aurait ensuite augmenté du fait de la dérive génétique puis elle se serait étendue dans les villages voisins au hasard des alliances matrimoniales et des déplacements familiaux. Dès le XIXe siècle et surtout au XXe siècle elle s'est répandue dans les centres urbains de la région du fait de l'exode rural.

Mots-clés : rendu-Osler, effet fondateur, datation.

■P6 / 83. LE RÉSEAU GIFO : UN PROJET D'ORGANISATION DU DÉPISTAGE DES MALADIES GÉNÉTIQUES DANS UN TERRITOIRE DE SANTÉ

C. Muti et les membres du réseau GIFO (1)
(1) Centre Hospitalier Intercommunal de Poissy-Saint-Germain, Centre Hospitalier de Versailles, Hôpital Ambroise-Paré de Boulogne-Billancourt, Laboratoire SESEP de Versailles, Hôpital Raymond-Poincaré de Garches, Hôpital Louis-Mourier de Colombes, Centre de Lutte Contre le Cancer René Huguenin de Saint Cloud, Hôpital Américain de Paris à Neuilly sur Seine

Vingt-cinq professionnels de la génétique (médecins et biologistes) appartenant à 8 établissements de santé des départements des Yvelines (78) et des Hauts-de-Seine (92), ont constitué le réseau GIFO : Génétique Ile-de-France Ouest. Le projet de GIFO est de mettre en œuvre des moyens pour faciliter dans son territoire le dépistage des maladies génétiques (rares ou fréquentes) en impliquant le médecin traitant et le patient. Pour atteindre ce but, GIFO se propose :
– D'équiper ses 8 établissements d'un logiciel intégrant les données généalogiques, cliniques et les résultats des examens génétiques de chaque patient. Ce logiciel sera partagé entre les différents généticiens du réseau de telle façon que si un apparenté d'une famille dont un membre a déjà été reçu en consultation, se présente dans une autre consultation du réseau, toute les données familiales et génétiques soient accessibles. Pour chaque patient inclus, une lettre au médecin traitant sera envoyée automatiquement par courriel et précisera si cela est utile le nom des apparentés à risque, afin que le médecin traitant puisse discuter de façon argumentée avec son patient de l'intérêt du dépistage familial.
– D'être un espace de ressources en génétique pour les médecins de ville, et d'envisager avec eux des formations qui leur soit adaptées pour le repérage des patients qui ont besoin d'une consultation de génétique.
– D'être en contact avec les associations d'usagers pour les sensibiliser à l'importance de la communication intrafamiliale et trans-générationnel dans le dépistage des maladies génétiques.
– De mutualiser les moyens techniques et humains des laboratoires de biologie moléculaire et de cytogénétique pour répondre au mieux au besoin de la population du territoire (près de 3 millions d'habitants).
La structure de GIFO repose sur une convention constitutive signée entre les directeurs de ses 8 établissements. Ses vingt cinq membres généticiens travaillent au sein de 4 commissions opérationnelles ainsi définies :
– « Technologique » : elle a en charge l'élaboration du cahier des charges du logiciel partagé et son installation dans les 8 établissements de santé.
– « Formation continue et communication » : elle organise la formation des médecins de ville, les échanges avec les usagers, rédige les consentements et les documents pour l'information des patients.
– « Scientifique et professionnelle » : elle travaille sur la mutualisation des moyens, les protocoles de validation des examens génétiques et sur des thématiques de recherche propres au réseau.
– « Évaluation » : elle définit le tableau de bord et les indicateurs de fonctionnement du réseau, et prépare les comptes rendus d'activité exigés par les tutelles.
Le réseau GIFO a reçu un financement DRDR (Dotation Régionale Des Réseaux) qui lui permet de fonctionner depuis le 1er mars 2005.

Mots-clés : réseau de santé, dépistage génétique, médecin traitant.

■P7 / 93. ÉTAT DES LIEUX DES RECHERCHES DE MUTATIONS DANS LE GÈNE UBE3A RESPONSABLE DU SYNDROME D'ANGELMAN : À PROPOS DE L'EXPÉRIENCE DU LABORATOIRE DU DÉPARTEMENT DE GÉNÉTIQUE MÉDICALE DE MARSEILLE

P. Malzac (1), K. Pedeillier (1), C. Vo Van (1), M.A. Voelckel (1), M.O. Livet (2), A. Moncla (1)
(1) Département de Génétique Médicale, CHU Timone, Marseille ; (2) Service de Neuropédiatrie, CHU Timone, Marseille

Le syndrome d'Angelman, dont l'incidence est évaluée à 1/20 000, associe un retard mental sévère, des troubles neurologiques à type d'ataxie et d'épilepsie, un phénotype comportemental particulier et une microcéphalie avec dysmorphie faciale. Il est lié à différentes anomalies moléculaires de la région 15q11q12 : une microdélétion (75 %), une disomie monoparentale (5 %), un défaut d'empreinte de la région (5 %). Ces trois anomalies peuvent facilement être diagnostiquées par une étude du profil de méthylation au locus SNRPN.
Ainsi, pour 15 % des enfants atteints du syndrome d'Angelman le profil de méthylation est normal et une recherche de mutations dans le gène UBE3A va être envisagée. Nous présentons le bilan de l'ensemble des analyses réalisées à la recherche de mutations dans le gène UBE3A depuis 1999 au laboratoire de biologie moléculaire du Département de Génétique Médicale de Marseille.
À ce jour, 171 patients ont fait l'objet d'une telle étude. Après avoir décrit les caractéristiques génétiques du groupe de patients testés (âge, sexe, indication, qualité du prescripteur, données généalogiques, données cliniques) nous détaillerons les résultats obtenus.
Une mutation a été identifiée chez 33 patients. Nous analyserons ces résultats en fonction du mode de recrutement et des données cliniques. Nous montrerons ainsi que seuls les sujets présentant une symptomatologie tout à fait typique du syndrome d'Angelman sont porteurs d'une mutation dans le gène UBE3A.
À partir de ces résultats et à propos d'exemples, nous attirons l'attention sur la nécessaire collaboration entre biologiste et clinicien pour améliorer l'efficacité de ce diagnostic au bénéfice des patients et de leurs familles.

Mots-clés : Angelman, UBE3A, mutation.

■P8 / 133. RECHERCHE DE PATERNITÉ PAR EMPREINTE GÉNÉTIQUE DANS LA POPULATION DU CENTRE EST TUNISIEN UTILISANT 10 STR

M. Gribaa, D. Hamida, A. Saad
Service de Cytogénétique et de Biologie de la Reproduction, Hôpital Farhat HACHED, Sousse, TUNISIE

Introduction : L'empreinte génétique trouve une application remarquable dans la recherche de paternité. Elle utilise le polymorphisme de marqueurs

éparpillés sur tout le génome humain. Les microsatellites ou STR (Short Tandem Repeats) constituent les marqueurs génétiques par excellence : leur utilisation est simple, en plus ils explorent un nombre d'allèles élevé et ont un fort taux d'hétérozygotie.
Matériel et méthodes : Durant la période allant du 1er novembre 2003 jusqu'au 31 mars 2005, nous avons effectué 87 recherches de paternité suite aux réquisitions formulées par les chefs des services de coordination judiciaire de Sousse, Monastir et Mahdia et des juges du tribunal de première instance de Sousse. Après le recueil des informations relatifs à l'identité des 3 parties civiles (mère, enfant et père présumé), un prélèvement sanguin leur est effectué dans notre laboratoire. Sur ce sang, nous effectuons une extraction d'ADN suivi par son dosage.
L'ADN est alors utilisé pour l'amplification par PCR multiplex de 10 STRs (D3S1358, VWA, D16S539, D2S1338, D8S1179, D2lSll, Dl8S5l, D19S433, THO1 et FGA) appartenant au kit AmpFlSTR® SGM plus d'Applied Biosystems. Un des amorces de chaque STR est marqué par une molécule fluorescente. Le produit de cette PCR subit une électrophorèse sur le séquenceur ABI Prism 310 d'Applied Biosystems. Les résultats sont analysés par le logiciel GeneScan et interprétés par le logiciel Genotyper.
Principaux résultats : Sur les 81 tests effectués, 49 étaient des inclusions et 32 des exclusions. Pour le calcul de probabilité de paternité en cas d'inclusion, et en utilisant les fréquences allèliques préalablement publiées concernant la population Tunisienne, nous nous sommes confronté aux problème des allèles dont la fréquence était nulle. Ce qui nous a obligé à ne pas prendre en considération le marqueur en question.
Ces allèles sont :
– L'allèle 18 du marqueur D3S 1358.
– Les allèles 34,2 et 35 du marqueur D21S11.
– Les allèles 17 et 19 du marqueur FGA Un seul cas de mutation allèlique a été noté. Il concerne le marqueur paternel D2S1338 avec un passage de 23 à 22 répétitions.
Conclusion : L'étude des empreintes génétiques par STR est une technique facile, fiable et reproductible. Cependant, il faut disposer des bonnes fréquences allèliques adaptées à la population étudiée. Ainsi un projet de calcul de ces fréquences pour la population du centre est Tunisien est en cours de réalisation dans notre laboratoire.

Mots-clés : empreinte génétique, STR, fréquence allèlique.

■P9 / 186. QUALITÉ DE VIE ET MALADIE DE RENDU-OSLER

B. Gilbert-Dussardier (1), I. Ingrand (2), J.M. Klossek (3), P. Christin (1), P. Ingrand (2)
(1) Service de Génétique Médicale ; (2) Institut Universitaire de Santé Publique ; (3) Département d'ORL, CHU Poitiers

L'angiomatose familiale de Rendu-Osler ou Télangiectasie Hémorragique Héréditaire est une maladie génétique due à une prolifération exagérée des vaisseaux distaux secondaire à la suppression du rôle inhibiteur du TGFbêta sur l'angiogénèse. C'est une maladie à transmission autosomique dominante, se présentant avec une hétérogénéité clinique et génétique. Deux gènes impliqués dans la voie de signalisation du TGFbêta, ALK1 (HHT type 1) et le gène de l'Endogline (HHT type 2) sont identifiés. Un troisième locus (HHT type 3) vient d'être identifié en 5q31. De rares cas où la Maladie de Rendu-Osler est associée à une polypose digestive sont dus à des mutations dans le gène Smad4. C'est une maladie pluri-viscérale dont la prise en charge est souvent morcelée et le caractère invalidant méconnu. Parmi les différents organes pouvant être touchés (muqueuse digestive, peau, foie, poumon, cerveau), l'atteinte de la muqueuse nasale est fréquente et se révèle par des épistaxis invalidantes.
La maladie de Rendu-Osler retentit lourdement sur la vie quotidienne des patients concernés et leur entourage, en particulier par la répétition des épistaxis et des prises en charge médico-chirurgicales. Néanmoins, peu de d'études se sont intéressées à quantifier son retentissement sur la qualité de vie. Grâce à la coopération des adhérents de l'association des malades de la région Poitou-Charentes, nous avons réuni 74 auto-questionnaires de qualité de vie de patients de tous âges, souffrant d'épistaxis. Nous avons utilisé un instrument générique, le questionnaire MOS-SF-36 de Ware dans sa traduction française validée, complété par des questionnaires explorant le retentissement de la maladie sur le sommeil, sur le travail et les activités quotidiennes. La population d'étude comprenait 39 femmes et 35 hommes, d'âge compris entre 15 et 86 ans. Les scores par dimension du SF-36 ont pu être calculés chez 95 à 97 % des patients. En comparaison de la population générale française, on constate un abaissement des scores sur 7 des 8 dimensions du SF-36, à l'exception de la douleur. La dimension la plus fortement touchée est celle des limitations dues à l'état physique, avec un score moyen de 43 sur 100 (écart type 46) contre 81 dans la population générale. Par ordre décroissant de différence de scores moyens viennent ensuite les dimensions des limitations dues à l'état psychique (-28), de la santé perçue (-21), des activités physiques (-17), vitalité (-13), des relations avec les autres (-13), et de la santé psychique (-10). Le retentissement de la maladie sur le sommeil est marqué par une fréquence élevée de réveils nocturnes. Les résultats de cette étude permettent donc de caractériser un niveau élevé de retentissement de la maladie de Rendu-Osler sur la qualité de vie des patients qui en sont atteints. Ils devraient permettre une meilleure reconnaissance sociale du caractère invalidant de cette maladie. Une analyse plus approfondie de ces données visera à mettre en évidence les facteurs socio-démographiques, cliniques et génétiques associés aux variations de la qualité de vie.
Travail soutenu par l'association AMGORO.

Mots-clés : rendu-Osler, télangiectasie hémorragique héréditaire, qualité de vie.

■P10 / 337. DÉTECTION DES HÉTÉROZYGOTES POUR LE TRAIT 21-HYDROXYLASE : VALIDATION DU 21-DÉSOXYCORTISOL SOUS ACTH PAR LE SÉQUENÇAGE COMPLET DU GÈNE CYP21

V. Tardy, M.G. Forest, Y. Morel
Laboratoire de Biochimie Endocrinienne et Moléculaire, EA3739, Hôpital Debrousse, Lyon

D'après le dépistage néonatal du déficit en 21-hydroxylase (21-OH), le risque d'être porteur d'une lésion sévère du gène CYP21 est de 1/60 : il est donc important pour apporter un conseil génétique fiable aux familles d'hyperplasie congénitale des surrénales, de proposer le dépistage du conjoint de tous les sujets avec au moins une mutation sévère (forme classique, 60 % des formes non classiques, apparentés). Le premier marqueur biologique proposé pour le dépistage des hétérozygotes fut le pic de 17-OHProgestérone (17-OHP) sous ACTH ; il fut finalement abandonné à cause d'une mauvaise valeur prédictive positive et c'est le pic de 21-désoxycortisol sous ACTH (21-DFmax) qui fut retenu comme le meilleur marqueur d'hétérozygotie. En France, le dépistage des hétérozygotes se fait en cascade : dosage du 21-DF sous ACTH et séquençage du gène CYP21 si 21-DFmax supérieur ou égal à 500 pg/ml, ce premier seuil ayant été déduit des études chez les hétérozygotes obligatoires (Forest *et al.*). Suite à la découverte de sujets avec un 21-DFmax > 500 pg/ml sans aucune mutation du gène CYP21 et à la détection de 10 hétérozygotes obligatoires avec un 21-DFmax entre 400 et 500 pg/ml, nous avons séquencé la totalité du gène CYP21 chez tous les sujets avec un 21-DFmax supérieur ou égal à 400 pg/ml. Les sujets avec un pic de 17-OHP sous ACTH > 36 nmol/L (> 12 ng/ml) ont été exclus car atteints de forme non classique.
Résultats : 617 sujets ont été inclus, le motif de consultation étant une hyperandrogénie (72 %), l'exploration d'un conjoint (16,5 %) ou une enquête familiale (11,5 %). Les valeurs des 617 sujets étaient comprises entre 400 pg/ml et 5 800 pg/ml et elles représentaient environ 40 % de tous les dosages de 21-DF. Une lésion du gène CYP21 n'a été trouvée que chez 43 % des sujets, la mutation était modérée (25 %) ou sévère (15 %) ou nouvelle (3 %). Pour validation de notre séquençage, l'exploration du gène CYP21 réalisée chez 1 300 patients avec une forme classique a retrouvé un génotype complet dans tous les cas. En plus des 9 hétérozygotes avec un 21-DFmax entre 400 et 500 pg/ml précédemment détectés, seul 1 autre cas a été découvert sur 134 explorés. Plus les valeurs de 21-DFmax étaient élevées, plus la proportion d'hétérozygotes par rapport aux sujets sans mutation était importante. En retenant un seuil de 21-DFmax à 500 pg/ml, la sensibilité, la spécificité et la valeur prédictive positive étaient respectivement de 96,2 %, 82,5 % et 53,5 % ; pour 700 pg/ml, elles sont de 74,6 %, 93,3 % et 69,9 %.
En conclusion, cette étude comparative entre données biologiques et moléculaires soulève le problème du seuil à retenir pour le dépistage des hétérozygotes dans la population générale, seuil qui doit être affiné par des études complémentaires. La meilleure stratégie d'exploration doit être discutée en fonction de l'indication du test à l'ACTH, en termes de coût et de temps ; ainsi, un séquençage d'emblée sans test ACTH préalable peut être proposé chez un conjoint, notamment en cas d'urgence occasionnée par une grossesse.

Mots-clés : 21-hydroxylase, hétérozgote, séquençage du gène CYP21.

■P11 / 338. DÉTERMINANTS DES CONNAISSANCES GÉNÉTIQUES CHEZ DES PATIENTS ATTEINTS DE DYSTROPHIE MYOTONIQUE

S. Veillette (1, 2), M. Perron (1, 2), L. Laberge (1, 3), J. Mathieu (4)
(1) Groupe ÉCOBES, Cégep de Jonquière ; (2) Centre hospitalier de l'Université de Montréal, Université de Montréal ; (3) Département des sciences de l'éducation, Université du Québec à Chicoutimi ; (4) Clinique des maladies neuromusculaires (CMN), Carrefour de la Santé de Jonquière, Québec, Canada

La dystrophie myotonique de type 1 (DM1) est une maladie autosomique dominante causée par la répétition d'un triplet CTG. En raison d'un effet fondateur, sa prévalence dans la région du Saguenay-Lac-Saint-Jean (SLSJ) est 20 fois plus élevée qu'ailleurs. Bien qu'il n'y ait à ce jour aucun traitement curatif, la DM1 peut être prévenue par l'identification des porteurs de la mutation et par un conseil génétique approprié. D'ailleurs, un des objectifs de la prise en charge clinique, notamment par le biais du conseil génétique, est de renseigner les patients sur leur condition et les risques de transmission de la maladie. Cela peut toutefois s'avérer complexe au regard de la variabilité phénotypique, de l'âge d'apparition des symptômes et du profil socio-économique. L'objectif de l'étude est d'explorer la relation entre les caractéristiques socioéconomiques (niveau de scolarité, revenu) et cliniques (âge, genre, âge d'apparition des symptômes, degré d'atteinte musculaire, nombre de répétitions CTG), la connaissance du mode de transmission de la DM1 et le niveau de connaissance qu'ont les patients DM1 sur les maladies héréditaires (MH) fréquentes au SLSJ en raison de l'effet fondateur. De plus, il s'agit d'évaluer la relation entre ces connaissances et leur propre évaluation de leur degré d'information sur le mode de transmission des MH, les raisons expliquant l'effet fondateur, les services en génétique médicale offerts au SLSJ et la thérapie génique. Enfin, nous voulons mieux documenter les attitudes des hommes et des femmes atteints de DM1 face au diagnostic prénatal et à l'avortement thérapeutique advenant une MH grave chez le fœtus. Deux cent patients DM1 (79 hommes, 121 femmes ; 20-81 ans) suivis à la Clinique des maladies neuromusculaires ont complété un questionnaire sociologique. L'atteinte musculaire des patients a été catégorisée à l'aide du Muscular Impairment Rating Scale. Le nombre de CTG moyen était de 809 ± 529. Le niveau de connaissance des MH était évalué par 6 questions (score 0-6) portant principalement sur des maladies autosomiques dominantes ou récessives plus fréquentes au SLSJ. Des tests de Chi-carré, de Mann-Whitney et des corrélations de Spearman ont été utilisés. Un niveau de connaissance élevé sur les MH est négativement corrélé à l'âge ($p < 0,05$), à l'atteinte musculaire ($p < 0,05$) et aux CTG ($p < 0,01$) et positivement corrélé à une scolarité ($p < 0,001$) et des revenus ($p < 0,001$) élevés. De façon similaire, la connaissance du risque de transmission de leur maladie est négativement corrélée à l'âge ($p < 0,001$), à l'atteinte musculaire ($p < 0,05$) et aux CTG ($p < 0,001$) et positivement corrélée à une scolarité avancée ($p < 0,001$). Par ailleurs, la connaissance du risque de transmission de leur maladie ainsi qu'un niveau plus élevé de connaissance des MH sont associés à l'impression d'être suffisamment informé sur le mode de transmission des MH ($p < 0,001$), sur les raisons expliquant l'effet fondateur ($p < 0,001$) et sur les services en génétique médicale ($p < 0,01$). En outre, un niveau de connaissance sur les MH plus élevé est lié à une plus grande volonté de procéder au diagnostic prénatal ($p < 0,05$) et à l'interruption de grossesse en cas de MH grave chez le fœtus ($p < 0,05$) et ce, seulement chez les femmes atteintes de DM1, mais non chez les hommes atteints de DM1 (ns). L'absence de relation chez les hommes atteints de DM1 entre les connaissances sur les MH et l'acceptation que la conjointe enceinte procède au diagnostic prénatal et éventuellement à l'avortement thérapeutique en cas de grave MH peut être liée, d'une part, à leur plus faible éligibilité au mariage, et d'autre part, à une moins grande conscientisation que celle des femmes atteintes de DM1 quant au risque de transmission de la forme congénitale. Dans l'ensemble, les résultats confirment l'importance des caractéristiques socioéconomiques et de la sévérité de la maladie dans la circulation des informations génétiques entre les professionnels de la santé et les patients DM1.

Mots-clés : dystrophie myotonique, connaissances génétiques, conseil génétique.

■P12 / 365. CARACTÉRISATION GÉNÉTIQUE DU MAL DE MELEDA DANS LA POPULATION TUNISIENNE

C. Charfeddine (1), M. Mokni (2, 3), S. Kassar (3, 4), S. Boubaker (4), A. Ben Osman-Dhahri (3), S. Abdelhak (1)

(1) Unité de Recherche 26/04 « Exploration Moléculaire des Maladies Orphelines d'Origine Génétique », Institut Pasteur de Tunis ; Tunisie ; (2) Service de Dermatologie, Hôpital de La Rabta, Tunis, Tunisie ; (3) Unité de Recherche 24/04 « Étude des troubles Héréditaires de la Kératinisation », Hôpital de La Rabta, Tunis, Tunisie ; (4) Service d'Anatomo-pathologie, Institut Pasteur de Tunis, Tunis, Tunisie

Les kératodermies palmo-plantaires (KPPs) sont des génodermatoses caractérisées par un trouble de la kératinisation de la peau qui traduisent par un épaississement permanent de la peau palmo-plantaire. Ces affections peuvent être acquises ou héréditaires. Les KPPs héréditaires regroupent un certain nombre de génodermatoses caractérisées par une hétérogénéité clinque et génétique. Le Mal de Meleda (MDM) est la KPP la plus fréquente en Tunisie. Cette affection est caractérisée par une kératodermie palmo-plantaire transgressive, une hyperhidrose et des lésions érythématokératosiques. Cette génodermatose, à déterminisme autosomique récessif, est due à des mutations dans le gène ARS codant pour la protéine SLURP-1. Notre objectif est la caractérisation moléculaire du MDM chez 9 familles consanguines issues de différentes villes de la Tunisie comprenant 20 patients. L'analyse de liaison génétique et l'homozygotie par descendance montrent que 8 familles (17 patients) MDM tunisiennes explorées sont liées au gène ARS. Trois mutations (82delT, C77R et C99Y) ont été identifiées à l'état homozygote chez les 17 patients. La mutation 82delT a été décrite chez les populations algérienne et croate mettant en évidence l'existence d'un effet fondateur. Les deux mutations faux sens C77A et C99Y affectent des résidus cystéines qui font parti de la « signature » des membres de la superfamille des Ly6-uPAR (Leucocyte Antigen-6/Urokinase type Plasminogen Activator Receptor) à laquelle appartient la protéine SLURP-1. Ces résultats mettent en évidence l'hétérogénéité mutationnelle du MDM dans la population Tunisienne. L'analyse génétique d'une famille multiplex parmi les 9 explorées a permis de mettre en évidence une exclusion génétique de la liaison au gène ARS. Ce résultat est en faveur d'une hétérogénéité génétique du MDM dans la population Tunisienne.

Mots-clés : mal de Meleda, exclusion, analyse de liaison génétique.

■P13 / 367. ÉTUDE CLINIQUE ET GÉNÉTIQUE DU SYNDROME DE RICHNER HANHART CHEZ DES FAMILLES TUNISIENNES : IMPLICATION POUR LE DIAGNOSTIC

Charfeddine C. (1), Monastiri K. (2), Mokni M. (3, 4), Laadjimi A. (5), Kairallah M. (5), Kaabachi N. (6), Tebib N. (7), Ben Dridi M.F. (7), Abdelhak S. (1)

(1) Unité de Recherche 26/04 « Exploration Moléculaire des Maladies Orphelines d'Origine Génétique » 1, Institut Pasteur de Tunis ; Tunisie ; (2) Service de Pédiatrie, Hôpital Fatouma Bourguiba, Monastir, Tunisie ; (3) Service de Dermatologie, Hôpital de La Rabta, Tunis, Tunisie ; (4) Unité de Recherche 24/04 « Étude des troubles Héréditaires de la Kératinisation », Hôpital de La Rabta, Tunis, Tunisie ; (5) Service d'Ophtalmologie, Hôpital Fatouma Bourguiba, Monastir, Tunisie ; (6) Laboratoire de Biochimie, Hôpital de La Rabta, Tunis, Tunisie ; (7) Service de Pédiatrie, Hôpital de La Rabta, Tunis, Tunisie

Le Syndrome de Richner-Hanhart (SRH, MIM 276600) est une maladie métabolique héréditaire récessive rare due à un trouble du métabolisme de la tyrosine, par un déficit en tyrosine aminotransférase cytosolique hépatique (TATc). Cette tyrosinémie a été rapportée chez des patients de différentes origines géographiques, plus particulièrement dans les pays à fort taux de consanguinité. Sur le plan clinique, le SRH est caractérisé par l'association d'une kératite bilatérale, d'une hyperkératose palmo-plantaire et d'un retard mental isolé. Sur le plan biochimique, la maladie est caractérisée par une hypertyrosinémie et une hypertyrosinurie. Au total 13 mutations ont été identifiées dans le gène TAT codant pour la TATc et localisé sur le chromosome 16 (16q22-q24) comme étant impliquées dans cette enzymopathie. L'objectif de cette étude est la caractérisation moléculaire du SRH en Tunisie en vue d'améliorer le dépistage de cette affection et la prise en charge des malades. Cette étude a porté sur 3 familles consanguines incluant 7 enfants atteints. Le diagnostic s'est basé sur la triade clinique du SRH et sur le dosage plasmique et/ou urinaire de la tyrosine. L'analyse moléculaire a permis d'identifier 2 nouvelles mutations. Il s'agit de mutations faux sens, la mutation C151Y et la mutation L273P affectant respectivement l'exon 5 et l'exon 8 du gène TATc. L'exploration moléculaire étendue à plusieurs membres de la famille permettra d'identifier les individus hétérozygotes et d'apporter un conseil génétique à ces derniers. Dans le cas particulier de cette maladie métabolique très rare, il est essentiel d'apporter un conseil génétique et un dépistage à la naissance pour la prise en charge très précoce des malades qui doivent suivre un régime pauvre en phénylalanine.

Mots-clés : syndrome de Richner-Hanhart, mutation, conseil génétique.

■P14 / 371. EXCLUSION DE LA LIAISON DU GÈNE PRKAG2 AU WOLFF PARKINSON WHITE ASSOCIÉ À UNE CARDIOMYOPATHIE HYPERTROPHIQUE CHEZ UNE FAMILLE TUNISIENNE

Charfedine C. (1), Ouarda F. (2), Nouira S. (1), Abid F. (2), Abdelhak S. (1)

(1) Unité de Recherche 26/04 « Exploration Moléculaire des Maladies Orphelines d'Origine Génétique », Institut Pasteur de Tunis, Tunisie ; (2) Service de cardiologie pédiatrique de l'Hôpital de la Rabta, Tunis, Tunisie

Le Wolff Parkinson White (WPW) est une anomalie congénitale de la conduction électrique par l'existence entre oreillette et ventricule d'une voie de conduction supplémentaire (Faisceau accessoire atrioventriculaire ou faisceau de Kent).

Le WPW correspond à une arythmie supraventriculaire qui se manifeste sous forme de pré-excitation ventriculaire et d'une tachycardie. La prévalence de la maladie est estimée au environ de 1 à 3/1 000. Elle se transmet selon le mode autosomique dominant avec deux formes : Le WPW isolé et le WPW associé à une cardiomyopathie héréditaire (CMH).
Des mutations dans le gène PRKAG2 localisé dans la région 7q36 seraient responsables des formes familiales de WPW.
Ce gène code pour la sous unité gamma 2 de la protéine kinase AMP dépendante qui joue un rôle majeur dans le maintien de l'équilibre cellulaire du rapport AMP/ATP par la régulation des enzymes qui déterminent le flux d'énergie dans la cellule.
Notre étude a porté sur une famille multiplex présentant des individus atteints de WPW associé à une CMH. Afin de vérifier si le locus morbide qui ségrége dans cette famille est lié au gène PRKAG2, le génotype de tous ses membres a été déterminé pour deux marqueurs microsatellites distant de 1,6 Mb et flanquant le gène PRKAG2.
L'analyse haplotypique a montré une exclusion de la liaison de ce gène au WPW associé à une CMH dans cette famille.

Mots-clés : Wolff Parkinson White, exclusion, analyse de liaison.

■P15 / 373. ÉTUDE GÉNÉTIQUE DE L'ÉPIDERMOLYSE BULLEUSE HÉRÉDITAIRE EN TUNISIE : IMPLICATION POUR LE DIAGNOSTIC ET LE CONSEIL GÉNÉTIQUE

Ouragini H. (1), Daoud W. (2), Cherif F. (2), Boubaker S. (3), Chakroun S. (1), Ben Osman-Dhahri A. (2), Abdelhak S. (1)
(1) Unité de Recherche 26/04 « Exploration Moléculaire des Maladies Orphelines d'Origine Génétique », Institut Pasteur de Tunis, Tunisie ; (2) Service de Dermatologie, Hôpital La Rabta de Tunis, Tunisie ; (3) Service d'Anatomie Pathologique, Institut Pasteur de Tunis, Tunisie

Les épidermolyses bulleuses héréditaires (EBH) sont des génodermatoses transmises suivant le mode autosomique dominant ou autosomique récessif, affectant la cohésion dermo-épidermique, aboutissant à la formation de bulles et érosions cutanées et muqueuses. Il existe 3 types d'EBH selon le niveau de clivage au niveau de la jonction dermo-épidermique (JDE) : les EBH simples (EBS) où le clivage est intra épidermique, les EB jonctionnelles (EBJ) où le clivage se situe au niveau de la JDE elle-même, et les EB dystrophiques (EBD) où le clivage se situe sous la JDE. Ces formes sont dues à des mutations au niveau des gènes codant pour les protéines qui entrent dans la structure de la JDE.
En Tunisie, l'EBH est une génodermatose relativement fréquente (115/1 000 000), et près de la moitié présente la forme dystrophique. Notre objectif est d'étudier les différentes formes d'EBH sur le plan génétique et moléculaire afin d'identifier les gènes impliqués dans ces formes en Tunisie.
Notre étude a porté sur 36 cas d'EBH appartenant à 25 familles tunisiennes : 2 cas d'EBS, 3 cas d'EBJ, 28 cas d'EBD et 3 cas dont la forme d'EBH non encore déterminé. Ces patients ainsi que les membres de leur famille ont été testés pour des marqueurs de type microsatellites flanquant les différents gènes liés aux trois formes d'EBH.
Pour le gène COL7A1, la liaison a été confirmée pour les cas dystrophiques, et l'exclusion pour les cas non dystrophiques. Pour les cas dont la forme n'a pas encore été identifiée, un cas présenterait la forme dystrophique. Au moins quatre haplotypes ségrégeraient dans les familles tunisiennes étudiées. Cette étude préliminaire facilitera la recherche de mutations, compte tenu de la taille relativement importante du gène COL7A1 (118 exons s'étalant sur 32 Kb).
Compte tenu de la structure particulière des familles tunisiennes (généalogie étendue avec forte consanguinité) il est possible de classer les différentes formes d'EBH par homozygotie par descendance. Dans le cas des familles informatives, on pourra proposer un outil de diagnostic relativement simple qui pourrait se substituer à l'histologie.

Mots-clés : épidermolyse bulleuse héréditaire, conseil génétique, homozygotie par descendance.

■P16 / 398. ASPECTS PSYCHOLOGIQUES DU SYNDROME D'EHLERS-DANLOS VASCULAIRE. IMPLICATIONS POUR LA MISE EN PLACE DU DIAGNOSTIC GÉNÉTIQUE

K. Lahlou-Laforet (1, 2), J. Perdu (2, 3, 4), S.M. Consoli (1), X. Jeunemaitre (2, 3, 4)
(1) Service de Psychiatrie, HEGP, Paris ; (2) Groupe Multidisciplinaire de prise en charge du Syndrome d'Ehlers-Danlos vasculaire, HEGP, Paris ; (3) Département de Génétique, HEGP, Paris ; (4) INSERM, Unité 36, Collège de France, Paris

Le syndrome d'Ehlers-Danlos (SED) vasculaire est une affection rare se transmettant selon un mode autosomique dominant (OMIM 13050). Liée à des mutations du gène COL3A1 codant pour le procollagène III, la forme vasculaire de syndrome d'Ehlers-Danlos partage avec les autres formes la triade : fragilité tissulaire, hyperlaxité articulaire et hyperélasticité cutanée. Cependant l'hyperlaxité y est volontiers limitée aux petites articulations et l'hyperélasticité souvent absente ou minime. Sa forme acrogérique comporte en outre un morphotype facial dit en « visage de madone », une peau fine laissant transparaître les vaisseaux et un aspect prématurément vieilli des extrémités. Le SED vasculaire a pour particularité de présenter des risques de complications artérielles, coliques et utérines graves qui en font une affection de pronostic sombre puisque la médiane de survie des patients est de 48 ans. Les principales complications sont la rupture ou dissection spontanée d'artères de moyen calibre (anévrysmales ou pas), la perforation spontanée du sigmoïde et la rupture de l'utérus gravide. Des mesures préventives doivent être adoptées dès le diagnostic suspecté, qui comprennent la proscription de toute ponction artérielle, de la chirurgie (en particulier des varices) et des examen endoscopique non indispensables et l'éviction des efforts à glotte fermée et des médicaments vasopresseurs, sources de variations de pression artérielle particulièrement délétères. Le diagnostic de SED vasculaire entraîne un bouleversement psychologique important. La plupart des patients vivent avec la crainte d'un décès subit et précoce, et les risques liés à la grossesse ont une incidence sur l'état émotionnel des femmes en âge de procréer. Nous présenterons un exemple de collaboration multidisciplinaire tenant compte des éléments psychologiques associés à ce syndrome. À partir de l'observation clinique d'une famille, nous tenterons d'illustrer ces aspects psychologiques clés auxquels les patients sont régulièrement confrontés, en particulier l'impact du diagnostic sur le patient et son conjoint. Nous aborderons également la question de l'éventuelle information donnée aux enfants.

Mots-clés : syndrome d'Ehlers-Danlos vasculaire, psychologie, multidisciplinarité.

■P17 / 421. MOSAÏCISME ET DYSTROPHINOPATHIES : LE PIÈGE DU CONSEIL GÉNÉTIQUE

C. Sacquet (1), D. Thorel (1), S. Chambert (1), C. Coubes (2), B. Delobel (3), V. Humbert-Claude (4), S. Tuffery-Giraud (1), P. Khau Van Kien (1), M. Claustres (1)
(1) Laboratoire de Génétique Moléculaire, IURC-CHU de Montpellier ; (2) Service de Génétique Médicale, CHU de Montpellier ; (3) Centre de Génétique Chromosomique, Hôpital Saint-Vincent-de-Paul, Lille ; (4) Unité de Neuropédiatrie, Institut Saint-Pierre-Palavas

Bien que classique, le risque de mosaïcisme dans les dystrophinopathies (dystrophie musculaire de Duchenne et/ou Becker : DMD/B et cardiomyopathie liée à l'X) est peu documenté dans la littérature. Devant un cas à priori sporadique, le risque de récurrence de DMD/B dépend entre autres de l'origine parentale de la mutation et du risque de mosaïcisme germinal. À ce jour, une seule étude rétrospective portant exclusivement sur les grandes délétions (responsables d'environ 60 % des cas) a permis d'estimer un risque de mosaïcisme germinal compris entre 12 et 20 %. Ce risque est beaucoup plus élevé que dans d'autres maladies génétiques mendéliennes. Les cas de mosaïcisme rapportés dans la littérature correspondent essentiellement à de gros réarrangements du gène dystrophine. Nous présentons ici 3 cas de mosaïcisme dont deux associés à des mutations ponctuelles, qui illustrent les différentes possibilités de mosaïcisme pouvant être rencontrées en routine. La première famille illustre la situation d'un mosaïcisme germinal grand-paternel dans une forme familiale de DMD. Deux myopathes cousins issus de deux sœurs asymptomatiques, présentent une duplication de l'exon 2. L'analyse haplotypique de la famille montre que la phase associée à la DMD est héritée du grand-père maternel. Les mères des deux myopathes ont hérité de cette phase et présentent le défaut moléculaire. Elles sont conductrices. Par contre, une 3e femme de la fratrie a transmis à son tour cette même phase à risque à son fils sain. Toutes ces femmes ont des taux de Créatine Phospho Kinases (CPK) normales. La deuxième famille, illustre le cas d'un mosaïcisme germinal maternel chez une femme ayant eu un garçon myopathe et une fille conductrice de l'affection (dosages de CPK élevés). La technique de RT-PCR/PTT met en évidence chez le cas index (DMD) une mutation ponctuelle : c.10171C>T (p.Arg3391X). La mère de cet enfant présente un taux de CPK normal (35 UI/l) et l'analyse de son ADN leucocytaire montre l'absence de la mutation. Cependant, une des deux sœurs du cas index présente des taux élevés de CPK. L'analyse d'haplotypes et la recherche directe de la mutation montrent qu'elle a hérité de la même phase que son frère atteint et qu'elle présente à l'état hétérozygote la mutation p.Arg3391X au niveau de son ADN leucocytaire, contrairement à sa sœur aînée qui a des CPK normales et a hérité d'un chromosome maternel différent. Ces deux cas illustrent l'absolue nécessité de préciser en biologie moléculaire, le statut de chaque conductrice potentielle, en prenant en compte le risque de

mosaïcisme germinal pour formuler un conseil génétique fiable et précis. La troisième famille, illustre le cas d'un mosaïcisme somatique chez la mère d'un myopathe. La technique de RT-PCR/PTT met en évidence chez le cas index (BMD) une mutation intronique ponctuelle responsable d'une anomalie d'épissage. L'analyse de l'ADN leucocytaire de sa mère par dHPLC met en évidence un déséquilibre de l'allèle muté par rapport à l'allèle normal. La lecture attentive des électrophorogrammes correspondant au séquençage révèle la présence d'une trace signant la présence de la mutation sur l'ADN maternel et confortant l'hypothèse d'un mosaïcisme somatique. Nous considérons cette mère comme conductrice vis-à-vis de cette mutation. Ce cas illustre la nécessité d'un diagnostic moléculaire extrêmement soigneux, conforté par plusieurs techniques, ayant des sensibilités différentes. Le mosaïcisme peut donc être germinal et/ ou somatique et concerner aussi bien les grands réarrangements que les mutations ponctuelles du gène DMD. Le mosaïcisme représente un piège majeur pour le conseil génétique de DMD/B que l'on peut prévenir par des démarches d'enquête familiale et de diagnostic moléculaire les plus exhaustives possibles.

Mots-clés : mosaïcisme, dystrophinopathies, conseil génétique.

■P18 / 465. PRÉVENTION DES MALFORMATIONS PAR L'ACIDE FOLIQUE : ÉTAT DES LIEUX EN FRANCE

H. Journel (1), M. Le Duff (2)
(1) Génétique Médicale, CHBA Vannes ; (2) Infoproximed CHU Rennes

La prévention des Malformations du Tube neural a été lancée il y a plus de 20 ans dans les pays Anglo-Saxons. Plusieurs enquêtes récentes en France montrent la difficulté à mettre en place une prévention efficace, quelque soit la méthodologie de supplémentation employée. Une analyse de ces enquêtes et leur comparaison avec les campagnes de prévention mises en place dans d'autres pays incitent à poursuivre les timides efforts entrepris en ciblant la population féminine avant l'age de la procréation d'une part et les médecins généralistes d'autre part. Des modèles d'incitation – affiches, dépliants – sont montrés et les effets des campagnes analysés. Des pistes pour une incitation forte sont proposées.

Mots-clés : malformation tube neural, folates, prévention.

■P19 / 1048. FAUT-IL CONSERVER LE VARIANT R117H DANS LES PANELS DE MUTATIONS UTILISÉS DANS LE CADRE DU DÉPISTAGE NÉONATAL DE LA MUCOVISCIDOSE ?

V. Scotet (1), M.P. Audrézet (1), M. Roussey (2), G. Rault (2), V. Storni (2), H. Journel (2), V. Moisan-Petit (2), M. Dagorne (2), P. Vigneron (2), C. Férec (1)
(1) INSERM U613 « Génétique moléculaire et génétique épidémiologique », Brest ; (2) Réseau Mucoviscidose Bretagne et Pays-de-Loire

Introduction : Le gène responsable de la mucoviscidose (le gène CFTR) présente une forte hétérogénéité allélique puisqu'à ce jour plus de 1 400 variants ont été identifiés dans ce gène à travers le monde. Pour certains d'entre eux, l'implication dans la mucoviscidose demeure ambiguë et il est alors difficile de fournir un conseil génétique pleinement satisfaisant aux familles concernées. C'est le cas du variant R117H de l'exon 4. La pénétrance d'un génotype incluant ce variant est en partie modulée par une séquence polythymidine de l'intron 8 pouvant inclure une succession de 5, 7 ou 9 thymidines (variant IVS8-nT) et qui va influencer l'efficacité de l'épissage de l'exon 9. Ainsi, un même génotype F508del/R117H pourra être associée soit à une forme modérée de mucoviscidose (lorsque R117H est porté en cis avec l'allèle 5T), soit à une stérilité par absence bilatérale des canaux déférents, voire à une absence totale de symptomatologie surtout chez la femme (allèle 7T). En France, ce variant R117H est inclus dans le kit de mutations utilisé dans le programme national de dépistage néonatal qui a été progressivement mis en place en 2002. Ceci constitue un réel problème car il se révèle être le variant le plus fréquent après la mutation majoritaire F508del (7,4 %). Une expérience pilote de dépistage néonatal ayant été mise en place en Bretagne dès 1989, nous disposons d'un recul de 16 années et proposons de décrire l'évolution clinique des enfants hétérozygotes composites dépistés dans notre région avec le variant R117H. Méthode : L'évolution du statut clinique de ces enfants a été documentée par les médecins référents. Résultats : Depuis que le protocole breton de dépistage a permis la détection du variant R117H (i.e. en 1995), 249 937 nouveau-nés ont été dépistés, parmi lesquels 124 présentaient une trypsine immuno-réactive élevée et deux mutations CFTR. Neuf de ces enfants (7,3 %) étaient hétérozygotes composites pour le variant R117H, qui était dans chaque cas associé à l'allèle 7T (F508del/R117H (n = 7), I507del/R117H et G551D/R117H). L'âge moyen de ces enfants est actuellement de 6,3 ans (étendue : 3,3 à 10,2) et tous sont suffisants pancréatiques. Le premier test de la sueur était négatif chez quatre enfants (inférieur à 30 mEq/L) tandis qu'il était intermédiaire chez les cinq autres (taux entre 30 et 59 mEq/L). Le statut nutritionnel et la croissance de ces enfants apparaissent normaux (z-score moyen de taille : 0,6 (s = 1,3) – z-score moyen de poids : 0,4 (s = 1,6)) et les tests d'explorations fonctionnelles, réalisés chez deux enfants, sont excellents. Un autre résultat intéressant est d'observer que, dans notre région, tous les patients portant un variant R117H ont été exclusivement identifiés par le dépistage néonatal. En effet, dans une étude récente, nous avons cherché à recenser tous les patients nés et domiciliés dans la région Bretagne sur une période de 40 ans (1960-1999) et le variant R117H n'a jamais été observé dans la cohorte de patients nés avant l'introduction du dépistage. Conclusion : À ce jour, aucun des enfants porteurs de l'haplotype R117H-7T n'a développé de signes cliniques de mucoviscidose. Comme il a été rapporté que cet haplotype pouvait être associé à des symptômes pulmonaires, il est important de maintenir leur suivi pour surveiller l'apparition de tout signe. Cependant, aux vues de la forte fréquence de l'haplotype R117H-7T identifié par les programmes de dépistage et du devenir incertain de ces enfants, nous proposons de débattre, avec les cliniciens et les personnes impliquées dans le conseil génétique, sur l'intérêt de conserver ce variant dans le protocole de dépistage néonatal, ceci à une époque où beaucoup de pays prévoient de débuter un tel programme. Ce débat s'étendra sur les délicates questions de la nécessité du dépistage en cascade dans ces familles et du recours au diagnostic prénatal dans ces conditions.
Cette étude a bénéficié du soutien de l'association « Vaincre La Mucoviscidose ».

Mots-clés : mucoviscidose, dépistage néonatal, variant R117H.

■P20 / 1126. PRÉDISPOSITIONS HÉRÉDITAIRES AUX CANCERS DU SEIN OU DU COLON : IMPACT À COURT TERME D'UN RÉSULTAT POSITIF CHEZ LE PATIENT CAS INDEX

N. Voirin (1), V. Bonadona (1), P. Saltel (1), F. Desseigne (1), H. Mignotte (1), J.C. Saurin (2, 3), Q. Wang (1), O.M. Sinilnikova (2, 4), S. Gobet (1), S. Handallou (1), S. Giraud (2), G. Freyer (2, 3), A. Puisieux (1, 3), H. Plauchu (2, 3), C. Lasset (1, 3)
(1) Centre Léon Bérard, Lyon ; (2) Hospices Civils de Lyon ; (3) Université Claude-Bernard Lyon 1 ; (4) Centre International de Recherche sur le Cancer, Lyon

L'impact psychosocial des analyses génétiques initiales chez le patient atteint de cancer, appelé cas index, reste insuffisamment évalué. Pourtant, en cas d'identification d'une mutation constitutionnelle des gènes de prédisposition BRCA1/2 ou MMR, ce patient index a un risque élevé de développer un second cancer. Par ailleurs, il est le premier dans la famille à être informé du résultat et a la charge de le transmettre à ses apparentés. Nous avons évalué dans une étude prospective les répercussions personnelles et familiales de l'annonce d'un résultat positif dans une population de 72 patients atteints d'un cancer et reconnus porteurs d'une prédisposition héréditaire au cancer du sein ou du colon. Les patients ont bénéficié d'un entretien semi-structuré mené par une infirmière de recherche clinique un mois après le rendu de leur résultat. Ils ont également répondu à un auto-questionnaire HADS (Hospital Anxiety and Depression Scale) avant et après la connaissance de leur résultat.
72 patients (dont 62,5 % de femmes) atteints d'un cancer du sein ou du colon, d'âge moyen 64 ans, ont bénéficié d'un entretien semi-structuré un mois après le rendu de leur résultat.
À l'annonce, 58,3 % ont reporté un sentiment négatif (inquiétude, choc, insatisfaction, découragement et mécontentement). Néanmoins, 97,2 % ont reporté se sentir informés ou rassurés par le rendu du résultat. Au moment de la prise de sang, 61,1 % des patients avaient la notion d'un risque plus élevé de développer un autre cancer. Un mois après le rendu du résultat, 90,3 % pensaient que cela pouvait arriver et 72,3 % étaient inquiets que cela se produise.
94,4 % avaient déjà communiqué les résultats à au moins un membre de leur famille. 18,1 % ont jugé cette responsabilité difficile mais 90,3 % estimaient qu'ils étaient les seuls à pouvoir le faire. 70,8 % avaient l'intention de transmettre les résultats à leur entourage (enfant, conjoint, parent, frère/sœur) dans les mois suivants. 66,7 % manifestaient une inquiétude vis-à-vis de l'avenir de leurs enfants et 41,7 % concernant l'avenir de leurs frères et sœurs.
Néanmoins, 63,9 % pensaient que connaître le résultat du test présentait plus d'avantages que d'inconvénients, 87,5 % ne regrettaient pas d'avoir fait ce test et une seule personne le regrettait complètement.
Précédant l'annonce du résultat, 43,7 % présentaient un score d'anxiété supérieur à 10, 14,6 % un score de dépression supérieur à 8 et 54,2 % avaient un score global HADS supérieur à 13. Aussitôt après l'annonce du résultat, ces mêmes scores étaient respectivement de 45,3 %, 12,5 % et 48,4 %, et parmi les patients avec un score global HADS supérieur à 13,

90,3 % présentaient un score d'anxiété supérieur à 10 et 25,8 % un score de dépression supérieur à 8.

Seulement 18,1 % ont souhaité un soutien psychologique à l'issue de l'entretien.

Aucune différence significative n'a été observée entre les patients atteints d'un cancer du sein et les patients atteints d'un cancer du colon aussi bien pour les résultats de l'entretien que pour les scores HADS.

Un mois après l'annonce de leur résultat positif, plus de la moitié des patients expriment des sentiments négatifs et ont un score HADS élevé reflétant une anxiété importante. La connaissance d'une prédisposition génétique chez le patient atteint de cancer peut avoir à court terme un impact négatif qu'il convient de ne pas sous estimer. Des consultations de suivi doivent leur être proposées de même qu'un soutien psychologique. L'impact à plus long terme sera important à évaluer.

Mots-clés : cancer, prédisposition, conseil.

■P21 / 1147. UNE LISTE DE DISCUSSION DESTINÉE AUX FEMMES ASYMPTOMATIQUES MUTÉES BRCA, UNE

Claude Adenis (1), Cyril Quémeras (2), Sophie Lejeune (3), Philippe Vennin (1). Pour le Groupe Génétique et Cancer
(1) Centre Oscar Lambret, Lille ; (2) MÉDICALISTES ; (3) Service de génétique clinique, CHRU, Lille

Les femmes souvent jeunes « porteuses » d'une mutation délétère sur *BRCA1* ou *BRCA2* sont confrontées à des choix cornéliens, en particulier l'alternative entre la mastectomie préventive associée à une reconstruction immédiate et un dépistage annuel associant actuellement l'IRM, la mammographie numérique et l'échographie mammaire. Le savoir des soignants (généticien, cancérologue, gynécologue, psychologue, chirurgien plasticien) les éclaire, mais ne suffit pas pour prendre des décisions qui sont très personnelles et intimes. Ces femmes expriment souvent un certain isolement face à ces décisions impossibles qui leur sont imposées par la connaissance de leur statut génétique. Leur demande de contact avec d'autres femmes dans la « même » situation nous a amenés à envisager l'ouverture d'une liste de discussion qui leur soit exclusivement destinée. Une liste de discussion est un espace d'échanges sur l'Internet, les abonné(e)s communiquent par l'intermédiaire d'une boite à lettres qui leur est commune. C'est à dire que les messages envoyés à la liste sont reçus et peuvent être lus par chacun des abonné(e)s. L'objectif est de permettre sur le « net » des échanges plus faciles et le partage d'expériences personnelles. Après une phase préliminaire dans le nord de la France, cette liste est désormais ouverte à toutes les femmes de l'hexagone (asymptomatiques, mutées *BRCA1* ou *BRCA2*). Cette liste de discussion, appelée BRCA, est hébergée par MÉDICALISTES (http://www.medicalistes.org/) qui est une association déclarée d'intérêt général en 2004. Le gestionnaire de la liste reçoit les demandes d'abonnement et fait entrer dans la liste les femmes qui répondent à la situation décrite. Nous espérons que cette liste sera un moyen supplémentaire d'aider ces femmes dans des choix très difficiles.

Mots-clés : Internet, BRCA, Cancer sein.

■P22 / 1506. SYNDROME D'APLASIE UTÉRO-VAGINALE DE MAYER-ROKITANSKY-KÜSTER-HAUSER (MRKH) : MISE EN ŒUVRE D'ÉTUDES CLINIQUES ET GÉNÉTIQUES PAR LE RÉSEAU NATIONAL PRAM (PROGRAMME DE RECHERCHES SUR LES APLASIES MÜLLÉRIENNES)

Membres du réseau PRAM : Jocelyne Attia-Sobol (1), Nathalie Auger (2), Claude Bendavid (3, 4), Laure Camborieux (5), Pierre-Henri Communal (6), Véronique David (4), Yves Deugnier (7), Christèle Dubourg (4), Marion Gérard-Blanluet (8), Daniel Guerrier (3), *, Catherine Henry (2), Marie-Christine Laurent (9), Franck Leduff (10), Gaétan Lesca (1), Jean Lévêque(9), §, Christine Louis-Sylvestre (11), Karine Morcel (9), Thomas Mouchel (12), Sylvie Odent (13), Bernard-Jean Paniel (11), Danielle Pape (7), Laurent Pasquier (13), Isabelle Pellerin (3), Daniel Raudrant (6), Roman Rouzier (11), Nicolas Soriano (3)
(1) Service de Génétique, Hôpital Édouard-Herriot, Lyon ; (2) Laboratoire de Cytogénétique, CHU Rennes ; (3) UMR 6061 CNRS, Faculté de Médecine, Rennes ; (4) Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHU Rennes ; (5) Association MAIA, 15, rue Gleyses, Toulouse ; (6) Service de Gynécologie Obstétrique, Hôpital Hôtel Dieu, Lyon ; (7) CIC-CRB CHU Rennes ; (8) Service de Néonatalogie, CHI, Créteil ; (9) Département d'Obstétrique Gynécologie et Médecine de la Reproduction, CHU Rennes ; (10) Département d'Informatique Médicale, CHU Rennes ; (11) Service de Gynécologie, CHI, Créteil ; (12) Clinique du Tertre Rouge, Le Mans ; (13) Unité de Génétique Clinique, CHU Rennes

Le syndrome MRKH : En clinique, divers types d'anomalies Müllériennes sont rencontrés, allant de simples variations anatomiques mineures jusqu'à l'aplasie Müllérienne totale, diagnostiquée dans 90 % des cas comme syndrome de Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser (MRKH) (OMIM 277 000). Cette pathologie montre une incidence élevée d'un cas sur environ 5 000 naissances et d'une patiente sur 20 000 dans les services de gynécologie ; elle représente la deuxième cause d'aménorrhée primaire après la dysgénésie gonadique. Ce syndrome apparaît souvent de façon sporadique mais des cas familiaux ont aussi été décrits. Il se caractérise par l'absence le plus souvent totale de trompes, d'utérus et de la partie interne du vagin.
Si le diagnostic clinique du syndrome MRKH peut désormais s'établir sans ambiguïté grâce aux techniques d'imagerie (échographie, IRM) son étiologie reste totalement inconnue et semble être multifactorielle, d'autant plus que l'aplasie Müllérienne peut être complète ou incomplète et associée à d'autres malformations, le plus souvent rénales, osseuses ou auditives. Dans ce dernier cas, la dénomination de MURCS (MUllerian aplasia – Renal aplasia – Cervicothoracic – Somite) est généralement employée. Dans l'hypothèse d'une composante étiologique génétique, les patientes présentent cependant un caryotype 46, XX normal. Par ailleurs, leurs ovaires sont normaux et fonctionnels et leurs caractéristiques sexuelles secondaires normales, ce qui distingue le MRKH d'autres anomalies du développement du tractus urogénital telles que l'insensibilité périphérique aux androgènes ou le syndrome de Turner.
Ces patientes optent très souvent pour une reconstruction vaginale chirurgicale (colpoplastie) leur permettant une vie relationnelle satisfaisante. Par ailleurs, dans les pays où la loi le permet, ces femmes peuvent avoir recours à des mères porteuses après fécondation in vitro de leurs propres ovocytes. Le risque de transmission génétique ne semble toutefois pas avoir été évalué correctement, ce qui renforce l'intérêt des recherches en cours. Finalement, il est important de considérer la détresse psychologique de ces personnes qui, dans la quasi-totalité des cas, est très importante et nécessite une aide médicale spécialisée.
Le réseau PRAM : Récemment mis en place, ce réseau multicentrique rassemble actuellement plus de 25 praticiens hospitaliers et chercheurs, en collaboration avec l'unique association française regroupant les personnes atteintes par le MRKH (association MAIA). Son infrastructure s'appuie sur un centre de « référence » situé à Rennes, auquel sont rattachés des services de Gynécologie Obstétrique et de Génétique d'autres CHU français. Le centre de Rennes fonctionne en partenariat avec le Centre de Ressources Biologiques (CRB) du CHU qui assure la collecte et la gestion des échantillons biologiques provenant des centres rattachés.
Notre projet de recherche sur le syndrome MRKH consiste en une approche systématique de cytogénétique et de génétique afin de cartographier et définir des loci candidats pour ensuite caractériser finement les anomalies génétiques en cause. Par ailleurs, notre laboratoire possède un serveur sécurisé (https) qui héberge une banque de données permettant d'intégrer l'ensemble des données cliniques et génétiques. Cette banque offre la possibilité aux praticiens hospitaliers affiliés au réseau PRAM, de saisir, par le biais d'Internet, l'ensemble des données de leurs patientes. Finalement, cette gestion informatisée permet, en connexion avec le CRB, le suivi intégral des échantillons biologiques, depuis leur prélèvement jusqu'au résultats de la recherche. Elle permettra également, de définir des groupes phénotypiques puis, aux cours des recherches génétiques, des corrélations génotype-phénotype afin d'établir les statistiques nécessaires au diagnostique complet du MRKH.

Mots-clés : MRKH, MURCS, PRAM.

■P23 / 1526. DÉMOGRAPHIE DES JEUNES GÉNÉTICIENS

Schluth Caroline, Mercier Sandra
Société des Internes en Génétique de France

Lors des dernières Assises de Génétique Humaine et Médicale en janvier 2004, nous présentions pour la première fois la démographie en France des jeunes généticiens issus du Diplôme d'Études Spécialisées « Génétique Médicale, Clinique, Chromosomique et Moléculaire » (DES 48).
Depuis cette date, 8 internes ont rejoint cette discipline, ce qui porte à 54 le nombre d'internes inscrits depuis 1995, date de création de ce diplôme. Par ailleurs, 14 internes ont terminé leur cursus lors de ces 2 dernières années, et 18 sont actuellement en cours de formation.
Cette mise à jour de la situation des jeunes généticiens tient compte de leur nombre, de leur répartition géographique et de leur orientation (clinique, chromosomique, moléculaire).
Ces informations pourront être utiles tant dans les décisions d'ouverture de postes hospitaliers et hospitalo-universitaires, que dans le choix de CHU pour les internes nouvellement reçus au concours et intéressés par cette spécialité.

Mots-clés : internes en génétique, démographie, DES 48.

■P24 / 1536. DIAGNOSTIC GÉNÉTIQUE DES PARAGANGLIOMES ET PHÉOCHROMOCYTOMES : ASPECTS PSYCHOLOGIQUES ET INTÉRÊTS DE LA MULTIDISCIPLINARITÉ

Khadija Lahlou-Laforêt (1), Silla M. Consoli (1), Xavier Jeunemaître (2), Anne-Paule Gimenez-Roqueplo (2)
(1) Service de Psychiatrie de liaison ; (2) Département de Génétique, Hôpital Européen Georges Pompidou, Paris

Les paragangliomes et phéochromocytomes sont des tumeurs génétiquement déterminées dans 10 à 30 % des cas, secondaires à des mutations situées sur les gènes SDHD, SDHB, SDHC, VHL, RET, NF1. Le diagnostic génétique permet une prise en charge adaptée. Le dépistage génétique familial présymptomatique permet, chez les sujets identifiés comme porteurs de la mutation familiale, l'organisation d'une surveillance adéquate et le dépistage de tumeurs de petite taille facilement accessibles à la chirurgie.
Le bénéfice médical du diagnostic ou du dépistage ne doit pas faire perdre de vue le risque d'un impact psychologique traumatique du test, incitant à proposer un cadre multidisciplinaire approprié pour le déroulement de ce test [1]. Depuis l'année 2000, une collaboration a été mise en place à l'Hôpital Européen Georges-Pompidou entre le Département de Génétique et le Service de Psychologie Clinique et Psychiatrie de Liaison dans le cadre de la consultation multidisciplinaire d'oncogénétique dédiée aux paragangliomes, phéochromocytomes et autres tumeurs endocrines. De façon systématique, deux consultations successives avec le généticien puis le psychiatre sont organisées à la première rencontre et lors du rendu définitif du résultat du test génétique. Depuis janvier 2003, 263 consultations d'oncogénétique et 124 de psychiatrie ont été effectuées sur ce thème concernant 102 cas-index et 59 apparentés. L'exemple particulier de cette collaboration sera présentée et quelques situations cliniques seront exposées.

Mots-clés : phéochromocytome, paragangliome, multidisciplinarité.

Référence

1. Gimenez-Roqueplo AP, Lahlou-Laforêt K. Aspects psychologique du diagnostic génétique des tumeurs endocrines. *Ann Endocrinol* (Paris) 2005 ; 66 : 284-8.

■P25 / 1547. PLANÈTE GÈNE : À TRAVERS LES RÈGNES DU VIVANT, POUR MIEUX COMPRENDRE LA GÉNÉTIQUE

Céline Arveiler-Coution (1), Benoît Arveiler (1, 2)
(1) Planète Gène, Université Victor-Segalen Bordeaux 2 ; (2) Laboratoire de Génétique Humaine Développement et Cancer (EA3669), Université Victor-Segalen Bordeaux 2

Planète Gène est un projet de communication sur la génétique en direction du grand public. L'objectif est de donner les clés pour une meilleure compréhension de ce qu'est la génétique et des applications rendues possibles grâce aux connaissances acquises, bien sûr chez l'Homme, mais aussi chez les plantes, et les microorganismes, des mécanismes du vivants aux développements technologiques. À l'heure où la génétique fait son entrée dans la pratique quotidienne de la médecine, mais aussi suscite des attentes fortes et provoque parfois des réactions de crainte, quand elle ne pose pas des questions d'ordre éthique ou sociétal, il s'agit de fournir au grand public, adolescent et adulte, les éléments pour s'approprier les possibilités nouvelles offertes par ce domaine qui a tant évolué dans les 20 dernières années, pour en saisir les limites, et pour se faire le cas échéant une opinion éclairée sur telle ou telle question nouvelle.
Planète Gène proposera différentes actions complémentaires pour toucher le public :

1) site www.planetegene.com
Pour répondre à une demande constante d'information de la part du public, Planète Gène développe un site Internet qui aborde l'ensemble des domaines de la génétique.
Planète Gène présente des exemples concrets pour amener des notions scientifiques plus complexes : en un mot, Planète Géne se place du point de vue de l'internaute en lui proposant des articles qui traitent des applications pour lui permettre ensuite d'assimiler les fondamentaux.
Face aux attentes des internautes, Planète Gène privilégie les animations et illustrations pour faciliter la compréhension de notions complexes au détriment de textes longs et rébarbatifs.
À cela, s'ajoute une volonté d'humaniser les sciences avec des interviews audio et des vidéos : réactions de chercheurs, points de vue, pièces de théâtre, cafés des sciences...
L'ensemble du contenu du site s'appuie sur l'expérience et des exemples issus des acteurs aquitains des différents domaines traités.

2) Rencontres avec le public
Afin de créer le dialogue entre le public et les scientifiques, Planète Gène propose des rendez vous avec les scolaires et le grand public. La manifestation se déroule en deux temps dans une ville d'Aquitaine :
– Intervention débat dans les établissements scolaires : dans la journée, organisation d'un débat dans un lycée auprès de plusieurs classes en étroite collaboration avec les enseignants.
– Rencontre type « Cafés des Sciences » : discussion ouverte entre le grand public et 3 à 4 intervenants spécialistes de la thématique choisie.

3) Formation d'un groupe de chercheurs à la médiation scientifique
Planète Gène organise une formation à la vulgarisation scientifique aux chercheurs et enseignants chercheurs pour aider les scientifiques à prendre une part active dans la communication scientifique. Nous proposons 2 formations de 5 jours chacune : rédaction d'articles de vulgarisation scientifique et communication orale et télévisée.
Il s'agit de donner quelques règles clés pour chaque média afin de permettre aux scientifiques de tenir un discours adapté au public.

Les partenaires de Planète Gène sont :
Laboratoire de Génétique Humaine, Développement et Cancer (EA3669), le CCSTI Cap Sciences – Bordeaux, la Plateforme Génomique Fonctionnelle de Bordeaux, l'École Supérieure de Technologie des Biomolécules de Bordeaux, le journaliste scientifique, Didier DUBRANA.

Contact :
Communication – Médiation : Céline Arveiler-Coution – celine.arveiler-coution@u-bordeaux2.fr – Tél. : 05 57 57 48 15

2. Développement et Diagnostic Prénatal

■P26 / 14. MALFORMATIONS CONGÉNITALES ASSOCIÉES AUX ANOMALIES DE RÉDUCTION DES MEMBRES

C. Stoll, M.P. Roth, Y. Alembik, B. Dott
Génétique Médicale, Faculté de Médecine, Strasbourg

Objectifs : Les enfants nés avec des anomalies de réduction des membres(ARM) ont souvent d'autres malformations congénitales associées à leurs ARM. Il a été rapporté une grande variation de l'incidence et du type de ces anomalies associées. Le but de cette étude est de déterminer la prévalence et le type des malformations congénitales associées aux ARM.
Matériel et méthodes : Le matériel pour cette étude provient de notre registre de malformations congénitales. 320 810 naissances consécutives ont été enregistrées durant la période d'étude, 1979 à 2002, incluant les nés vivants, les mort-nés et les interruptions de grossesse après diagnostic prénatal de malformations congénitales.
Résultats : 246 enfants ou fœtus ayant des ARM ont été enregistrés, soit une prévalence à la naissance de 7,7 pour 10 000 ; 58,1 % d'entre eux ont des malformations associées. Parmi ces dernières, les plus fréquentes sont les cardiopathies congénitales et les anomalies du système nerveux central, suivies des malformations génitales, rénales et digestives. 16 (6,5 %) des cas ont des anomalies chromosomiques dont la moitié sont des trisomies 18 ; 56 (22,8 %) des enfants ont des syndromes connus, non chromosomiques dont les plus fréquents sont l'association VA(C)TER(L), le syndrome de Poland et les bandes amniotiques ; 71 (28,8 %) des cas sont des polymalformés sans syndrome reconnu. Le diagnostic prénatal a été fait chez 48,8 % des fœtus porteurs de malformations associées et dans 25,2 % des ARM isolées.
Discussion : La fréquence des ARM associées à d'autres malformations congénitales est plus élevée dans notre étude, aussi bien globalement que dans les diverses catégories d'ARM associées, que dans les autres études de la littérature. Les causes en sont multiples.
Conclusion : La prévalence élevéee des malformations associées aux ARM (58,1 %) démontre la nécessité de rechercher soigneusement d'autres malformations, surtout cardiaques, du système nerveux central, urogénitales et digestives chez tout enfant ayant des ARM, en particulier en période prénatale.

Mots-clés : malformations congénitales, anomalies de réduction des membres, diagnostic prénatal.

■P27 / 15. DIAGNOSTIC PRÉNATAL DES SYNDROMES DYSMORPHIQUES

C. Stoll, B. Dott, Y. Alembik
Génétique Médicale, Faculté de Médecine, Strasbourg

Objectifs : L'échographie fœtale est maintenant un examen de routine dans les pays développés.Les objectifs de cette étude sont d'évaluer le diagnostic prénatal des syndromes dysmorphiques par l'échographie fœtale.

Méthodes : Les données pour cette étude proviennent de notre registre de malformations congénitales, incluant 161 592 grossesses consécutives dont l'issue est connue,pour la période 1992 à 2003. Tous les nés vivants,mort-nés et interruptions de grossesse après diagnostic prénatal de malformations congénitales sont compris dans l'étude.

Résultats : Les syndromes dysmorphiques sont rapportés par catégorie de malformations congénitales. 564 cas de cardiopathies congénitales ont été enregistrés dont 110 syndromes dysmorphiques incluant 86 anomalies chromosomiques [23 % ont été diagnostiqués en prénatal(DPN)] et 24 syndromes non chromosomiques : 6 microdélétions 22q11(3 DPN), 4 situs inversus (3 DPN), 3 associations VA(C)TER(L) (2 DPN) et 11 autres dont les syndromes suivants, diagnostiqués en prénatal : Ellis van Creveld, Greig, OFD, Roberts, alcoolisme fœtal et chondrodysplasie ponctuée, non diagnostiqués en prénatal : Aarskog, CHARGE, OAVS, Robinow et SLO. Pour les autres catégories de malformations congénitales les pourcentages de DPN sont les suivants : pour les syndromes dysmorphiques non chromosomiques avec malformations rénales 73, intestinales 37, anomalies de réduction des membres 55, malformations de la paroi abdominale 66, hernie diaphragmatique 50, fente labio-palatine 83 et anomalies de fermeture du tube neural 87.

Discussion : Cette étude est concentrée sur le diagnostic prénatal des syndromes dysmorphiques. Si la littérature est riche de diagnostic prénatal de cas isolés et ponctuels porteurs d'un syndrome dysmorphique, elle est par contre très pauvre en ce qui concerne des séries de cas. Cette étude évalue un grand nombre de grossesses. Elle est basée sur une étude de population. La sensibilité du diagnostic prénatal dépend de quand, où et par qui l'échographie fœtale est faite.

Conclusion : Autour de 50 % des syndromes dysmorphiques qui sont associés à des malformations congénitales (cardiaques, rénales, intestinales, des membres, de la paroi abdominale, et fentes labio-palatines) peuvent être dépistées par l'échographie fœtale.Toutefois cette détection varie en fonction des syndromes et des conditions de l'examen.

Mots-clés : syndrome dysmorphique, diagnostic prénatal, malformations congénitales.

■P28 / 50. DYSPLASIE MÉSENCHYMATEUSE PLACENTAIRE ET SYNDROME DE KLINEFELTER

P. Loget (1, 2), S. Visée (2), S. Patrier (3), A. Laquerrière (3), S. Rossignol (4), D. Pelletier (1), M.C. Krizek-Teneur (5), C. Gicquel (4), D. Martin (1), E. Julien (1)

(1) Centre Pluridisciplinaire du Mans ; (2) Service d'Anatomie Pathologique, Centre Hospitalier du Mans ; (3) Service d'Anatomie Pathologique, CHU de Rouen ; (4) Laboratoire d'Endocrinologie, Hôpital Armand-Trousseau, Paris , (5) Laboratoires de biologie associés, Nantes

Observation d'une patiente de 40 ns, 2e geste, primipare, sans antécédents personnels ni familiaux, présentant des métrorragies du premier trimestre avec un volumineux placenta homogène et élévations des marqueurs (HCG 960 000 mU/ml et alpha fœtoprotéine 200 ng/ml). Le caryotype : 47, XXY élimine l'hypothèse d'une triploïdie et permet de poser le diagnostic de syndrome de Klinefelter. La symptomatologie maternelle persiste au 2e trimestre (HCG 530 000 mU/ml et alpha fœtoprotéine 300 ng/ml) avec un épisode aigu de thyréotoxycose. Une hépatomégalie fœtale apparaît avec deux images kystiques intra hépatiques. Devant l'hypothèse d'une maladie trophoblastique avec risque maternel, les parents sollicitent une interruption médicale de grossesse à 22 SA.

Le fœtus est eutrophique, non dysmorphique avec une hépatomégalie et deux kystes biliaires simples à la partie supérieure du foie. Le placenta hypertrophique (366 gr, correspondant à un terme de 32 SA) est hétérogène avec de rares vésicules, des villosités fibreuses ou oedémateuses et une dysplasie vasculaire des vaisseaux tronculaires. Une étude en cytométrie en flux sur les plages vésiculeuses ne montre pas de contingent ADN-triploïde. Une étude moléculaire systématique à la recherche d'un syndrome de Beckwith est en cours.

La dysplasie mésenchymateuse placentaire (« pseudo partial mole ») est une pathologie rare (66 cas rapportés en 2005) se caractérisant par une hypertrophie placentaire, un aspect pseudo molaire sans hyperplasie trophoblastique et un réseau vasculaire tronculaire « chorio-angiomatoïde ». Selon Cohen cette pathologie initialement décrite dans le syndrome de Beckwith Wiedemann (23 à 33 %) peut s'accompagner de décès fœtal in utero (33 %). Seuls 4 cas d'aberrations chromosomiques sont rapportés : Trisomie 13, triploïdie, 46, X,Xp- et un cas de Klinefelter comme dans cette observation.

Mots-clés : dysplasie mésenchymateuse placentaire, syndrome de Klinefelter, syndrome de Beckwith-Wiedemann.

■P29 / 65. PHÉNOTYPE FŒTAL DU SYNDROME D'ALCOOLISATION FŒTALE : À PROPOS D'UNE SÉRIE DE 8 OBSERVATIONS

P. Marcorelles (1), P. Parent (2), Y. Laurent (3), C. Simon (4), N. Lagarde (1)

(1) Service d'Anatomie Pathologique, CHU Brest, France ; (2) Département de Pédiatrie et de Génétique médicale, CHU Brest, France ; (3) Service de Gynécologie Obstétrique, CHU Brest, France ; (4) Service Intersectoriel d'alcoologie, CHU Brest, France

Le syndrome d'alcoolisation fœtale (SAF), décrit chez l'enfant par Lemoine en 1968, reste peu identifié chez le fœtus et est très certainement sous évalué. Il représente la forme la plus sévère des manifestations liées à l'exposition in utero à l'alcool. Il associe une dysmorphie faciale, un retard de croissance ante et postnatal, des anomalies du développement psychomoteur et une microcéphalie. Nous rapportons une série de 8 observations fœtales dans un contexte d'alcoolisme maternel pendant la grossesse qui a été admis. Ces observations s'étendent de 18SA à 33SA et correspondent soit à des fausses couches spontanées, soit à des décès in utero soit à des interruptions de grossesse secondaires à des malformations. Dans notre série, le retard de croissance intra-utérin est habituel. La dysmorphie faciale est semblable à celle décrite à la naissance et est reconnaissable, même chez les fœtus les plus jeunes (18SA). Les malformations rencontrées dans notre série sont : une myélomeningocèle lombo-sacrée, une malformation cardiaque à type de communication interventriculaire. Le diagnostic de SAF reste difficile : le tableau clinique est très variable et le contexte le plus souvent totalement méconnu. De très nombreuses malformations de multiples organes sont rapportées ; le tableau peut en imposer pour une autre pathologie. La fréquence du SAF varie selon les études et les populations entre 1/500 à 1/1 000 naissances, l'alcool étant le plus courant des agents tératogènes chez l'homme.
Lors de l'examen fœtopathologique, la dysmorphie paraît le caractère le plus fiable pour évoquer la consommation d'alcool et sa mise en évidence peut entraîner une enquête étiologique et permettre la prévention en apportant un soutien aux femmes avant et pendant les grossesses par une structure spécialisée.

Mots-clés : fœtus, syndrome d'alcoolisation fœtale, dysmorphie.

■P30 / 86. STRATÉGIES DE DIAGNOSTIC PRÉIMPLANTATOIRE DE LA POLYPOSE ADÉNOMATEUSE FAMILIALE : VERS UNE PRISE EN CHARGE RAPIDE ET ADAPTÉE À CHAQUE COUPLE

Céline Moutou (1), Nathalie Gardes (1), Stéphane Viville (1, 2)

(1) Service de Biologie de la Reproduction, SIHCUS-CMCO, CHRU de Strasbourg ; (2) Institut de Génétique et de Biologie Moléculaire et Cellulaire, CNRS/INSERM/ULP Illkirch-CU de Strasbourg

Plus de quinze ans après les premiers diagnostics préimplantatoires (DPI), le nombre de pathologies monogéniques prises en compte et les technologies employées ont considérablement évolué. En effet, le DPI bénéficie des avancées en diagnostic conventionnel et en PCR sur cellule unique avec en particulier l'utilisation de la PCR multiplex fluorescente. La gageure du DPI est d'obtenir une fiabilité optimale dans un délai d'analyse limité puisque le transfert embryonnaire a lieu le lendemain de la biopsie embryonnaire. L'expérience acquise depuis l'ouverture du centre de DPI de Strasbourg en 1999 nous permet actuellement de développer rapidement un nombre croissant de tests fiables et reproductibles pour des nouvelles pathologies, voire pour des mutations privées. Nous présentons ici un bilan de notre expérience dans le DPI de la polypose adénomateuse familiale due à des mutations du gène APC. La stratégie initiale consistait à détecter la mutation incriminée dans la famille. Afin de limiter les risques d'erreur de diagnostic liés en particulier aux phénomènes d'allele drop out et de contamination, nous avons rapidement opté pour des tests multiplex combinant la détection de mutation à un diagnostic indirect à l'aide de marqueurs microsatellites de la région APC. La technique de mise en évidence des mutations est adaptée à chaque situation et dérive des méthodes utilisées en diagnostic conventionnel : estimation de la taille des fragments pour les délétions/insertions, digestion enzymatique, PCR allèle spécifique. Les tests sont optimisés par des modifications des protocoles classiques, et notamment par un choix judicieux des amorces, dans le but d'ajouter des contrôles internes aux PCR sur cellule unique tout en respectant les impératifs de fiabilité, de sensibilité et de délai d'analyse imposés par le DPI. Enfin, devant le nombre croissant de demandes et la diversité des mutations, nous avons choisi de conserver cette approche uniquement pour les néo-mutations et de développer des tests indirects multiplex pour les formes familiales. Depuis 2002, douze couples nous ont été adressés. Il s'agit de couples jeunes avec une moyenne d'âge des femmes de 29,4 ans (contre 31,2 ans pour l'ensemble des demandes), souvent sans enfant et opposés à l'interruption médicale de grossesse après diagnostic prénatal de polypose

adénomateuse familiale. Le DPI leur apparaît comme la seule solution acceptable pour avoir des enfants indemnes de la pathologie. À l'heure actuelle, nous avons développé sept protocoles pour la prise en charge de ces couples : deux tests simplex détectant les mutations K1062X et R283X, quatre tests duplex combinant la détection d'une mutation et l'amplification d'un microsatellite, et enfin 1 test triplex indirect applicable à des formes familiales. Les validations sur plus de 500 lymphoblastes et lymphocytes ont montré une efficacité d'amplification globale de 98 %, avec 94 % de génotype complet et 99 % de génotype concluant. Nous continuons nos efforts de mise au point sur des tests indirects impliquant diverses combinaisons de microsatellites de la région. Nous avons débuté 9 cycles de DPI pour 3 couples, 6 d'entre eux ont conduit à un transfert d'embryon. Nous avons obtenu 3 grossesses dont deux biochimiques et une évolutive qui a abouti la naissance d'un garçon sain. En conclusion, notre stratégie globale devrait nous permettre de proposer un diagnostic préimplantatoire à tous les couples à risque de transmettre une polypose adénomateuse familiale dans un délai court. La diminution du temps de mise au point nous permet actuellement une prise en charge rapide des couples pour un premier cycle (en général, dans l'année qui suit le premier contact), ce qui augmente les chances de grossesse.

Mots-clés : diagnostic préimplantatoire, polypose adénomateuse familiale, PCR multiplex.

■P31 / 90. GLIOBLASTOME CÉRÉBRAL CONGÉNITAL : À PROPOS D'UNE OBSERVATION ANTÉNATALE

S. Petit (1), M.P. Buisine (2), O. Boute (3), P. Vaast (4), C.A. Maurage (1), F. Escande (2), P. Charlier (1), C. Chaffiotte (5), S. Lejeune-Dumoulin (3), L. Devisme (1)

(1) Service d'Anatomie Pathologique ; (2) Biologie moléculaire ; (3) Génétique médicale ; (4) Centre de Diagnostic Prénatal ; (5) Radiologie CHRU Lille

Les tumeurs cérébrales congénitales sont rares. Leur diagnostic anténatal est difficile, reposant sur l'échographie qui montre une hydrocéphalie et un saignement intra crânien. C'est l'examen histologique qui permet d'affirmer le diagnostic. Nous rapportons un cas de glioblastome cérébral fœtal, révélé au 3e trimestre de la grossesse. La mère, âgée de 34 ans, avait déjà un enfant en bonne santé. Cette seconde grossesse était marquée par la découverte à 23 semaines d'aménorrhée d'une dilatation modérée et isolée des bassinets nécessitant une surveillance échographique régulière. À 28 semaines d'aménorrhée, l'échographie mettait en évidence un processus expansif cérébral refoulant la ligne médiane. L'IRM cérébrale fœtale retrouvait une volumineuse masse de 10 cm présentant un signal de type hématique. Le bilan de thrombophilie maternelle ainsi que le bilan infectieux, maternel et fœtal, étaient négatifs. Le caryotype fœtal était normal. En raison du mauvais pronostic, une interruption médicale de grossesse était réalisée à 33 semaines d'aménorrhée. À l'autopsie, ce fœtus de sexe masculin et par ailleurs eutrophique, présentait une macrocrânie. Il existait une dilatation des bassinets en rapport avec un syndrome de jonction pyélo-urétérale bilatéral. L'examen de l'encéphale montrait une destruction massive des hémisphères cérébraux et une nécrose hémorragique étendue, associées à une formation blanchâtre et indurée de la base du cerveau, mesurant 6 cm de grand axe. En microscopie, cette lésion correspondait à une prolifération tumorale de cellules fusiformes, souvent disposées en palissade autour de foyers de nécrose et renfermant de nombreux vaisseaux. Cet aspect était évocateur d'un glioblastome dont le diagnostic fut conforté par les données immuno-histochimiques et ultrastructurales. Compte tenu du caractère anténatal et donc très précoce de cette tumeur maligne, une étude en biologie moléculaire recherchant notamment l'implication de gènes de prédisposition aux tumeurs et de gènes de réparation des mésappariements de l'ADN est en cours. Les glioblastomes à révélation anténatale sont extrêmement rares et représentent 2 à 9 % des tumeurs cérébrales congénitales. Ils se manifestent habituellement en fin de grossesse par un syndrome de masse d'allure hémorragique et rapidement progressif. En cas d'interruption de grossesse, l'examen neuropathologique est indispensable pour distinguer une hydrocéphalie post hémorragique, pouvant être en rapport avec une thrombophilie maternelle, d'un processus tumoral, car le conseil génétique est différent. Une mutation du gène p53 peut être associée à des glioblastomes pédiatriques, moins fréquemment que chez l'adulte et une mutation du gène MSH2 a été décrite chez un enfant atteint d'un glioblastome dans un contexte familial de tumeurs précoces. À notre connaissance, aucune donnée concernant la génétique moléculaire de ces tumeurs n'a été rapportée dans les observations anténatales.

Mots-clés : tumeur congénitale, fœtopathologie, biologie moléculaire.

■P32 / 92. SIRÉNOMÉLIE ENTRANT DANS LE CADRE D'UNE ASSOCIATION VACTERL : TROIS NOUVEAUX CAS

P. Charlier (1), S. Petit (1), O. Boute (2), A.S. Valat (3), N. Rocourt (4), D. Buob (1), S. Manouvier (2), I. Huynh (5), L. Devisme (1)

(1) Service d'Anatomie et Cytologie Pathologiques, CHRU de Lille ; (2) Génétique médicale, CHRU de Lille ; (3) Centre pluridisciplinaire de diagnostic prénatal, CHRU de Lille ; (4) Radiologie pédiatrique, CHRU de Lille ; (5) Service de radiodiagnostic, Hôpital de la Pitié Salpétrière, Paris

La sirénomélie est une malformation fœtale rare (incidence : 1/100 000 naissances) et sévère, définie par la fusion congénitale des bourgeons des membres inférieurs, associée à des anomalies urogénitales, à une agénésie rénale, à une imperforation anale et à des anomalies vertébrales lombo-sacrées. Exceptionnellement, elle peut s'intégrer dans une séquence VACTERL. Nous présentons trois nouveaux cas associant sirénomélie et VACTERL. La première observation correspond à un fœtus pour lequel une interruption médicale de grossesse (IMG) fut réalisée à 26 semaines d'aménorrhée (SA) en raison d'un syndrome poly malformatif associant un seul membre inférieur, une angulation rachidienne, une agénésie rénale et une malformation cardiaque. L'examen fœtopathologique mettait en évidence un seul membre inférieur anormal, l'absence d'organes génitaux externes, d'anus et de rein, et une artère ombilicale unique, réalisant une sirénomélie. De plus, ce fœtus, de sexe féminin, présentait une fente labiale, une main bote et un ventricule droit à double issue. Les radiographiques montraient des malformations étagées du rachis, des côtes, du pôle caudal et d'une main. La deuxième observation est celle d'un fœtus masculin chez qui l'échographie du premier trimestre a permis de dépister une main bote avec agénésie radiale, une réduction des membres inférieurs à un seul moignon médian et l'absence de rein. L'IMG fut pratiquée à 14 SA. L'autopsie a montré un syndrome poly malformatif associant, non seulement une sirénomélie (membre inférieur unique médian rudimentaire, absence d'organes génitaux externes, d'anus et de rein et artère ombilicale unique), mais aussi une main bote radiale avec hypoplasie du pouce, une atrésie laryngée et œsophagienne avec fistule œso-trachéale et un mésentère commun. Les radiographies, outre les anomalies des membres, objectivaient des malformations rachidiennes thoraciques et lombaires. La troisième observation concerne un fœtus qui présentait, à l'échographie de 17 SA, un oligoamnios, une encéphalocèle, une déformation rachidienne, une malformation cardiaque et rénale et des anomalies des membres. L'IMG fut réalisée à 20 SA. L'autopsie de ce fœtus masculin a mis en évidence une sirénomélie avec agénésie rénale bilatérale et artère ombilicale unique, et aussi des mains botes radiales, une atrésie de l'œsophage, une tétralogie de Fallot, une polysplénie et une encéphalocèle occipitale. Les radiographies montraient des anomalies étendues des vertèbres, du crâne et des membres.

Aucun fœtus ne présentait d'hydrocéphalie et tous avaient un caryotype normal. À partir de ces trois cas, nous discuterons l'origine embryologique de la sirénomélie et de l'association VACTERL, puis nous tenterons de comprendre le lien physiopathogénique entre ces deux affections. La sirénomélie, a priori sporadique, est caractérisée par des anomalies limitées au pôle inférieur de l'embryon. Néanmoins, il peut parfois s'y associer d'autres malformations généralisées et non plus restreintes au pôle caudal : anomalie œso-trachéale, rénale, radiale, cardiaque ou vertébrale étendue. Celles-ci peuvent s'intégrer dans le cadre d'une association VACTERL lorsqu'au moins 3 des signes cardinaux de cet acronyme sont présents. L'association VACTERL est rapportée à une anomalie très précoce du mésoderme. La pathogénie de la sirénomélie est controversée. En raison de l'artère ombilicale unique se jetant à plein canal dans l'aorte abdominale et de l'absence de bifurcation iliaque (constatées dans nos 3 observations), une des hypothèses est celle d'un vol vasculaire. Une autre hypothèse serait la mutation de gènes majeurs du développement tels que TBX19 ou Bmp7, ce dernier intervenant dans la formation du mésoderme.

Mots-clés : sirénomélie, VACTERL, mésoderme.

■P33 / 100. UN TÉRATOME CRÂNIO-FACIAL AYANT ÉTÉ CONSIDÉRÉ COMME UNE HOLOPROSENCÉPHALIE EN ANTÉNATAL

L. Devisme (1), S. Petit (1), P. Charlier (1), O. Boute (2), P. Dufour (3), C. Chaffiotte (4), D. Buob (1), B. Gosselin (1)

(1) Service d'Anatomie Pathologique ; (2) Génétique médicale ; (3) Médecine fœtale ; (4) Radiologie CHRU, Lille

Les tumeurs cérébrales congénitales sont rares et sporadiques. Comme elles sont inhabituelles, leur diagnostic prénatal est difficile. Nous rapportons l'observation d'un tératome cérébral fœtal qui avait été pris à tort à l'échographie pour une holoprosencéphalie. Il s'agissait de la première grossesse d'une femme âgée de 34 ans. L'échographie du second trimestre avait mis en évidence des anomalies cérébrales et une image exophytique de la partie

médiane et haute de la face, considérée comme un proboscis et faisant suspecter une holoprosencéphalie. Une interruption médicale de grossesse fut réalisée au terme de 22 semaines d'aménorrhée et 6 jours. L'examen fœtopathologique montrait un fœtus eutrophique, de sexe féminin.
Il présentait une dysmorphie faciale marquée par un hypertélorisme et un nez élargi, surmonté d'un bourgeon conjonctif de 2 cm. De plus, il existait une fente labiale et palatine, la fente labiale étant associée à une lésion cutanée plane, rougeâtre, de 3 mm. Cette dysmorphie n'entrait pas dans le spectre des anomalies de la face liées à l'holoprosencéphalie. Il n'était pas observé d'autre malformation externe ou viscérale. L'examen de l'encéphale permettait d'objectiver une volumineuse tumeur médiane mesurant 8 × 6 cm, essentiellement solide, de couleur blanc – grisâtre et entraînant un écartement des hémisphères cérébraux. À l'examen microscopique, elle renfermait des éléments issus des trois lignées cellulaires ainsi que de nombreux tubes neuraux primitifs. Les lésions extériorisées de la face ont aussi été analysées. L'appendice nasal s'est avéré être de nature essentiellement ostéo-cartilagineuse et surmonté d'un revêtement cutané. À la radiographie, cette structure était partiellement ossifiée et prenait un aspect digitiforme organoïde. La lésion labiale correspondait à un angiome. Au total, il s'agissait d'un tératome cérébral partiellement extériorisé par la face sur la ligne médiane.
Les étiologies des holoprosencéphalies, qui auraient pu être discutées à partir du diagnostic anténatal, sont nombreuses. Elles diffèrent selon que l'holoprosencéphalie est isolée ou associée à d'autres malformations. Une origine génétique est possible, impliquant plusieurs gènes dont SHH, ZIC2, SIX3 et TGIF. Les tératomes représentent les tumeurs cérébrales de découverte anténatale les plus fréquentes. Ils sont souvent volumineux et de mauvais pronostic. Celui que nous décrivons est, de plus, extériorisé par la face. Leur survenue est accidentelle.
Cette observation illustre la nécessité de l'autopsie fœtale comme contrôle de qualité du diagnostic prénatal dans le cadre des interruptions médicales de grossesse. Le diagnostic final porté à l'autopsie est parfois différent de celui qui avait été évoqué en anténatal, ce qui peut avoir une implication sur le conseil génétique. En effet, le conseil génétique formulé pour une holoprosencéphalie est fondamentalement différent de celui qui est donné pour une tumeur cérébrale congénitale.

Mots-clés : tumeur congénitale, holoprosencéphalie, tératome.

■P34 / 102. DIAGNOSTIC PRÉNATAL D'UNE TRISOMIE 11p PARTIELLE ASSOCIÉE À UNE MONOSOMIE 4q PARTIELLE DE NOVO D'ORIGINE MATERNELLE, CHEZ UN FŒTUS PRÉSENTANT UN RETARD DE CROISSANCE INTRA-UTÉRIN DYSHARMONIEUX

B. Laudier (1), S. Blesson (1), M.P. Moizard (1), C. Paillet (2), F. Perrotin (2)
(1) Service de Génétique, CHRU de Tours ; (2) Unité de Médecine Fœtale, CHRU de Tours

Le retard de croissance intra-utérin (RCIU) touche, par définition, 5 % des grossesses et pose parfois de difficiles problèmes de diagnostic étiologique. Classiquement, on distingue selon des critères échographiques, deux types de RCIU (harmonieux et dysharmonieux), selon l'atteinte ou non des paramètres biométriques céphaliques. Si une anomalie chromosomique est souvent suspectée dans le RCIU harmonieux, elle est rarement évoquée dans le second type, en raison de l'origine placentaire fréquente du RCIU dysharmonieux. Nous rapportons l'observation d'un fœtus présentant un retard de croissance intra-utérin dysharmonieux isolé, pour lequel le diagnostic prénatal a mis en évidence l'existence d'une anomalie chromosomique de novo. Grâce à des techniques de cytogénétique conventionnelle et moléculaire, le remaniement chromosomique a été caractérisé par l'association d'une trisomie partielle du bras court du chromosome 11 et d'une monosomie partielle du bras long du chromosome 4 [46,XX, der(4)t(4 ;11)(q35 ; p12)].
Par l'utilisation de microsatellites, nous savons que ce remaniement chromosomique est survenu au cours de la gamétogenèse maternelle. Si le phénotype des duplications 11p15 d'origine paternelle est bien connu (il s'agit de l'une des étiologies du syndrome de Beckwith-Wiedemann), en revanche celui des duplications 11p15 d'origine maternelle l'est beaucoup moins.
À partir de notre observation et des très rares cas décrits dans la littérature, nous tenterons d'établir le phénotype clinique d'une duplication 11p15 d'origine maternelle et de discuter l'hypothèse moléculaire.

Mots-clés : RCIU, diagnostic prénatal, duplication 11p15 maternelle.

■P35 / 137. UTILISATION DU MODÈLE DROSOPHILE DANS L'ÉTUDE DE LA MALADIE DE HUNTINGTON

F. Maschat (1), B. Mugat (2), M.L. Parmentier (3)
CNRS, Montpellier

La maladie d'Huntington (syndrome de Chorée) est caractérisée par des mouvements désordonnés qui résultent de l'expansion de triplets CAG au sein du gène huntingtin (htt), ce qui aura pour effet de produire des extensions de polyQ dans la protéine Htt, qui quand elles sont supérieures à 35, provoquent une agrégation de la protéine mutante. Ces agrégats conduiront à la dégénérescence de neurones spécifiques au niveau du striatum et du cortex cérébral. Des modèles animaux de cette maladie ont été créés. En particulier, l'expression de l'exon 1 humain du gène de l'htt mutant (avec des extensions de polyQ>35), induit chez la Drosophile des phénotypes similaires à celui de la maladie d'Huntington (HD) chez l'homme. Des agrégats sont en effet retrouvés dans les photorécepteurs, ce qui conduit à leur dégénérescence. Ces agrégats de Htt mutante se retrouvent également dans des tissus d'origine non neuronale comme les muscles, les glandes salivaires ou les disques d'aile. Nous avons pu identifier que le gène Drosophile de l'htt était une cible directement régulée par le facteur de transcription *Engrailed*. Nous avons dans un premier temps pu montrer que le niveau d'expression de l'Htt sauvage par rapport à la protéine mutante était crucial dans la mise en place des symptômes de la maladie (agrégation et neurodégénerescence), suggérant que l'activation de la fonction sauvage de l'Htt pourrait être une stratégie de thérapie. L'activation de l'Htt sauvage n'est pas capable de sauver une pathologie plus générale induite par les extensions des polyQ, qui est impliquée dans plusieurs maladies neurodégénératives, suggérant une spécificité des interactions.
De façon intéressante, nous avons plusieurs données génétiques indiquant que l'Htt Drosophile possède des propriétés biologiques similaires à la protéine humaine. Finalement, la surexpression de la protéine Engrailed a pour effet d'inhiber la formation d'agrégats induits par l'Htt mutante, suggérant des interactions entre Engrailed et Htt. Notre hypothèse de travail est que Engrailed va activer l'htt endogène Drosophile, ce qui aura pour effet de compenser les effets de la protéine humaine mutante polyQ-Htt. Cette hypothèse est actuellement testée génétiquement et moléculairement. L'analyse des interactions entre Engrailed et Htt a d'autre part permis d'identifier une nouvelle fonction de l'Htt dans le transport nucléo-cytoplasmique. Cette fonction jusque-là inconnue de l'Htt est actuellement an cours d'étude. L'étude de cette maladie humaine dans l'organisme modèle qu'est la Drosophile devrait permettre de comprendre certains des mécanismes moléculaires conduisant au phénotype de l'HD et de développer des thérapies efficaces.

Mots-clés : Huntington, transcription, développement.

■P36 / 140. ÉTUDE GÉNÉTIQUE DE LA SIRÉNOMÉLIE, EXCLUSION DE GÈNES MAJEURS DU DÉVELOPPEMENT (HLXB9, SHH, PATCHED...)

M. Gérard-Blanluet (1), A. Bourillon (2), M. Sinico (3), C. Touboul (4), T. Costa (5), Y. Roumazeilles (6), B. Haddad (4), J.M. Levaillant (4), A. Boutron (7), A. Bazin (8), J. Martinovic (8), F. Encha-Razavi (3), Verloes A. (1), B. Gerard (2)
(1) Génétique, Robert Debré, France ; (2) Biologie Moléculaire, Hôpital Bichat-Claude-Bernard, Paris, France ; (3) Fœtopathologie, CHIC, Créteil, France ; (4) Obstétrique, CHIC, Créteil, France ; (5) Medical Genetics Service, Sainte-Justine Hospital, Montreal, Canada ; (6) Website designer, Paris, France ; (7) Banque de Cellules, Kremlin-Bicêtre, France ; (8) Fœtopathologie, Pasteur-CERBA, Pontoise, France

La sirénomélie est une malformation rare et létale, caractérisée par la non disjonction des deux membres inférieurs, avec association à des anomalies génito-urinaires. La sirénomélie est classiquement sporadique, et les jumeaux monozygotes sont fréquemment discordants pour cette malformation (Stocker, 1987). Néanmoins, il existe des arguments forts pour envisager une cause génétique à la survenue d'une sirénomélie, (i) certaines publications retrouvent des cas familiaux avec récurrence de sirénomélie (Rudd *et al.*, 1990), des jumeaux monozygotes concordants ont été rapportés (Roberge, 1966), (ii) la présence d'anomalies mineures comme une imperforation anale, des anomalies sacrées ou des vertèbres lombaires, des malformations rénales dans la fratrie d'enfants porteur de sirénomélie (Rudd *et al.*, 1990 ; Selig *et al.*, 1993 ; Akbiyik *et al.*, 2000, T. Costa, communication personnelle) (iii) La souche de souris srn retrouve jusqu'à 12 % de récurrence de sirénomélies dans la descendance du croisement srn x srn (Orr *et al.*, 1982), (iv) la survenue de sirénomélie chez la souris en cas de croisements de souches de souris hétérozygotes pour les mutations Brachyury (gène du complexe T), Fused, t^{o} et u (urogenital), avec probablement la présence d'hétérozygotes composites (Gluecksohn and Dunn, 1942). Ainsi, la sirénomélie pourrait être considérée comme étant une pathologie génétique complexe, associant potentiellement une mutation héritée dans l'un des gènes majeurs de la détermination du mésoderme caudal, et une mutation additionnelle somatique, soit du même gène, soit plus probablement d'un autre locus (hypothèse d'une atteinte

multiloculaire). Nous rapportons ici la première étude génétique dans la sirénomélie, sur plusieurs échantillons issus de sirénomélies classiques, avec étude des gènes HLXB9 (responsable de la triade de Currarino), SHH et PTCH. Une extension de l'étude est en cours, avec étude du gène Brachyury et du récepteur à l'acide rétinoïque CYP26A1. Une étude collaborative est proposée pour collecter des informations cliniques dans des cas de sirénomélie classique et collecter des prélèvements d'ADN pour participer à cette étude génétique (Site Web : www.sirenomelia.org).

Mots-clés : sirénomélie, malformations fœtales, multigénisme.

■P37 / 151. DÉVELOPPEMENT D'UN MODÈLE MURIN DE LA MALADIE DE GÜNTHER

Cécile Ged (1), Élodie Robert (1), Magalie Lalanne (1), I. Lamrissi-Garcia (1), P. Costet (2), J.Y. Daniel (2, 3), P. Dubus (4), Frédéric Mazurier (1), François Moreau-Gaudry (1), Hubert de Verneuil (1)
(1) INSERM E217 ; (2) Animalerie Transgénique, Service Commun ; (3) Laboratoire de Biologie du Développement et de la Différenciation ; (4) EA 2406 Histologie et Pathologie Moléculaire, Université Victor-Segalen, Bordeaux 2, 146, rue Léo-Saignat, 33076 Bordeaux Cedex, France

La porphyrie érythropoïétique congénitale (maladie de Günther ou PEC) est une forme sévère et rare de porphyrie érythropoïétique transmise sur le mode autosomique récessif. La PEC est caractérisée par un déficit en uroporphyrinogène III synthase (UROS) enzyme qui catalyse la 4e étape de la biosynthèse de l'hème. La sévérité de la maladie, l'absence de traitement étiologique efficace, à l'exception de la greffe médullaire, et la connaissance précise des anomalies moléculaires en cause sont des arguments de poids en faveur d'une thérapie génique. Nous avions montré précédemment que l'invalidation du gène *UROS* est létale chez la souris (modèle knock-out, KO UROSdel). Ce travail décrit l'obtention d'un modèle knock-in (KI UROSmut) qui reproduit une mutation du gène *UROS* responsable d'un déficit enzymatique sévère chez l'homme (mutation faux-sens P248Q). Les souris homozygotes présentent une érythrodontie, une photosensibilité modérée, une hépatosplénomégalie et une anémie hémolytique. L'analyse biochimique met en évidence une accumulation urinaire d'uroporphyrine (99 % d'isomères de type I), une augmentation des porphyrines totales érythrocytaires et fécales et une activité enzymatique UROS effondrée dans les différents tissus analysés. Ces éléments pathologiques reproduisent fidèlement la maladie humaine et permettent de proposer ce modèle animal pour les études physiopathologiques, pharmacologiques et les essais thérapeutiques dans le cadre de la thérapie génique en particulier.

Mots-clés : porphyries, maladie de Günther modèle animal, recombinaison homologue, transgenèse, transfert de gène.

■P38 / 154. DIAGNOSTIC PRÉNATAL D'UNE MICRODUPLICATION 22q11.2

C. de La Rochebrochard (1, 2), A. Goldenberg (2), I. Durand (3), A. Laquerrière (4), V. Ickowicz (5), P. Saugier-Veber (2), D. Eurin (5), H. Moirot (1, 2), A. Diguet (5), F. de Kergal (4), C. Tiercin (1), S. Férenbach (2), B. Mace (1), G. Joly-Hélas (1, 2), T. Frebourg (2)
(1) Laboratoire de Cytogénétique ; (2) Service de Génétique ; (3) Service de Cardiopédiatrie ; (4) Service d'Anatomopathologie ; (5) Service de Gynécologie-Obstétrique, CHU de Rouen

La microduplication 22q11.2 est un syndrome rare récemment décrit chez des patients présentant une cardiopathie, un retard psychomoteur variable et une dysmorphie faciale évocatrice. Nous rapportons le cas d'une patiente de 23 ans, adressée à 23 semaines d'aménorrhée dans le cadre de la découverte d'une cardiopathie fœtale sévère et complexe. Devant le caractère létal de la cardiopathie, les parents ont choisi d'interrompre cette grossesse à 24 SA. Le caryotype standard sur sang fœtal était normal. Bien que la cardiopathie n'appartienne pas au spectre conotroncal, une hybridation fluorescente in situ (FISH) a été réalisée avec la sonde spécifique du syndrome de DiGeorge (DGS) et a révélé la présence de trois signaux TUPLE 1 dans 70 noyaux interphasiques sur 103. Une QMPSF (Quantitative Multiplex PCR of Short Fluorescent Fragments), spécifique de la région 22q11.2, a démontré l'existence d'une duplication de 3 Mb chez le fœtus. L'examen fœtopathologique a confirmé chez ce fœtus féminin eutrophe la cardiopathie complexe (oreillette unique, retour pulmonaire veineux anormal (RVPA), ventricule gauche hypoplasique, transposition des gros vaisseaux et communication interventriculaire). Il a mis en évidence l'existence d'une anomalie de latéralisation avec hétérotaxie thoracique et situs inversus abdominal complet ainsi que quelques signes dysmorphiques faciaux particuliers (sourcils haut placés, fentes palpébrales orientées en bas et en dehors, philtrum long, micrognathisme et oreilles dysplasiques). L'analyse cytogénétique et moléculaire des parents a révélé que le père était porteur de la même duplication 22q11.2 de 3 Mb. Fait remarquable, il ne présente aucune malformation cardiaque, ni dysmorphie faciale, ni retard mental. Les parents ont alors demandé un conseil génétique dans le cadre d'une quatrième grossesse. Devant la grande variabilité phénotypique associée à la duplication 22q11.2, il a été décidé d'un suivi échographique rapproché, particulièrement cardiaque, associé à la recherche anténatale de la duplication. Le fœtus présente la même duplication 22q11.2 familiale sans anomalie échographique détectable à ce jour (33 SA).
À notre connaissance, il s'agit du premier cas de diagnostic anténatal de duplication 22q11.2. Notre famille illustre à nouveau la grande variabilité phénotypique associée à la duplication 22q11.2, tant pour la dysmorphie faciale et le syndrome malformatif que pour le retard mental. Notre observation souligne le large spectre des cardiopathies associées à ce syndrome et suggère que ce spectre inclut le RVPA qui est une cardiopathie rare, mais typique du syndrome Cat-Eye associé à une tétrasomie partielle 22q11.2. Notre observation confirme la nécessité d'analyser systématiquement les noyaux interphasiques lors de la réalisation d'une FISH locus-spécifique et démontre la validité de la QMPSF pour détecter et cartographier ces remaniements génomiques. La variabilité clinique et les difficultés de diagnostic cytogénétique suggèrent que ce syndrome est largement sous diagnostiqué.

Mots-clés : microduplication 22q11.2, cardiopathie congénitale, FISH et QMPSF.

■P39 / 164. IDENTIFICATION PAR CRIBLE GÉNÉTIQUE DANS LA DROSOPHILE DE MODULATEURS DE LA NEUROTOXICITÉ DE LA PROTÉINE TAU

J. Bou, B. Chaumette, O. Blard, D. Campion, T. Frébourg, M. Lecourtois
Inserm U614, Faculté de Médecine, 22, boulevard Gambetta, 76183 Rouen

Les tauopathies regroupent plus de 20 pathologies neurodégénératives caractérisées histologiquement par la présence de dégénérescences neurofibrillaires (DNF). Les DNF correspondent à l'accumulation intraneuronale de filaments hélicoïdaux constitués essentiellement de protéine tau anormalement phosphorylée qui s'agrège. Les tauopathies primaires, telles les démences fronto-temporales, résultent de mutations du gène tau, alors que les tauopathies secondaires, telles la maladie d'Alzheimer, se caractérisent par des modifications post-traductionnelles de la protéine tau. Dans le but d'appréhender les mécanismes moléculaires de la mort neuronale dans les tauopathies, nous avons utilisé la Drosophile comme modèle, car l'expression de la protéine tau humaine dans le cerveau de la drosophile permet de récapituler certaines caractéristiques des tauopathies humaines, avec notamment une neurodégénérescence progressive et une mort précoce. La puissance de ce phénotype nous a permis de réaliser un crible génétique visant à identifier des modulateurs de ce phénotype. Le crible, que nous avons réalisé, repose sur le système binaire Gal4/UAS qui permet de déréguler spécifiquement des gènes spatialement et temporellement. Des mouches (GMR-Gal4 ; pUAST-tau), exprimant la protéine tau humaine dans leurs photorécepteurs, ont été croisées avec des lignées pUAST portant chacune, inséré au hasard dans leur génome, un élément transposable contenant des séquences de fixation pour le facteur de transcription Gal4. Si le transposon P est inséré au voisinage d'un gène, l'expression de celui-ci devient alors également inductible par Gal4. Nous avons testé 1 223 lignées pUAST et trouvé pour 75 de ces lignées une interaction génétique avec tau. Nous avons d'ores et déjà pu identifier le site d'intégration du transposon P pour 50 d'entre elles. En accord avec la fonction microtubulaire de tau, nous avons pu identifier, parmi les interacteurs, plusieurs gènes codant des éléments du cytosquelette. Ce crible génétique nous a également permis d'identifier, comme autres interacteurs, des facteurs impliqués dans le transport axonal, dans l'axonogenèse ou dans la synaptogenèse. La validation génétique de ces interacteurs génétiques est en cours. L'identification d'interacteurs devrait permettre une meilleure compréhension de la physiopathologie de ces maladies, faciliter l'identification de facteurs de risque génétiques et de gènes modificateurs et éventuellement de cibles thérapeutiques.

Mots-clés : Alzheimer, tau, drosophile.

■P40 / 200. MALADIES FAMILIALES RÉVÉLÉES PAR UNE ANOMALIE DU FŒTUS

R. Robyr (1), Y. Ville (1), J. Selva (2), J. Roume (2)
(1) Service de Gynéco, Obstétrique ; (2) Unité de Génétique Clinique CHI Poissy, Université VSQ Paris Ouest

Introduction : La reconnaissance d'une pathologie chez un fœtus peut conduire au diagnostic de la même affection chez un de ses apparentés, jusque là méconnue car paucisymptomatique ou d'expression différente ou encore non soupçonnée dans son caractère transmissible. Le but de notre étude est d'illustrer cette démarche par l'analyse d'une casuistique anténatale dans laquelle la découverte d'une anomalie fœtale suivie d'une consultation de génétique clinique a permis de révéler ou de d'étiqueter une affection familiale jusque là ignorée.

Matériel et méthodes : Il s'agit d'une étude rétrospective dans laquelle sont inclues toutes les familles dans lesquelles le dépistage d'une anomalie fœtale a conduit au même diagnostic chez l'un des parents dans une forme paucisymptomatique ou variable et jusque là ignorée. La découverte d'une translocation chromosomique à l'état équilibré chez l'un des parents à partir de signes d'appel fœtal ayant dépisté une transmission de celle ci à l'état déséquilibré, à été exclue.
Résultats : 22 couples ont été inclus. Les anomalies fœtales rencontrées ont été : fente labio-palatine (n = 4), cardiopathies congénitales (n = 2), anomalies cérébrales (n = 3), pieds bots bilatéraux avec hydramnios (n = 1) ou séquence d'immobilisme fœtal (n = 3) ou avec camptodactylie (n = 1), hygroma cervical isolé (n = 1), clarté nucale (N = 1), micromélie sévère (N = 3), polydactylie post axiale (N = 2), extension limitée des coudes (N = 1). L'anamnèse, l'examen clinique des parents, aidés parfois d'autres examens complémentaires (radiographies, échographies, biologie moléculaire, photos), l'enquête familiale ainsi que la consultation de bases de données en dysmorphologie ont permis à chaque fois d'établir le diagnostic précis de l'affection familiale en cause et son mode de transmission.
– Une pathologie d'origine maternelle a été révélée dans la moitié des cas : Dystrophie myotonique de Steinert (3), Séquence di George (1), hypoplasie du cervelet récessive liée à l'X (1), Sténose de l'aqueduc de Sylvius dans une forme dominante (1), Syndrome de pterygium antecubital (1), amyotrophie spinale dominante (1), syndrome de Waardenburg (1), Syndrome CHARGE (1), syndrome de Greig (1).
– Une pathologie d'origine paternelle a été révélée dans l'autre moitié des cas : Syndrome de Noonan – like (1), Syndrome de Klippel – Feil (1), Syndrome de Goldenhar (1), arthrogrypose distale dominante (1), ostéogénèse imparfaite dans une forme létale avec probable mosaïcisme somatique et germinal (3), sclérose tubéreuse de Bourneville (1), transposition des gros vaisseaux (1), spectre holoprosencéphalie (1), dysostose acro faciale type de Weyers (1).
– Les couples ont été informés que l'anomalie portée par le fœtus relevait d'une pathologie transmise par l'un des parents : 13/22 couples ont souhaité poursuivre la grossesse, 9/22 ont souhaité l'interrompre médicalement en raison de la plus grande sévérité de l'atteinte fœtale.
Conclusion : Le fœtus peut avoir un rôle crucial dans le mode de révélation d'une pathologie familiale non repérée en raison de son caractère paucisymptomatique ou encore non étiquetée ou encore dont le caractère transmissible, le plus souvent autosomique dominant à expressivité variable, était méconnu jusque là. L'examen des parents par un généticien clinicien doit être proposé chaque fois qu'une pathologie fœtale mal comprise est dépistée ; aidée de l'enquête familiale et du conseil génétique, cette consultation permet souvent de réduire l'anxiété du couple sur une pathologie fœtale héritée et de même pronostic, elle aide au contraire à informer le couple sur la sévérité du pronostic fœtal d'une affection transmise selon un mode d'expression plus sévère.

Mots-clés : diagnostic antenatal, conseil génétique, maladies familiales.

■P41 / 205. UN LOCUS EN 6q25.3, DANS UN INTERVALLE DE 0,3 Mb POURRAIT ÊTRE ASSOCIÉ À UNE MALFORMATION ANORECTALE

Titomanlio L. (1, 2), Giurgea I. (3), Baumann C. (2), Elmaleh M. (4), Sachs P. (1), Chalard F. (4), Dupuy O. (5), Verloes A. (3)
(1) Départements de Neuropédiatrie ; (2) de Génétique ; (4) et d'Imagerie Médicale, CHU Robert-Debré, Paris ; (3) Service de biochimie et génétique, INSERM 654, Hôpital Henri-Mondor, Créteil, France

L'agénésie partielle du sacrum est une malformation rare, qui peut se transmettre sur un mode AD, alors que les malformations anorectales (MAR) sont le plus souvent sporadiques, ou surviennent dans un contexte polymalformatif. Nous décrivons une fillette née de parents en bonne santé, consanguins (f = 1/64). La patiente a été admise dans une unité de soins intensifs, à la naissance, pour prise en charge et traitement chirurgical d'une MAR (IA avec fistule). Le bilan malformatif retrouve une agénésie du sacrum avec une moëlle attachée. La patiente est dysmorphique : front haut, epicanthus, FP obliques en bas et en dehors, hypertélorisme, effacement de la racine du nez. L'IRM révèle une dysplasie bioperculaire bilatérale, associée à une pachygyrie droite. Le développement est légèrement retardé. L'examen ophtalmologique démontre une microphtalmie (diamètre oculaire < 20 mm) et des microcornées. Une délétion cryptique 6q (6q25-qter) pure, suvenue de novo, est mise en évidence. Cette anomalie n'est pas associée à un phénotype reconnaissable dans la littérature Le génotypage confirme une perte d'allèle maternels pour D6S1581, D6S264, D6S446. La délétion 6q est associée aux MAR et aux anomalies sacrées. En comparant notre patiente avec les autre cas de del 6q, nous délimitons une région interstitielle de 0,3 Mb qui semble associée aux MAR. Nous émettons l'hypothèse d'un gène localisé dans l'intervalle critique, dont l'haploinsuffisance interfère avec le développement de la région caudale de l'embryon, peut-être en interférant avec le développement de la notochorde.

Mots-clés : malformation anorectale, cartographie, délétion 6q.

■P42 / 212. MICROCÉPHALIE AVEC GYRATION SIMPLIFIÉE. IMPORTANCE DE L'EXAMEN NEUROPATHOLOGIQUE DANS LE DIAGNOSTIC MOLÉCULAIRE. À PROPOS DE 14 OBSERVATIONS ANATOMOCLINIQUES

C. Fallet-Bianco (1), F. Francis (2), C. Daumas-Duport (1)
(1) Service de Neuropathologie, Centre Hospitalier Sainte-Anne, Paris ; (2) Département de Génétique moléculaire, Développement et Pathologie moléculaire INSERM U567 Institut Cochin, Paris

La microcéphalie avec gyration simplifiée (MGS) est une entité qui se caractérise par une micrencéphalie isolée avec un nombre réduit de sillons et circonvolutions à début prénatal et par un tableau neurologique d'emblée très péjoratif. Elle fut initialement individualisée chez le nouveau-né sur des critères cliniques et radiologiques, dans des populations où la consanguinité est fréquente, avec plus d'un cas atteint dans la fratrie suggérant une hérédité autosomique récessive. Les données neuroanatomiques sont très rares. À ce jour, aucun gène n'est identifié. Nous rapportons la première série de 14 observations anatomocliniques de MGS comportant 4 nouveaux-nés à terme décédés entre J3 et J14 et 10 fœtus de 26 à 38 semaines examinés après un diagnostic prénatal. 5/14 cas, possédaient des antécédents familiaux et 1 fœtus présentait une forme déséquilibrée de translocation transmise par le père. Dans tous les cas le bilan étiologique était négatif. Les 4 nouveau-nés présentaient un tableau neurologique sévère avec épilepsie grave pharmacorésistante conduisant au décès prématuré. Un diagnostic prénatal était réalisé dans 10 cas, presque toujours tardif au cours du 3e trimestre. Tous les sujets présentaient une microcéphalie à début prénatal, isolée. Les données neuropathologiques étaient identiques dans tous les cas. Le poids du cerveau était d'environ la moitié du poids normal pour l'âge. Le nombre réduit de sillons et circonvolutions réalisait un aspect de « gyration simplifiée » très différent de celui d'une pachygyrie. La réduction du volume cérébral était essentiellement due à une diminution du volume du manteau, les autres structures cérébrales ne montrant aucune anomalie significative. Le cortex, d'épaisseur régulière, ne montrait pas d'anomalie de la lamination, mais les neurones étaient nettement immatures pour l'âge. Les zones germinatives avaient une taille réduite de façon d'autant plus évidente que le sujet était plus jeune et, dans certains cas, contenaient des kystes. Des neurones hétérotopiques en nombre élevé étaient identifiés dans la substance blanche hémisphérique. Les études rapportées dans la littérature montrent que la MGS, comme la microcephalia vera, se caractérise par un défaut sévère du développement du manteau, sans modification de l'épaisseur du cortex, ni anomalie des structures cérébrales sous-corticales. Elle s'en distingue par la sévérité de son pronostic et l'aspect simplifié de la gyration. Les bases moléculaires de la microcephalia vera commencent à être élucidées avec l'identification de 4 gènes tous impliqués dans le contrôle de la prolifération des progéniteurs corticaux. Notre étude neuropathologique confirme la diminution de la neuronogenèse corticale, n'affectant pas la mise en place de la cytoarchitectonie et montre un épuisement prématuré de la zone germinative parfois associé à des kystes évocateurs d'une destruction anormale des progéniteurs télencéphaliques. Des travaux récents ont démontré le rôle d'une voie de signalisation impliquant ephrin A7 dans le contrôle de la mort cellulaire programmée concernant spécifiquement les progéniteurs corticaux. Celle-ci joue un rôle important dans le contrôle du développement normal du cortex dont le volume final résulte d'un équilibre entre les taux de prolifération et d'apoptose dans la zone ventriculaire embryonnaire. La diminution de la population neuronale responsable de la MGS pourrait résulter soit d'une diminution de la prolifération des progéniteurs, soit d'une diminution de leur survie dans la zone ventriculaire, suggérant la possibilité de loci communs avec la microcephalia vera ou le rôle de molécules intervenant dans des voies de signalisation impliquées dans le contrôle de l'apoptose des progéniteurs corticaux. Cette étude démontre l'importance d'une étude neuropathologique détaillée combiné à des études génétiques pour la compréhension de la pathogénie des microcéphalies primitives et l'orientation vers l'identification de gènes candidats.

Mots-clés : microcéphalie-gyration simplifiée, neuropathologie, biologie moléculaire.

■P43 / 229. PLACE DE LA RECHERCHE DE RÉARRANGEMENTS DU GÈNE CFTR DANS LE DIAGNOSTIC DE MUCOVISCIDOSE CHEZ LES FŒTUS SUR SIGNES D'APPEL ÉCHOGRAPHIQUES

C. Costa (1), M. Legendre (1), F. Niel (1), J. Martin (1), J.-M. Jouannic (2), J. Vigneron (3), Delphine Feldmann (4), M. Goossens (1), E. Girodon (1)

(1) Service de biochimie-génétique, Hopital Henri-Mondor, APHP, Creteil, France ; (2) Service de diagnostic antenatal, Hopital Rothschild, APHP, Paris, France ; (3) Unité de génétique, Maternite Pinard, Nancy, France ; (4) Service de Biochimie, Hôpital Trousseau, APHP, Paris, France

L'expression clinique de la mucoviscidose est très variable dans le type d'atteinte et l'âge au diagnostic. La maladie peut se révéler avant la naissance, les anomalies les plus évocatrices étant une hyperéchogénicité intestinale, des images de dilatation intestinale évocatrices d'une obstruction digestive et l'absence de vésicule biliaire. Le risque de mucoviscidose, globalement de 3 % en cas d'anomalie digestive fœtale, motive la recherche de mutations du gène CFTR. Lorsqu'une mutation fréquente est identifiée, ce risque passe à 13 % (Muller *et al. Am J Med Genet* 2002) et justifie une étude approfondie, reposant sur l'analyse séquentielle des 27 exons et la recherche de grands réarrangements selon une méthode de PCR multiplex semi-quantitative. Un tel test, récemment mis au point dans le laboratoire, nous a permis d'identifier 20 % des « allèles inconnus » responsables de mucoviscidose, correspondant à des délétions, insertions ou duplications (Niel *et al. J Med Genet* 2004).
Nous rapportons ici deux cas de suspicion de mucoviscidose chez des fœtus devant la présence d'anomalies digestives multiples, pour lesquels une mutation fréquente était présente à l'état hétérozygote, et qui ont pu être confirmés grâce à l'utilisation du test de PCR quantitative. La sensibilité de ce test à détecter, outre les grands réarrangements, des microinsertions/délétions d'une seule paire de base, ainsi que sa rapidité, en font un test de deuxième intention dans la stratégie d'examens à mettre en œuvre dans les situations d'urgence.

Mots-clés : mucoviscidose, diagnostic prénatal, CFTR.

■P44 / 242. DÉPISTAGE DE LA TRISOMIE 21 FŒTALE PAR SPECTROMÉTRIE DE MASSE DU SANG MATERNEL

N. Leporrier (1), P. Y. Simonin (2), M. Herrou (1), J. F. Cornuel (2), S. Seyler (2), J. Gaignard (2), S. Feldblum (2)
(1) Département Génétique et Reproduction, CHU Caen, France ; (2) NEUROLAB, Paris, France

Le dépistage prénatal de la trisomie 21 est actuellement basé sur un calcul de risque tenant compte de l'âge maternel combiné à 3, 4 ou 7 marqueurs sériques du premier et/ou du second trimestre, avec ou non la mesure échographique de la clarté nucale. Il permet, selon le nombre de marqueurs explorés, la détection de 70 à 90 % des trisomies 21 au prix respectivement de 5 % à 2 % de grossesses étudiées par amniocentèse dont 95 à 98 % seront normales sans trisomie 21. L'objectif de l'étude présente a été de développer une méthode de détection plus spécifique, plus sensible et moins invasive, basée sur l'identification par spectrométrie de masse de profil(s) protéique(s) caractéristique(s), à partir du sérum maternel. 90 sérums de femmes enceintes de 14 à 20 semaines ont été étudiés (36 avec fœtus trisomiques 21 et 54 avec fœtus normaux). Parmi ceux-ci 34 provenaient d'une sérothèque (– 20 °C) et 56 (exploratoires) ont été aliquotés, congelés à – 80 °C le plus rapidement possible et stockés à cette température. Ces sérums sont soumis à différents modes de chromatographie par rétention de surface avant d'être analysés par spectrométrie de masse (Maldi-Tof, Seldi-Tof). Au total 563 échantillons ont été testés et plusieurs profils caractéristiques ont été visualisés. Après annotation manuelle et/ou semi-automatique des pics et clusterisation, les données : Masse moléculaire (MW), Signal sur bruit (S/N), rapport Masse sur Charge (M/Z) et Résolution ont été exportées puis analysées selon une méthodologie statistique validée (Analyse Roc). Chaque paramètre (pic) présent dans les spectres a été étudié de façon indépendante. Les indices diagnostiques, calculés à partir du rapport signal/bruit [Sensibilité (Se), Spécificité (Sp), Valeur prédictive positive (PPV), Valeur prédictive négative (NPV), Rapport de vraisemblance (likelihood ratio) (LR+ LR-) et Pourcentage de bien classés (CC) tenant compte du coût de mauvaise classification (MCT)] ont permis la sélection et l'évaluation de plusieurs marqueurs d'intérêt. L'absence de corrélation entre ces marqueurs, comme avec les marqueurs traditionnels de la trisomie 21, a été vérifiée.
Parmi plus de trente conditions de séparation étudiées avec des effectifs variant de N = 33 à N = 22, 8 marqueurs spécifiques et 4 marqueurs sensibles ont ainsi pu être répertoriés avec un taux de bon classement supérieur à 90 %. Plusieurs pics d'intérêt et profils caractéristiques séparent correctement les grossesses avec trisomie 21 des contrôles, permettant d'atteindre pour l'un d'entre eux (MW : 6418.60 Da), 100 % de spécificité, 82 % de sensibilité et 91 % de bien classés avec un effectif test de N = 22. Certains de ces marqueurs sont déjà identifiés, d'autres sont en cours d'identification.
Une étude intermédiaire est en cours et ces résultats, s'ils se confirment par une étude prospective à large échelle, permettront d'escompter d'une part une amélioration de la détection de la trisomie 21 d'autre part une réduction du nombre d'amniocentèses nécessaires de 40 000 annuelles en France avec les techniques actuelles de calcul de risque à moins de 1 000. Travail co-financé par le Conseil Régional de Basse Normandie, le CHU de Caen et Neurolab.

Mots-clés : dépistage trisomie 21, spectrométrie de masse, sang maternel.

■P45 / 246. RÉARRANGEMENT CHROMOSOMIQUE COMPLEXE INTÉRESSANT LES CHROMOSOMES 3, 8, 9 et 14 CHEZ UN ENFANT PRÉSENTANT UNE TÉTRALOGIE DE FALLOT : IMPLICATION DE LA RÉGION 8p ?

M.L. Maurin, M.C. Waill, C. Estrade, S. Chevalier, D. Sanlaville, M. Vekemans, N. Morichon-Delvallez
Service de cytogénétique, CHU Necker, EM, Paris, APHP

Une patiente de 38 ans nous est adressée au terme de 36SA pour étude cytogénétique après diagnostic échographique d'une tétralogie de Fallot. Les parents ne sont pas apparentés et ont un premier enfant en bonne santé. La maman a fait 2 fausses couches.
La recherche, sur noyaux interphasiques, d'une aneuploïdie pour les chromosomes 13, 18, 21 et d'une délétion du chromosome 22 est négative. Le caryotype métaphasique obtenu après la naissance prématurée de l'enfant montre un remaniement complexe intéressant 4 chromosomes. L'hybridation in situ fluorescente avec des sondes de peinture chromosomique, des sondes télomériques et une sonde spécifique du locus du gène GATA4, montre qu'il existe une translocation apparemment équilibrée (8;14) et une insertion inversée (9;3).
La formule chromosomique de l'enfant est : 46,XY,ins(9;3)(q31;p26.1 p12.1),t(8;14)(p22;q12). Le caryotype de la maman est normal, celui du papa n'a pas pu encore être réalisé. Le gène GATA4, situé en 8p23.1, est le gène candidat pour expliquer les anomalies cardiaques observées dans les délétions 8p. Il n'est pas délété dans notre observation et est situé sur le der (14) : nous discuterons une association fortuite, un effet de position ou l'implication d'un autre gène que GATA4 dans la genèse de la téralogie de Fallot.

Mots-clés : tétralogie de Fallot, gène GATA4, remaniement chromosomique complexe.

■P46 / 247. DYSTROPHIE NEUROAXONALE À DÉBUT PRÉNATAL : UNE CAUSE INHABITUELLE D'AKINÉSIE FŒTALE. 2 OBSERVATIONS ANATOMO-CLINIQUES

C. Fallet-Bianco (1), M.J. Pérez (2), M.T. Yacoubi (3), C. Daumas-Duport (1)
(1) Service de Neuropathologie, Centre Hospitalier Sainte-Anne, Paris ; (2) Service d'Anatomie Pathologique, CHU de Poitiers ; (3) Service d'Anatomie Pathologique, CHU Faraht Hached Sousse, Tunisie

Les dystrophies neuroaxonales (DNA) constituent un groupe d'affections neurodégénératives rares, sporadiques ou familiales, d'étiologie inconnue, qui se caractérisent par des altérations diffuses des axones dans le système nerveux central et périphérique, sous forme de gonflements axonaux ou « sphéroïdes ». Différents types de DNA ont été décrits en fonction de l'âge d'apparition des symptômes, du mode évolutif, de la topographie des lésions et des lésions associées. La DNA Infantile de Seitelberger se caractérise typiquement par un arrêt des acquisitions entre 6 et 14 mois après un développement normal durant les premiers mois de vie. Une détérioration psychomotrice s'installe progressivement et aboutit au décès moins de 10 ans après les premières manifestations cliniques. D'exceptionnels cas néonataux à début prénatal ont été décrits dans la littérature, mais aucun cas fœtal.
Nous rapportons 2 observations anatomo-cliniques concernant des fœtus chez lesquels fût fait un diagnostic prénatal d'immobilité fœtale au deuxième trimestre respectivement à 21 et 26 semaines de gestation. Chacun de ces deux fœtus non apparentés était issu d'un couple consanguin originaire du Maghreb. Tous deux présentaient une séquence d'akinésie fœtale beaucoup plus sévère chez le premier où elle s'associait à une hydrocéphalie et était probablement d'apparition plus précoce du fait de la présence de ptérygia. L'examen neuropathologique montrait dans les deux cas, des lésions du système nerveux central et périphérique consistant en des structures globuleuses de taille variable dont les caractéres immunohistochimiques confirmaient la nature axonale. Dans le premier cas, les lésions cérébrales étaient sévères : de très nombreux « sphéroïdes » axonaux diffus à l'ensemble des structures cérébrales s'associaient à une agénésie olfactive et calleuse, une hydrocéphalie majeure triventriculaire sur atrésie de l'aqueduc, une hypoplasie des noyaux gris centraux, des thalami, du tronc cérébral, du cervelet et une atteinte modérée des cornes antérieures de la moelle contrastant avec de nombreux sphéroïdes axonaux dans

l'ensemble des voies longues et dans les racines sensitives. Dans le second cas, les « sphéroïdes » axonaux affectaient une topographie beaucoup plus focale intéressant le pallidum, le thalamus et au niveau de la moelle, les voies sensitives lemniscales, spino-cérébelleuses y compris les racines postérieures sans anomalie significative des cornes antérieures. Une polymicrogyrie périsylvienne unilatérale et focale était constatée au niveau du cortex, sans anomalie morphologique macroscopique ni histologique des autres structures cérébrales. Les lésions neuropathologiques observées chez ces deux fœtus sont identiques à celles des DNA particulièrement la forme infantile de Seitelberger. L'intensité et la diffusion des lésions dans le premier cas sont en accord avec la sévérité du tableau clinique et un début particulièrement précoce du processus. Cette variabilité dans la topographie des lésions de même que l'association d'une sténose de l'aqueduc ou d'une polymicrogyrie périsylvienne inhabituelles dans ce contexte suggère un large spectre d'expression du phénotype neuropathologique. Celui-ci contraste avec la symptomatologie neurologique fœtale toujours monomorphe et très différente de celle observée dans la forme infantile. Les lésions observées au niveau de la moelle démontrent qu'une immobilité fœtale peut résulter d'une atteinte des voies sensitives sans atteinte majeure des cornes antérieures probablement du fait d'une interruption de l'arc réflexe dont l'intégrité est indispensable au mouvement. La consanguinité parentale dans les 2 cas est en faveur d'une hérédité autosomique récessive. Ces observations concernent une cause inhabituelle d'akinésie fœtale dont les caractères neuroanatomiques sont ceux d'une dystrophie neuroaxonale à début prénatal dont il est difficile d'affirmer la nosologie exacte.

Mots-clés : dystrophie neuroaxonale, akinésie fœtale, transmission autosomique récessive.

■P47 / 251. DONNÉES IMMUNOHISTOCHIMIQUES DES PROTÉINES CFTR ET TUBULINE DANS LES VOIES RESPIRATOIRES FŒTALES

P. Marcorelles (1), T. Montier (2), D. Gillet (2), N. Lagarde (1), C. Ferec (2)
(1) Service d'Anatomie pathologique, hôpital Morvan, CHU, 29609 Brest Cedex, France ; (2) Inserm U613, OBU Brest, France

La mucoviscidose est la plus fréquente des maladies génétiques graves de l'enfant. La protéine CFTR a une fonction de canal chlore au niveau de la membrane apicale des cellules épithéliales. De très nombreuses mutations du gène ont été décrites mais la répartition ainsi que la physiologie de la protéine restent imparfaitement connues. Nous rapportons l'étude par immunohistochimie en double marquage des protéines CFTR et tubuline de façon chronologique dans les voies respiratoires : trachée, grosses bronches et poumon chez une série (n = 40) de fœtus non atteints de mucoviscidose, de 10SA jusqu'à terme et atteints de mucoviscidose (n = 10). L'apparition de l'immunomarquage est très précoce que ce soit dans la trachée ou dans les bourgeons bronchiques tant pour CFTR que pour la tubuline qui est détectée ponctuellement dès 14SA dans la trachée. La positivité de l'immunomarquage par l'anticorps anti-CFTR dans les bronchioles pré-terminales immatures disparaît au cours du deuxième trimestre lors de la différentiation alvéolaire.

L'évolution est plus complexe dans le parenchyme pulmonaire que dans les voies aériennes où la topographie reste la même pendant toute la période fœtale. Dans la trachée, la positivité de l'immunomarquage dans les cellules épithéliales respiratoires ciliées comporte à la fois le marquage positif par l'anticorps anti-tubuline qui reste de topographie inchangée, au niveau des cils, pendant toute la vie fœtale après son apparition progressive avant 20SA et le marquage par l'anticorps anti-CFTR cytoplasmique puis à prédominance apicale selon le terme et la maturation cellulaire. L'immunomarquage par l'anticorps anti-CFTR est très fortement positif et reste inchangé depuis le terme de 18SA dans les glandes intrapariétales en particulier trachéales et son aspect morphologique microscopique est semblable à celui décrit chez l'adulte.

Nos résultats montrent l'intérêt de l'étude du développement fœtal pour mieux comprendre la pathogénie de la mucoviscidose. La technique en double marquage permet la mise en évidence de l'expression dans les cellules épithéliales ciliées à la fois de l'anticorps anti-CFTR et de l'anticorps anti-tubuline affirmant la localisation de la protéine CFTR dans les cellules ciliées des voies respiratoires.

La topographie et la chonologie sont semblables sur les prélèvements de fœtus porteur de mutations à l'état homozygote pour le gène CFTR.

Mots-clés : CFTR, voies respiratoires, fœtus.

■P48 / 252. TRIPLE RÉCURRENCE D'UNE DYSPLASIE DIASTROPHIQUE

A.M. Frances (1), C. Jarnet (1), A.L. Nis (1), M. Le Merrer (2), A.L. Delezoide (3), L. Bonafé (4), O. Dupuy (1), P. Collignon (1)
(1) Service de Génétique Médicale, CHI de Toulon ; (2) Département de Génétique Médicale, Hôpital Necker, AP-HP ; (3) Service de Biologie du Développement, Unité de Fœtopathologie, Hôpital Robert-Debré, AP-HP ; (4)Laboratoire de Pédiatrie Moléculaire, Hôpital de l'Enfance de Lausanne, CHU Vaudois

Nous rapportons l'observation originale d'une forme récurrente de nanisme diastrophique caractérisé sur le plan moléculaire. Une première grossesse de notre consultante a fait l'objet d'explorations à la suite d'un signe d'appel échographique à type d'hyperclarté de la nuque fœtale, mesurée à 4,5 mm lors d'un examen pratiqué à 12,2 semaines d'aménorrhée (SA). L'anamnèse gestationnelle révélait la prise d'acide rétinoïque et de doxycycline dans les premières semaines. L'enquête généalogique n'apportait aucun élément particulier chez les deux conjoints qui n'étaient pas apparentés. Le caryotype fœtal était normal, de formule : 46,XY. Les examens échographiques successifs ont mis en évidence un nanisme avec des signes d'ostéochondrodysplasie sévères et précoces justifiant une interruption médicale de grossesse à 18 SA. Les radiographies fœtales mettaient en évidence des os courts avec incurvations tibiales. Les métacarpiens et métatarsiens étaient courts. Les orteils et les doigts étaient remarquablement ossifiés. On pouvait noter par ailleurs une hypoplasie de la palette humérale et un aspect horizontal des cotyles avec des branches ischio-pubiennnes courtes. L'examen histopathologique du tissu osseux confirmait le diagnostic d'une dysplasie diastrophique de forme sévère. L'analyse moléculaire du gène DTDST réalisée chez les deux conjoints permettait d'identifier une mutation maternelle R279W et une mutation paternelle delV340. Cette dernière est considérée comme particulièrement délétère dans son expression. Le conseil génétique fut établi avec hypothèse d'une transmission mendélienne sur un mode autosomique récessif. Le couple fut reçu à nouveau en consultation à l'occasion d'une deuxième grossesse en cours. Une échographie orientée réalisée à 11SA révéla des anomalies identiques à celles constatées antérieurement, justifiant une nouvelle interruption médicale de grossesse. Une troisième grossesse, suivie selon les mêmes modalités, fut de même marquée par une récurrence de nanisme diastrophique. Les consultants furent alors orientés vers un centre agrée pour un diagnostic préimplantatoire, mais une quatrième grossesse fut entreprise, marquée également par une récurrence. Ce dernier échec permit de confirmer par analyses moléculaires le statut d'hétérozygote composite du fœtus atteint. Ce dossier illustre l'importance d'un examen fœtopathologique rigoureux et complet pour identifier précisément les formes connues de d'ostéochondrodysplasies.

Nous apportons également des commentaires sur les difficultés qu'ont les couples confrontés à ce type de souffrance pour intégrer les données d'un conseil génétique restrictif. Ceci met en valeur les perspectives offertes par les techniques de diagnostic préimplantatoire dans un tel contexte.

Mots-clés : dysplasie diastrophique, diagnostic anténatal, examen fœtopathologique.

■P49 / 262. CRIBLAGE DE MODIFICATEURS DU PHÉNOTYPE DANS UN NOUVEAU MODÈLE DE L'ATAXIE SPINOCÉRÉBELLEUSE SCA7 CHEZ LA DROSOPHILE

G. Stevanin (1, 2), M. Latouche (1), C. Lasbleiz (3), E. Martin (1), V. Monnier (3), A. Mouatt-Prigent (1), T. Debeir (1), A. Brice (1, 2), H. Tricoire (1)
(1) INSERM U679, Hôpital de la Salpêtrière, Paris ; (2) Département de Génétique Cytogénétique et Embryologie, APHP, Hôpital de la Salpêtrière, Paris ; (3) Institut Jacques-Monod, Université Paris VII/CNRS, Paris

SCA7 est une forme d'ataxie cérébelleuse autosomique dominante (ADCA) appartenant au groupe des affections neurodégénératives causées par des expansions de polyglutamine comme la maladie de Huntington, le syndrome de Kennedy et 6 autres ADCA. Ces maladies ont toutes en commun un même stigmate neuropathologique qui est la présence d'inclusions intranucléaires résultant d'un gain de fonction apportée par l'expansion. Le produit du gène SCA7 est la protéine ataxine 7, une protéine appartenant à un complexe impliqué dans l'acétylation des histones.

Afin d'identifier les mécanismes pathologiques sous-jacents, nous avons produit des drosophiles SCA7 exprimant une forme tronquée de la protéine normale (10 glutamines) ou pathologique (100 glutamines). Plusieurs lignées ont été établies en variant le ciblage de l'expression : muscle, ubiquitaire, système nerveux... Ses modèles ont été caractérisés en terme d'expression par RT-PCR, western-blot, immmunohistochimie et microscopie électronique.

Les drosophiles SCA7 récapitulent certains aspects de la pathologie humaine comme une mort prématurée et la présence d'inclusions. L'expression dans le système nerveux s'accompagne d'une perte de longévité chez l'adulte qui peut aller d'une T50 à 7 jours lorsque le transgène est exprimé constitutivement ou à 15 jours si l'expression est induite chez

la jeune drosophile adulte. Afin d'identifier des modificateurs du phénotype, nous avons croisé des drosophiles SCA7 avec expression dans le système nerveux avec une collection de mutants caractérisés. Plusieurs mutants, dont des mutants de chaperonnes, permettent une récupération partielle du phénotype. Ces résultats vont nous permettre à la fois de mieux comprendre les mécanismes pathologiques en cause mais aussi d'identifier des cibles d'intérêt thérapeutique qui pourront être testées dans des modèles mammifères.

Mots-clés : ataxie, drosophile, polyglutamine.

■P50 / 270. PHYSIO-PATHOLOGIE DU DÉVELOPPEMENT DU TUBE DIGESTIF CHEZ LES VERTÉBRÉS

G. Granier (1, 2), D.J. Roberts (3), P. de Santa Barbara (4)
(1) Service d'Anatomie Pathologique, CHU Caremeau, Nîmes ; (2) CUFR, ADONIMES, Nîmes ; (3) Harvard Medical School, Massachusetts General Hospital, Boston, MA, USA ; (4) Institut de Génétique Humaine, UPR 1142 CNRS, Montpellier

Les malformations qui affectent le tube digestif sont parmi les anomalies congénitales les plus courantes. Elles conduisent à une mortalité importante chez les nouveaux-nés. Malgré les avancées qui ont été réalisées dans l'identification des mécanismes moléculaires intervenant dans le développement du tube digestif, peu de passerelles ont été établies entre les études fondamentales réalisées sur des modèles animaux et les études cliniques réalisées chez l'homme. Notre but est d'identifier et de comprendre les évènements moléculaires clés qui contrôlent le développement et la différenciation du tube digestif et d'étudier si la dérégulation de ces mécanismes est responsable de l'apparition et du développement de différentes pathologies congénitales. L'association étroite d'études fondamentales et cliniques nous permettra de mieux comprendre l'origine génétique de ces maladies. L'identification de cette origine génétique permettra d'en adapter les prises en charge diagnostique et thérapeutique. Le tractus digestif présent chez tous les vertébrés ne dérive initialement que d'une même structure tubaire. Le développement du tube digestif aboutit à l'apparition de plusieurs régions suivant l'axe antéro-postérieur, régions qui se distinguent par leurs différences morphologiques, fonctionnelles et cellulaires. Le développement normal du tube digestif nécessite au niveau tissulaire des interactions réciproques entre les différentes couches qui le compose dénommées interactions mésodermo-épithéliales. Chez les vertébrés, le sphincter pylorique sépare l'estomac du duodénum. Il joue le rôle d'une valve pour permettre le flux du contenu gastrique dans la lumière du duodénum. Cette structure est fréquemment retrouvée malformée chez les nouveaux-nés (chez des patients atteints d'hypertrophie infantile du pylore), suggérant qu'un contrôle fin de son développement est nécessaire pour permettre la transition entre une masse musculaire importante (l'estomac) et une masse musculaire fine (le duodénum). Différentes voies de signalisation et facteurs de transcription ont été impliqués dans la formation, mais aussi dans la régionalisation du tube digestif. Récemment, nous avons identifié les facteurs de transcription *SOX9* et *NKX2.5* et la voie de signalisation *BMP* (pour Bone Morphogenetic Protein) comme des évènements moléculaires clés du développement du sphincter pylorique chez l'embryon de poulet. Nous avons ainsi montré que l'activation de la voie de signalisation BMP lors du développement du sphincter pylorique était essentiel au développement normal de cette structure. L'inhibition de la voie de signalisation BMP par transgenèse dans le pylore induit l'hypertrophie de cette struture, un défaut de connection entre l'estomac et le duodénum, mais aussi localement une désorganisation des celllules entériques. Les phénotypes que nous obtenons chez l'embryon de poulet, sont similaires aux défauts présents chez certains patients atteints d'hypertrophie infantile du pylore, mais aussi des patients associant des défauts du développement du tube digestif et du système nerveux entérique.

Mots-clés : tube digestif, physio-pathologie, modèle animal.

■P51 / 279. PROTÉINES DE LIAISON À L'ARN, RÉPÉTITION CUG ET DYSTROPHIE MYOTONIQUE DE STEINERT : QUE PEUT-ON APPRENDRE DE LA DROSOPHILE ?

G. Le Mée (1), M. Capri (1), N. Ezzeddine (2), J. Delaunay (1), O. Ait-Ahmed (1)
(1) Institut de Génétique Humaine CNRS UPR1142, Montpellier, France ; (2) MSB 6431 Fannin St. suite 6.026 Houston, Texas, 77030

La dystrophie myotonique de Steinert est une maladie génétique humaine, multisystémique autosomique dominante. Elle est liée à des expansions de triplets CTG dans la région 3' non traduite du gène de la myotonine protéine kinase (le gène DMPK). Le nombre de répétitions, de 5 à 37 chez un sujet sain peut atteindre jusqu'à plusieurs milliers chez un patient atteint de DM1 de façon sévère. Trois modèles moléculaires ont été proposés pour rendre compte des propriétés de cette pathologie, un modèle d'haploinsuffisance de la protéine DMPK, un modèle chromatinien qui suggère une désorganisation chromatinienne due aux expansions qui empêcherait l'expression des gènes voisins, mais plusieurs arguments sont en faveur du 3e modèle qui propose un effet trans dominant de l'ARN DMPK muté. En effet, il est largement accepté que les expansions CUG au sein de l'ARNm DMPK muté, qui s'accumule au niveau de foyers nucléaires, séquestrent des protéines de liaison aux répétitions CUG empêchant la maturation ou le transport d'autres ARNm. L'objectif de l'équipe, fondé sur la conservation des acteurs de la DM1 entre la drosophile et l'homme, vise à utiliser la drosophile pour analyser les mécanismes moléculaires mis en jeu dans la pathogénicité des expansions CUG. En effet, les protéines MBL impliquées dans la DM1 sont homologues des protéines Muscleblind de drosophile (Miller *et al. Embo J* 2000 ; 19 (17) : 4439-48). Notre équipe a récemment mis en évidence Bru-3 comme l'homologue de la CUG-BP humaine, un acteur majeur de la DM1 (Delaunay *et al. NAR* 2004 ; 32 (10) : 3070-82).
Nous rapporterons des données concernant les deux axes développés dans ce travail :
1) D'une part l'analyse de Bru-3, l'homologue de la CUG-BP et son rôle dans le développement. Cette analyse fonctionnelle repose sur l'utilisation d'anticorps spécifiques de bru-3 développés dans notre équipe et de mutants affectés dans la fonction de Bru-3. Les résultats préliminaires d'immunofluorescence indiquent que Bru-3 comme la CUG-BP humaine présente une localisation nucléaire et cytoplasmique. Par ailleurs nous disposons d'un mutant qui porte une insertion dans la région 5' UTR du gène Bru-3. Cette insertion induit une mutation hypomorphe qui, placée sur une déficience, permet l'analyse d'une perte de fonction de Bru-3. Cette insertion permet également d'induire une surexpression ou une expression ectopique. Les premières analyses sont en faveur d'un rôle critique de Bru-3 dans le développement.
2) D'autre part, l'étude de l'effet des expansions CUG chez la drosophile. Pour cela des lignées transgéniques portant les transgènes (CTG)240, 480 ainsi qu'un contrôle (CTG)16 ont été réalisés au sein de l'équipe ; le système UASp-Gal4 qui permet d'induire une expression spatio-temporelle spécifique a été utilisé. Une seule de ces lignées présente une neurodégénérescence lors de l'expression des expansions CUG dans l'œil et une létalité lors d'une expression ubiquitaire. Ce résultat, certes restreint à une seule lignée, est encourageant et devrait nous aider à révéler les mécanismes mis en jeu dans la DM1.

Mots-clés : drosophile, proteine de liaison à l'ARN, dystrophie musculaire.

■P52 / 296. DEUX NOUVEAUX CAS DE SYNDROME CHARGE FŒTAL SUSPECTÉ EN ANTÉNATAL ET À L'EXAMEN FŒTO-PATHOLOGIQUE, ET CONFIRMÉ PAR L'ÉTUDE DU GÈNE CHD7

M. Bucourt (1), D. Sanlaville (2), T. Attié-Bitach (2), F. Cornélis (1), B. Benzacken (4), V. Malan (4), B. Amarenco (5), C. Largillière (5), M. Ziol (1), M. Gonzales (6), M. Catala (3)
(1) Anatomie Pathologique ; (4) Laboratoire de Cytogénétique ; (5) Gynécologie-Obstétrique ; hôpital Jean-Verdier, AP-HP, université Paris 13, Bondy ; (2) Département de Génétique et Unité INSERM U393, hôpital Necker-Enfants malades, AP-HP, Paris ; (3) Service d'histo-embryologie et cytogénétique, hôpital Pitié-Salpétrière, AP-HP, Paris ; (6) Unité de Fœtopathologie, hôpital Saint-Antoine, AP-HP, Paris

Le syndrome CHARGE a été décrit initialement comme une association de malformations non due au hasard ; il est défini par un acronyme qui correspond aux initiales des 6 malformations majeures : Colobome, Heart malformation (cardiopathie), Atrésie des choanes, Retard de croissance et/ou mental, anomalies Génitales, Ears anomalies (oreilles). Classiquement pour faire le diagnostic de syndrome CHARGE, 4 sur 6 signes de l'acronyme sont nécessaires, et l'un d'entre eux doit être soit un colobome, soit une atrésie des choanes. Ces dernières années, ces critères diagnostiques ont été affinés. Il a été souligné l'importance de l'agénésie ou l'hypoplasie des canaux semi-circulaires (A.L. Tellier, 1998) et ce signe a ensuite été proposé comme un critère majeur (J. Amiel, 2001 ; A. Verloes, 2005). Chez le fœtus, le retard mental et la surdité ne pouvant être identifiés, il a été proposé de les remplacer par les anomalies respectivement du système nerveux central et des canaux semi-circulaires (D. Sanlaville, 2005). Récemment, des mutations troncantes du gène CHD7, situé sur le bras long du chromosome 8, ont été identifiées. Une mutation a été trouvée chez 64 % des 107 patients de l'étude de M. Jongmans (2005) et chez 100 % des 10 fœtus étudiés par D. Sanlaville. Nous présentons 2 cas de syndrome CHARGE, suspectés par l'imagerie anténatale et l'examen fœtopathologique. L'étude génétique a confirmé le diagnostic en montrant que ces 2 fœtus étaient porteurs d'une mutation troncante du gène CHD7. La

description de leurs phénotype permet de corroborer les propositions faites récemment dans la littérature concernant les critères nécessaires au diagnostic de syndrome CHARGE chez le fœtus. Fœtus 1 : Une IMG a été réalisée à 30 sa devant la constatation à l'échographie d'une fente labio-palatine bilatérale, d'oreilles anormales, d'un petit estomac, d'une cardiopathie conotroncale, d'un vermis petit, et à l'IRM d'une arhinencéphalie. Le caryotype était normal. L'examen fœtopathologique a confirmé la fente labio-palatine bilatérale, l'anomalie des oreilles, la cardiopathie comprenant une dysplasie des valves pulmonaires et une crosse de l'aorte à droite, l'arhinencéphalie, le vermis petit et anormal, et l'atrésie de l'œsophage. Une absence de canaux semi-circulaires a également été constatée. L'œil était normal. Fœtus 2 : Une IMG a été réalisée à 35 sa pour suspicion de syndrome CHARGE en raison d'anomalies échographiques comprenant un excès de liquide amniotique, des oreilles anormales, une « dysgénésie vermienne », et à l'IRM une arhinencéphalie. Le caryotype était normal. L'examen fœtopathologique a confirmé l'arhinencéphalie, les anomalies vermiennes et l'anomalie des oreilles. Une absence de canaux semi-circulaires a également été constatée, ainsi que des anomalies mineures des gros vaisseaux naissant de l'aorte, une verge petite, une absence d'os propres du nez, et une brachymésophalangie du 5e doigt. L'examen de l'œil était normal. Conclusion : Les 2 fœtus avaient donc les 3 anomalies trouvées de façon constante dans la série de D. Sanlaville, soit l'arhinencéphalie, l'agénésie des canaux semi-circulaires et les anomalies des oreilles. On notera que le 2e fœtus n'avait ni atrésie des choanes ni fente, ni colobome. Cela avait déjà été noté par J. Amiel (2001), et D. Sanlaville (2005) puisqu'un 1 des 10 fœtus mutés n'avait aucun de ces 2 critères. Ces 2 critères sont considérés comme indispensables au diagnostic, et font partie des 3 critères majeurs de la classification de A. Verloes (2005). Nos 2 observations confortent les conclusions récentes de D. Sanlaville de proposer l'agénésie des canaux semi-circulaires et l'arhinencéphalie comme critères majeurs ; elles soulignent aussi la nécessité d'une définition spécifique au fœtus du syndrome CHARGE.

Mots-clés : syndrome CHARGE, gène CHD7, phénotype fœtal.

■P53 / 301. DOUBLE INDICATION POUR UN DIAGNOSTIC PRÉ-IMPLANTATOIRE : MYOTONIE DE STEINERT ET MALADIE DE HUNTINGTON

C. Fernandez (1), P. De Mas (2), M. Claustres (1), A. Giradet (1)
(1) Laboratoire de Génétique Moléculaire, IURC, CHU de Montpellier ; (2) Service de Génétique Médicale, CHU de Toulouse

La dystrophie myotonique de Steinert et la maladie de Huntington sont deux indications fréquentes de diagnostic pré-implantatoire (DPI). Une demande de DPI nous a été adressée pour un couple présentant ces deux affections, la dame étant hétérozygote pour une expansion de CTG dans le gène DMPK et son conjoint présentant une expansion de CAG au locus HD1. Une analyse de ségrégation des différentes séquences étudiées traditionnellement dans le DPI de ces deux pathologies a révélé : 1) une informativité du couple pour les répétitions de CTG et de CAG, 2) une informativité pour le marqueur D4S412 lié au locus HD1, 3) mais une absence d'informativité pour les microsatellites D19S112 et D19S219 liés au gène DMPK. Nous avons donc développé une stratégie de DPI combinant l'analyse directe des triplets CAG et CTG et l'étude du marqueur D4S412. Les résultats des amplifications unicellulaires des CTG, CAG et D4S412 sur les lymphocytes isolés du couple ont donné des fréquences d'amplification allant de 85 à 98 % environ et des taux d'ADO variant de 2 à 10 % approximativement. Un DPI sera réalisé prochainement chez ce couple, dont une probabilité d'obtenir un embryon indemne des deux pathologies est seulement de 25 %. En cas de grossesse, un diagnostic prénatal devra être réalisé afin de confirmer les résultats du DPI, particulièrement en raison de la seule étude des répétitions de CTG dans le diagnostic de la myotonie de Steinert.

Mots-clés : DPI, maladie de Huntington, myotonie de Steinert.

■P54 / 305. Optimisation médico économique de la FISH interphasique en diagnostic prénatal

S. Cardus, A. Lebbar, A. Ardalan, C. Dupont, D. Le Tessier, J.-M. Freyssinier, J.-M. Dupont
Université Paris Descartes, Faculté de médecine ; APHP Laboratoire d'Histologie Embryologie Cytogénétique, Groupe hospitalier Cochin-Saint-Vincent-de-Paul

Le diagnostic prénatal rapide des principales aneuploïdies par FISH interphasique constitue aujourd'hui un examen de routine dans les laboratoires de Cytogénétique dont les performances diagnostiques ne sont plus à démontrer. Cependant, l'absence de prise en charge (sauf pour les signes d'appel échographiques depuis janvier 2005) et le coût de l'analyse limitent le nombre de tests réalisables par les laboratoires hospitaliers contraints par leur budget de fonctionnement. Cette analyse est ainsi en général réservée aux patientes à fort risque d'aneuploïdies fœtales, avec des critères de réalisation pouvant différer d'un laboratoire à l'autre. Une étude rétrospective réalisée entre juin 2001 et décembre 2004 à l'Hôpital Cochin a permis d'évaluer l'efficacité médico économique des différentes stratégies d'emploi de la FISH interphasique adoptées par le laboratoire de Cytogénétique. La première stratégie, utilisée à partir de 1998, a été définie dans le cadre de l'étude multicentrique nationale menée par 14 laboratoires de cytogénétique pour évaluer l'efficacité diagnostique de la FISH. Cette étude impliquait un diagnostic des principales aneuploïdies grâce au kit Aneuvysion® analysant les chromosomes 13, 18, 21, X et Y dans les indications suivantes : âge maternel = 43 ans, marqueurs sériques évoquant un risque = 1/25, et/ou signe d'appel échographique (épaississement de la nuque, hydrocéphalie, anomalies du tractus digestif, omphalocèle, anomalie cardiaque, retard de croissance intra-utérin associés à d'autres signes ou plusieurs signes échographiques associés). En 2001, une modification des critères de décision pour proposer la FISH interphasique est adoptée afin d'augmenter le nombre d'analyses réalisées pour un coût réactif équivalent : seul le dépistage de la trisomie 21 est réalisé quand l'âge maternel est = 42 ans, quand le risque calculé par les marqueurs sériques est = 1/50, quand l'échographie retrouve une nuque épaisse isolée ou associée à des petits signes de trisomie 21. Le dépistage complet des aneuploïdies impliquant les chromosomes 13, 18, 21, X et Y n'est proposé qu'en cas de signes échographiques majeurs et/ou multiples. Les performances diagnostiques de ces deux stratégies ne sont pas significativement différentes : 67 % des trisomies 21 fœtales sont diagnostiquées rapidement et 37 % des autres aneuploïdies. L'atout majeur de la stratégie de 2001 consiste surtout à rassurer rapidement un plus grand nombre de patientes (15 % des femmes bénéficiaient de la FISH interphasique avec la première stratégie vs 27 % avec la seconde) pour un coût comparable. Dans un souci d'amélioration de ces indications, de nouvelles adaptations ont été étudiées. Cependant, l'étude rétrospective réalisée montre que sur notre population, la modification des critères proposés en 2001 (par exemple FISH pour âge = 41 ans ou pour HT 21 =1/100) ne permet pas d'améliorer significativement les performances diagnostiques du FISH interphasique (68 % de trisomies 21 fœtales diagnostiquées rapidement vs 67 % avec la stratégie de 2001). Ces modifications génèreraient surtout près de 30 % d'examens supplémentaires, ce qui est irréaliste à moyens constants (réactifs et personnel). Ce travail montre qu'il est possible d'optimiser l'utilisation de la FISH interphasique en adaptant la ou les sondes à hybrider à l'indication de l'amniocentèse. Cependant, la généralisation de l'emploi de la FISH interphasique en diagnostic prénatal passe par une réduction drastique des coûts en réactif et en temps personnel, qui sont les deux postes clés responsables du prix global de l'examen.

Mots-clés : diagnostic prénatal, aneuploidie, FISH interphasique.

■P55 / 322. ANASARQUES FŒTO-PLACENTAIRES : PROPOSITION D'UNE CONDUITE A VISÉE ÉTIOLOGIQUE À PROPOS DE 94 CAS

M.-A. Delrue (1), F. Pelluard (2), E.-M. Alberti (2), D. Carles (2), D. Lacombe (1)
(1) Service de Génétique Médicale, CHU de Bordeaux ; (2) Service d'Anatomo-pathologie et Fœto-pathologie, CHU de Bordeaux

Nous avons pu reprendre 94 dossiers de fœtus ou d'enfants décédés d'anasarque en période péri-natale à Bordeaux entre 1997 et 2004. Nous avons ainsi constaté des différences significatives entre les étiologies selon l'âge gestationnel. Les anasarques survenant précocement (avant 22 SA) sont pour la moitié d'entre elles liées à une aneuploïdie, ou à un syndrome polymalformatif ; aussi, devant le pronostic globalement sombre (à la fois lié à l'étiologie et à l'anasarque en elle-même), il est souvent proposée une IMG aux parents. Les prélèvements à visée génétique (amniocentèse ou choriocentèse, ou ultérieurement biopsie cutanée) sont indispensables à la démarche étiologique. Les anasarques plus tardives (après 24 SA) sont principalement liées aux anémies (non immunes) et aux anomalies cardiaques. Le pronostic, pré puis post-natal est alors étroitement lié à la possibilité de traitement (transfusions in utero pour certaines anémies, traitement anti-arythmique administré à la mère, possibilité de prise en charge chirurgicale de malformations...). La caractérisation du type d'anémie ou de malformation est déterminant pour évaluer le pronostic. Ici, la ponction de sang fœtal et l'échocardiographie sont les investigations fondamentales à réaliser ; elles permettent d'avancer les investigations mais aussi, en cas d'anémie, d'évaluer le retentissement cardiaque et si besoin de transfuser. À côté de ces causes fréquentes, plus de 80 autres causes d'anasarque ont été recensées. Afin de progresser dans la démarche étiologique, un ensemble exhaustif d'investigations à visée biochimique, infectieuse,

immunologique, enzymatique, métabolique, génétique... va être nécessaire. Couplées à un examen fœto-pathologique rigoureux, ces études permettront de déterminer avec le maximum de rentabilité l'étiologie précise de l'anasarque afin de pouvoir offrir ultérieurement un conseil génétique fiable aux parents. Les anasarques restent inexpliquées dans près de 10 % : la réalisation d'un bilan complet devrait permettre de diminuer cette valeur. Cependant, certaines étiologies transitoires peuvent provoquer une anasarque, sans laisser de symptomatologie d'orientation (troubles du rythme notamment). Finalement, divers troubles physiopathologiques, isolés ou associés, peuvent être à l'origine d'une anasarque. Leur meilleure compréhension permettra à la fois de mieux connaître les systèmes de régulation des échanges liquidiens pendant la période fœtale, et de pouvoir améliorer la prise en charge in utero.

Étiologies	< 22 SA (%)	> 22 SA (%)	Décès périnataux (%)
Chromosomique	12 (33,33)	1 (2,44)	0 (0)
Syndrome caractérisé	4 (11,11)	1 (2,44)	0 (0)
Syndromes polymalformatifs	2 (5,56)	1 (2,44)	3 (17,65)
Anémie (sauf parvovirus)	3 (8,33)	10 (24,39)	1 (5,88)
Malformation cardiaque	2 (5,56)	8 (19,51)	1 (5,88)
Trouble du rythme cardiaque	0 (0,00)	1 (2,44)	0 (0)
Transfuseur-transfusé	3 (8,33)	2 (4,88)	1 (5,88)
Infection (dont parvovirus)	2 (5,56)	4 (9,76)	2 (11,76)
Autres étiologies caractérisées	4 (11,11)	8 (19,51)	8 (47)
Idiopathique	4 (11,11)	5 (12,20)	1 (5,88)
TOTAL	36 (100)	41 (100)	17 (100)

Mots-clés : anasarque, aneuploïdie, anémie.

■P56 / 323. DIAGNOSTIC PRÉNATAL DES MALADIES MÉTABOLIQUES

F. Maazoul (1), I. Chelly (1), M. Chaabouni (1), R. Mrad (1), L.B. Jemaa (1), N. Tebib (2), R. Sfar (3), A. Koubaa (4), N. Kaabachi (5), N. Mahfoudh (6), N. Gandoura (7), F. Zouari (8), H. Chaabouni (1)
(1) Service des maladies congénitales et héréditaires, Hôpital Charles-Nicolle, Tunis, Tunisie ; (2) Service de pédiatrie, Hôpital La Rabta ; (3) Service d'obstétrique, Hôpital Charles-Nicolle ; (4) Service de gynécologie, Hôpital Charles-Nicolle ; (5) Laboratoire de biochimie, Hôpital La Rabta ; (6) Laboratoire de génétique médicale, faculté de Médecine de Sfax ; (7) Service de pédiatrie, Hôpital de Bizerte ; (8) Centre de maternité et de néonatologie, La Rabta

Les maladies métaboliques sont des pathologies héréditaires souvent à transmission autosomique récessive. Elles regroupent les maladies par intoxication (aminoacidopathies), les maladies par carence énergétique (métabolisme glucidique) et les troubles du métabolisme des molécules complexes (pathologies péroxysomales et lysosomales). Elles sont généralement graves, invalidantes et non curables.
Nous rapportons l'expérience d'un centre de diagnostic prénatal dans la réalisation et l'orientation de 92 analyses de troubles innés du métabolisme sur un total de 9 927 diagnostics anténatals effectués sur une période de 10 ans, allant de juin 1996 à juin 2005.
Cette étude révèle un faible pourcentage de dépistage anténatal de ces troubles innés du métabolisme (0,9 %), par rapport aux autres indications. Ceci est probablement dû à une insuffisance de diagnostic clinique de ce type de pathologie chez les cas index. Un couple sur cinq a bénéficié de plus d'un diagnostic anténatal. Ceci montre que, lorsque le dépistage prénatal est réalisable, les couples ne sont plus réticents pour la procréation. Le taux des fœtus atteints est de 24 %. La consanguinité est très élevée, elle est de 72 %. Ces taux concordent avec les lois de l'hérédité autosomique récessive.
Les pathologies concernées sont les aminoacidopathies et aciduries organiques (39 %), les mucopolysaccharidoses (19 %), les glycogénoses (14 %), les sphingolipidoses (13 %), les mucolipidoses (8 %) et les maladies péroxysomales (7 %). Les aminoacidopathies et aciduries organiques sont les indications les plus fréquentes. Ceci peut être dû au fait que ces pathologies sont mieux diagnostiquées dans notre pays que les autres troubles métaboliques.
En conclusion, il faut insister sur l'importance du dépistage précoce de ce type de pathologie, d'une part pour une meilleure prise en charge des cas index, d'autre part pour pouvoir donner un conseil génétique et proposer un diagnostic prénatal aux parents.

Mots-clés : maladies métaboliques, diagnostic prénatal, épidémiologie.

■P57 / 326. DIAGNOSTIC PRÉNATAL DE LA TRISOMIE 8 EN MOSAÏQUE : À PROPOS DE DEUX OBSERVATION

Girard-Lemaire F. (1), Carelle N. (1), Favre R. (2), Viville B. (3), Langer B. (3), Baldauf J.J. (3), Stora de Novion H. (4), Flori E. (1)
(1) Service de Cytogénétique, Hôpital de Hautepierre, Strasbourg ; (2) CMCO, SICUS Schiltigheim ; (3) Département de Gynécologie et d'Obstétrique, Hôpital de Hautepierre, Strasbourg ; (4) Laboratoire de Cytogénétique et Génétique Genazur, Nice

Nous rapportons deux observations de trisomie 8 en mosaïque.
Observation 1 : un diagnostic prénatal chromosomique par biopsie de trophoblaste est réalisé chez Mme R. pour âge maternel et met en évidence un caryotype 46,XY[20] à l'examen direct et une trisomie 8 en mosaïque sur la culture 47,XY,+8 [13]/46,XY[11]. En raison de la découverte, sur l'amniocentèse de contrôle, d'une colonie cellulaire porteuse d'une trisomie 8 sur les 35 observées, un prélèvement de sang fœtal est proposé au couple. Sur les 100 mitoses analysées, une mitose présente une trisomie 8. Étant donné la normalité de l'échographie, les parents décident de poursuivre la grossesse. À l'âge de 2 ans, le phénotype de l'enfant est normal.
Observation 2 : La découverte échographique à 16 SA d'une anomalie bilatérale des voies urinaires conduit à proposer un diagnostic prénatal chromosomique tardif à Mme K, âgée de 45 ans, afin de prendre un risque minimum sur cette grossesse précieuse obtenue par fécondation in vitro et don d'ovocytes. L'échographie réalisée à 26 SA confirme l'existence d'une hydronéphrose bilatérale et suspecte une agénésie du corps calleux. Le caryotype sur liquide amniotique est 46,XY sur les 10 colonies cellulaires issues de 3 lames différentes analysées. Deux IRM cérébrales effectuées à 15 jours d'intervalle confirment l'agénésie du corps calleux. Compte tenu de la normalité du caryotype, de l'évolution significative de la gyration cérébrale et de l'absence d'anomalies cérébrales associées, les parents optent pour la poursuite de la grossesse. À la naissance par césarienne, le phénotype de l'enfant évoque une trisomie 8 qui est confirmée par le caryotype sanguin (47,XY,+8[63]/46,XY[51]).
Ces deux observations illustrent les difficultés du diagnostic prénatal de la trisomie 8 en mosaïque :
Quel conseil génétique donner quand une trisomie 8 en mosaïque est découverte fortuitement en cytogénétique et qu'il n'existe pas de signe d'appel échographique ?
Sur quel(s) tissu(s) réaliser la recherche d'une trisomie 8 en mosaïque en présence d'une agénésie du corps calleux ?

Mots-clés : trisomie 8 en mosaïque, diagnostic prénatal, agénésie du corps calleux.

■P58 / 351. DIAGNOSTIC PRÉNATAL DES ANEUPLOÏDIES LES PLUS FRÉQUENTES ET DÉTERMINATION DE LA ZYGOTIE PAR PCR QUANTITATIVE FLUORESCENTE DANS LES GROSSESSES MULTIPLES

S. El Mouatassim, P. Mouty, Fayolle E., M. Nouchy, B. Hachemi, P. Lewin, M. Becker
Département de Génétique et de Cytogénétique, Laboratoire Marcel-Mérieux, avenue Tony-Garnier, BP 7322, 69357 Lyon Cedex 07

Dans cette étude, nous avons évalué l'application de la technique PCR quantitative Fluorescente (QF-PCR) au diagnostic prénatal des aneuploïdies des chromosomes 13, 18 et 21 et à la détermination de la zygotie dans les grossesses multiples. Vingt prélèvements de liquide amniotique provenant de 10 grossesses gémellaires bichoriales biamniotiques ont été analysés par QF-PCR, cytogénétique et biochimie. Les indications du diagnostic prénatal étaient l'âge maternel (5 cas), des signes d'appel biologiques (2 cas) et des signes d'appel échographiques pour l'un des jumeaux (3 cas). Les résultats QF-PCR concordent parfaitement avec les analyses biochimiques (enzymes digestives) et cytogénétiques. Dans 5 cas, l'analyse cytogénétique classique a montré des caryotypes normaux et identiques pour chacun des jumeaux. L'analyse QF-PCR a confirmé l'hétérozygotie et l'absence d'aneuploïdie. Dans 4 cas, les fœtus ont été diagnostiqués de sexe différent et indemnes d'anomalies cytogénétiques. Dans 1 cas, QF-PCR a permis la mise évidence rapide d'une trisomie 21 chez l'un des jumeaux. QF-PCR est une technique performante dans la mise en évidence des aneuploïdies les plus fréquentes et la détermination de la zygotie dans les grossesses gémellaires. QF-PCR semble être une technique alternative à l'étude des enzymes digestives pour contrôler si le prélèvement du liquide amniotique a été réalisé sur la même poche ou sur deux poches différentes lors de l'amniocentèse.

Mots-clés : grossesses multiples, zygotie, aneuploïdies.

■P59 / 385. DIAGNOSTIC PRÉNATAL DEVANT UN FÉMUR COURT, INFÉRIEUR AU 3e PERCENTILE

Julie Tinat (1), Karine Abel (2), Jocelyne Attia-Sobol (3), Marie-Pierre Cordier (4), Pierre-Simon Jouk (5), Fabienne Prieur (1), Élisabeth Ollagnon (2), Renaud Touraine (1)
(1) Service de Génétique, CHU Nord, St-Étienne ; (2) Service de Génétique, Hôpital de la Croix-Rousse, Lyon ; (3) Service de Génétique, Hôtel-dieu, Lyon ; (4) Service de Génétique, Hôpital Édouard-Herriot, Lyon ; (5) Service de Génétique, CHU Grenoble

88 dossiers de fémur court, strictement inférieurs au 3e percentile, ont été réunis au sein des cinq centres pluridisciplinaires de diagnostic prénatal de la région Rhône-Alpes sur une période de trois ans (2000-2002).
Globalement, l'issue de ces grossesses s'est révélée défavorable avec près de 50 % d'interruption médicale de grossesse, 8 % de mort fœtale in utero, 5 % de décès néonatal, et seulement 36 % de naissance vivante. Le devenir de ces grossesses apparaît cependant très variable selon l'étiologie suspectée en anténatal.
Les principales étiologies retenues sont une ostéochondrodysplasie dans 42 % des cas, un retard de croissance intra-utérin dans 30 %, une anomalie chromosomique dans 10 %, un syndrome poly malformatif dans 6 % des dossiers.
Un bilan échographique attentif et un caryotype fœtal sont indispensables pour déterminer l'étiologie en cause et permettre une prise en charge adaptée.
Pour les dysplasies osseuses constitutionnelles, groupe principal, un tiers des étiologies précisément suspectées en anténatal ont été confirmées. Mais pour les 2/3 des dossiers restant, sans diagnostic précis ou avec un diagnostic erroné, il est donc important de déterminer le pronostic de la dysplasie osseuse.
Le rapport fémur/périmètre abdominal, calculé dans 28 dossiers, a montré que le pronostic d'une ostéochondrodysplasie dépistée en anténatal est toujours létal s'il est inférieur à 0,16, et ce quel que soit le terme de la grossesse. Les quatorze dossiers pour lesquels un pronostic létal était suspecté, ont été confirmés comme non viables. Douze d'entre eux avaient effectivement un rapport fémur/périmètre abdominal inférieur ou égal à 0,16.
Cependant un bilan postnatal reste souvent indispensable pour déterminer précisément le type de dysplasie osseuse et permettre un conseil génétique fiable dans la famille.

Mots-clés : fémur court, prénatal, ostéochondrodysplasie.

■P60 / 397. CONTENU UTÉRIN PAR SCANNER VOLUMIQUE SPIRALÉ : ASPECTS TECHNIQUES, INDICATIONS ET RÉSULTATS À PARTIR DE L'EXPÉRIENCE D'UN CENTRE PLURIDISCIPLINAIRE DE DIAGNOSTIC PRÉNATAL (90 DOSSIERS)

M. Molho*, J.P. Bernard**, D. Molina-Gomes•, J. Selva•, Y. Ville**, J. Roume•
** Service de Radiologie ; • Unité de Génétique clinique. Département de Biologie de la Reproduction, de Cytogénétique et de Génétique Clinique ; ** Unité de Diagnostic Prénatal et de Médecine Fœtale. Département de Gynéco Obstétrique, CHI Poissy*

Introduction : L'organisation de soins en centre de diagnostic prénatal met en commun des moyens pour le diagnostic précoce de maladies de plus en plus nombreuses. Le contenu utérin, dans cet arsenal diagnostique a une place à redéfinir car nombre de ses indications sont aujourd'hui remplacées par les ultrasons. Au cours du 3e trimestre, on assiste à une recrudescence d'indications (fémur court) faisant suspecter une maladie osseuse constitutionnelle. La principale contre-indication du contenu utérin, examen irradiant, est l'absence d'indication, aussi chaque fois que l'examen n'apporte pas d'information décisive, ou qu'il peut être substitué par une technique non irradiante, il doit être évité. Dès lors que l'indication est posée, nous devons mettre en œuvre une technique qui contrôle la dose délivrée et qui apporte les informations les plus fiables possibles.
Aspects techniques
– Échographie 2D et 3D : la dernière génération d'échographes « 4D » avec reconstructions en temps réel, surtout performante aux 1er et 2e trimestre, nécessite un appareillage « haut de gamme ». Le post-traitement s'enrichit de nombreux outils, comparables aux consoles d'IRM et de Scanner : MPR ; MIP et MIN, STIC. Dès que le fœtus atteint une certaine taille, le volume doit être scindé, l'étude devient segmentaire ce qui complique le diagnostic.
– Contenu utérin classique : réalisé sur table Rx au mieux télécommandée et numérisée, il délivre une dose difficile à contrôler. Les superpositions, principalement osseuses diminuent la pertinence de l'image. La position du fœtus lui même n'autorise pas des vues normalisées (face et profil) sur l'ensemble des segments, sauf à multiplier les incidences.
Contenu utérin au scanner : c'est un volume 3D : à ce titre on peut : découper le squelette maternel, manipuler le volume pour multiplier les incidences à l'infini, refaire des coupes 2D à partir du volume, utiliser les outils du traitement d'image pour l'imagerie surfacique, VRT et MIP. Les mesures sont possibles s'il l'on prend soin de bien dérouler les différents segments. Si l'on conserve les data numériques, il est possible de ré exploiter les données en fonction des questions encore en suspend.
Indications
– Le fémur court (< 3e percentile) ne correspond à une indication que si ce signe est analysé conjointement aux autres éléments : bien-être fœtal, hémodynamique, courbes de croissance, contexte familial (taille, ethnie etc) marqueurs sériques, caryotype...
– Si l'anomalie échographique est caractéristique, l'intérêt du scanner est discutable (nanisme thanatophore, achondroplasie, grosses malformations squelettiques...).
– Souvent l'anomalie échographique nécessite des précisions que le scanner peut apporter (crâne, rachis, membres pour un conseil orthopédique prénatal).
– Dans un syndrome poly-malformatif, osseux ou extra-osseux, la recherche de signes complémentaires peut correspondre a une indication : labyrinthes (CHARGE), rachis (dans une suspicion d'association VACTERL), etc.
– Une anomalie positionnelle fœtale peut créer un doute diagnostique en échographie : valeur du scanner au 3e trimestre.
De mars 2003 à juillet 2005. Série n = 90 cas – Terme moyen : 30,7 SA (19/39) :
– 54 pour suspicion de chondrodysplasie (60 %) : en raison d'un retard de croissance sur les os longs (fémur < 3e percentile) et/ou d'un aspect particulier à l'échographie.
– 36 pour suspicion de dysostose (40 %) : pour confirmer une anomalie dépistée à l'échographie : 26 (29 %) ou pour éliminer une anomalie osseuse dans le cadre d'un syndrome, d'une séquence ou dans le cadre d'un syndrome poly-malformatif : 10 (11 %).
Sur 54 cas pour suspicion de chondrodysplasie (60 %) : 31 chondrodysplasies confirmées Achondroplasie : 12 (39 %), Ostéogénèse imparfaite : 11 (35 %), Maladie des épiphyses ponctuées : 1, Nanisme thanatophore : 2, Dystrophie thoracique de Jeune : 1, Autres chondrodysplasies : 4).
– RCIU : 18 % – Sur 36 cas pour suspicion de dysostose (40 %) : 14 anomalies
Sur 15 recherches d'anomalie rachidienne, 4 fois, le scanner a pu expliquer une anomalie ultrasonore par une simple anomalie positionnelle.
– Pour une irradiation comparable à 2 ASP le scanner fœtal apporte des informations plus exploitables que le contenu utérin classique car les incidences sont multipliables à l'infini.
– Les indications doivent êtres discutées en tenant compte du rapport bénéfice/risque car c'est un examen irradiant.
– Pour les mêmes indications l'échographie 3D et 4D, semble prometteuse, surtout au 2e trimestre.

Mots-clés : scanner volumique spiralé, chondrodysplasies squelettiques, dysostoses.

■P61 / 403. DYSTROPHIE MYOTONIQUE DE STEINERT : PREMIÈRES EXPLORATIONS DU CERVEAU DES SOURIS DM1 PORTEUSES D'AMPLIFICATIONS CTG

Céline Guiraud-Dogan (1), Mário Gomes-Pereira (1), Aline Huguet (1), Nicolas Sergeant (2), Claudine Junien (1) et Geneviève Gourdon (1)
(1) Inserm U383, Hôpital Necker, Paris ; (2) Inserm U422, Lille

La dystrophie myotonique de Steinert (DM1) est la maladie neuromusculaire la plus fréquente de l'adulte. Autosomique dominante, elle présente un tableau clinique complexe qui associe à la détérioration progressive des fonctions musculaires, d'autres symptômes tels que des troubles de la fonction cardiaque, une insulino-résistance et des anomalies neurologiques.
Le défaut moléculaire responsable correspond à l'amplification de triplets CTG instables dans la région 3' transcrite mais non traduite du gène DMPK codant pour une protéine sérine-thréonine kinase de fonction encore inconnue. Parmi les effets de la mutation, l'accumulation nucléaire des ARNm porteurs d'amplification, semble avoir un rôle majeur dans la physiopathologie. Cette séquestration affecte le métabolisme des ARNm de la cellule (dont l'épissage alternatif) et serait responsable de nombreux symptômes tels que la myotonie ou l'insulino-résistance.
Le laboratoire a créé un modèle de souris transgéniques porteuses de larges fragments génomiques contenant le gène DMPK humain avec 20 CTG (allèle normal) ou 320 CTG (allèle muté) afin d'étudier l'instabilité des expansions CTG et leurs conséquences physiopathologiques. Ce modèle est le seul, à l'heure actuelle, à reproduire à la fois l'instabilité des triplets observée chez les patients DM1 et certains symptômes. En effet, la

séquestration nucléaire des ARNm DMPK mutés a été mise en évidence dans le muscle des souris avec 320 CTG et est associée à une atteinte musculaire similaire à celle rencontrée chez les patients (myotonie, atrophie, faiblesse). Le transgène s'exprimant avec un profil similaire à celui du gène DMPK humain, nous avons étendu notre étude plus particulièrement au cerveau, difficilement explorable chez l'homme, afin d'identifier dans ce tissu les voies fonctionnelles affectées par la mutation. Comme chez les patients, les souris porteuses d'expansion présentent une séquestration nucléaire des ARNm variable selon les régions du cerveau et corrélée au niveau d'expression du transgène. Une analyse détaillée de leur localisation nous a permis de sélectionner les régions les plus intéressantes pour étudier les conséquences moléculaires et cellulaires de la mutation. Les premières analyses réalisées par RT-PCR quantitative ont révélé une anomalie de l'expression du récepteur à l'insuline dans les souris porteuses de l'amplification. De plus, les études anatomopathologiques préliminaires suggèrent la présence de dommages cellulaires dans le cortex des souris mutées.
La poursuite de ce travail tant sur le plan structural, fonctionnel que moléculaire devrait permettre d'avancer dans la compréhension des atteintes neurologiques de la DM1.

Mots-clés : dystrophie myotonique, modèle murin, cerveau.

■P62 / 416. SYNDROME DE JACOBSEN ET DÉLÉTION 11q23-q24 : PRÉSENTATION DE DEUX CAS DIAGNOSTIQUÉS EN PÉRIODE ANTÉNATALE DONT UNE PREMIÈRE DESCRIPTION DE MONOSOMIE PARTIELLE EN MOSAÏQUE

Mylène Valduga (1), Véronique Latger-Cannard (2), Bruno Leheup (3), Jacqueline Vigneron (4), Marie-José Grégoire (1), Pierre Droullé (5), Alain Miton (6), Pierre Bordigoni (7), Philippe Jonveaux (1)
(1) Laboratoire de génétique, CHU Nancy-Brabois ; (2) Laboratoire d'Hématologie, CHU Nancy-Brabois ; (3) Service de médecine infantile 3 et de génétique clinique, CHU Nancy-Brabois ; (4) Service de néonatalogie, Maternité régionale de Nancy ; (5) Service d'échographie fœtale, Maternité régionale de Nancy ; (6) Service de médecine fœtale, Maternité régionale de Nancy ; (7) Service de médecine infantile 2, CHU Nancy-Brabois

Le syndrome de Jacobsen est associé à une délétion distale du bras long du chromosome 11 avec un point de cassure variable en 11q23, 11q24 ou 11q25. Les manifestations cliniques regroupent un retard de croissance post-natal, un retard mental souvent modéré, une dysmorphie cranio-faciale avec une trigonocéphalie, un front large et bombant, un hypertélorisme, une micrognathie, des oreilles avec un lobule antéversé et un ourlet large et aplati et inconstamment une cardiopathie congénitale, et des anomalies des extrémités. Le tableau malformatif s'accompagne dans environ la moitié des cas d'une thrombocytopénie de type « Paris-Trousseau » avec dysmégacaryocytopoièse et présence d'une sous-population plaquettaire avec un granule alpha géant. La majorité des cas est diagnostiquée chez le nouveau-né ou durant l'enfance. Les situations prénatales sont beaucoup plus rarement décrites dans la littérature. Nous rapportons ici deux cas diagnostiqués en période prénatale dont un cas inédit de monosomie partielle 11qter en mosaïque. Cas 1 : Une amniocentèse réalisée pour signe d'appel biologique révèle une formule fœtale masculine : mos 46,XY,del(11)(q23) [3] / 46,XY [16] confirmée par hybridation in situ à l'aide d'une sonde subtélomérique 11qtel (VYSIS-ABBOTT). Le suivi échographique montre l'apparition d'une macrocranie relative avec un front haut, une petite poche gastrique et une avance de la maturation osseuse. La ponction de sang fœtal ne détecte pas de population cellulaire avec la délétion 11qter en revanche retrouve les stigmates de la thrombopathie « Paris-Trousseau » avec présence de macroplaquettes et de granules alpha géants. Cas 2 : Une amniocentèse réalisée à 38 SA pour retard de croissance intra-utérin harmonieux, oligoamnios et asymétrie de taille des cavités cardiaques met en évidence la formule chromosomique homogène : 46,XY,r(11)(p15q24) [20]. L'hybridation in situ à l'aide des sondes subtélomériques 11ptel et 11qtel (VYSIS-ABBOTT) révèle uniquement la délétion de la région sutélomérique du bras long du chromosome 11, et au seuil de résolution de la technique d'hybridation génomique comparative (CGH) une probable délétion de la bande 11q23.3. Rapidement après sa naissance, l'enfant qui présente une discrète dysmorphie cranio-faciale est hospitalisé en service de pédiatrie néonatale en raison d'une pancytopénie progressive. Ces deux observations de diagnostic prénatal sont comparées à celles décrites dans la littérature.

Mots-clés : syndrome de Jacobsen, délétion 11q23-q24, diagnostic prénatal.

■P63 / 419. UNE CAUSE RARE D'AKINÉSIE FŒTALE : LA DERMOPATHIE RESTRICTIVE

L. Lœuillet (1), L. Pasquier (2), L. Lassel (2), H. Duval (1), J. Milon (2), A. De Sandre (3), N. Levy (3), S. Odent (2), P. Poulain (2)
(1) Département d'Anatomie Pathologique, CHU de Rennes ; (2) Centre Pluridisciplinaire de Diagnostic Prénatal de Rennes ; (3) Laboratoire de Génétique Moléculaire, Hôpital Timone, Marseille

La dermopathie restrictive est une génodermatose léthale à transmission autosomique récessive. C'est une maladie rare, responsable de l'apparition in utero d'une séquence d'akinésie fœtale. Le diagnostic prénatal peut être mis en défaut, les anomalies repérables en échographie n'apparaissant en général qu'après 22-24 SA. L'observation que nous rapportons concerne un fœtus pour lequel a été réalisée une interruption médicale de grossesse à 34 semaines d'amenorrhée sur signes d'appel échographique : découverte à 32 semaines d'aménorrhée d'un immobilisme fœtal avec hydramnios. Les recherches virales sur liquide amniotique sont négatives, le caryotype est normal. Il s'agit d'une première grossesse d'un jeune couple non consanguin, sans antécédent familial contributif. La maman ne présente pas de signe évocateur d'une maladie de Steinert. Chez ce fœtus de sexe masculin dont les paramètres biométriques sont à la limite de la normale, l'examen fœtopathologique montre une dysmorphie crânio-faciale (fontanelle antérieure très large, hypertélorisme, implantation basse des oreilles), une arthrogrypose, une peau très anormale, sans aucune élasticité, ponctuée de tâches purpuriques, une chevelure abondante avec une implantation basse sur les tempes et une maturation osseuse avancée. L'examen histologique de la peau montre un épiderme hyperplasique avec une hyperkératose orthokératosique, une dilatation des ostium folliculaires. Le derme est aminci, constitué essentiellement par des fibres collagènes orientées parallèlement à la surface. Sur les colorations spéciales, les fibres élastiques sont raréfiées. L'hypoderme est anormalement développé constitué de lobules adipeux hyperplasiques. L'hypothèse d'une dermopathie restrictive est confirmée par l'analyse moléculaire réalisée chez les parents. Ils sont porteurs l'un et l'autre d'une mutation hétérozygote dans le gène ZMPSTE24 (FACE1), connue pour être responsable à l'état homozygote du phénotype dermopathie restrictive. L'enzyme ZMPSTE24 permet, en conditions normales, la maturation du précurseur pré-lamine A en lamine A. En l'absence de cette activité enzymatique, le précurseur s'accumule dans les noyaux cellulaires où il exerce un effet toxique. La dermopathie restrictive est une laminopathie d'identification récente, pour laquelle il existe une hétérogénéité génétique. Certains cas sont liés à une mutation du gène LMNA. Un diagnostic prénatal précoce peut maintenant être proposé à ce couple compte-tenu du risque de récidive de 25 % à chaque grossesse.

Mots-clés : dermopathie restrictive, akinésie fœtale, gène ZMPSTE24.

■P64 / 427. APPLICATION DE LA MÉTHODE D'AMPLIFICATION PAR DÉPLACEMENT MULTIPLE AU DIAGNOSTIC PRÉIMPLANTATOIRE DU SYNDROME DE L'X-FRAGILE

P. Burlet (1), N. Frydman (2), N. Gigarel (1), R. Gesny (1), B. Aral (1), G. Tachdjian (2), V. Kerbrat (3), E. Feyereisen (3), J.-P. Bonnefont (1), R. Frydman (3), A. Munnich (1), J. Steffann (1)
(1) Service de génétique et unité Inserm U393, Hôpital Necker-Enfants Malades, 75015 Paris, France ; (2) Biologie de la reproduction, Hôpital Antoine-Béclère, 92141 Clamart, France ; (3) Service de gynécologie-obstétrique, Hôpital Antoine-Béclère, 92141 Clamart, France

Le syndrome de l'X-Fragile est la cause la plus fréquente de retard mental lié au chromosome X. Il est habituellement causé par l'expansion d'une séquence répétée de triplets CGG située dans le premier exon du gène FMR1, associée à une méthylation de l'exon 1 et du promoteur FMR1 avec extinction de l'expression génique « mutation complète ». Le risque d'enfant porteur d'une mutation complète chez un couple dont la femme est porteuse d'une grande prémutation ou d'une mutation complète est de 1/2. L'expression de la maladie est variable particulièrement chez les individus de sexe féminin. Ainsi, un fœtus fille porteur d'une mutation complète n'exprimera un retard mental que dans 2/3 à 3/4 des cas. L'absence de critères prédictifs de survenue d'un retard mental chez un fœtus fille porteur d'une mutation complète rend difficile pour le couple la décision de poursuite ou d'interruption de grossesse de sorte que les couples considèrent favorablement l'approche du diagnostic préimplantatoire (DPI) par rapport au diagnostic prénatal. Le DPI repose sur l'analyse génétique d'une ou deux cellules (blastomère) prélevées sur des embryons âgés de trois jours grâce à des techniques de PCR extrêmement sensibles. Il permet de ne transférer dans l'utérus des patientes que les embryons indemnes de la maladie génétique. Jusqu'à présent, l'analyse des blastomères dans le contexte de Fragilité de l'X repose sur deux approches différentes : soit la détection directe des allèles FMR1 non mutés ou « allèles normaux » par PCR utilisant des amorces localisées aux bornes de la série CGG, soit un diagnostic indirect par l'analyse de marqueurs polymorphes proches du gène FMR1. L'analyse moléculaire du gène FMR1 sur cellule unique par PCR est peu sensible du fait de la difficulté à amplifier un

grand nombre de triplets CGG. L'inconvénient principal de la méthode indirecte reste l'absence d'informativité des marqueurs dans certaines familles qui requiert une mise au point spécifique pour chaque couple. Récemment, de nouvelles méthodes d'amplification par déplacements multiples (MDA) ont montré leur capacité à produire de grandes quantités d'ADN pangénomique de haute qualité à partir d'une seule cellule, ouvrant la porte à de nouvelles possibilités diagnostiques. Dans le but d'améliorer la sensibilité et la fiabilité du diagnostic préimplantatoire de l'X-fragile, nous avons développé une analyse combinant une étude indirecte de marqueurs microsatellites avec l'étude directe des allèles CGG normaux après amplification de l'ADN cellulaire par MDA. Une mise au point préalable a consisté à mesurer sur 56 lymphocytes isolés, le taux d'amplification et le taux d'allèle drop-out (amplification artéfactuelle d'un seul des deux allèles présents dans la cellule) pour les répétitions CGG (allèles normaux), quatre marqueurs microsatellites : FRAXAC1, DXS998, DXS1215, DXS548, et pour l'amélogénine permettant de déterminer le sexe des embryons. Les taux d'amplification oscillent entre 88 et 95 % et le taux d'allèle drop-out de 4 à 34 %. Dix DPI ont été réalisés pour 5 couples à risque de transmettre un X fragile à leur descendance. Un total de 67 embryons a été analysé, dont 27 embryons avec amplification pangénomique préalable. Le taux d'amplification global a été augmenté par cette technique de 37 % à 63 %, ce qui a permis de diminuer considérablement le nombre d'embryons sans résultats (22 % des embryons contre 54 % sans amplification pan-génomique préalable). Un transfert d'embryons n'a pu être réalisé que pour 5 DPI du fait de l'absence d'embryons sains dans les autres cas, à l'origine de deux grossesses dont une est en cours. En conclusion, la MDA est un outil puissant pour le DPI de l'X fragile, et son utilisation pourra être extrapolé à d'autres pathologies dont l'analyse sur cellule unique reste problématique.

Mots-clés : X Fragile, DPI, MDA.

■P65 / 428. INTÉRÊT DE LA RECHERCHE DE L'ADN FŒTAL (SRY) DANS LE SANG MATERNEL DANS LA PRISE EN CHARGE DU DIAGNOSTIC ET DU TRAITEMENT PRÉNATAL DU DÉFICIT EN 21-HYDROXYLASE

V. Tardy (1), J.-M. Costa (2), Y. Morel (1)
(1) Laboratoire de Biochimie Endocrinienne et Moléculaire, Hôpital Debrousse, Lyon ; (2) Biologie Moléculaire, Hôpital Américain de Paris, Paris

La forme classique (FC) de déficit en 21-hydroxylase est responsable de la virilisation in utero d'un fœtus féminin. Un traitement prénatal basé sur la dexaméthasone est proposé depuis 1979 pour prévenir la virilisation, à débuter avant 8 SA pour être efficace. Les hypothétiques effets secondaires du traitement ont été seulement déduits d'expérimentations animales et des études prospectives chez les enfants traités sont en cours. Afin de limiter le traitement prénatal aux seuls fœtus féminins, il était important de pouvoir déterminer précocement le sexe fœtal. Depuis 2001, il est possible de déterminer dès 8 SA le sexe fœtal sur sérum maternel en recherchant le gène SRY d'origine fœtale. Pour l'appliquer au déficit en 21-hydroxylase et garantir l'efficacité du traitement chez une fille atteinte de FC, il était nécessaire de le valider avant 8 SA. Nous avons proposé en 2002 aux femmes enceintes à risque de FC un nouveau protocole dont les premières étapes sont primordiales : 1/ conseil génétique avant la grossesse ; 2/ consultation dès le retard des règles pour une datation échographique de la grossesse ; 3/ détermination du sexe fœtal sur sérum maternel (test SRY) entre 6,5 et 8 SA avec remise d'une prescription de dexaméthasone ; 4/ transmission du résultat du test SRY à la femme enceinte avant 8 SA pour mise en route du traitement si test négatif. Un test négatif est systématiquement contrôlé à 10 SA. Le diagnostic prénatal est proposé soit par ponction de trophoblaste (12 SA), soit par amniocentèse (16 SA). L'étude a porté sur 74 fœtus, 42 de sexe féminin et 32 de sexe masculin. La détermination précoce du sexe fœtal a été validée dans tous les cas avec un test SRY entre 6,5 et 8 SA, la seule discordance a concerné un test SRY négatif réalisé trop tôt à 5,5 SA chez un garçon. Sur les 42 fœtus féminins : le protocole a été appliqué pour 21 fœtus, 11 fœtus ont été traités avant le test SRY, 8 ont été traités après 8 SA, pour 2 fœtus le test SRY a été effectué avant 8 SA mais le traitement prénatal non mis en route (mutation de novo ou paternité différente chez le cas index). Un diagnostic prénatal a été fait pour 38 fœtus, le plus souvent sur trophoblaste (33/38). Les 5 fœtus féminins atteints de FC ont été diagnostiqués en anténatal : le protocole a été efficace pour 2 filles incluses dans le protocole tandis qu'il a été inefficace pour 2 autres qui présentaient à la naissance une fusion postérieure des grandes lèvres sans hypertrophie clitoridienne : dans un cas, le traitement n'a été commencé qu'à 9 SA malgré à un test SRY précoce, dans l'autre cas il aurait été commencé à 7 SA mais la mère n'a pas réalisé de contrôles hormonaux pendant la grossesse. Enfin, un fœtus atteint a été avorté (dexaméthasone refusée) et présentait une ambiguïté de type Prader IV. Sur les 32 fœtus masculins : le protocole a été appliqué pour 12 fœtus, 9 fœtus ont été traités avant le test SRY, 3 ont été traités avec test SRY positif (grossesse gémellaire), 8 fœtus ont eu un test SRY trop tard. Seuls 16 fœtus ont eu un diagnostic prénatal, dans la moitié des cas par amniocentèse. Parmi les 5 fœtus atteints de FC, 2 ont été diagnostiqués en anténatal ; parmi les 3 autres, un garçon avait débuté une perte de sel clinique au moment du rappel par le dépistage néonatal positif. En conclusion, cette étude a permis de valider la fiabilité du test SRY précoce à condition de le réaliser entre 6,5 et 8 SA. Le protocole a permis de ne pas traiter 12 garçons sur 32 et de mettre en route correctement le traitement prénatal chez 20 filles sur 42. Cette étude révèle qu'une étroite collaboration entre cliniciens et biologistes est indispensable pour appliquer correctement le protocole et permettre une prise en charge optimisée des femmes enceintes.

Mots-clés : 21-hydroxylase, sexe fœtal, traitement prénatal.

■P66 / 431. OPTIMISATION DU DIAGNOSTIC PRÉIMPLANTATOIRE DE DYSTROPHIE MYOTONIQUE DE STEINERT : STRATÉGIES DIAGNOSTIQUES ET CONSÉQUENCES

N. Gigarel (1), N. Frydman (2), P. Burlet (1), J.-P. Bonnefont (1), V. Kerbrat (2), G. Tachdjian (2), E. Feyereisen (3), R. Frydman (3), A. Munnich (1), P.F. Ray (4), J. Steffann (1)
(1) Service de génétique et INSERM U393, Hôpital Necker-Enfants Malades, 75015 Paris ; (2) Service de Biologie et Génétique de la reproduction, UPRES 3538, Hôpital Antoine-Béclère, 92141 Clamart ; (3) Service de gynécologie obstétrique, UPRES 3538, Hôpital Antoine-Béclère, 92141 Clamart ; (4) Département de génétique et procréation, CHU de Grenoble, 38043 Grenoble

Le diagnostic préimplantatoire (DPI) permet l'analyse génétique d'un embryon humain obtenu par fécondation in vitro. Il est réalisé au troisième jour de développement, lorsque les embryons sont au stade de 8 cellules. Une ou deux cellules sont alors prélevées et le diagnostic d'affections géniques est réalisé après amplification de l'ADN par PCR. La difficulté principale du DPI moléculaire provient du peu de matériel biologique à disposition, exposant à deux risques, à savoir un risque d'échec de PCR et un risque d'erreur de génotypage (supérieur à 9 % d'après le Consortium Européen de DPI). Pour limiter le risque d'échec, chaque test est optimisé de façon à obtenir le niveau de sensibilité requis. Le risque d'erreur est la conséquence i) de contamination par de l'ADN exogène et ii) de phénomène d'« allele drop-out » (ADO) à savoir l'amplification aléatoire d'un seul des deux allèles présents dans la cellule. Afin de prévenir ces erreurs, nous avons choisi de coupler la détection de la ou des mutations causales à l'étude de marqueurs polymorphes de type microsatellites. En montrant les deux allèles attendus, ces marqueurs permettent de dépister un phénomène d'ADO ou une contamination éventuelle (contribution bi-parentale et absence de contribution extra-parentale attendues). Cette stratégie a deux conséquences : i) le peu de matériel disponible oblige à amplifier les différentes régions d'intérêt en une seule PCR multiplex source de difficulté technique de mise au point et ii) même lorsqu'un test de multiplexage est opérationnel, le fait d'augmenter le nombre de marqueurs à tester sur une cellule peut influer le taux d'amplification, en augmentant notamment le nombre d'embryons sans résultat (augmentation du risque « d'échec »). Afin de répondre à cette question, nous avons repris rétrospectivement les résultats des DPI réalisés pour la dystrophie myotonique de Steinert. Depuis 2002, 34 DPI ont été réalisés pour 21 couples, représentant l'analyse de 155 embryons. En plus de l'analyse des triplets CTG (allèles normaux), différentes combinaisons de marqueurs (D19S112, D19S219 et D19S559) ont été testées sur les blastomères en fonction de l'informativité des familles. Les résultats des DPI effectués grâce à l'analyse de 2 marqueurs (98 embryons) ont été comparés aux résultats obtenus avec 3 marqueurs (57 embryons). L'ajout d'un marqueur polymorphe à la PCR, ne modifie ni le taux d'amplification des blastomères (85,3 % pour 3 marqueurs contre 85,7 % pour 2 marqueurs), ni le nombre d'embryons sans résultat après analyse (5,3 % contre 5,1 %), ni même de façon significative le taux d'ADO et/ou de recombinaison observée (10,5 % contre 9,2 %). Par contre, le nombre de résultats mettant en évidence une probable aneuploïdie (le plus souvent une trisomie 19) est augmenté dans le cas d'une étude avec 3 marqueurs (7 % contre 1 %). Ceci implique que le nombre d'embryons avec un résultat de statut sain ou atteint est plus faible (77,2 % contre 84,7 %) et celui d'embryons « à résultats discordants » augmente. En conclusion, l'addition de marqueur polymorphe à une PCR multiplex réalisée sur cellule unique, ne semble pas modifier le taux d'amplification, mais permet d'améliorer de façon significative l'interprétation des résultats obtenus.

Mots-clés : DPI, Steinert, PCR multiplex.

■P67 / 462. BRIÈVETÉ DES MEMBRES : UN SIGNE D'APPEL ANTÉNATAL DU SYNDROME DE BECKWITH-WIEDEMANN

A. Paubel (1), Ch. Paillet (2), P. Hervé (3), F. Perrotin (3), M.-H. Saint-Frison (4), M. Gonzales (4), Ch. Gicquel (5), S. Rossignol (5), A. Toutain (1)

(1) Service de Génétique, CHU Bretonneau, Tours ; (2) Groupement d'Imagerie Médicale, CHU Bretonneau, Tours ; (3) Centre de Diagnostic Prénatal et de Médecine Fœtale, CHU Bretonneau, Tours ; (4) Unité de Fœtopathologie, Service d'Embryologie Pathologique et Cytogénétique, CHU Saint-Antoine, Paris ; (5) Laboratoire d'Explorations Fonctionnelles Endocriniennes, CHU Trousseau, Paris

Le syndrome de Beckwith-Wiedemann (SBW) est un syndrome d'avance staturale pré- et postnatal, associé à une viscéromégalie, une omphalocèle, un hyperinsulinisme néonatal et un risque tumoral accru. Il est dû à une dysrégulation de l'expression de gènes soumis à empreinte de la région 11p15, de mécanismes moléculaires complexes et variés. Les signes les plus souvent rapportés in utero sont l'hydramnios, l'hypertrophie placentaire, la macrosomie, notamment l'augmentation du diamètre abdominal transverse (DAT), les anomalies rénales, la viscéromégalie, la macroglossie et les anomalies de paroi abdominale. L'augmentation de l'alphafœtoprotéine (AFP) est constante mais non spécifique. La taille des membres n'est quasiment pas discutée dans la littérature. Elle est le plus souvent rapportée comme normale mais cependant inférieure au diamètre bipariétal (BIP) et au DAT. Nous présentons deux observations anténatales de SBW avec membres courts. Cas n° 1 : Dès 16 SA, La taille des membres (5e-50e percentile) contraste avec le BIP et le DAT (50e-90e p). À 22 SA, le fémur est inférieur au 5e p, les autres mensurations restant au 50e p. Un SBW est évoqué sur une omphalocèle, un hydramnios, un placenta épais, de gros reins hyperéchogènes, une AFP à 3,32 MoM et une bêta HCG à 9,38 MoM. Après IMG à 23 SA, le diagnostic est confirmé, malgré l'absence de macrosomie, sur la dysmorphie faciale, la macroglossie, des indentations des lobes des oreilles, une hypertrophie rénale et pancréatique, des surrénales hypertrophiques congestives avec cytomégalie et une déméthylation de KCNQ10T. Cas n° 2 : Le fémur est mesuré au 25e p à 21 SA, puis au 5e p à 26 SA et 32 SA contrastant avec un BIP et un DAT supérieurs au 97e p. Le SBW est suspecté sur l'association d'un hydramnios présent dès 21 SA, une protrusion linguale, une AFP à 5,11 MoM et une bêta HCG à 5,15 MoM. Le diagnostic est confirmé à la naissance sur la macrosomie (poids au 90e p), la dysmorphie faciale, la macroglossie, des sillons des lobes des oreilles, une hernie de la ligne blanche et une hépatosplénomégalie, alors que la taille est au 25e-50e p. Ces observations illustrent le caractère inconstant de la macrosomie fœtale à un stade précoce de la grossesse (cas n° 1), et de l'avance staturale à la naissance (cas n° 2). Surtout, elles montrent qu'une brièveté des membres peut être un signe anténatal de SBW qui doit faire suggérer le diagnostic en présence de signes associés évocateurs.

Mots-clés : syndrome de Beckwith-Wiedemann, diagnostic anténatal, brièveté des membres.

■P68 / 470. RÉPERCUSSIONS NEUROANATOMIQUES ET NEUROMÉTABOLIQUES D'UNE DÉLÉTION DU GÈNE MECP2 DANS UN MODÈLE MURIN DU SYNDROME DE RETT, ÉTUDIÉES PAR DES TECHNIQUES DE RÉSONANCES MAGNÉTIQUES CÉRÉBRALES

Véronique Saywell (1)*, Angèle Viola (2)*, Sylviane Confort-Gouny (2), Yann Le Fur (2), Laurent Villard (1), Patrick Cozzone (2)

(1) INSERM U491, 27, bd Jean-Moulin, Faculté de Médecine de la Timone, Université de la Méditerranée, 13385 Marseille Cedex 5, France ; (2) Centre de Résonance Magnétique Biologique et Médicale, UMR CNRS 6612, Faculté de Médecine de la Timone, Université de la Méditerranée, 13385 Marseille Cedex 5, France

Le syndrome de Rett (SR) est une maladie neurologique sévère touchant presque exclusivement les femmes et qui résulte de mutations dans le gène codant pour la Methyl-CpG-binding protein2 (MeCP2). Cette pathologie se caractérise par un développement normal in utero et jusqu'à 6-18 mois après la naissance, suivi par une période de régression pendant laquelle les acquisitions, telles que le langage ou la marche, sont perdues. Les patientes atteintes du SR présentent des anomalies structurelles du cerveau avec notamment une microcéphalie acquise, ainsi qu'une diminution de la complexité de l'arborisation dendritique et de la taille des neurones. Des analyses par spectroscopie de résonance magnétique nucléaire ont été réalisées chez ces patientes et ont mis en évidence une réduction de la concentration en N-acétylaspartate, ainsi qu'une augmentation de la concentration en choline. Toutefois ces explorations n'ont été effectuées que sur un nombre restreint de patientes et à des âges différents. Notre étude, utilisant l'imagerie par résonance magnétique nucléaire (IRM) couplée à la spectroscopie par résonance magnétique nucléaire (SRM), constitue la première caractérisation in vivo, d'un des modèles murins du SR, du phénotype cérébral associé à une délétion du gène *MECP2*. Les études d'IRM nous ont permis de détecter des altérations structurales chez ces souris avec notamment une réduction globale de la taille du cerveau, du cervelet et du cortex moteur. Grâce à la SRM du proton et du phosphore, nous avons mis en évidence des anomalies neurochimiques dans les niveaux de N-acetylaspartate, de choline, de myo-Inositol et de glutamine/glutamate, suggérant un dysfonctionnement dans le métabolisme neuronal et astrocytaire, mais également des anomalies des niveaux de la phosphocreatine et de l'ATP, reflétant une altération du métabolisme énergétique cérébral de ces souris. Ces résultats sont cohérents avec ce qui était déjà connu chez les patientes atteintes du SR et nous ont permis de mettre en évidence de nouvelles anomalies chez les souris Mecp2-/y, comme l'altération du métabolisme énergétique, anomalies permettant d'émettre des hypothèses quant à la fonction de la protéine MeCP2 et à son implication dans le phénotype du syndrome de Rett.

Mots-clés : syndrome de rett, mecp2, résonance magnétique nucléaire.

■P69 / 473. DIAGNOSTIC PRÉNATAL D'UN MARQUEUR EN MOSAÏQUE ET CORRECTION DE TRISOMIE : À PROPOS DE DEUX OBSERVATIONS

V. Koubi (1), M. Montagnon (1), P. Kleifinger (1), V. Geromel (1), F. Vialard (2), S. Szpiro-Tapia (1), A. Bazin (1)

(1) Département de Génétique, laboratoire Pasteur-Cerba, Cergy-Pontoise ; (2)Laboratoire de Cytogénétique, CHI Poissy-Saint-Germain, Poissy

L'association d'un marqueur surnuméraire et d'une disomie uniparentale (DUP) suggère fortement l'hypothèse d'une correction de trisomie à l'origine de la formation du marqueur. Nous rapportons deux observations de diagnostic prénatal sur liquide amniotique d'un petit marqueur surnuméraire de novo en mosaïque. 1re observation : Le caryotype fœtal, réalisé sur liquide amniotique pour risque sérique maternel de trisomie 21, montre une mosaïque associant trois lignées cellulaires : une première lignée comportant un marqueur surnuméraire dérivé du chromosome 15, une seconde lignée trisomique 15 et une troisième lignée normale (47,XX,+mar.ish der(15)(SNRPN-, D15Z1+)[16]/47,XX,+15[1]/46,XX[78]) Les caryotypes parentaux sont normaux. L'étude de la méthylation du locus SNRPN met en évidence une absence de contribution paternelle et fait poser le diagnostic de syndrome de Willi Prader. Après interruption médicale de grossesse, l'examen fœtopathologique montre un phénotype associant des éléments du syndrome de Willi Prader et de la trisomie 15 en mosaïque. L'analyse cytogénétique retrouve la trisomie 15 en mosaïque dans différents tissus fœtaux. 2e observation : Le caryotype fœtal, réalisé sur liquide amniotique, pour fémur au 3e percentile met en évidence une mosaïque associant deux lignées : une première lignée comportant un petit marqueur surnuméraire dérivé du chromosome 8 et une seconde lignée normale (47,XX,+mar.ish der (8)(WCP8+, D8Z1+)[32]/46,XX[9]). Les caryotypes parentaux sont là aussi normaux. Après IMG, l'examen fœtopathologique décrit un retard de croissance intra-utérin sévère, des éléments dysmorphiques, et une CIV. L'examen cytogénétique de tissus fœtaux met en évidence une trisomie 8. Pour chacune de ces observations, l'analyse de la ségrégation des microsatellites parentaux montre une unidisomie maternelle qui, associée à la présence de la trisomie tissulaire, suggère à l'origine des deux marqueurs observés un mécanisme de correction de trisomie par délétion partielle de l'un des homologues. Ces observations soulignent l'intérêt, en présence d'un marqueur surnuméraire de novo, de rechercher une disomie uniparentale, séquelle d'une correction de trisomie. La confirmation d'une DUP et/ou la persistance à l'état cryptique d'une trisomie résiduelle rendraient compte dans ces conditions du risque de déficience mentale associé à certains marqueurs surnuméraires de petite taille apparus de novo, et souvent considérés en eux-même comme de bon pronostic. Nous discutons par ailleurs de la contribution respective du marqueur et de la lignée trisomique résiduelle au phénotype décrit par l'examen fœtopathologique.

Mots-clés : marqueur chromosomique, disomie uniparentale, correction de trisomie.

■P70 / 474. ANALYSE FONCTIONNELLE DES ISOFORMES DE c-Myc HUMAIN CHEZ LE MODÈLE DROSOPHILE

C. Benassayag (1), L. Montero (4), N. Colombié(3), P. Gallant(2), D. Cribbs(1), D. Morello (1)

(1) Centre de Biologie du développement, UMR5547, Université Paul-Sabatier, Toulouse III ; (2) Zoologisches Institut, Universität Zürich, Winterthurerstrasse 190, 8057 Zürich, Switzerland ; (3) Institut de Sciences et Technologies du Médicament de Toulouse, UMR 2587,

CNRS-Pierre-Fabre, 3, rue des Satellites, 31400 Toulouse, France ; (4) Present address : Gema Biotech S.A. Marcelo T. de Alvear 2289 1122 Buenos Aires, Argentina

Chez les Vertébrés, l'oncogène *c-Myc* est associé à la formation de nombreux cancers et joue un rôle dans le contrôle de la croissance cellulaire et de l'apoptose. Il code pour 3 isoformes protéiques dont le rôle n'a jamais été adressé in vivo. Nous avons utilisé la drosophile comme organisme modèle pour étudier leur fonction in vivo. L'identification et l'analyse d'un mutant létal de dMyc, l'homologue chez la drosophile du proto-oncogène vertébré *c-Myc*, a permis d'exprimer les 3 isoformes de *c-Myc* humain chez la drosophile à la place de *dMyc* et de comparer in vivo leur différentes fonctions à un niveau cellulaire et organismique. Dans un premier temps, nous avons établi que les isoformes de *c-Myc* humain étaient capables de remplacer in vivo la fonction de dMyc en restaurant la viabilité des mutants dMyc létaux. Ce travail a permis de montrer que les fonctions de *Myc* humain et drosophile sont conservées malgré une conservation faible de séquence d'acides aminés et ainsi de confirmer la pertinence biologique de l'analyse de Myc humain chez la drosophile. Puis, nous avons comparé chez la drosophile les potentialités relatives des 3 isoformes humaines de *c-Myc* à (i) restaurer la viabilité des mutants létaux de *dMyc* (ii) activer les gènes cibles de d-Myc in vivo (iii) induire la croissance cellulaire et l'apoptose. La différence fonctionnelle essentielle entre ces 3 isoformes réside dans leur capacité à induire l'apoptose. Notamment, l'isoforme délétée de sa partie NH2 terminale (c-MycS) est toujours capable de stimuler la croissance cellulaire mais est incompétente dans l'induction d'apoptose. Cette conservation de fonction permet d'envisager une étude de *c-Myc* et de son réseau fonctionnel in vivo chez un organisme intégré tel que la drosophile. De plus, ce travail pourrait permettre d'envisager que le ratio de ces différentes isoformes dans des cellules tumorales humaines controlerait la capacité de ces tumeurs à induire de l'apoptose dans les cellules saines avoisinantes.

Mots-clés : drosophile, *c-Myc*, oncogène.

■P71 / 481. GLYCOGÉNOSE TYPE Ia : DIAGNOSTIC PRÉNATAL

Wafa Cherif (1), Emna Barkaoui (2), Neji Tebib (2), Cherine Charfedine (1), Sonia Chakroun (1), Sonia Adbelhak (1), Marie Françoise Ben Dridi (2)
(1) Molecular investigation of Genetic Orphan Diseases, Institut Pasteur de Tunis, Tunisia ; (2) Service de pédiatrie du CHU la Rabta Tunis, Tunisia

La glycogénose de type Ia constitue 80 % des glycogénoses de type I, Sa transmission est autosomique récessive. Cette forme sévère de glycogénose est due à un déficit de l'enzyme G-6-Pase. Elle est caractérisée sur le plan clinique par une hépatomégalie majeure et une hypoglycémie associée à une acidose lactique. La confirmation du diagnostic est effectuée par dosage enzymatique sur une biopsie de foie. Récemment, l'étude de la base moléculaire de cette affection chez les patients tunisiens a démontré que la majorité des malades portent la mutation R83C au niveau de l'exon 2 du gène *G6PC* ; en effet sur 9 patients exploités, 5 portent la mutation R83C à l'état homozygote et un patient porte cette mutation à l'état hétérozygote. Compte tenu de la fréquence de la mutation R83C parmi les patients tunisiens, un arbre décisionnel a été élaboré pour la démarche diagnostique de cette affection en Tunisie. Dans le but de confirmer le diagnostic chez 5 nouveaux-nés qui présentent un tableau clinique évocateur d'une glycogénose, Ia nous avons procédé à un dépistage direct de la mutation R83C par la technique de séquençage direct. Le résultat a montré que tous les patients présentent cette mutation à l'état homozygote. Ces résultats ont permis d'élaborer un test de diagnostic de certitude non agressif par le biais de la biologie moléculaire et d'éviter ainsi la recherche de l'activité enzymatique sur biopsie de foie. Nous proposons donc comme outil de diagnostic, le dépistage direct de cette mutation chez les populations méditerranéennes.

Mots-clés : glycogénose Ia, mutation R83C, diagnostic prénatal.

■P72 / 483. DEVENIR DES HYGROMAS COLLI. ANALYSE D'UNE SÉRIE DE 316 OBSERVATIONS CONSÉCUTIVES

J. Flori, E. David, B. Viville, J.J. Favreau, C. Vayssière, M. Kohler, F. Girard-Lemaire, I. Nisand, B. Langer, R. Favre, E. Flori
Centre Pluridisciplinaire de Diagnostic Prénatal de Strasbourg

L'hygroma colli, mis en évidence par l'échographie du premier trimestre de la grossesse, a un pronostic extrêmement variable. C'est parfois le signe révélateur d'une affection très grave, voire létale alors que, dans d'autres cas, l'enfant a un développement tout à fait normal. Dans une série de 1 287 prélèvements de trophoblaste consécutifs réalisés pour signes d'appel échographiques entre août 1989 et août 2001, on dénombre 316 hygroma colli (316/1287, soit 24,5 %). Dans ce groupe, il y a eu deux échecs de prélèvement et le caryotype s'est révélé anormal dans 116 cas (116/316, soit 36,7 %) avec, en particulier, 44 trisomies 21, 22 trisomies 18, 21 syndromes de Turner et 9 trisomies 13. Parmi ces 116 hygromas avec anomalie du caryotype fœtal, on note 105 interruptions médicales de grossesse, 8 arrêts spontanés de grossesse et 3 naissances d'enfants vivants (2 trisomies 21 et un enfant 47,XYY). Parmi les 198 hygromas colli à caryotype normal, on compte 151 naissances, 7 fausses couches, 2 morts in utero, 1 interruption volontaire de grossesse et 31 interruptions médicales de grossesse. Six issues de grossesse sont inconnues. Les interruptions médicales de grossesse avec un caryotype normal sont en général expliquées par l'existence d'un ensemble polymalformatif comportant souvent une cardiopathie. Sur les 151 enfants nés avec un caryotype fœtal normal, trois sont décédés (2 %) ; un est mort né par décollement prématuré du placenta ; un autre, présentant une arthrogrypose, est décédé dans la période néonatale et un ancien prématuré est décédé à 8 mois d'une bronchiolite. Seize enfants sont considérés comme perdus de vue mais on sait qu'ils n'ont posé aucun problème pendant la période néonatale. Pour 7 enfants, l'analyse du suivi n'est pas complètement terminée. Vingt-six enfants (26/151, soit 17,2 %) posent ou ont posé des problèmes dont certains ont pu être sévères et d'autres bénins. Il y a dix cardiopathies (5 défauts septaux fermés spontanément et 5 anomalies qui ont dû être opérées), 4 syndromes malformatifs suspectés ou confirmés (un syndrome de Poland, un syndrome de Noonan, un syndrome de Cornelia de Lange, un syndrome de Stickler) et 8 cas de pathologies neurologiques (absences, convulsions, ataxie, hémiplégie, amblyopie, paralysie des paupières, troubles du langage et du comportement). On recense encore cinq autres anomalies : il s'agit d'une duplication des voies urinaires avec reflux chez l'enfant qui présente par ailleurs une amblyopie, une sténose du pylore, une hernie inguinale droite, une ectopie testiculaire unilatérale et une imperforation des choanes. Enfin, d'après les parents ou les médecins traitants, 98 enfants (98/151, soit 64,9 %) âgés de 4 à 15 ans au moment de l'enquête vont bien. Si l'on tient compte des cinq enfants qui présentaient des défauts septaux spontanément fermés et des trois enfants qui présentaient une hernie inguinale, une ectopie testiculaire et une sténose du pylore, que l'on peut considérer comme des anomalies bénignes, fréquentes et peu spécifiques, on peut considérer que 106 enfants (106/151, soit 70 %) ont actuellement une évolution normale. La mise en évidence d'un hygroma colli doit conduire à la réalisation d'un caryotype fœtal et à un suivi échographique approfondi de la grossesse. Ces résultats montrent qu'en l'absence d'anomalies chromosomiques et échographiques associées à l'hygroma – ce qui peut être difficile à affirmer – il paraît licite de ne pas recourir trop rapidement à une interruption médicale de grossesse.

Mots-clés : diagnostic prénatal, hygroma colli, villosités choriales.

■P73 / 1008. DIAGNOSTIC PRÉ-IMPLANTATOIRE DE LA MALADIE DE VON-HIPPEL LINDAU

Anne Girardet (1), Céline Fernandez (1), Christine Coubes (2), Samir Hamamah (3), Hervé Déchaud (4), Mireille Claustres (1)
(1) Laboratoire de Génétique moléculaire, CHU de Montpellier ; (2) Service de Génétique Médicale, CHU de montpellier ; (3) Laboratoire de Biologie de la Reproduction B, CHU de Montpellier ; (4) Service de Gynécologie Obstétrique, CHU de Montpellier

La maladie de von-Hippel Lindau (VHL) est une affection héréditaire de transmission autosomique dominante, relativement rare mais pas exceptionnelle puisque son incidence est estimée à environ 1/36 000 naissances. Six lésions majeures caractérisent cette maladie : hémangioblastome du système nerveux central et de la rétine, tumeur du sac endolymphatique, phéochromocytome, cancer à cellules claires et kystes rénaux, kystes et tumeurs neuroendocrines du pancréas. Les premières manifestations cliniques apparaissent généralement entre 15 et 35 ans, avec une pénétrance complète de la maladie à l'âge de 60 ans. Le cancer du rein est l'une des principales causes de décès en raison d'un diagnostic souvent tardif. Une demande de diagnostic pré-implantatoire (DPI) nous a été faîte par un couple dont le conjoint, atteint de la maladie de von-Hippel Lindau, présente la mutation c.506T>C dans l'exon 3 du gène VHL. Deux interruptions médicales de grossesse avaient déjà été pratiquées chez ce couple après la réalisation d'un diagnostic prénatal ; l'indication de DPI a été retenue par notre centre. Nous avons donc élaboré un protocole de PCR unicellulaire permettant d'analyser simultanément la mutation c.506T>C (qui abolit un site de restriction pour l'enzyme BfaI.) ainsi que deux marqueurs microsatellites proches du gène VHL. Ce protocole a été développé et validé sur environ 150 lymphocytes isolés du couple ; les bons rendements d'amplification et de détection de la mutation causale et des différents allèles des polymorphismes étudiés nous ont permis de réaliser un cycle de DPI chez ce couple. Neuf embryons ont été biopsiés le 3e jour après la fécondation par ICSI (J3) ; l'analyse génétique a révélé la présence de deux embryons sains qui ont été transférés à J4, et une grossesse est actuellement en cours.

Mots-clés : DPI, Von-Hippel Lindau, cancer.

■P74 / 1020. DIAGNOSTIC PRÉNATAL DE DÉLÉTIONS 1q42-qter

S. Julia (1), M.C. Vincent (1), S. Kessler (2), M.F. Sarramon (2), D. Carles (3), J. Aziza (4), Dulac Y. (5), P. Calvas (1), G. Bourrouillou (1)
(1) Service de génétique médicale, Hôpital Purpan, Toulouse, France ; (2) Fédération de Gynécologie-Obstétrique, Hôpital Paule-de-Viguier, Toulouse, France ; (3) Service d'Anatomie Pathologique, Groupe Hospitalier Pellegrin, Bordeaux, France ; (4) Service d'Anatomie Pathologique, Hôpital Purpan, Toulouse, France ; (5) Unité de cardiologie pédiatrique, Hôpital des Enfants, Toulouse, France

La délétion 1q42 détermine un phénotype comportant un retard neuromoteur, une épilepsie, une microcéphalie, une dysmorphie crâniofaciale particulière (brachy-microcéphalie, visage rond et plat, fentes palpébrales antimongoloides, hypertélorisme, épicanthus, nez bulbeux), des anomalies des extrémités, une cardiopathie, une agénésie du corps calleux et des anomalies génitales chez le garçon. La majorité des cas est dépistée dans l'enfance et survient de novo. Le diagnostic prénatal de délétion 1q terminale n'est pas commun. Nous rapportons le diagnostic prénatal de deux cas détectés, au second trimestre suite à la visualisation échographique d'un retard de croissance intra utérin, d'une dysmorphie crâniofaciale et d'anomalies des extrémités. Dans le premier cas les analyses cytogénétiques classiques et moléculaires retrouvent une monosomie 1q42 et une trisomie 4q partielle résultant de la transmission déséquilibrée d'une translocation maternelle 46,XX,t(1;4)(q42.3;q28). Le deuxième cas correspond à une monosomie 1q42 et une trisomie 18q terminale, secondaire à la transmission d'une translocation paternelle 46,XX,t(1;18)(q42.2;q21.2). L'examen fœtopathologique confirme la présence des malformations et permet de décrire la dysmorphie crâniofaciale. Ces deux cas illustrent le rôle de l'échographie dans le diagnostic d'anomalies cytogénétiques et la prévention de la transmission de réarrangements chromosomiques familiaux.

Mots-clés : délétion 1q42, réarrangements chromosomiques familiaux, diagnostic prénatal.

■P75 / 1027. ÉTUDE D'UN NOUVEAU GÈNE INTERROMPU CHEZ UN FŒTUS PRÉSENTANT UNE POLYMICROGYRIE

Vincent Cantagrel (1), Chantal Missirian (2, 1), Carlos Cardoso (1), Nicole Philip (2, 1), Dominique Figarella-Branger (3), Carla Fernandez (3), Anne Moncla (2, 1), Laurent Villard (1)
(1) Inserm U491, Faculté de médecine de la Timone, 27, bd Jean-Moulin, 13385 Marseille, France ; (2) Département de génétique médicale, Hopital des enfants de la Timone, Marseille, France ; (3) Biopathologie Nerveuse et Musculaire, Faculté de Médecine La Timone, Marseille, France

La polymicrogyrie (PMG) est une anomalie de développement du cortex cérébral, celui-ci est alors formé de nombreuses petites circonvolutions (ou gyri). Ce cortex cérébral, anormalement plissé est aussi caractérisé par une perte de son organisation cellulaire en 6 couches. Cette anomalie est généralement accompagnée de retard mental et d'épilepsie. L'étiologie de cette malformation congénitale est hétérogène, l'existence d'une base génétique a été démontrée avec l'identification récente d'un gène responsable d'une forme de PMG : GPR56 (Piao *et al.*, 2004). Nous étudions le cas d'un fœtus de 33 semaines présentant une hydrocephalie et une syndactylie. L'examen neuropathologique a révélé la présence d'une gliose astrocytaire sous épendymaire associée à un excès de vascularisation, un cortex cérébral présentant une PMG prédominante au niveau occipital ainsi que des hétérotopies neuronales. Le caryotype de ce fœtus a mis en évidence une translocation chromosomique balancée, de novo (t(2;7)(q35;p22)). Le séquençage des points de cassure de cette translocation indique qu'il n'y a pas de gène dans la région interrompue en 7p22 mais qu'un gène encore non caractérisé est cassé par le point de cassure en 2q35. L'interruption de ce gène en fait un très bon candidat pour être impliqué dans la mise en place du cortex cérébral. L'étude de son expression au cours du développement murin et humain est en cours ainsi que la recherche de mutations de ce gène chez des cas spodariques de patients présentant une polymicrogyrie.

Mots-clés : remaniement chromosomique, dysplasie corticale, migration

■P76 / 1059. DYSTROPHIE NEURITIQUE ET ALTÉRATION DU TRANSPORT AXONAL DANS UN MODÈLE MURIN DE PARAPLÉGIE SPASTIQUE LIÉE AU GÈNE DE LA SPASTINE

C. Fassier (1)§, A. Tarrade (1)§, S. Courageot (1), D. Charvin (1), A. Thorel (2), N. Roblot (1), A. Dierich (3), J. Melki (1)
(§) Contribution égale des auteurs ; (1) Laboratoire de Neurogénétique Moléculaire, INSERM E-223, Université d'Évry-Val-d'Essonne, 91057 Évry, France ; (2) Centre des Matériaux, Évry, France ; (3) IGBMC, Illkirch, France

Les Paraplégies Spastiques Héréditaires (HSP) sont des maladies neurologiques caractérisées par une dégénérescence des voies cortico-spinales et des colonnes postérieures. Ces axonopathies sont génétiquement très hétérogènes. La forme la plus fréquente de HSP (40 %) à transmission autosomique dominante est liée à des mutations de la spastine (Sp), une protéine AAA impliquée dans la cassure des microtubules. Afin d'élucider la physiopathologie de ces affections nous avons généré un modèle murin de HSP porteur d'une mutation constitutive des exons 5, 6, 7 de la Sp à l'état hétérozygote (SpDel/+) ou homozygote (SpDel/Del).
L'analyse morphologique détaillée du système nerveux central a révélé la présence anormale d'axones dystrophiques dans la substance blanche de la moëlle épinière des souris mutantes âgées de 4 mois comparées aux souris contrôles du même âge. La fréquence de ces axones dystrophiques, caractérisés par une accumulation de matériels intracellulaires, augmente significativement avec l'âge. L'examen morphologique du nerf sciatique n'a révélé quant à lui aucune anomalie chez les animaux mutants. Ces résultats indiquent que la mutation de la Sp engendre l'apparition d'une axonopathie progressive, restreinte au système nerveux central. De plus, le nombre d'axones dystrophiques dans la moëlle épinière cervicale et lombaire est significativement plus élevé chez les animaux (SpDel/Del) par rapport aux animaux (SpDel/+) du même âge. Ces résultats suggèrent que l'haploinsuffisance est probablement le mécanisme pathologique sous-tendant les HSP liées au gène SPG4. L'analyse ultrastructurale des axones dystrophiques, en microscopie électronique à transmission, révèle une accumulation anormale de neurofilaments et d'organites tels que des lysosomes, des corps denses aux électrons, des corps multivésiculaires et des mitochondries anormales au sein de l'axoplasme. Ces données suggèrent l'existence d'un défaut de transport axonal in vivo.
À partir de cultures primaires de neurones corticaux mutés pour le gène de la Sp, l'analyse du cytosquelette via l'immunodétection de la tubuline-acétylée et des neurofilaments a révélé l'existence de neurites dystrophiques. De manière consistante avec les données observées in vivo, la proportion des neurites dystrophiques est significativement plus élevée dans les cultures de neurones (SpDel/Del) que dans les cultures de neurones (SpDel/+). Enfin, l'absence de cellules gliales au sein de ces cultures souligne que cette dystrophie neuritique résulte d'une atteinte primaire des neurones. Ces résultats démontrent le rôle crucial de la Sp dans le maintien de l'intégrité neuritique.
L'ensemble de ces résultats montre pour la première fois que la mutation de la Sp engendre l'apparition d'une axonopathie progressive, restreinte au système nerveux central et caractérisée par la présence d'axones dystrophiques, témoins d'un défaut de transport axonal. De tels résultats suggèrent que l'activité de cassure des microtubules exercée par la Sp est un processus essentiel au bon fonctionnement du transport axonal et au maintien de l'intégrité de l'axone.

Mots-clés : neurodégénérescence, paraplégie spastique, modèle murin.

■P77 / 1081. LE CHIEN : APPORTS DE CE NOUVEAU MODÈLE EN GÉNÉTIQUE HUMAINE

Catherine André, Benoit Hédan, Thierry Vilboux, Thomas Derrien, Christophe Hitte et Francis Galibert
UMR 6061 CNRS, Génétique et Développement, Faculté de Médecine de Rennes

L'espèce canine comporte plus de 350 races, toutes différentes sur le plan phénotypique, comportemental et de susceptibilité aux maladies. Les affections canines d'origine génétique ont très souvent leur équivalent chez l'Homme et les maladies humaines, hétérogènes génétiquement, peuvent dans certains cas ségréger avec une incidence élevée comme autant d'entités génétiques homogènes dans une race canine donnée. En fait, chaque race canine constitue un isolat génétique similaire aux isolats humains souvent mis à contribution pour identifier les causes génétiques de maladies complexes. Face à la difficulté de recruter chez l'Homme des familles informatives pour les maladies rares et/ou complexes, le chien offre donc une alternative efficace pour constituer, à partir d'animaux repérés lors de consultations médicales vétérinaires, des pedigrees informatifs utilisables pour le clonage positionnel d'allèles morbides. Il existe déjà des exemples de maladies cliniquement homologues entre le chien et l'Homme pour lesquelles les causes génétiques ont été initialement identifiées chez le chien. Dans les cas les plus favorables, le même gène a pu être identifié ; dans les autres cas, ce sont des gènes intervenant dans la même voie métabolique ou de signalisation. La physiologie et les réponses cliniques du chien sont aussi plus proches de ceux qui prévalent chez l'Homme. À cet égard, les premiers essais de thérapie génique ou cellulaire s'avèrent très prometteurs (ex. : amaurose congénitale de Leber avec le modèle de l'atrophie de la rétine CSNB chez le Briard ou de la dystrophie musculaire de Duchenne chez le Golden retriever). De plus, en suivant le

mode de vie de l'homme depuis si longtemps, le chien partage notre environnement, exposition aux carcinogènes, alimentation, stress... et de ce fait, se trouve exposé de façon naturelle à certains facteurs impliqués dans les maladies multifactorielles humaines. Ainsi, la collecte de pedigrees d'intérêt et l'étude de maladies génétiques chez le chien ont pour double objectif de disposer de modèles pertinents pour l'identification des composantes génétiques de maladies complexes et pour le développement d'essais thérapeutiques en modèle « gros animal ». Nous avons développé et contribué au développement des ressources génomiques canines, nécessaire aux expériences de clonage positionnel : cartographie génomique, ressources en marqueurs polymorphes, séquence complète du génome, base de données et outils bio-informatiques d'analyse du génome canin... En parallèle, nous avons entrepris la recherche de gènes d'intérêt par l'approche de liaison génétique à partir de pedigree de chiens de race que nous avons recruté, dans lesquels ségrégent de façon spécifique et avec une forte incidence, des maladies génétiques homologues de maladies humaines. Nous exposerons l'intérêt que présente ce nouveau modèle en cancérologie en s'appuyant sur l'histiocytose chez le Bouvier bernois, homologue de l'Histiocytose Langerhansienne chez l'Homme et l'apport du chien pour rechercher les gènes impliqués dans des rétinites pigmentaires humaines.

Mots-clés : chien, maladies complexes, génétique.

■P78 / 1092. UN NOUVEAU MARQUEUR CARDIAQUE DE TRISOMIE 21 : L'INSERTION LINÉAIRE DES VALVES ATRIOVENTRICULAIRES SANS DÉFECT À PROPOS D'UNE SÉRIE DE 40 740 GROSSESSES

Catherine Fredouille (1, 3, 5) Jean-Éric Morice (2, 5), Marie Gonzales (3, 5), Agnes Liprandi (1), Marc Althuser (5), Florence Atger (5), Françoise Aubard (5), Françoise Aubron (5), Patrick Bailleul (5), Nicole Bargoin (5), Bruno Barthe (5), Nicole Bigi (5), Gérard Blin (5), François Brun (5), Dominique Camio (5), Brigitte Christophe (5), Danielle Combourieu (5), Corinne Courtiol (5), Michel Deshayes (5), Christine Eglin (5), Catherine Egoroff (5), Marianne Fontanges (5), Bernard Jouitteau (5), Philippe Juhel (5), Bénédicte Laplanche (5), Marie-Pascale Le Gac (5), Jean-Christophe Lefebvre (5), Dominique Marchal-Andre (5), Chantal Massias (5), Daniel Moeglin (5), Dominique Morin (5), Philippe Muller (5), Anne Pecastaing (5), Françoise Poisson (5), Christiane Ragage (5), Françoise Rauch (5), Dominique Richieu (5), Agnès Sauvadet (5), Françoise Stampf (5), Claude Vibert-guigue (5), Évelyne Vidalo (5), Édith Vuillard (5), Francoise Wentzel (5), Monique Yvinec (5), Michel Duyme (4, 5)

(1) Unité de Fœtopathologie, Service d'Anatomie Pathologique et de Neuro-Pathologie, CHU Timone, Marseille, France ; (2) Service de Gynécologie-Obstétrique, CHU de Nîmes, France ; (3) Unité de Fœtopathologie, Service de Cytogénétique, CHU Saint-Antoine, Paris, France ; (4) Laboratoire de Biostatistiques et de Recherche Clinique, Université de Montpellier 1, France ; (5) Collège Français d'Échographie Fœtale Echography

Une large étude prospective échographique a été réalisée pour tester la faisabilité et la prévalence d'un nouveau marqueur de trisomie 21. Forme mineure du spectre du canal atrioventriculaire, cette entité anatomique, jamais décrite auparavant, a été publiée en 2002 et 2005 sur des séries anatomiques de 53 et 213 cœurs de fœtus trisomiques 21. Il s'agit d'une insertion linéaire des valves atrioventriculaires ou ILVAV sans défect, au lieu de l'insertion décalée toujours observée sur les cœurs témoins. Materiel et méthode : 42 membres du Collège Français d'Échographie Fœtale, préalablement entraînés à verifier systématiquement le décalage des valves, normalement observé sur la coupe 4 cavités optimale, ont recherché une ILVAV sur toutes les échographies des 2º et 3º trimestres pratiquées de Décembre 2003 à Décembre 2004 soit sur 40 740 grossesses. Résultats : 39 835 examens ont été interprétables. Soixante trois ILVAV retrouvées ont été confirmées par un cardiopédiatre avant qu'on indique un caryotype. Il s'agissait dans 35 cas d'ILVAV sans défect : prévalence 0,8 0/00, CI 95 % : 0,6 0/00-1,2 0/00 11 avaient un caryotype normal – 3 fœtus sans aucune autre pathologie ont été considérés normaux à la naissance – les 8 autres avaient une pathologie associée. Vingt-quatre caryotypes étaient anormaux : il s'agissait : d'une déletion 8 p, et de 23 trisomies 21. Dans 12 des 23 cas, l'ILVAV était le signe d'appel décisif pour indiquer le caryotype. Conclusion : Parmi les fœtus présentant une ILVAV sans defect, 80 % étaient pathologiques et 68 % trisomiques 21. Ce marqueur à faible prévalence étant abordable après un entraînement sur la coupe échographique la plus utilisée devrait pouvoir être intégré dans le calcul de risque de t 21 au 2º et au 3º trimestre.

Mots-clés : trisomie 21, spectre du CAV, coupe 4 cavités.

■P79 / 1094. DIAGNOSTIC PRÉNATAL D'ATAXIE-TÉLANGECTASIE EN L'ABSENCE D'ANTÉCÉDENT FAMILIAL

M.C. Pellissier (1), D. Stoppa-Lyonnet (2), L. Chessa (3), A. Lauge (2), A. Liprandi (4), B. Quilichini (1), C. Toga (1), A. Moncla (1), N. Philip (1)

(1) Département de génétique, CHU la Timone, Marseille ; (2) Service de génétique oncologique, Institut Curie, Paris ; (3) Faculté de médecine, Rome ; (4) Service d'anatomo-pathologie, CHU La Timone, Marseille

Il s'agit de la première grossesse d'un couple jeune, non consanguin, adressé à 22SA devant la découverte échographique d'une malformation cardiaque fœtale avec suspicion de microcéphalie, qui justifiera l'interruption médicale de la grossesse. Le caryotype fœtal réalisé à partir de l'amniocentèse retrouve des cassures chromosomiques multiples dans presque 50 % des mitoses, sans aucune spécificité. L'autopsie retrouve une dysmorphie faciale et une cardiopathie complexe. Les explorations complémentaires sont en cours quand le couple revient avec une nouvelle grossesse pour laquelle nous proposons un caryotype fœtal par amniocentèse à 18 SA qui retrouve des cassures chromosomiques multiples dans 40 % des cellules : l'absence d'anomalie échographique nous amène à contrôler le caryotype fœtal par une seconde amniocentèse à 23 SA qui retrouve les mêmes anomalies dans 50 % des cellules. Les diagnostics évoqués sont l'Ataxie-Télangectasie ou le S de NIJMEGEN (en raison du contexte malformatif de la première grossesse) et le couple opte pour une interruption de la grossesse à 26 SA. Puis le couple revient sur sa décision et souhaite prendre un autre avis. Nous apprenons, un mois plus tard, que le caryotype fœtal réalisé sur une troisième amniocentèse pratiquée dans un autre laboratoire est normal. Le couple est alors parfaitement rassuré. Compte-tenu de nos résultats, nous poursuivons les investigations complémentaires par : – Une étude de l'expression du gène ATM qui montre une perte d'expression complète au niveau des amniocytes. – Une analyse moléculaire du gène ATM qui retrouve 2 mutations à l'état hétérozygote : IVS04 + 2T>C d'origine maternelle et IVS20+4A>G d'origine paternelle. Ces deux mutations sont associées à des anomalies des messagers ATM et peuvent donc être retenues comme causales. Nous avons pu confirmer leur présence sur l'ADN extrait des amniocytes cultivés dans le second laboratoire. Un nouveau caryotype réalisé sur ponction de sang fœtal confirme la fragilité chromosomique (test à la bléomycine). Le couple est alors informé de ce diagnostic et décide d'interrompre la grossesse à 34 SA. Cette observation illustre la difficulté voire l'impossibilité du diagnostic prénatal d'Ataxie-Télangectasie en l'absence de premier enfant atteint. De façon exceptionnelle, c'est le syndrome dysmorphique associé qui a conduit à l'indication du caryotype fœtal et à la mise en évidence de la fragilité chromosomique. Nous faisons l'hypothèse que le premier fœtus était atteint d'une AT Fresno, variant exceptionnel de l'AT qui conjugue une microcéphalie, un syndrome dysmorphique et les manifestations de l'AT. Quelques cas ont été rapportés jusque-là : des altérations inactivatrices classiques du gène ATM ont été mises en évidence suggérant que l'AT Fresno est secondaire à une inactivation d'ATM et à un autre déterminant génétique qui reste à identifier.

Mots-clés : diagnostic prénatal, taxie-télangectasie, collaboration.

■P80 / 1101. APPLICATION CLINIQUE DU DIAGNOSTIC PRÉIMPLANTATOIRE DE SCLÉROSE TUBÉREUSE DE BOURNEVILLE

P. Burlet (1), N. Gigarel (1), N. Frydman (2), V. Kerbrat (2), D. Louesdon (1), S. Lebon (1), G. Tachdjian (2), E. Feyereisen (3), R. Frydman (3), J.-P. Bonnefont (1), A. Munnich (1), J. Steffann (1)

(1) Département de génétique et unité INSERM U393, Hôpital Necker Enfants Malades, 75015 Paris, France ; (2) Service de Biologie et Génétique de la reproduction ; (3) Service de gynécologie-obstétrique, UPRES 3538, Hôpital Antoine-Béclère, 92141 Clamart, France

La sclérose tubéreuse de Bourneville est une maladie héréditaire autosomique dominante. Deux gènes sont responsables de cette affection : le gène TSC1 localisé sur le chromosome 9 en 9q34, et le gène TSC2 sur le chromosome 16 en 16p13.3. Si la pénétrance de l'affection est quasiment totale, son expressivité est variable, et l'atteinte neurologique potentielle incluant convulsions et parfois retard mental (60 % dans une série récente) fait toute la gravité de cette maladie. L'absence de traitement efficace disponible peut conduire certains couples à demander un diagnostic prénatal (DPN) ou préimplantatoire (DPI). Cependant, l'absence de marqueurs prédictifs précoces de gravité de l'atteinte fœtale durant la grossesse complique particulièrement le conseil génétique et rend difficile la décision parentale face à un fœtus atteint dont le statut a été établi par DPN conventionnel (biopsie de trophoblaste à 11 semaines d'aménorrhée ou amniocentèse à 16 semaines). Pour certains couples, la seule manière acceptable de concevoir un enfant indemne est de recourir au DPI. Le DPI consiste à analyser une ou deux cellules (blastomères) prélevées sur l'embryon au troisième

jour après la fécondation. Seuls les embryons sains sont replacés dans l'utérus de la patiente. Cette méthode permet ainsi d'éviter l'interruption médicale de grossesse en cas de fœtus atteint. Le DPI a été possible grâce au développement des techniques de biologie moléculaire, permettant aujourd'hui le diagnostic d'un grand nombre d'affections génétiques. Nous rapportons ici le premier diagnostic préimplantatoire réalisé pour une sclérose tubéreuse de Bourneville. Un couple dont le mari est atteint d'une sclérose tubéreuse de Bourneville par mutation de l'exon 8 du gène TSC1 (c.737+1G>A) a fait la demande d'un DPI. Le diagnostic sur cellule unique a été modélisé, reposant sur l'analyse simultanée de la mutation par PCR-digestion et d'un marqueur polymorphe très proche du gène TSC1, le marqueur D9S1830. L'efficacité de la PCR et les taux d'allèle drop-out (amplification aléatoire d'un seul des deux allèles présents dans la cellule) ont été mesurés sur 50 lymphocytes isolés. L'analyse de la mutation c.737+1G>A a montré un taux d'allèle drop-out de 7 % et une absence d'amplification dans 4 % des cas. Pour le marqueur D9S1830, le taux d'allèle drop-out mesuré était de 14 %, avec une absence d'amplification dans 2 % des cas. Un protocole usuel de fécondation in vitro a été mené et 6 ovocytes ont été inséminés par ICSI (injection intracytoplasmique d'un spermatozoïde). Un total de 5 embryons a été obtenu, dont deux seulement ont pu être biopsiés en raison de l'arrêt de développement des embryons restants. Les deux embryons analysés étaient indemnes de sclérose tubéreuse de Bourneville et ont été transférés. Une grossesse est en cours. Ces résultats montrent pour la première fois, la faisabilité d'un DPI pour la sclérose tubéreuse de Bourneville. Le diagnostic préimplantatoire apparaît être une des approches envisageables pour ces pathologies dominantes à risque de récurrence élevé dont l'expressivité variable des symptômes complique considérablement le conseil génétique et les choix reproductifs des familles.

Mots-clés : DPI, sclérose tubéreuse de Bourneville, DPN.

■P81 / 1117. DIAGNOSTIC PRÉNATAL PAR FISH INTERPHASIQUE DES DÉSÉQUILIBRES GÉNOMIQUES CHEZ LES FŒTUS DE PARENTS REMANIÉS

P. Vago, J.Y. Jaffray, M.N. Bonnet-Dupeyron, A. Geneix, C. Goumy
Service de Cytogénétique Médicale, Faculté de Médecine et CHU de Clermont-Ferrand

En raison du risque de transmission déséquilibrée d'un remaniement chromosomique équilibré, « anomalies chromosomiques parentales » est une des 6 indications légales du diagnostic prénatal chromosomique (DPN). Classiquement, celui-ci est réalisé par amniocentèse vers la 16e semaine d'aménorrhée (SA) et le caryotype est obtenu après culture, 7 à 12 jours plus tard. En cas de déséquilibre, l'interruption thérapeutique de grossesse (ITG) est réalisée vers la 18e SA, c'est-à-dire à la fin du 4 e mois de grossesse. Il est possible d'obtenir un premier diagnostic plus rapidement, en 24 h, en faisant appel à la Fluorescence In Situ par Hybridation (FISH) sur noyaux interphasiques : en choisissant judicieusement en fonction du remaniement parental un jeux de 2 à 3 sondes, il est possible de déterminer 1) si le fœtus est équilibré ou non et 2) en cas de déséquilibre quel est le type de ségrégation méiotique impliqué. Enfin, il est possible de proposer un DPN précoce, par prélèvement de villosités choriales (PVC) à 11 SA et FISH : le cas échéant, l'ITG peut être réalisée vers le milieu du 2e mois de grossesse. Nous rapportons une série de 43 DPN ayant pour indication « anomalies chromosomiques parentales » (20 translocations réciproques (t-rec), 15 translocations robertsonniennes (t-rob) et 8 inversions). Le DPN a été réalisé soit par amniocentèse (27 cas) entre 14 et 33 SA soit par PVC (16 cas) entre 11 et 13 SA. Dans tous les cas, un premier diagnostic a pu être établi par FISH dans les 24 h et le caryotype standard a toujours confirmé ce diagnostic. La FISH a mis en évidence une transmission déséquilibrée du remaniement dans 5 cas (12 %) [3 t-rec (15 %), 1 t-rob (7 %) et 1 inversion (12,5 %)]. Le caryotype a permis de préciser dans les 38 autres cas si l'anomalie équilibrée avait été transmise [17 cas (45 %) dont 10 t-rec (50 %), 4 t-rob (26 %) et 3 inversions (37,5 %)] ou non [21 cas (55 %) dont 7 t-rec (35 %), 10 t-rob (67 %) et 4 inversions (50 %)]. En cas de PVC, il a été souvent possible de préciser par FISH, chez les fœtus équilibrés, si le remaniement avait été ou non transmis grâce à l'observation de métaphases spontanées. Enfin, le pourcentage de déséquilibre diagnostiqué sur villosités choriales a été supérieur (18,75 %, contre 7,5 % pour les amniocytes) : des fœtus déséquilibrés sont spontanément éliminés entre la date de la PVC (11-12 SA) et celle de l'amniocentèse (vers 16-17 SA). Dans 1 cas (t-rob maternelle), une fausse couche spontanée a suivi l'amniocentèse (fœtus transloqué équilibré). Cette série montre la fiabilité d'un DPNC rapide par FISH et l'intérêt de la PVC pour sa précocité en cas de remaniement parental équilibré.

Mots-clés : diagnostic prénatal, cytogénétique moléculaire, anomalies chromosomiques parentales.

■P82 / 1124. 3C SYNDROME : À PROPOS D'UN CAS

M.J. Perez (1), V. Vequeau-Goua (1), C. Fallet-Bianco (2)
(1) Service Gynécologie Obstétrique, CHU Poitiers ; (2) Service Anatomie Pathologique Centre Hospitalier Saint-Anne, Paris

Décrit pour la première fois en 1987 par Ritscher et Schinzel, le 3C syndrome se caractérise par l'association d'une malformation cardiaque, hypoplasie cérébelleuse, dysmorphie cranio faciale. Il s'agit d'une 6e grossesse (3 filles et 1 garçon vivant en bonne santé, 1 fausse couche spontanée précoce) chez un couple de 36 ans non apparenté. La mère est porteuse d'une sténose pulmonaire opérée à l'âge de 8 ans. À l'échographie de 13 SA : la nuque est mesurée à 3,5 mm. Le caryotype sur liquide amniotique est normal (46 XY). À 22 SA, l'échographie met en évidence une cardiopathie complexe de type hypoplasie du ventricule gauche et transposition des gros vaisseaux. La recherche de la délétion 22q11 sur le liquide amniotique est négative. L'interruption médicale de la grossesse demandée par les parents est acceptée par le Centre Multidisciplinaire de Diagnostic Prénatal. L'examen fœtopathologique retrouve une dysmorphie faciale (hypertélorisme, ensellure nasale marquée, micrognathisme), une syndactylie1-2-3 des orteils à droite et à gauche, une cardiopathie complexe associant une atrésie de l'artère pulmonaire, une atrésie de la valve mitrale, une hypoplasie du ventricule gauche, une transposition des gros vaisseaux, une double veine cave supérieure. L'examen neuropathologique montre une microcéphalie avec hypoplasie vermienne globale sans anomalie de la migration neuronale à l'exeption de petites hétérotopies olivaires dans le bulbe. Les trois anomalies retrouvées à l'examen fœtal : – dysmorphie faciale, – cardiopathie, – anomalie cérebelleuse, évoquent un syndrome de 3C ou Syndrome de Ritscher-Schinzel. Ce syndrome est de transmission autosomique récessive, il n'existe pas d'anomalie biochimique, cytogénétique, ou moléculaire connue.

Mots-clés : malformation cardiaque, anomalie cérebelleuse, dysmorphie crâniofaciale.

■P83 / 1132. CARACTÉRISATION PAR CGH SUR PUCE À ADN D'UNE TRANSLOCATION DÉSÉQUILIBRÉE DE NOVO ASSOCIANT UNE TRISOMIE 17q24.3-qter ET UNE MONOSOMIE 9p24.3-pter CHEZ UN FŒTUS À NUQUE ÉPAISSIE

S. Brisset (1), S. Kasakyan (1, 2), A. Coulomb L'Herminé (3), V. Mairovitz (4), E. Gautier (5), M.C. Aubry (5), M. Benkhalifa (2), G. Tachdjian (1)
(1) Laboratoire de Cytogénétique, Hôpital Antoine-Béclère, Clamart.APHP ; (2) Laboratoire ATL, La Verrière ; (3) Service d'Anatomie Pathologique, Hôpital Antoine-Béclère, Clamart.APHP ; (4) Service de Gynécologie-Obstétrique, Hôpital Antoine-Béclère, Clamart.APHP ; (5) Centre de Diagnostic Prénatal, American Hospital of Paris, Neuilly

L'existence d'une nuque fœtale épaissie à l'échographie du premier trimestre de la grossesse est un bon indicateur d'anomalie chromosomique. Nous décrivons ici l'utilisation de la technique d'hybridation génomique comparative (CGH) sur puce à ADN pour la caractérisation moléculaire d'un remaniement chromosomique d'un chromosome 9 diagnostiqué chez un fœtus à nuque épaissie. Une amniocentèse a été réalisée chez une femme âgée de 29 ans suite à la découverte d'une nuque fœtale épaissie (4,4 mm) à l'échographie du premier trimestre. Le caryotype standard a mis en évidence la formule chromosomique : 46,XX,add(9)(p24.3). L'étude par hybridation in situ fluorescente (FISH) avec une sonde de peinture d'un chromosome 9 a confirmé la présence d'un excès de matériel au bout du bras court d'un chromosome 9. Une sonde de la région subtélomérique 9p a montré une délétion 9p terminale. Toutefois, l'origine chromosomique du matériel excédentaire au bout du chromosome 9 restait inconnue. Les caryotypes parentaux étaient normaux. Afin d'identifier ce remaniement, nous avons choisi d'utiliser la technique CGH sur une puce composée de 2 500 clones (Spectral Genomics(tm), Houston, TX, USA). Cette puce couvre l'ensemble du génome avec une résolution de 1 Mb. La CGH sur puce a confirmé la délétion 9p terminale et a révélé une trisomie 17q terminale. Ces résultats ont ensuite été confirmés par FISH en hybridant sur les préparations métaphasiques du fœtus les BAC/PAC spottés sur la puce. Le fœtus était donc porteur d'un chromosome 9 anormal dérivé d'une translocation de novo t(9;17)(p24.3;q24.3) générant une trisomie 17q24.3-qter et une monosomie 9p24.3-pter. Ainsi, la CGH sur puce a permis d'une part de localiser précisément les points de cassure sur les chromosomes 9 et 17 et d'autre part de déterminer la taille des déséquilibres chromosomiques. Cette étude démontre donc les potentialités de la CGH sur puce à ADN et l'intérêt d'appliquer cette nouvelle technologie au diagnostic prénatal.

Mots-clés : CGH sur puce, nuque épaisse, trisomie17q et monosomie 9p.

■P84 / 1140. EXPRESSION D'UNE PROTÉINE DE LA FAMILLE ETS À EFFET TRANSDOMINANT NÉGATIF ASSOCIÉE AU VIEILLISSEMENT DU SQUELETTE

Muriel Holder-Espinasse (1), Gilles Bluteau (2), Patrick Dumont (3), Nathalie Tomavo (1), Anne Flourens (1), Martine Duterque-Coquillaud (1)
(1) UMR 8526 CNRS, Institut de Biologie de Lille ; (2) INSERM EM 99-03, Faculté de Chirurgie Dentaire, Nantes ; (3) FRC3 CNRS, Institut de Biologie de Lille

Le gène erg appartient à la famille des gènes Ets codant des facteurs de transcription impliqués dans de nombreux processus physiologiques. L'appartenance à cette famille est dictée par la présence d'un domaine protéique très conservé de 85 acides aminés : le domaine ETS, responsable de la fixation spécifique à l'ADN. L'expression du gène erg, précoce et transitoire chez l'embryon, est associée au mésenchyme. En particulier, le gène erg s'exprime dès les premières étapes de mise en place du cartilage chez l'embryon puis se restreint au cartilage articulaire. Afin d'étudier le rôle du gène erg in vivo, nous avons établi des lignées de souris transgéniques qui expriment une protéine Erg tronquée, restreinte au domaine ETS, à effet transdominant négatif sur les protéines endogènes. Cette expression est ciblée au niveau de la mise en place du cartilage par l'utilisation du promoteur du collagène 2a1. Les phénotypes des souris transgéniques obtenues s'apparentent à un vieillissement précoce du squelette. En effet, comparativement aux souris de type sauvages du même âge, elles développent dans les six premiers mois de leur vie, une hyperlordose et un blocage des articulations principalement des pattes arrières. Des expériences de radiologie et de scintigraphie menées au CDTA d'Orléans révèlent une perte générale de densité osseuse. Un suivi histologique de l'apparition du phénotype est en cours ainsi que l'étude de l'expression des marqueurs de différentiation et de vieillissement du cartilage.

Mots-clés : vieillissement prématuré, gène erg, transgénèse.

■P85 / 1141. FIBRILLINOPATHIES SÉVÈRES : PRÉSENTATION DE 2 PHÉNOTYPES FŒTAUX ET REVUE DE LA LITTÉRATURE

B. Demeer (1), S. Blesson (2), E. Alanio (1), C. Boileau (3), F. Dijoud (4), C. Paillet (5), J.P. Bory (6), A. Toutain (2), D. Gaillard (1)
(1) Service de Génétique, CHU Reims ; (2) Service de Génétique, CHU Bretonneau, Tours ; (3) Laboratoire de Biochimie, d'Hormonologie et de Génétique Moléculaire, CH Ambroise-Paré, Boulogne ; (4) Service d'Anatomie Pathologique, CHU Lyon ; (5) Service des Ultrasons, CHU Bretonneau, Tours ; (6) Service de gynécologie, CHU Reims

Le syndrome de Marfan (MFS) et le syndrome de Beals : arachnodactylie avec contractures congénitales (CCA) sont deux fibrillinopathies phénotypiquement proches, causées par des mutations dans, respectivement la fibrilline 1 (FBN1) et la fibrilline 2 (FBN2). FBN1 et FBN2 codent pour 2 glycoprotéines, fortement homologues, qui sont des constituants structuraux majeurs participant à la formation des microfibrilles extracellulaires et qui présentent une large distribution tissulaire. Le MFS se caractérise par l'association d'atteintes principalement musculo-squelettiques, oculaires et cardiaques. Le CCA se caractérise par l'association de contractures articulaires, d'une dysmorphie faciale et d'atteintes musculo-squelettiques ; une pathologie cardiaque peu fréquente et une absence de pathologie oculaire. Dans ces deux syndromes, des formes sévères de présentation néonatale sont décrites. Malgré la découverte d'une origine moléculaire distincte, la superposition des signes cliniques et l'existence d'une hétérogénéité génétique reconnue ne permettent pas toujours de trancher entre ces deux syndromes. Nous rapportons la description de deux phénotypes fœtaux compatibles avec le diagnostic de fibrillinopathie sévère appartenant au spectre clinique du MFS néonatal / CCA létal sévère, avec revue de la littérature. Le cas n° 1 est issu d'une grossesse interrompue à 30SA pour oligoamnios, malposition marquée des extrémités et cardiopathie, L'examen fœtopathologique montre un fœtus de sexe féminin, de grande taille avec des membres fins et graciles, un flessum des genoux, des coudes et des hanches, et une arachnodactylie des quatre extrémités. Il a des pieds bots en varus équin avec subluxation de la cheville en dehors et une dysmorphie cranio-faciale avec des pavillons auriculaires non ourlés. L'examen viscéral montre des coupoles diaphragmatiques complètes, d'épaisseur diminuée, une anomalie de lobation pulmonaire avec un lobe unique à gauche et deux lobes à droite, un aspect anormal des vaisseaux du cou avec exagération du diamètre de l'aorte et de l'artère pulmonaire, une bicuspidie à l'orifice pulmonaire, un aspect dysplasique des valves aortiques, une valve mitrale avec des cordages fins et longs. L'examen radiologique du squelette note des mensurations globales supérieures à 30 SA. Le caryotype, l'étude du gène FBN1 et du gène du récepteur de type II du TGF-B (TGFBR2) n'ont pas montré d'anomalies. Le cas n° 2 est issu d'une grossesse interrompue à 28SA pour polymalformations, sans anomalie du caryotype. L'examen fœtopathologique montre un fœtus de sexe masculin, de grande taille. Il existe une arachnodactylie des quatre extrémités, avec au niveau des membres supérieurs une camptodactylie bilatérale des 3e, 4e, 5e doigts et une clinodactylie du pouce et du 5e doigt à gauche. La dysmorphie crânio-faciale associe notamment une ensellure nasale large, des replis sous-orbitaires très marqués avec un excès de peau, un hypognathisme. L'examen viscéral montre une éventration diaphragmatique droite avec amincissement extrême du muscle diaphragmatique, une urétéro-hydronéphrose bilatérale, plus marquée à gauche et une mégavessie sans obstacle sous-vésical. Il n'existe pas de dilatation aortique ou d'anomalie vasculaire macroscopique. La radiographie du squelette ne montre pas d'anomalies. En microscopie optique, il n'est pas noté d'anomalie majeure de la différenciation musculaire, ni d'anomalie myocardique. Pour ces 2 cas, les études complémentaires d'histologie et de biologie moléculaire sont en cours. De telles descriptions contribuent à compléter le spectre clinique associé à ce type de pathologie, notamment dans les formes sévères de découverte prénatale rarement rapportées dans la littérature.

Mots-clés : fibrillinopathies sévères, phénotypes fœtaux, dpn.

■P86 / 1146. EXTRACTION DE L'ADN FŒTAL DANS LE SANG MATERNEL : ÉTUDE COMPARATIVE DES MÉTHODES MANUELLE ET AUTOMATISÉE

N. Bonello, M. Tsochandaridis, S. Mallet,
J. Gabert, A. Levy-Mozziconacci
Laboratoire de Biochimie et Biologie Moléculaire, CHU Nord, Marseille

Il est possible de proposer un diagnostic prénatal non invasif à partir de l'analyse de l'ADN fœtal circulant dans le sang maternel (sexe et génotypage rhésus fœtal). L'intérêt dans la quantification des acides nucléiques libres plasmatiques a également été montré dans le suivi de certaines complications de la grossesse (aneuploïdie, prééclampsie, etc.). Néanmoins, l'étude multicentrique publiée récemment par Johnson *et al.* (2004) montre que la variabilité inter- laboratoire de la sensibilité des résultats obtenus est directement liée à l'étape d'extraction de l'ADN fœtal. Afin d'une part d'optimiser les méthodes d'extraction et d'autre part de proposer une approche standardisée, nous avons comparé notre méthode classique d'extraction manuelle (midikit Quiagen®) à une approche d'extraction automatisée (Biorobot EZ1, Quiagen°). 60 échantillons plasmatiques provenant de femmes enceintes ont été extraits parallèlement par les deux techniques. L'ADN fœtal (SRY) et total (β-globine) ont été quantifié. Cette comparaison a permis de montrer une sensibilité et une spécificité de 100 % avec l'approche automatisée (96 % et 100 % avec la méthode manuelle) et un meilleur rendement d'extraction d'un facteur 5 avec cette approche. Cette étude permet d'envisager de proposer une approche d'extraction automatisée en activité hospitalière qui à l'avantage outre de permettre une standardisation de ces analyses, d'envisager de proposer à grande échelle cette approche notamment dans le cadre du génotypage non invasif du rhésus fœtal systématique à toutes les femmes enceintes rhésus négatif.

Mots-clés : ADN fœtal, plasma maternel, automate d'extraction.

■P87 / 1156. QUANTIFICATION DES ACIDES NUCLÉIQUES CIRCULANTS DANS LE SANG MATERNEL ET SIGNES D'APPEL ÉCHOGRAPHIQUES

S. Boumezber°, M. Tsochandaridis°, N. Bonello°, G. Pic°, R. Desbrière*, C. Chau*, C. D'Ercole*, L. Boubli*, J. Gabert°, A. Levy-Mozziconacci°
*° Laboratoire de Biochimie et Biologie moléculaire et ERT Meidia, CHU Nord et Faculté de Médecine, bd P. Dramard. 13916 Marseille ; * Service de Gynécologie-Obstétrique, CHU Nord, Marseille*

Afin d'évaluer l'intérêt de la quantification de l'ADN circulant dans le sang maternel dans la prise en charge des pathologies fœtales nous avons réalisé cette analyse chez 213 patientes avant la réalisation d'un caryotype fœtal. L'analyse a porté à la fois sur le sérum et le plasma des patientes et la quantification de l'ADN fœtal (SRY) et total (β-globine) a été réalisé. L'ensemble de ces dosages a été réalisé en présence de calibrants plasmidiques pour les gène SRY et β-globine, réalisé au sein du laboratoire et permettant de standardiser cette analyse. Un premier travail a consisté à définir les concentrations normales d'ADN fœtal et total dans le plasma et le sérum maternel aux trois trimestres de la grossesse. Nous avons corrélé ces dosages aux signes d'appel échographiques : Clarté nuchale (16 cas), Retard de croissance intra-utérin (53 cas), Autres signes échographiques (41 cas). Nous rapportons les concentrations trouvées en fonction du signe d'appel échographique, en tenant compte du caryotype fœtal et du terme de la grossesse.

Mots-clés : ADN fœtal, sang circulant, signe d'appel echographique.

■P88 / 1159. TRISOMIE 14 LIBRE EN MOSAÏQUE : À PROPOS D'UN NOUVEAU CAS DÉPISTÉ EN ANTÉNATAL

Montagnon M. (1), Chantot-Bastaraud S. (2), Gonzales M. (3), Fredouille C. (3), Encha-Razavi F. (4), Géromel V. (1), Jeny R. (5), Koubi V. (1), Kleinfinger P. (1), Szpiro-Tapia S. (1), Siffroi J.P. (2, 3), Bazin A. (1)
(1) Département de Génétique, Laboratoire Pasteur-Cerba, Cergy-Pontoise ; (2) Service d'Histologie, Biologie de la Reproduction, Cytogénétique Hôpital Tenon, Paris ; (3) Service d'Embryologie pathologique et Cytogénétique Hôpital Saint-Antoine, Paris ; (4) Unité de Pathologie fœtale et placentaire, Hôpital Necker, Paris ; (5) Service de Gynécologie Obstétrique, Hôpital Esquirol, Saint-Maurice

Les trisomies 14 en mosaïque ont rarement été observées. Seulement une vingtaine de cas dont 4 diagnostics anténatals ont été décrits dans la littérature. Nous rapportons le cas d'une trisomie 14 libre en mosaïque diagnostiquée en anténatal. L'amniocentèse avait été réalisée à 17 SA pour âge maternel. Le caryotype masculin présentait une lignée majoritaire normale et une lignée minoritaire porteuse d'une trisomie 14 libre mise en évidence dans différentes cultures in situ : 47,XY,+14 [5]/46,XY [18]. Le diagnostic a été confirmé par l'analyse cytogénétique à partir d'un second prélèvement de liquide amniotique : 47,XY,+14 [1]/46,XY [23]. L'échographie morphologique à 19 SA a montré un syndrome polymalformatif associant une hernie diaphragmatique gauche, une fente labiopalatine gauche, une discrète dilatation ventriculaire cérébrale. Une IMG a été pratiquée. Les techniques de cytogénétique classique et de cytogénétique moléculaire (peinture du chromosome 14) ont permis de confirmer une trisomie 14 fœtale dans 12 % des métaphases analysées à partir des cultures cellulaires de cordon : 47,XY,+14 [6]/46,XY [50]. L'hybridation in situ fluorescente avec la sonde du locus IgH en 14q32 sur coupes histologiques de rate, de rein et d'intestin, a également confirmé une trisomie 14 dans respectivement 6 %, 8 % et 14 % des noyaux examinés. L'analyse de la ségrégation des microsatellites (PCR), à partir de l'ADN des parents et de l'ADN fœtal extrait du liquide amniotique et de différents tissus fœtaux, a montré l'absence de disomie uniparentale du chromosome 14. L'examen fœtopathologique a confirmé une hernie diaphragmatique gauche et une fente labiopalatine gauche, et a mis en évidence une dysmorphie crâniofaciale associant une brachycéphalie, de petites oreilles bas implantées, un hypertélorisme avec des fentes palpébrales étroites, ainsi qu'une discrète clinodactylie des 5e doigts, une discrète hypoplasie des organes génitaux externes. L'examen du cœur était normal. L'examen neuropathologique a montré une hypoplasie du bulbe olfactif gauche. La revue de la littérature met en évidence un phénotype de sévérité variable selon la proportion de cellules trisomiques. On observe fréquemment une fente palatine et une dysmorphie crâniofaciale semblable à celle de ce fœtus, mais aussi une cardiopathie, alors que l'existence d'une hernie diaphragmatique n'a pas été rapportée.

Mots-clés : trisomie 14, mosaïque, diagnostic anténatal.

■P89 / 1161. SYNDROME DE PRADER-WILLI : UN PHÉNOTYPE ÉCHOGRAPHIQUE FŒTAL À REPÉRER

Bigi N.•, Faure J.M.•, Coubes Ch.•, Lefort G.•, Le Gac M.P.•, Sarda P.•, Blanchet P.•
• Service de Génétique Médicale, Hôpital Arnaud de Villeneuve, CHU Montpellier. France ; • CPDP, Hôpital Arnaud de Villeneuve, CHU Montpellier, France

Le syndrome de Prader-Willi (SPW) associe une hypotonie néonatale, des troubles de l'alimentation durant la première année de vie, un retard mental, une obésité et un hypogénitalisme. L'anomalie génétique responsable est un défaut de méthylation de la région 15q11-q13 d'origine paternelle. Le syndrome est sporadique dans plus de 95 % des cas ce qui rend difficile le diagnostic anténatal. À ce jour aucun phénotype fœtal spécifique n'a été reconnu permettant de porter le diagnostic de SPW. Dans un premier cas, une diminution de la mobilité fœtale associée à un hydramnios et à une position particulière des mains et des pieds a fait évoquer le diagnostic de Prader-Willi. L'étude de la méthylation de la région concernée a confirmé le diagnostic, une délétion de la région SPW a été retrouvée. Dans une seconde observation, des anomalies échographiques similaires ont conduit au même diagnostic prénatal avec anomalie de méthylation sans délétion. L'aspect caractéristique des 2 fœtus à 28 et 30 SA associait une position particulière des mains avec poignets en flexion et des pieds en dorsiflexion avec des orteils « crispés ». Cette position très particulière des extrémités associée à une diminution de la mobilité fœtale et à un hydramnios nous apparaît très évocatrice et doit faire rechercher le diagnostic de syndrome de Prader-Willi.

Mots-clés : syndrome de Prader-Willi, échographie fœtale, diagnostic prénatal.

■P90 / 1532. SYNDROME DE WALKER-WARBURG : PREMIER DIAGNOSTIC MOLÉCULAIRE PRÉNATAL

C. Bouchet (1), S. Boukari (1), H. Dollfus (2), C. Le Bizec (1), B. Gasser (3), R. Favre (4), S. Vuillaumier-Barrot (1), G. Durand (1), N. Seta (1)
(1) Biochimie A, Hôpital Bichat-Claude Bernard, AP-HP, Paris ; (2) Service de Génétique ; (3) Laboratoire d'anatomie pathologique, Hôpital de Hautepierre, Strasbourg ; (4) Centre pluridisciplinaire de Diagnostic Prénatal des HUS, Schiltigheim

Le syndrome de Walker-Warburg (WWS) est une maladie génétique rare, extrêmement sévère, associant une hydrocéphalie et des anomalies oculaires à une dystrophie musculaire congénitale. Il appartient au groupe des anomalies de la O-mannosylation considérée comme responsable de syndromes malformatifs impliquant le cerveau, les yeux et le muscle (WWS, Fukuyama, Muscle-Eye-Brain disease et déficit secondaire en mérosine 2). Des mutations du gène POMT1, codant pour une O-mannosyltransferase et impliqué dans la glycosylation de l'alpha-dystroglycane, ont été retrouvées chez 20 % des patients diagnostiqués cliniquement WWS. Nous avons réalisé le premier diagnostic prénatal (DPN) par biologie moléculaire de cette pathologie dans une famille consanguine d'origine turque. Une première grossesse avait été interrompue sur signes échographiques (hydrocéphalie bilatérale) à la 24e semaine d'aménorrhée. L'analyse fœtopathologique avait montré une lissencéphalie, une dilatation des ventricules et une migration neuronale anormale. Le séquençage du gène POMT1 a été réalisé pour ce fœtus. La mutation c.1261delCCT (exon 13) à l'état homozygote a été découverte. Chaque parent est porteur de la mutation à l'état hétérozygote. Cette délétion de 2 bases change le cadre de lecture et conduit à l'apparition précoce d'un codon stop. Elle est située dans une région très conservée entre différentes espèces. D'autre part, une mutation du même codon, c.1260delCCT, induisant la délétion de la leucine en position 420 sans modification du cadre de lecture a déjà été décrite chez un patient japonais présentant une forme moins sévère de WWS. Ces différents résultats indiquent que la mutation c.1261delCCT est bien responsable du WWS dans notre famille. La mutation a également été retrouvée chez la tante du cas index (sœur de la mère) et chez son mari (frère du père) à l'état hétérozygote. Ayant un risque de 1 sur 4, un diagnostic prénatal a été réalisé pour ce couple apparenté à la 12e semaine d'aménorrhée (étude indirecte par microsatellites et séquençage de l'exon 13 de POMT1). Le fœtus n'était pas porteur de la mutation et la grossesse a été poursuivie. Dans le cadre des WWS, le DPN permet de poser le diagnostic avant l'apparition des signes cliniques à l'échographie et donc d'interrompre plus précocement une grossesse si besoin est.

Mots-clés : Syndrome de Walker-Warburg, diagnostic prenatal, POMT1.

■P91 / 1533. CHROMOSOME MARQUEUR SURNUMÉRAIRE DÉRIVÉ DU 15 IDENTIFIÉ PAR CYTOGÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE ET PAR CGH-ARRAY

G. Pescia (1), Ch. Silacci (1), V. Jomini (1), J.-P. Châtelain (2), A.-C. Gaide (3), C. Jan (1)
(1) Département de Génétique médicale, Laboratoire AMS Lausanne, Suisse ; (2) Cabinet médical, rue Saint-Pierre, Lausanne ; (3) Service de Génétique médicale, CHUV Lausanne

Introduction : La découverte d'un chromosome marqueur surnuméraire (SMC) lors du diagnostic prénatal impose l'identification précise et rapide du matériel génétique en excès. Ceci est classiquement accompli par les méthodes relativement laborieuses axées sur l'hybridation in situ. L'avènement de nouvelles technologies telle que la « CGH-array » apporte un outil diagnostique inégalé de par sa précision, sa résolution et sa rapidité : caractéristiques particulièrement importantes pour le diagnostic prénatal.
Observation : Une amniocentèse est effectuée à 17 semaines pour âge maternel. À l'examen échographique la grossesse est harmonieuse, sans signe d'appel d'anomalie fœtale.
Examens génétiques : L'analyse directe par QF-PCR pour les chromosome 13, 18, 21, X et Y est normale avec constitution masculine.
L'analyse chromosomique standard après culture selon la méthode in situ et marquage en bandes G montre la présence d'un SMC dans la moitié des colonies.
Pour l'identification du SMC nous avons appliqué :
1. L'algorithme classique : caryotype des parents et cytogénétique moléculaire (sondes centromériques des acrocentriques, painting).
2. Hybridation génomique comparative par la technique CGH-array (GenoSensor Array 300).
Analyses complémentaires : Recherche de UPD15 et de l'origine parentale du SMC par marqueurs moléculaires polymorphes.
Conclusion : Diagnostic génétique : 46,XY/47,XY,+der(15)(q23Æq26.2). Le diagnostic a été vérifié sur différents tissus fœtaux prélevés après interruption de la grossesse. L'origine maternelle du SMC est prouvée par l'étude des marqueurs moléculaires polymorphes du chromosome 15.

À partir de cette observation nous proposons un algorithme diagnostique original basé premièrement sur la CGH-array et applicable à tous les cas de SMC.

Mots-clés : chromosome surnuméraire-SMC, CGH-array, origine maternelle.

■P92 / 1539. FACTEURS GÉNÉTIQUES DE PRÉDISPOSITIONS AUX MALFORMATIONS CARDIAQUES CONGÉNITALES : MISE EN PLACE D'UN RÉSEAU NATIONAL ET D'UN LABORATOIRE DE DIAGNOSTIC MOLÉCULAIRE

Cécile Guichard (1, 2), Anna-Gaëlle Valard (1), Sandrine Besse (1), Corine Montvernay (1, 3), Corinne Perrin (4), Patrice Bouvagnet (1, 2)
(1) Laboratoire de Cardiogénétique, Hôpital Louis-Pradel, Lyon-Bron ; (2) EMI0226 INSERM, Faculté de médecine, Lyon ; (3) Laboratoire de Génétique, Hopital Édouard-Herriot, Lyon ; (4) Centre de Ressources Biologiques, Hôpital Louis-Pradel, Lyon-Bron ; (5) EMI0226 INSERM, Faculté de médecine, Lyon

Introduction : Les malformations cardiaques congénitales (MCC) sont les anomalies du développement les plus fréquentes. Elles touchent environ 1 % des naissances et sont la première cause de mortalité des enfants de moins de 1 an dans les pays occidentaux. Parmi les principales, on peut citer les communications interventriculaires (CIV), interauriculaires (CIA), la tétralogie de Fallot, la transposition des gros vaisseaux (TGV)... Leurs causes sont identifiées dans moins de 10 % des cas. En effet, on connaît très mal ces pathologies et leurs modes de transmissions, d'autant plus que pour une même famille, les malades ne présentent pas forcément les mêmes malformations.

Plusieurs gènes ont été identifiés comme étant impliqués dans ces malformations : le gène ZIC3 (Chr.X) impliqué dans la TGV et/ou l'hétérotaxie, le gène GATA4 (Chr. 8) qui est impliqué dans les CIA et/ou problèmes de valves artérielles, et le gène NKX2.5 (Chr.5), qui est impliqué dans les CIA et/ou bloc de conduction.

Cependant, ces 3 gènes ne sont impliqués que dans peu de cas.

But : Le but de cette étude est d'évaluer l'intérêt de tester ces 3 gènes sur des cas sporadiques et d'identifier de nouveaux gènes de prédisposition dans des formes familiales.

Méthodes : Une première partie de ce travail a consisté à réaliser la mise au point du criblage de ces gènes par dHPLC et séquençage : ZIC3 (3 exons), GATA4 (7 exons) et NKX2.5 (2 exons). Une deuxième partie correspond à la mise en place d'un réseau national, composé actuellement de 23 cardiopédiatres et fœtopathologistes, afin de collecter des formes familiales de MCC, pour identifier des gènes candidats et faire l'analyse de liaison de nouveaux gènes. Les échantillons sont gérés par le CRB, service cardiobiotech (INSERM-Hospices Civils de Lyon).

Résultats : La recherche de mutations a été faite sur 30 cas sporadiques et 10 cas familiaux. Ceci a permis la mise en évidence de 3 variations de séquence. La première mutation a été trouvée à l'état hétérozygote sur NKX2.5 en c.488 T>G, p.Leu163Arg situé dans l'homéodomaine, chez un patient atteint de CIA et bloc auriculoventriculaire (BAV). La mère de ce patient présente également un BAV.

L'autre mutation a été identifiée chez un patient présentant un situs inversus. Elle est présente sur le gène ZIC3 en c.49 G>T, p.Gly17Cys. Cet acide aminé est très conservé chez tous les vertébrés. Une troisième variation de séquence a été observée chez 2 patients : chez celui muté dans ZIC3, et chez un patient atteint de CIV. Cette variation est également présente chez les parents et la sœur de ce dernier, qui ne sont pas malades. Cette mutation se situe sur NKX2.5 en c.343 G>A, p.Ala115Thr, qui est conservé chez plusieurs vertébrés. Nous sommes en cours d'analyse d'ADN témoin afin de vérifier si il s'agit d'une mutation ou d'un polymorphisme rare.

Concernant la collection de familles, nous avons à ce jour 55 familles de MCC, soit 404 personnes : 137 malades et 267 non malades. Nous avons récolté 216 échantillons (80 ADN de malades et 136 ADN de non malades). La gestion des renseignements obtenus lors de l'enquête est réalisée grâce à une base de donnée spécialement conçue à cet effet. Elle permet de regrouper les données épidémiologiques, de gérer les prélèvements, de répertorier les malformations ainsi que les arbres généalogiques.

Conclusion : À travers cette étude, nous souhaitons pouvoir apporter au malade une réponse sur la cause de sa pathologie. Ceci est important dans le cas d'une grossesse éventuelle, afin de pouvoir donner aux futurs parents des indications quand au risque de récurrence de la maladie.

Nous avons pu mettre en évidence deux nouvelles mutations : une dans NKX2.5 (1/40, soit 2,5 %) et une dans ZIC3 (1/40, soit 2,5 %), confirmant la grande hétérogénéité de ces pathologies.

Nous espérons identifier de nouveaux gènes impliqués dans ces malformations, et ainsi faire progresser les connaissances, et donc la compréhension de ces pathologies à hérédité complexes.

Mots-clés : malformations cardiaques congénitales, réseau national, ZIC3, GATA4, NKX2.5.

■P93 / 1549. PHÉNOTYPE ANTÉNATAL DU SYNDROME REIN-COLOBOME ET EXPRESSION DU GÈNE PAX2 AU COURS DU DÉVELOPPEMENT HUMAIN

Martinovic-Bouriel, Jelena (1), Zrelli S. (1), Benachi A. (2), Esculpavit C. (1), Brahimi N. (1), Ozilou C. (1), Vekemans M. (1), Gubler M.C. (3), Encha-Razavi F. (1), Attié-Bitach T. (1)
Unité de Embryo-Fœtopathologie, Département de Génétique (1), Département de Médecine Fœtale (2), INSERM U574 (3), Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France

Le syndrome Rein-Colobome (MIM 120330) est une maladie autosomique dominante associant un colobome du nerf optique, une hypoplasie rénale, un reflux vésico-urétéral et une surdité de perception. L'atteinte rénale de sévérité variable se manifeste sous forme d'une hypoplasie oligoméganéphronique et évolue généralement vers l'insuffisance rénale terminale. Afin de mieux connaître le phénotype anténatal de l'atteinte rénale des mutations du gène PAX2, qui n'a été rapporté qu'une fois à notre connaissance (Ford *et al.*, AJMG 2001), nous avons analysé le gène PAX2 chez une série de 15 fœtus présentant une dysplasie rénale sévère et/ou une agénésie rénale apparemment isolée, et avons analysé le patron d'expression du gène PAX2 au cours du développement humain précoce. Alors que le travail moléculaire se poursuit, nous présentons déjà le phénotype rénal de deux fœtus porteurs d'une mutation du gène PAX2 diagnostiqués l'un à l'examen fœtopathologique, et l'autre après diagnostic prénatal chez une mère elle même atteinte.

Dans le premier cas, une interruption médicale de grossesse a été réalisée au terme de 24SA devant un anamnios et une suspicion d'agénésie rénale bilatérale chez un couple sans antécédents particuliers. L'examen fœtopathologique a permis de mettre en évidence une atteinte rénale asymétrique incluant un rein microkystique (1,8 g), et une extrême hypoplasie rénale contra-latérale (0,34 g). L'examen histologique a démontré une hypo-dysplasie rénale à gauche et une organisation conservée au sein du rein hypoplasique à droite. L'examen histologique oculaire réalisé devant cette atteinte rénale, a permis de mettre en évidence un colobome du nerf optique ayant fait évoquer le diagnostic de syndrome Rein-Colobome. Celui-ci a été confirmé par la mise en évidence une mutation troncante du gène PAX2 (131fsX158), et l'analyse des parents a montré qu'il s'agissait d'une mutation de novo, permettant un conseil génétique rassurant, sans toutefois pouvoir exclure le risque de mosaïque germinale, déjà rapporté pour PAX2.

Dans le deuxième cas, il s'agit d'un fœtus interrompu à 18SA après diagnostic prénatal moléculaire dans une forme familiale de syndrome Rein-Colobome, le fœtus étant porteur de la mutation IVS7+2t-c maternelle. Malgré l'échographie rénale normale à 16 SA, l'examen fœtopathologique a mis en évidence une discrète hypoplasie rénale (et des anomalies de ??? confirmées par des études immuno-histologiques ???) ainsi qu'un colobome rétinien. Enfin l'expression du gène PAX2 au cours du développement humain précoce mis en évidence son expression dans le système nerveux central, l'œil, l'oreille interne et le rein en développement. De manière intéressante, une différence de l'expression du gène PAX2 a été mise en évidence au niveau du rein, ou contrairement à la souris, PAX2 est exprimé à la fois dans le blastème métanéphrique et le bourgeon urétéral, corrélant avec les signes cliniques de la maladie, notamment le reflux vésico-urétéral.

Cette étude représente le premier diagnostic de syndrome du Rein-Colobome en anténatal et souligne l'impact de l'examen fœto-pathologique et de l'examen oculaire sur le diagnostic et le conseil génétique devant une dysplasie / agénésie rénale fœtale apparemment isolée.

Mots-clés : rein colobome, agénésie rénale, gène PAX2.

3. Génétique Chromosomique

■P94 / 37. MICRODÉLÉTIONS 22q11 ET TÉTRALOGIE DE FALLOT

B. Gargouri (1), N. Bouayed Abdelmoula (1), I. Trabelsi (2), S. Kammoun (2), A. Amouri (3), T. Rebai (1)
(1) Laboratoire d'Histologie, Faculté de Médecine de Sfax, Tunisie ; (2) Service de Cardiologie, CHU Hédi Chaker de Sfax, Tunisie ; (3) Laboratoire de Cytogénétique ; Institut Pasteur de Tunis, Tunisie

Les cardiopathies congénitales associées à la microdélétion 22q11 sont des cardiopathies en majorité de type conotruncal dont la tétralogie de Fallot qui représente environ 10 % des cardiopathies congénitales. La question qui se pose toujours est de savoir si les enfants ayant une cardiopathie conotruncale isolée ou s'associant à d'autres signes extra-cardiaques mineurs avaient une microdélétion 22q11, faisant l'hypothèse qu'ils aient un syndrome de DiGeorge ou apparenté très partiel dont l'expression serait limitée au cœur. Dans le présent travail, nous avons mené une étude préliminaire, au cours de la quelle nous avons exploré par cytogénétique conventionnelle, la formule chromosomique et par hybridation in situ fluorescente la région 22q11.2, chez 26 patients porteurs de cardiopathies conotruncales diverses. Parmi ces patients, 19 cas soit 73 % des cas sont porteurs d'une tétralogie de Fallot diagnostiquée au service de cardiologie du CHU Hédi Chaker de Sfax durant la période allant de juin 2004 à janvier 2005. La technique de FISH utilisée à la recherche de microdélétion 22q11.2 repose sur l'application ciblée de deux sondes commerciales : la sonde LSI DiGeorge N25 (D22S75) Region Probe et la sonde LSI DiGeorge / VCFS Region probe. Aucune anomalie chromosomique n'a été retrouvée sur les caryotypes en bandes RHG. Par contre, nous avons détecté par FISH, un cas de microdélétion 22q11.2 soit une fréquence de 5,26 %. Cette microdélétion 22q11.2 a été retrouvée chez un nourrisson porteur de tétralogie de Fallot régulière associée à une certaine dysmorphie faciale. Cette fréquence est assez basse par rapport aux chiffres rapportés dans la littérature, si on prend en compte l'association de certains de nos cas à des signes évocateurs du phénotype CATCH22. En effet, la tétralogie de Fallot est associée à une microdélétion 22q11 dans environ 12 % à 16 % des cas selon l'équipe américaine de Goldmuntz E. *et al.* Cette fréquence s'élève lorsqu'il s'agit de la période néonatale avec 34.5 % dans la série française d'Iserin L. *et al.* Par contre, dans l'étude de Wilson DI. 1992 portant sur des tétralogies de Fallot isolées, la fréquence de la microdélétion 22q11 était de l'ordre de 5 % (2/40) alors que dans d'autres études telle que celle menée par Amati F. *et al.* en 1995 et celle menée par Digilio MC. en 1996, aucune microdélétion 22q11 n'a été retrouvée respectivement chez 107 et 138 patients porteurs d'une tétralogie de Fallot isolée. Nous discutons à travers notre étude et celles de la littérature, l'intérêt et les circonstances du screening de la microdélétion 22q11 au cours des cardiopathies conotruncales en général et de la tétralogie de Fallot en particulier.

Mots-clés : cardiopathie conotroncale, microdélétion 22q11, tétralogie de Fallot.

■P95 / 38. MICRODÉLÉTION 7q11.23 ET STÉNOSE AORTIQUE SUPRA-VALVULAIRE

N. Bouayed Abdelmoula (1), I. Trabelsi (2), B. Gargouri (1), S. Kammoun (2), A. Amouri (3), T. Rebai (1)
(1) Laboratoire d'Histologie, Faculté de Médecine de Sfax, Tunisie ; (2) Service de Cardiologie, CHU Hédi Chaker Sfax, Tunisie ; (3) Laboratoire de Cytogénétique, Institut Pasteur de Tunis, Tunisie

La sténose aortique supra-valvulaire (SVAS) est une cardiopathie congénitale causée par une altération au niveau du gène de l'élastine localisé en 7q11.23. Cette cardiopathie peut se révéler comme une maladie isolée ou comme faisant partie d'un tableau plus complexe tel que le syndrome de Williams Beuren (WBS). Un spectre de mutations du gène de l'élastine a été identifié dans les SVAS isolées alors que les microdélétions 7q11.23 ont été décrites dans 95 % de patients porteurs d'un syndrome WBS. Cependant, de tous les individus WBS prouvés hémizygotes pour le gène d'élastine, seulement 50 % sont porteurs d'une SVAS.
Dans le présent travail, nous avons mené une étude préliminaire au cours de la quelle, nous avons recherché la microdélétion 7q11.23 par hybridation in situ fluorescence chez sept patients consultant au service de Cardiologie de Sfax pour SVAS isolée ou associée à un tableau évocateur de WSS. L'analyse par FISH utilisant la sonde LSI Williams syndrome (elastin gene) region probe D7S486/D7S522, a permis de confirmer la présence d'une microdélétion 7q11.23 chez trois patients (37,5 %). Les patients microdélétés étaient deux garçons et une fille âgés respectivement de 16, 6 et 5 ans. WBS a été soupçonné sur la base de la dysmorphie faciale et le développement psychomoteur chez 4 patients parmi 7. Le diagnostic a été confirmé pour seulement trois d'entre eux. Chez les 3 autres enfants avec SVAS isolé, la microdélétion 7q11.23 était absente.
Ces résultats confirment que le phénotype typique WBS est associé très souvent avec la microdélétion 7q11.23 ce qui n'est pas le cas pour les SVAS isolées où l'altération génique est plutôt sous forme de mutations. Cependant, la recherche systématique de la microdélétion 7q11.23 chez tous les patients porteurs de SVAS nous semble être très utile car l'établissement de WBS dans la période néonatale et la petite enfance peut parfois être difficile. Si la microdélétion est absente, l'étude génétique doit être poursuivie par biologie moléculaire à la recherche de mutation du gène de l'élastine.

Mots-clés : microdélétion 7q11.23, sténose aortique supra-valvulaire, syndrome de Williams.

■P96 / 43. ANALYSES CYTOGÉNÉTIQUES ET FISH D'UNE POPULATION CLINIQUE D'UN HÔPITAL PÉDIATRIQUE

Vorsanova S.G., Yurov Y.B., Soloviev I.V., Demidova I.A., Beresheva A.K., Kolotii A.D., Kravetz V.S., Monakhov V.V., Iourov I.Y.
Institute of Pediatrics and Children Surgery RZ, Moscow, Russia ; National Research Center of Mental Health RAMS, Moscow Russia

Les anomalies chromosomiques sont à l'origine de 0,3-0,4 % des anomalies congénitales et des retards mentaux. Nous avons effectué les analyses cytogénétiques d'une population clinique de 5 169 enfants présentant divers syndromes chromosomiques, des anomalies congénitales complexes ou des retards mentaux idiopathiques. Parmi cette population, 641 sujets (12,4 %) présentaient des anomalies chromosomiques, dont 388 cas (60,5 %) avec des anomalies chromosomiques numériques (pour 28,4 % des cas, anomalies numériques autosomiques et pour 32,1 % des cas, anomalies numériques des chromosomes X et Y). Deux cent cinquante-trois cas (39,5 %) ont été diagnostiqués pour des anomalies chromosomiques de structure. Parmi les cas d'aneuploïdies, 175 (27,3 %) ont été analysés par hybridation in situ fluorescente (FISH) à l'aide de sondes spécifiques pour les chromosomes 13, 18, 21, X et Y. Cette analyse a permis de mettre en évidence divers mosaïcismes chromosomiques. Les résultats obtenus montrent que l'utilisation du FISH permet d'élever significativement l'efficacité du diagnostic cytogénétique, en particulier lorsque le mosaïcisme n'avait pas été détecté par les techniques cytogénétiques conventionnelles, et sans que ceci nécessite un surcoût excessif.

Ce travail a bénéficié du soutien financier européen INTAS 03-51-4060.

Mots-clés : FISH, mosaïcisme, chromosomes.

■P97 / 44. DÉTECTION DU MOSAÏCISME CHROMOSOMIQUE SPONTANÉ DANS LE CERVEAU HUMAIN FŒTAL PAR LES TECHNIQUES DE FISH, PRINS ET MCB

Iourov I.Y., Vorsanova S.G., Liehr T., Pellestor F., Yurov Y.B.
National Research Center of Mental Health RAMS, Moscow Russia ; Institute of Pediatrics and Children Surgery RZ, Moscow, Russia ; Institute of Human Genetics and Anthropology, Jena, Germany ; Institut de Genetique Humaine, Montpellier ; France

Les analyses cytogénétiques classiques ont mis en évidence la présence de mosaïcismes chromosomiques dans le cerveau fœtal humain. Les techniques de cytogénétique moléculaire telles que le FISH (Hybridation In Situ Fluorescente), le PRINS (Primed IN Situ labelling) et le MCB (multicolor banding) permettent désormais la visualisation et la détection des chromosomes entiers ou de régions chromosomiques spécifiques en interphase. Les seules expérimentations cytogénétiques réalisées sur le cerveau humain fœtal ont été effectuées par FISH. Aussi, était-il intéressant de comparer le FISH et les autres approches cytogénétiques disponibles pour l'évaluation du taux d'aneuploïdie et de mosaïcisme chromosomique dans le cerveau fœtal. Nous avons effectué l'analyse comparative des techniques FISH, PRINS et MCB sur des préparations de cerveaux humains fœtaux, en utilisant des sondes péricentromèriques et des sondes obtenues par microdissection. Douze mille cellules nerveuses ont été analysées pour chaque technique. Ces examens ont permis d'identifier 75 cellules monosomiques et 9 cellules trisomiques par FISH (84 cellules aneuploïdes, soit une fréquence d'aneuploïdie de 0,7 %), 84 cellules monosomiques et 10 cellules trisomiques par PRINS (fréquence d'aneuploïdie de 0,8 %), et 68 cellules monosomiques ainsi que 7 cellules trisomiques par MCB (fréquence d'aneuploïdie de 0,6 %). L'analyse statistique a montré qu'il n'y avait pas de différences significatives entre ces valeurs. Ainsi, les techniques FISH, PRINS et MCB présentent une efficacité identique sur les préparations de cellules nerveuses et peuvent donc être utilisées en complémentarité pour la détection du mosaïcisme chromosomique dans le cerveau humain fœtal. Ce travail a bénéficié du soutien financier européen INTAS 03-51-4060.

Mots-clés : chromosome, FISH, cerveau.

■P98 / 54. À PROPOS D'UN CAS DE SYNDROME DE MECKEL-GRUBER SECONDAIRE À UNE DÉLÉTION 1p35-pter ET UNE DUPLICATION 14q32-qter DÉRIVÉES D'UNE TRANSLOCATION MATERNELLE ÉQUILIBRÉE

C. Thauvin-Robinet (1), P. Callier (1), N. Laurent (2), T. Rousseau (3), N. Marle (1), F. Huet (1), P. Sagot (3), L. Faivre (1), F. Mugneret (1)
(1) Département de Génétique, CHU de Dijon ; (2) Laboratoire d'Anatomie-Pathologie, CHU de Dijon ; (3) Maternité du Bocage, CHU de Dijon

Le syndrome de Meckel-Gruber est un syndrome polymalformatif rare de transmission récessive autosomique caractérisé par l'association de kystes rénaux et de signes cliniques variables incluant des anomalies du systèmes nerveux central (principalement une myéloméningocèle occipitale), une dysplasie des canaux et des kystes et une polydactylie postaxiale. Une microphtalmie, une fente palatine, et des anomalies des oreilles, cardiaques, intestinales et génitales sont également rapportées. Certains cas présentent un phénotype incomplet associant des reins polykystiques à une encéphalocèle ou une polydactylie. Il existe une hétérogénéité génétique, trois loci ont été identifiés en 8q24, 11q13 et 17q21-24. Aucun gène n'est actuellement connu mais certains fœtus présentant des kystes rénaux, un polydactylie et/ou une fibrose hépatique sans encéphalocèle ont été rapportées avec des mutations dans les gènes BBS2, BBS4 et BBS6 responsables du syndrome de Bardet-Biedl. Nous rapportons un fœtus (15 SA) présentant une fente palatine, une encéphalocèle occipitale, des pieds bots bilatéraux, une mégavessie et des reins polykystiques, compatibles avec un syndrome de Meckel-Gruber. Le caryotype fœtal montre la présence d'une translocation déséquilibrée d'origine maternelle, à l'origine d'une délétion 1p35-pter et d'une duplication 14q32-qter (46,XY,der(1)t(1;14)(p35;q32)mat). Ces points de cassure n'ont jamais été impliqués auparavant dans le syndrome de Meckel-Gruber et semblent intéressants pour l'identification des gènes responsables de ce syndrome et d'encéphalocèle.

Mots-clés : syndrome de Meckel-Gruber, délétion 1p, duplication 14q.

■P99 / 66. ANOMALIES DE LA PLOÏDIE EN MOSAÏQUE DANS DEUX CAS D'HYPERINSULINISME CONGÉNITAL

Irina Giurgea (1, 2), Damien Sanlaville (1), Christine Sempoux (3), Jean-Christophe Fournet (4), Christine Bellanné (5), Guy Touati (2), Laurence Hubert (1), Marie-Sylvie Groos (4), Francis Brunelle (6), Jacques Rahier (3), Jean-Claude Henquin (7), Mark J. Dunne (8), Francis Jaubert (9), Jean-Jacques Robert (2), Claire Nihoul-Fékété (10), Michel Vekemans (1), Claudine Junien (4), Pascale de Lonlay (1, 2)

(1) INSERM U393 et Départements de Génétique ; (2) Pediatrie ; (3) INSERM U383 ; (6) Radiologie ; (9) Pathologie ; (10) Chirurgie Pédiatrique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France ; (4) Department of Pathologie, Université de Louvain, Faculté de Médicine, B-1200 Brussels, Belgique ; (5) Department of Biologie, Hôpital Saint-Antoine, Paris, France ; (7) Unit of Endocrinologie et Métabolisme, Université de Louvain, Faculté de Médicine, B-1200 Brussels, Belgique ; (8) Division of Physiologie et Pharmacologie, Université de Manchester, Oxford Road, Manchester, Angleterre

Les formes focales d'hyperinsulinisme congénital (HI) et le syndrome de Beckwith-Wiedemann (BWS) sont deux entités associant une hyperplasie des cellules bêta de Langerhans à une hypoglycémie néonatale. Les deux pathologies sont liées à des anomalies génétiques et/ou épigénétiques complexes de la région 11p15, soumise à l'empreinte parentale. En dépit de leur chevauchement clinique et génétique, l'hypothèse d'un mécanisme physiopathologique commun a été peu étudiée. Nous avons investigué deux patients présentant un HI grave nécessitant une pancréatectomie partielle, associé dans un cas avec un BWS. L'histologie des lésions pancréatiques diffère de celles décrites dans la forme focale d'HI et dans le BWS. Aucun dysfonctionnement du canal potassique, fréquemment impliqué dans l'HI, n'a été détecté. Une isodisomie paternelle en mosaïque de l'ensemble du lot haploïde des 23 chromosomes a été identifiée dans la lésion pancréatique, les leucocytes et les fibroblastes du 1er patient (HI et BWS). Le groupe sanguin de ce patient a confirmé l'existence de 2 populations érythrocytaires (l'une à contribution bi-parentale et l'autre à contribution paternelle). Le 2nd patient (HI isolé) a présenté deux lésions pancréatiques distinctes. Une triploïdie avec disomie paternelle (isodisomie ou hétérodisomie) a été retrouvée dans les deux lésions. Conclusion : Nous rapportons deux types de mosaïcisme : i) un mosaïcisme diploïde avec deux populations cellulaires, l'une à contribution bi-parentale et l'autre à contribution paternelle seulement et ii) un mosaïcisme diploïde/triploïde responsable d'une disomie paternelle.

Ces anomalies de ploïdie en mosaïque dans plusieurs tissus, en particulier le pancréas, posent la question de leur rôle dans l'HI.

Mots-clés : hyperinsulinisme, mosaïcisme, isodisomie.

■P100 / 72. IMPLICATION DU GÈNE IGH ET DE LA RÉGION 13q14 DANS LE MYÉLOME MULTIPLE : ANALYSE PAR HYBRIDATION IN SITU FLUORESCENTE (FISH) CHEZ 11 PATIENTS

A. Gmidène (1), H. Sennana (1), H. El omri (2), T. Ben othman (3), R. Bel akhal (4), A. Saad (1)

(1) Laboratoire de Cytogénétique et de Biologie de la Reproduction, CHU Farhat Hached de Sousse ; (2) Service d'Hématologie, CHU Farhat Hached de Sousse ; (3) Centre national de greffe de la moelle osseuse, CNGMO de Tunis ; (4) Service d'Hématologie, Aziza Othmana de Tunis

Introduction : Le myélome multiple (MM) est une prolifération plasmocytaire maligne, diffuse, monoclonale, de la moelle hématopoïétique, le plus souvent responsable de la sécrétion d'une protéine monoclonale. La cytogénétique conventionnelle ne détecte que 30 à 50 % des anomalies chromosomiques présentes dans le MM, essentiellement en raison du faible potentiel prolifératif des plasmocytes malins. De ce fait l'utilisation de l'hybridation in situ fluorescente sur des noyaux interphasiques est indispensable. Le gène IGH (codant pour les chaînes lourdes des immunoglobulines) localisée en 14q32 et la région 13q14 sont les plus souvent remaniés dans cette hémopathie.

Patients et méthodes : Nous rapportons dans cette étude une série de 11 patients tunisiens atteints de MM et dont le caryotype en bandes R est suivi par une FISH interphasique en utilisant la sonde IGH et celle spécifique de la région 13q14 (D13S319).

Résultats : Sur les 11 cas étudiés, l'analyse cytogénétique conventionnelle a montré un caryotype normal dans 6 cas, un caryotype complexe dans 2 cas, un cas avec une hyperdiploide faible touchant le chromosome 8, une hypodiploidie avec perte du chromosome Y dans un seul cas et un patient présentant une nouvelle translocation t(5;7) (q33;p12). L'hybridation in situ fluorescente nous a permis de noter une anomalie du chromosome 13 sous forme d'une délétion dans un seul cas et de détecter un réarrangement du gène IGH chez 9 patients associé dans 5 cas parmi eux à la délétion 13q14.

Conclusion : Le gène IGH et la région 13q14 sont fréquemment remaniés dans cette série étudiée, ce qui vérifie leur implication dans la pathogénie du myélome. Cependant pour la recherche des gènes partenaires de l'IGH et pour une meilleure compréhension du processus oncogénique nous utiliserons ultérieurement les sondes spécifiques ces gènes notamment le bcl 1 localisé en 11q13, le FGFR 3 en 4p16, le c-maf en 16q32 et c-myc en 8q24.

Mots-clés : myélome multiple, FISH interphasique, IGH/13q14.

■P101 / 73. ÉTUDE CYTOGÉNÉTIQUE DES LEUCÉMIES AIGUES LYMPHOBLASTIQUES (À PROPOS DE 298 CAS)

A. Gmidène (1), H. Sennana (1), H. Elghezal (1), S. Ziraoui (1), Y. Ben youssef (2), M. Elloumi (3), L. Issaoui(4), A. Saad (1)

(1) Laboratoire de Cytogénétique et de Biologie de la Reproduction, CHU Farhat Hached de Sousse ; (2) Service d'Hématologie, CHU Farhat Hached de Sousse ; (3) Service d'Hématologie, CHU Hédi Chaker de Sfax ; (4) Service d'Hématologie, Aziza Othmana de Tunis

Introduction : Les analyses cytogénétiques des leucémies aigues lymphoblastiques (LAL) s'avèrent d'un grand apport dans le diagnostic, le pronostic, le suivi de l'évolution de la maladie et d'un intérêt majeur sur le plan cognitif et recherche fondamentale. L'objectif de ce travail et de rapporter les résultats de la cytogénétique classique et moléculaire d'une série de LAL et de discuter les corrélations entre certains paramètres clinico-biologiques.

Patients et méthodes : Entre 2000 et 2004, 298 patients tunisiens porteurs d'une LAL ont été étudiés par la cytogénétique conventionnelle au laboratoire de Cytogénétique et de Biologie de la Reproduction du centre hospitalo- universitaire Farhat Hached de Sousse (Tunisie).

Ces patients sont dans 183 cas des enfants et dans 115 cas des adultes. Le caryotype en bandes R a été réalisé après une culture de 16 et de 24 heures puis suivis d'une hybridation in situ fluorescente (FISH) en utilisant des sondes spécifiques selon l'indication.

Résultats : Les résultats de l'immunophénotypage montrent une LAL pro B dans 6,3 % des cas, pré B dans 20,4 %, B immature dans 13,2 %, B dans 22,6 %, une LAL T immature dans 10,4 %, une LAL T dans 17,6 % et une LAL biphénotypique dans 4,7 % cas.

L'analyse cytogénétique conventionnelle montre des anomalies chromosomiques décelables et acquises dans 68,5 % des LAL : Une hyperdiploidie massive dans 16 % des cas, une hyperdiploidie faible dans 5,3 % des cas, une hypodiploidie dans 3,5 % des cas et un caryotype complexe dans 14,7 % des cas.

Concernant les anomalies de structure nous avons détecté des anomalies non décrites dans la littérature dans 5,7 % des cas et des anomalies de structure récurrentes dans 23,4 % des cas, telles que : del(6q), del(9p), del(12p), la translocation t(9;22), les anomalies de la région 11q23, les anomalies type Burkitt ainsi que les anomalies des gènes de TCR.

Conclusion : Les résultats de ce travail rejoignent dans une grande partie les données de la littérature, sauf que les LAL T sont plus fréquentes dans notre série par rapport à ce qui a été décrit auparavant et que la translocation t(17;19)(q22;p13) n'a été identifiée dans aucun cas alors que des anomalies rares ou nouvelles ont été trouvées dans 5,7 % des LAL.

Mots-clés : leucémie aigue lymphoblastique, cytogénétique, t(12;21)/t(9;22).

■P102 / 77. TRISOMIE 12 EN MOSAÏQUE : 3 NOUVELLES OBSERVATIONS ET REVUE DE LA LITTÉRATURE

Aziza Lebbar (1), C. Dupont (1), G. Viot G, J.M. Kunstman (2), F. Baverel (1) et J.M. Dupont (1)
Université Paris-Descartes, Faculté de Médecine ; APHP ; (1) Service d'Histologie-Embryologie-Cytogénétique, Hôpital Cochin ; (2) Service d'Histologie-Embryologie-Biologie de la reproduction, Hôpital Cochin ; (3) Génétique Médicale, Maternité Port Royal, Hôpital Cochin, Paris

La trisomie 12 en mosaïque est l'une des plus fréquentes mosaïques observées en prénatal. Si le taux d'anomalies retrouvées apparaît globalement élevé dans la trentaine d'observations rapportées en prénatal (environ 26 %), il existe cependant une grande variabilité de leur expression clinique. Aucun tableau ne semble spécifique de cette mosaïque. En postnatal, peu d'observations de trisomie 12 en mosaïque sont rapportées dans la littérature (4 à notre connaissance) et là aussi il existe une grande variété phénotypique qui semble être associée à la distribution tissulaire de cette mosaïque. Le caryotype sanguin est un mauvais reflet de cette répartition ; en effet, dans certains cas, cette mosaïque n'est observée que sur culture de fibroblastes, ce qui laisse penser qu'elle est sous diagnostiquée. À ce jour, aucun gène soumis à empreinte n'a été décrit sur le chromosome 12, une disomie uniparentale ne participerait donc pas à cette diversité phénotypique.
Nous rapportons 3 cas de trisomie 12 en mosaïque, 2 observations prénatales de découverte fortuite et une observation postnatale chez un homme de 61 ans au cours d'une exploration pour infertilité secondaire. Ces 3 observations, sans phénotype particulier associé, corroborent l'hypothèse qu'il existe un biais en faveur de la description des cas anormaux comme c'est probablement le cas pour d'autres mosaïques rares.

Mots-clés : chromosome 12, trisomie, mosaïque.

■P103 / 78. INTÉRÊT DES TECHNIQUES FISH DANS L'EXPLORATION DES MÉNOPAUSES PRÉCOCES

A.M. Francès, O. Dupuy, P. Collignon
Service de génétique médicale Centre Hospitalier intercommunal de Toulon

La littérature récente fait état d'un gène de suceptibilité, à l'origine de ménopauses précoces, situé à l'extrêmité distale de l'X, en Xq27 (POF1). Nous rapportons trois observations de ménopause précoce à caractère familial explorées par caryotype en haute résolution. Dans un cas ces études cytogénétiques se sont avérées normales et dans deux cas il y avait un doute sur la possibilité d'une microdélétion de l'extrêmité distale du bras long d'un chromosome X. La confirmation diagnostique a été apportée par les techniques de cytogénétique moléculaire à l'aide d'une sonde fluorescente hybridée en Xq27-q28. Dans les trois cas, nous avons observé la présence de deux spots d'intensité très différente, et ceci de façon répétitive sur l'ensemble des métaphases étudiées. Nous estimons que le recours à ces techniques est indispensable dans l'exploration des ménopauses précoces à caryotype apparemment normal. La variation intrafamiliale de l'expression phénotypique fait l'objet d'un certain nombre d'hypothèses dans la littérature. L'existence d'un biais d'inactivation et la possibilité de mutations larvées à l'origine de ce biais semblent privilégiées par certains auteurs.

Mots-clés : ménopause précoce, délétion Xq27-q28, cytogénétique moléculaire.

■P104 / 96. CARTOGRAPHIE PHYSIQUE DES POINTS DE CASSURE D'UNE TRANSLOCATION RÉCIPROQUE ÉQUILIBRÉE t(1;17)(p12;q24.3) ASSOCIÉE À UNE DYSPLASIE ISCHIO-VERTÉBRALE

N. Douet-Guilbert (1, 2), S. Blesson (3), F. Laumonnier (4), M.J. LeBris (2), F. Morel (1, 2), M. De Braekeleer (1, 2), S. Briault (4)
(1) Laboratoire d'Histologie, Embryologie et Cytogénétique, Faculté de Médecine et des Sciences de la Santé, UBO, Brest ; (2) Service de Cytogénétique, Cytologie et Biologie de la Reproduction, CHU Morvan, Brest ; (3) Service de Génétique, CHRU, Tours ; (4) INSERM U619, Génétique de l'Autisme et de la Déficience Mentale, Tours

La dysplasie ischio-vertébrale est une entité clinique rare, décrite en 1999 par Cohen *et al.*, caractérisée par une cyphoscoliose sévère et progressive, un déficit osseux des ischions et une dysmorphie faciale. Nous rapportons le cas d'un enfant présentant cette entité clinique associée à une translocation réciproque apparemment équilibrée entre le bras court du chromosome 1 et le bras long du chromosome 17.
Le patient est adressé dans un service de génétique clinique à 16 mois et demi pour une cyphose rapidement évolutive avec absence d'ossification des branches ischio-pubiennes associée à une séquence de Pierre Robin et une dysmorphie faciale. Il est le premier enfant d'un couple en bonne santé, non consanguin, sans antécédents familiaux. Né à terme après un accouchement eutocique, son poids est de 3 360 g, sa taille de 50 cm et son périmètre crânien est 34 cm. La séquence de Pierre Robin dépistée à la naissance est traitée chirurgicalement à 3 mois. À 6 mois, il présente une cyphose (T3 T10) évaluée à 36º avec dysplasie des corps vertébraux antérieurs. À 7 mois, une aggravation de la cyphose est observée à 54º. À 16 mois, elle est à 130º associée à un syndrome pyramidal. Un traitement chirurgical par arthrodèse circonférentielle puis un traitement par un corset de Milwaukee a permis une stabilisation de la cyphose. Examiné à l'âge de 4 ans, il mesure 95,5 cm, son développement psychomoteur est normal. À l'examen neurologique, les réflexes sont vifs, la force musculaire est normale. L'étude du caryotype sanguin a mis en évidence une translocation réciproque équilibrée : 46,XY,t(1;17)(p13.1;q25). Le caryotype des parents et le test de paternité ont permis de démontrer qu'il s'agissait d'une translocation de novo. En utilisant les techniques d'hybridation in situ fluorescente, nous avons réalisé une cartographie fine des points de cassure à l'aide de Bacs (Bacterial artificial chromosomes). L'étude préliminaire avec 10 Bacs recouvrant les régions des points de cassure sur une distance de 20 mégabases a montré que le point de cassure sur le der(1) était situé entre le Bac RP11-224F24 et RP11-114O18 et sur le der(17) entre le Bac RP11-1064E11 et RP11-84E24. Sur chacun des dérivés, nous avons utilisé de nouveaux Bacs pour rechercher le Bac chevauchant dans les intervalles de 2 mégabases précédemment déterminés où se situeraient les points de cassure. Après un screening avec 17 Bacs pour der(1) et 16 Bacs pour le der(17), nous avons identifié des bacs chevauchants aux deux points de cassure : Bac RP4-656M7 et Bac RP11-614K14 situé en 1p12 et les Bacs RP11-203M16, RP11-474K15 et RP11-108I3 situé en 17q24.3.
Parmi les 8 patients atteints de dysplasie ischio-vertébrale décrits par Cohen *et al.*, trois patients sont issus de la même famille (sur 3 générations) suggérant une probable origine génétique à ce syndrome. L'étude par FISH a permis de positionner plus précisément les points de cassure en 1p12 et 17q24.3. Les Bacs RP11-203M16, RP11-474K15 et RP11-108I3 ne couvrent aucun gène en l'état actuel de nos connaissances. Les Bacs chevauchants RP4-656M7 et le Bac RP11-614K14 couvrent le gène PHGDH (human 3-Phosphoglycerate deshydrogenase) (OMIM 606879).
Ce gène, bien qu'associé à un phénotype différent, pourrait être un gène candidat dans la dysplasie ischio-vertébrale, du fait de sa localisation au niveau d'un des points de cassure. La poursuite de cette étude par le séquençage des régions chromosomiques et en particulier du gène PHGDH permettra de confirmer l'implication éventuelle de ce gène dans cette pathologie osseuse.

Mots-clés : translocation réciproque équilibrée, anomalie du phénotype (dysplasie ischio-vertébrale), Bacs.

Référence

1. Cohen *et al. Pediatr Radiol* 1999 ; 29 : 131-134.

■P105 / 97. FŒTUS HOMOZYGOTE POUR DEUX TRANSLOCATIONS RÉCIPROQUES IDENTIQUES : DESCRIPTION D'UNE COMPLICATION RARE DE CONSANGUINITÉ

Danielle Martinet (1), Yvan Vial (2), Francine Thonney (1), Jacques S. Beckmann (1), Kathleen Meagher-Villemure (3) et Sheila Unger (1, 4)
(1) Service de génétique médicale, Centre hospitalier Universitaire Vaudois, Lausanne, Suisse ; (2) Service de gynécologie-obstétrique, Centre hospitalier Universitaire Vaudois, Lausanne, Suisse ; (3) Institut Universitaire de Pathologie, Centre hospitalier Universitaire Vaudois, Lausanne, Suisse ; (4) Institute of Human Genetics and Anthropology, Albert-Ludwig University, Freiburg, Germany

Nous décrivons le cas d'un fœtus de 24 semaines présentant des malformations multiples. La grossesse a été interrompue suite à la découverte échographique d'une malformation cardiaque et d'un micrognathisme. L'autopsie a révélé une séquence de Pierre-Robin, une hypertrophie du ventricule droit avec fibroélastose endocardiaque, une hypoplasie pulmonaire, une dysplasie rénale gauche, une dilatation pyelocalicielle bilatérale et un pied bot droit. L'analyse du caryotype a montré la présence d'une double translocation réciproque apparemment équilibrée. Les parents sont cousins issus de germains et sont tous deux porteurs d'une translocation t(17;20)(q21.1;p11.21) identique. Le caryotype fœtal est 46,XX,t(17;20)(q21.1;p11.21)mat,t(17;20)(q21.1;p11.21)pat. Une disomie uniparentale totale des chromosomes impliqués dans la translocation a été exclue. Les parents peuvent être porteurs d'une mutation récessive et par conséquent le fœtus peut être homozygote pour de nombreux loci sur les chromosomes 17, 20 et/ou sur d'autres régions chromosomiques ; cependant nous favorisons l'hypothèse selon laquelle les anomalies fœtales seraient liées aux réarrangements chromosomiques. Ainsi, malgré la

présence d'un caryotype apparemment équilibré chez le fœtus, le fait d'avoir hérité une double translocation identique aurait conduit à l'expression d'un syndrome récessif. Les anomalies spécifiques (hypertrophie ventriculaire droite, séquence de Pierre-Robin et malformations rénales kystiques) ne correspondent pas à un syndrome génétique connu ; néanmoins des similitudes existent avec le syndrome d'Eastman-Bixler (OMIM # 227280). Dans ce contexte, un gène ou des gènes, localisés dans la région du 17q21.1 ou/et 20p11.21 pourraient être responsables de la fibroélastose endocardiaque, et /ou de la fente palatine, ou du syndrome possible d'Eastman-Bixler.

Mots-clés : reciprocal translocation, chromosome 17, chromosome 20, right ventricular hypertrophy, Pierre-Robin sequence, Eastman-Bixler syndrome, consanguinity.

■P106 / 98. ÉTUDE DE LA SÉGRÉGATION MÉIOTIQUE, DE L'EFFET INTERCHROMOSOMIQUE ET DE L'ANOMALIE STRUCTURELLE CHROMOSOMIQUE DE TROIS TRANSLOCATIONS ROBERTSONIENNES (14q22q)

K. Moradkhani (1, 2), J. Puechberty (1, 2), S. Bhatt (1, 2), P. Vago (3), L. Janny (4), G. Lefort (2), S. Hamamah (5), P. Sarda (2), F. Pellestor (1)
(1) Institut de Génétique Humaine Montpellier, CNRS, Montpellier ; (2) Service de Génétique Médicale, CHU Montpellier ; (3) Service de Cytogénétique Médicale, CHU Clermont-Ferrand ; (4) Laboratoire de Biologie du Développement et de la Reproduction, CHU Clermont-Ferrand ; (5) Laboratoire de Biologie de la Reproduction, CHU Montpellier

Avec un taux de 1/1 000 naissances, les translocations Robertsoniennes sont les anomalies chromosomiques structurales les plus fréquentes chez l'homme. L'analyse de la ségrégation méiotique dans les spermatozoïdes chez les porteurs de ce type de translocation a un grand intérêt pour comprendre les mécanismes de la transmission des translocations et pour le conseil génétique. D'autre part, l'existence d'une translocation pourrait entraîner une malségrégation des chromosomes non impliqués dans la translocation lors de la méiose, ce qu'on l'appelle effet interchromosomique. Des études antérieures ont mis en évidence une diversité des points de cassure chromosomique chez les porteurs d'une même translocation Robertsonienne. De plus, il a été montré l'existence d'une interaction entre les bras courts des chromosomes acrocentriques (non transloqués) participant à la formation du trivalent (stade pachytène) et la vésicule sexuelle, cette interaction pouvant entraîner un défaut sévère de la spermatogenèse. Afin d'analyser les interactions entre ces différents processus, nous avons étudié :
1) la ségrégation méiotique dans les spermatozoïdes,
2) l'effet interchromosomique éventuel,
3) la localisation des points de cassure chromosomique, chez trois hommes âgés de 33 à 37 ans, porteurs de rob(14q22q), et présentant des bilans spermatiques différents.
La fréquence de spermatozoïdes chromosomiquement normaux chez ces 3 sujets était en moyenne de 80 %. Vingt pour cent des spermatozoïdes présentaient une nullisomie ou une disomie, pour le chromosome 14 ou le chromosome 22.
L'effet interchromosomique a été testé pour les chromosomes 3, 9, 11, 13, 15, 18, X et Y. Les taux de disomie observés était de 0,22 % pour le chromosome 3, 0,27 % pour le chromosome 9, 0,61 % pour le chromosome 11, 1 % pour le chromosome 13, 0,57 % pour le chromosome 15, 0,48 % pour le chromosome 18, 0,15 % pour le chromosome X et de 0,19 % pour le chromosome Y. La localisation des points de cassure a été réalisée sur des préparations métaphasiques provenant de chaque patient, et en utilisant différentes sondes spécifiques des bras courts des chromosomes acrocentriques. Ainsi, nous avons pu déterminer que la taille du segment intercentromérique était plus grande pour le sujet normospermique que pour le sujet tératospermique. Pour le sujet oligoasthénotératospermique, la taille de ce segment n'a pas pu être déterminée. Ces résultats nous ont permis de mettre en évidence directe entre la localisation des points de cassure des chromosomes acrocentriques impliqués dans les translocations Robertsoniennes, la malségrégation de ces chromosomes et les anomalies de la spermatogenèse.
Cette étude a bénéficié du soutien financier d'un projet PHRC (N° 7732) du CHU de Montpellier.

Mots-clés : translocation Robertsonienne, ségrégation méiotique, sperme.

■P107 / 112. DÉLÉTION INTERCALAIRE DE NOVO DU BRAS LONG DU CHROMOSOME 5 CHEZ UN ENFANT AVEC SYNDROME MALFORMATIF ET RETARD DU DÉVELOPPEMENT

M. Chaabouni (1), I. Chelly (1) F. Maazoul (1), J. Chenaina (2), M.C. Perrier (3), L. Ben jemaa (1), R. M'rad (1), H. Chaabouni (1)
(1) Service des maladies héréditaires, hôpital Charles-Nicolle & Laboratoire de génétique humaine, faculté de médecine, Tunis, Tunisie ; (2) Service de néonatalogie ; centre de maternité et néonatalogie, Tunis, Tunisie ; (3) Service de cytogénétique ; hôpital Necker-Enfants malades, Paris, France

La délétion intercalaire du bras long du chromosome 5 est une anomalie chromosomique rare. Nous présentons l'observation d'un garçon âgé de 10 mois chez qui une délétion intercalaire de la région 5q13q21 a été retrouvée sur le caryotype en bandes R et G. Le patient présente une dysmorphie cranio-faciale avec dolichocéphalie, un front bombé, une énophtalmie bilatérale, un hypertélorisme, des ailes du nez hypoplasiques, un rétrognatisme et un cou court. Au niveau des deux pieds, on note une implantation haute du premier orteil, une clinodactylie du 5e orteil, un chevauchement des 4e et 5e orteils ainsi qu'un pied bot droit. Le patient présente une hypotonie axiale très importante avec absence de maintien de la tête à 10 mois. Il s'agit d'une délétion de novo, le caryotype des parents étant normal. Comme le schéma des bandes au niveau du chromosome 5 est répétitif, le caryotype classique reste insuffisant pour déterminer avec certitude les bandes concernées par la délétion. Une caractérisation de la délétion avec les techniques de cytogénétique moléculaire est en cours, elle nous permettra de mieux établir, avec les autres cas de la littérature, des corrélations phénotype-génotype.

Mots-clés : chromosome, délétion, cytogénétique moléculaire.

■P108 / 114. LE SYNDROME DE JACOBSEN : À PROPOS D'UNE OBSERVATION TUNISIENNE

L. Ben jemaa (1), M. Chaabouni (1), F. Maazoul (1), M. Le L'orch (2), R. M'rad (1), I. Chelly (1), M. Trabelsi (1), H. Chaabouni (1)
(1) Service des maladies héréditaires, hôpital Charles-Nicolle & Laboratoire de génétique humaine, faculté de médecine, Tunis, Tunisie ; (2) Service de cytogénétique ; hôpital Necker-Enfants malades, Paris, France

Le syndrome de Jacobsen est une entité clinique bien définie due à une délétion partielle du bras long du chromosome 11, le plus souvent au niveau de la région 11q23.3. Ce syndrome associe des signes dysmorphiques, des anomalies cardiaques, une thrombocytopénie ainsi qu'un retard mental de degré variable. Nous présentons l'observation d'un patient tunisien âgé de 4 ans référé à notre consultation pour un retard des acquisitions psychomotrices et une dysmorphie cranio-faciale associant un occiput plat, un front bas, un ptosis bilatéral, une obliquité anti-mongoloïde des fentes palpébrales, un micro-rétrognatisme.
L'examen des membres retrouve un pli unique transverse bilatéral et une clinodactylie des 2e et 5e doigts. L'échographie cardiaque met en évidence une maladie d'Ebstein. L'examen ophtalmologique retrouve un colobome papillaire et choriorétinien inférieur de l'œil droit. Par ailleurs il n'y a pas de thrombocytopénie chez notre patient. L'étude du caryotype en bandes R montre une délétion intercalaire du bras long du chromosome 11 : 46,XY,del(11)(q22.3q24). L'hybridation in situ fluorescente de la sonde RP-770G7 montre que le télomère 11qter est en place. D'autres sondes localisées dans la région délétée sont en cours de réalisation. Ceci nous permettra d'effectuer certaines corrélations phénotype-génotype en comparant nos données à celles de la littérature. L'absence de thombocytopénie chez notre patient peut être due à la petite taille de la délétion qui n'inclut pas de gène candidat pour cette anomalie.

Mots-clés : syndrome Jacobsen, délétion, sonde.

■P109 / 128. CARACTÉRISATION PAR CGH-MICROARRAY HAUTE DENSITÉ D'UN DÉRIVATIF DU CHROMOSOME 11 DÉSÉQUILIBRÉ ASSOCIÉ À UN PHÉNOTYPE DE SYNDROME DE DOWN

F. Bena (1), A. M. Frances (2), P. Collignon (2) S. Dahoun (1)
(1) Service de Génétique Médicale, Hôpital cantonal universitaire de Genève, Suisse ; (2) Service de Génétique Médicale, Centre hospitalier intercommunal, Toulon

Dans le cadre de l'étude collaborative sous l'égide de l'ACLF sur la cartographie des remaniements des régions subtélomériques, nous rapportons la caractérisation par CGH- microarray de la trisomie 21 partielle d'une enfant par malségrégation d'une translocation maternelle équilibrée t(11;21)(q24;q21). À la naissance, l'enfant présente un phénotype évocateur de syndrome de Down, dès l'âge de 4 mois une hypotonie et une hyperlaxité importantes, puis s'ajoute un déficit auditif, un strabisme, un retard de croissance staturo-pondéral avec prédominance de l'hypotrophie pondérale (-4DS). Le retard de développement psychomoteur est manifeste, l'acquisition de la station assise à l'âge de 12 mois et de la marche à 4 ans. Il n'y a pas de malformation cardiaque. À 6 ans, les examens biologiques n'ont pas mis en évidence d'anomalies de la coagulation.

L'analyse chromosomique révèle la formule chromosomique 46,XX,der(11)t(11;21)(q24;q21)mat, soit une trisomie partielle du bras long du chromosome 21 à l'origine du phénotype de syndrome de Down, dérivatif transmis par mauvaise ségrégation d'une translocation maternelle(11;21)(q24;q21). Dans le but de caractériser ce remaniement et délimiter les régions impliquées dans le phénotype de cette patiente, nous avons utilisé la technologie CGH-microarray. Cette approche permet la détection des altérations chromosomiques sub-microscopiques, et de cartographier les régions impliquées dans le remaniement. La caractérisation moléculaire de ce remaniement déséquilibré a été réalisée sur des microarray haute densité (NimbleGene™ SYSTEMS,INC.) contenant 385 000 sondes oligonucléotides. Cette analyse, a permis d'évaluer la trisomie partielle du chromosome 21 à 23,2 Mb et la monosomie partielle du chromosome 11 à 6 Mb. En accord avec la littérature, qui rapportent que les délétions distales à la région 11q24.1 ne produisent pas un phénotype typique du syndrome 11q-, la monosomie partielle du chromosome 11 en région q24qter chez notre patiente n'est pas à l'origine de particularité phénotypique. La trisomie 21 partielle q21qter induit un tableau clinique de syndrome de Down sans particularité.

Mots-clés : microarrays, trisomie partielle 21, monosomie partielle 11q.

■P110 / 134. ASPECTS CLINIQUE, CYTOGÉNÉTIQUE ET MOLÉCULAIRE D'UN SYNDROME D'ANGELMAN AVEC TRANSLOCATION ROBERTSONIENNE (15;22) ET ISODISOMIE UNIPARENTALE DU 15

Michelle Boceno, Albert David, Sébastien Jacquemont, Philippe Piloquet, Pierre Boisseau, Sébastien Schmitt, Stéphane Beziau, Jean-Marie Rival
Service de génétique Médicale, Institut de biologie CHU, 9, quai Moncousu, 44093 Nantes

Le diagnostic d'un syndrome d'Angelman est souvent difficile dans la première année de vie. La grossesse et la naissance sont sans particularité, le PC et l'examen clinique sont normaux.
Les signes majeurs apparaissent entre un et trois ans : retard des acquisitions motrices, ataxie associée à une hypertonie périphérique, infléchissement du périmètre crânien, absence de développement du langage contrastant avec une bonne compréhension. Le comportement tout à fait typique se caractérise par des rires fréquents, une hyperexcitabilité, des troubles du sommeil. L'épilepsie est notée dans la majorité des cas avec un EEG présentant un tracé particulier même en l'absence de crise. Le cas clinique de l'enfant de 3 ans que nous présentons ici reproduit ce que nous venons de décrire. La grossesse et l'accouchement à 39 SA sont sans particularité. Les mensurations sont normales ainsi que les premiers mois de vie. La consultation à 35 mois a été motivée par l'existence d'un retard psychomoteur notable puisqu'il n'a pas encore acquis la marche autonome et a un langage restreint limité à des répétitions de syllabes. C'est pourquoi l'évocation de ce syndrome n'a pas été évidente lors de la première consultation. Le caryotype a montré la présence d'une translocation robertsonienne intéressant un chromosome 22 et un chromosome 15 qui s'est avérée ultérieurement être héritée du papa. L'EEG montrait un tracé avec des ondes lentes très amples à prédominance antérieure évoquant un syndrome d'Angelman ou un chromosome 20 en anneau.
Le diagnostic devenait alors évident et la biologie moléculaire était demandée. Cependant compte tenu du résultat du caryotype : 45,XY,t(15;22)(q10;q10) et donc de la présence de deux chromosomes 15 différents, nous nous attendions à trouver une hétérodisomie uni-parentale par mal-ségrégation en méïose I et correction d'une trisomie 15 par perte du chromosome maternel. C'est une isodisomie qui a été mise en évidence par la biologie moléculaire avec des marqueurs de la région 15q11 q12. Une délétion maternelle, qui pouvait dès lors se discuter, a été exclue par hybridation in situ. Nous avons émis l'hypothèse d'un crossing-over entre les deux chromosomes paternels entraînant une isodisomie partielle de la région impliquée dans ce syndrome. Effectivement, il existe une hétérodisomie de la partie distale des chromosomes 15 bien mise en évidence par la biologie moléculaire. L'UPD dans le cadre d'un Angelman est une occurrence assez rare (5 à 7 %). Le caractère iso ou hétérodisomique est rarement spécifié. Le mécanisme que nous avons mis en évidence nous a semblé intéressant à rapporter de part sa rareté.

Mots-clés : Angelman, isodisomie 15, translocation robertsonnienne.

■P111 / 135. PUBERTÉ PRÉCOCE ET ALBINISME RÉTINIEN ASSOCIÉS À UNE TRISOMIE PARTIELLE 18q ET MONOSOMIE 11q

L. Mutesa (1), A.-C. Hellin (1), M. Jamar (1), G. Pierquin (1), A. Verloes (2), V. Bours (1)
(1) Service de Génétique Humaine, CHU du Sart, Tilman, Liège ; (2) Unité de Génétique Clinique, Hôpital Robert-Debré, Paris

Nous rapportons le cas d'une jeune fille âgée de 10 ans présentant une trisomie partielle 18q et une monosomie 11q dues à une translocation maternelle. Son phénotype est partiellement commun au syndrome de Jacobsen et à la duplication du 18q (dup 18q) hormis des anomalies atypiques telles qu'une puberté précoce, un albinisme rétinien et une hypermétropie. Par analyse du caryotype et technique de FISH, les points de cassure ont été localisés sur un échantillon du sang maternel, i.e. t(11;18)(q24;q13) et une formule finale chez notre proposante a été établie 46,XX,der(11)t(11;18)(q24;q13). À notre connaissance, aucune publication décrivant cette combinaison de trisomie partielle 18q et monosomie 11q avec un phénotype particulier n'a été rapportée jusqu'à présent.

Mots-clés : trisomie partielle 18q, monosomie 11q, puberté précoce et albinisme rétinien.

■P112 / 146. ÉTUDE D'UN REMANIEMENT CHROMOSOMIQUE HÉRITÉ APPAREMMENT ÉQUILIBRÉ EN PRÉNATAL PAR CGH ET CGH ARRAY

Andrée Delahaye (1), Stephane Serero (2), Éva Pipiras (1), Évelyne Bellais (1), Valérie Malan (1), Marion Gérard (3), Serdar Kasakyan (4), Samia Kanafani (1), Anne-Claude Tabet (1), Martine Sinico (5), Moncef Benkhalifa (4), Jean-Philippe Wolf (1), Brigitte Benzacken (1)
(1) Fédération de Cytogénétique, GHU Nord Jean-Verdier, Robert-Debré (AP-HP) ; (2) Laboratoire de Cytogénétique, Évreux, CBCM ; (3) Service de Génétique, CHI Créteil (94) ; (4) ATL Reproductive Biology & Genetics Laboratory, Voisins-le-Bretonneux (78) ; (5) Service d'anatomopathologie, CHI Créteil (94)

Nous rapportons le cas d'un diagnostic prénatal de translocation réciproque t(7;10)(q11.22;p14) maternelle, apparemment équilibrée. L'amniocentèse avait été motivée par l'âge maternel. La patiente avait déjà deux enfants en bonne santé, et avait présenté dans ses antécédents deux FCS. En dépit du conseil rassurant du cytogénéticien, du fait du caractère hérité de la translocation, l'apparition de signes d'appel échographiques graves (agénésie du corps calleux, microcéphalie, et une cardiopathie complexe) a conduit les parents à interrompre la grossesse.
L'examen fœtopathologique a confirmé le syndrome polymalformatif. Le fœtus de sexe féminin présentait un retard de croissance < à -3DS, des anomalies cardiaques associant une cardiopathie complexe avec hypoplasie du tronc de l'artère pulmonaire et du canal aortique et une CIV. L'établissement du caryotype et les investigations en cytogénétique moléculaire ont été réalisés à partir de cultures fibroblastiques fœtales. Pour préciser ce remaniement, des techniques d'hybridation in situ (FISH), hybridation génomique comparative (CGH) classique et sur puces à ADN (CGH-array), ont été réalisées. La FISH des régions subtélomériques a mis en évidence, une délétion de la région subtélomérique 7qter sur le chromosome der 10, sans rapport avec les points de cassure de la translocation, jugée précédemment équilibrée. Par ailleurs les points de cassure ont été précisés, par une FISH spécifique de la région Williams-Beuren, q11.23. La formule chromosomique s'écrit : 46,XX.ish t(7;10)(q11.22;p14)(wcp7+,wcp10+,tel7+,tel10+; wcp7+,wcp10+,tel7q-,tel10q+). Grâce à la technique de CGH, la région délétée a été mieux ciblée [.rev ish dim (7q35q36)]. L'utilisation d'une puce à ADN (CGH array) ciblée sur les régions subtélomériques, 490 clones, a permis dans ce cas précis, de localiser 3 clones délétés dans la région 7qter : RP11-43L19, RP11-79K9, RP1158F7. La taille de la délétion est estimée à 3,6 Mb. Nous discutons l'intérêt de la cytogénétique moléculaire en diagnostic prénatal, lorsque le fœtus présente des signes échographiques malformatifs et un réarrangement chromosomique hérité et apparemment équilibré.

Mots-clés : CGH array, FISH télomérique, translocation apparemment équilibrée, héritée.

■P113 / 147. DIAGNOSTIC PRÉNATAL D'UNE TRISOMIE 20 PARTIELLE LIBRE EN MOSAÏQUE DE NOVO

Samia Kanafani (1), Valérie Malan(1), Éva Pipiras(1), Anabela Rodrigues(2), Anne-Claude Tabet (3), Azzedine Aboura (3), Michèle Uzan (2), Chantal Largillière (2), Martine Bucourt (3), Jean-Philippe Wolf (1) et Brigitte Benzacken(1, 3)
(1) Laboratoire de cytogénétique et Biologie de la Reproduction, Hôpital Jean-Verdier (AP-HP) ; (2) Service d'Obstétrique, Hôpital Jean-Verdier (AP-HP) ; (3) Département de Génétique de Robert Debré, UF de Cytogénétique (AP-HP) ; (4) Service d'Anatomo-pathologie, Hôpital Jean-Verdier (AP-HP)

Une primigeste de 23 ans, sans antécédents médico-chirurgicaux particuliers, s'adresse à la maternité de Jean Verdier pour une première consultation au terme théorique de 15 SA + 3 j, sans échographie préalable. Il

est noté une consanguinité : elle et son mari sont cousins germains. Une première échographie faite aux urgences permet de dater et de corriger le terme de sa grossesse. Une deuxième échographie à 18 SA + 3 j, met en évidence une dilatation asymétrique des cornes ventriculaires postérieures cérébrales (9,2 mm à droite et 7,5 mm à gauche). Les marqueurs sériques, après un premier refus, sont prélevés à 19 SA. Ils sont à 1/202. L'échographie de contrôle à 21 SA + 5 j, confirme l'asymétrie des cornes cérébrales. Le liquide amniotique (LA) est en excès et les dopplers utérins sont pathologiques (bas débit et notch grade IV de façon bilatérale). Le fœtus est eutrophique. Une amniocentèse est proposée et acceptée par le couple pour l'étude du caryotype fœtal. En cytogénétique conventionnelle, présence d'un marqueur en mosaïque à 30 % : 47,XX,+mar[6]/ 46,XX[14] Après hybridation in situ, le marqueur s'avère être du chromosome 20 (peinture du 20 WCP20), monocentrique (sonde alpha satellite D20Z1), avec une délétion du bras long du chromosome 20 confirmée par la présence de la région subtélomérique du bras court (20ptel) et de son absence du bras long du chromosome 20 surnuméraire en mosaïque (20qtel). Afin de préciser la structure du dérivé 20, des BACs spécifiques 20p12 et 20q12 sont hybridés sur les chromosomes métaphasiques. La présence de signaux sur ces deux régions et l'absence d'hybridation des télomères en 20q, confirment la constitution du marqueur par un bras court 20p et un bras long 20q déleté : 47,XX,+mar.ish del(20)(q12)(wcp20+,D20Z1+,tel20p+, tel20q-)[6]/46,XX[14]. Les caryotypes parentaux sont normaux. La surveillance échographique à 26 SA retrouve l'asymétrie des cornes ventriculaires, une brachycéphalie, un fémur au 3e percentile, et un LA toujours en excès. La ponction du sang fœtal (SF) à 26 SA + 5 j retrouve les mêmes anomalies chromosomiques précitées. Une interruption médicale de grossesse est proposée et acceptée par le couple. Le fœtus est de sexe féminin avec un léger hypertélorisme, des oreilles plutôt petites avec une partie supérieure large de l'hélix, des membres supérieurs un peu courts, sans malformation apparente ou anomalie viscérale associées.

Revue de la littérature :

– La trisomie 20 en mosaïque représenterait 16 % des mosaïques. Elle est localisée au niveau du tissu rénal et n'est généralement pas retrouvée dans le SF. Il s'agit le plus souvent d'un accident post-zygotique. Le pourcentage de cette mosaïque serait prédictif du pronostic.

– Les cas de trisomie 20 partielle sont le plus souvent le résultat d'une malségrégation d'un remaniement parental avec un phénotype variable de pronostic plus péjoratif.

Des cas de trisomie partielle en mosaïque de novo en anneau ont été rapportés avec retard psychomoteur, brachycéphalie, clinodactylie et ectopie testiculaire.

Conclusion : Nous discutons de l'apport des techniques de cytogénétique moléculaire au diagnostic prénatal et comparons nos résultats aux données de la littérature.

Mots-clés : trisomie 20 partielle, trisomie 20 en mosaïque, prénatal.

■P114 / 148. ANALYSE PAR FISH DE LA SÉGRÉGATION GAMÉTIQUE DES CHROMOSOMES 21 CHEZ UN PATIENT INFERTILE PORTEUR D'UNE GRANDE INVERSION PÉRICENTRIQUE D'UN CHROMOSOME 21 : CONSÉQUENCES POUR LA DESCENDANCE

Valérie Malan (1), Éva Pipiras (1), Christophe Sifer (1), Isabelle Cedrin-Durnerin (2), Gérard Tachdjian (3), Jean-Noël Hugues (2), Azzedine Aboura (4), Anne-Claude Tabet (4), Jean-Philippe Wolf (1), Brigitte Benzacken (1)

(1) Laboratoire de cytogénétique et Biologie de la Reproduction, Hôpital Jean-Verdier (AP-HP) ; (2) Service d'AMP, Hôpital Jean-Verdier (AP-HP) ; (3) Laboratoire de cytogénétique et Biologie de la Reproduction, Hôpital Antoine-Béclère (AP-HP) ; (4) Département de Génétique de Robert Debré, UF de Cytogénétique (AP-HP)

Nous rapportons le cas d'un patient âgé de 40 ans présentant une infertilité primaire de 3 ans et consultant dans le centre d'Aide Médicale à la Procréation de l'hôpital Jean Verdier (AP-HP). Le bilan biologique a mis en évidence une oligo asthéno tératospermie sévère à testis normal sur plusieurs spermogrammes et spermatocytogrammes. L'examen clinique n'a retrouvé aucune anomalie. Le bilan clinico-biologique de sa conjointe âgée de 34 ans s'est avéré normal. Afin que le couple puisse bénéficier d'une tentative de fécondation in vitro avec micro injection de spermatozoïde (ICSI), un caryotype lymphocytaire a été réalisé, selon le protocole adopté dans notre centre. Le caryotype a révélé sur toutes les mitoses examinées la présence d'une inversion péricentrique d'un des deux chromosomes 21.

Le caryotype s'écrit : 46,XY,inv(21)(p12q22.3). Ces points de cassure n'ont, à notre connaissance, jamais été rapportés dans la littérature. Le risque de déséquilibre à la descendance est important, car l'inversion est de grande taille, et la probabilité de crossing-over à l'intérieur de la boucle d'inversion très élevé. Afin d'étudier le taux de déséquilibres gamétiques, l'hybridation in situ spécifique sur spermatozoïdes a été réalisée sur 2 recueils de sperme différents. La combinaison de la sonde subtélomérique 21qter et d'une sonde spécifique de la région critique du syndrome de Down en 21q22.13q22.2, couplées à deux fluorochromes de couleurs différentes, a permis d'évaluer de façon précise le taux de gamètes déséquilibrés. Le point de cassure se situe entre les 2 sondes. Les résultats sont les suivants : 62 % des spermatozoïdes étaient normaux ou équilibrés, 11 % présentaient une duplication du segment chromosomique 21qter et 27 % présentaient une monosomie du segment chromosomique 21qter.

Ce cas démontre l'utilité da la FISH gamétique chez les hommes infertiles, présentant un remaniement chromosomique. Les résultats ont permis de préciser le conseil génétique et d'évaluer pour ce couple, la chance d'avoir un enfant sain. Nous discutons du phénotype en cas de déséquilibre et de la conduite à tenir.

Mots-clés : inversion péricentrique, diagnostic préimplantatoire, FISH sur spermatozoïdes.

■P115 / 150. COMPARAISON DE L'ÉTUDE DE REMANIEMENTS CHROMOSOMIQUES DE PETITE TAILLE IMPLIQUÉS DANS LE RETARD MENTAL, PAR CGH-ARRAY 2 700 CLONES ET 490 CLONES

Pipiras E. (1), Delahaye A. (1), Kanafani S. (1), Aboura A. (2), Tabet A.C. (2), Bitoun P. (3), Heron D. (4), Baumann C. (2), Moirot H. (5), Pinard J.M. (6), Siffroi J.P. (7), Verloes A. (2), Wolf J.P. (1), Benzacken B. (1, 2)

(1) Service d'Histologie Embryologie Cytogénétique et Biologie de la Reproduction, Hôpital Jean-Verdier (AP-HP), Bondy, France ; (2) Département de Génétique, Hôpital Robert-Debré (AP-HP), Paris, France ; (3) Service de Pédiatrie, Hôpital Jean-Verdier (AP-HP), Bondy, France ; (4) Département de Génétique, Hôpital La Pitié Salpêtrière (AP-HP), Paris, France ; (5) Laboratoire de Cytogénétique, Hôpital Charles-Nicolles, Rouen, France ; (6) Service de Pédiatrie Réanimation et Neuropédiatrie, Hôpital Raymond-Poincaré (AP-HP), Garches, France ; (7) Service d'Histologie Embryologie Cytogénétique, Hôpital Tenon (AP-HP), Paris, France

La prévalence du retard mental dans la population générale est estimée à environ 3 % soit 14 000 nouveaux cas par an en France. Les anomalies chromosomiques sont observées dans environ 10 % des cas et constituent ainsi la première cause génétique de retard mental. En revanche, chez 60 % des patients aucune étiologie n'est trouvée. La cytogénétique moléculaire a permis de montrer qu'au moins 6 % des retards mentaux peuvent être expliqués par des anomalies cryptiques, situées au niveau des régions subtélomériques. La CGH-Array est une technologie plus récente pour rechercher des déséquilibres génomiques intercalaires. Elle permet de détecter, en une seule expérience, l'ensemble des altérations quantitatives : les gains et les pertes de segments génomiques de quelque centaines de kilobases à quelques mégabases.

Nous rapportons les résultats de l'utilisation de deux types de puces (Array-Genomics et Integrachip), la puce 2 700 clones avec une résolution de 1MB, 10 fois plus résolutive qu'un caryotype, qui permet l'analyse globale du génome et la puce de 490 clones qui permet d'étudier les régions sublélomériques et des régions chromosomiques « chaudes ».

Population étudiée avec 2 700 clones : 10 patients

– 4 patients porteurs d'une anomalie connue, servant de test positif : 2 anomalies suspectées en haute résolution, 1 anomalie vue en FISH spécifique des régions subtélomériques, 1 anomalie vue en CGH.

– 6 patients sans anomalie (Caryotype, FISH et CGH classique) présentant un retard mental associé à une dysmorphie.

Population étudiée avec 490 clones : 18 patients

– 1 anomalie télomérique vue en CGH.

– 17 patients sans anomalie (Caryotype, FISH) présentant un retard mental associé à une dysmorphie.

Résultats obtenus avec la puce à 2 700 clones : La CGH-Array a confirmé 4 fois sur 4 les anomalies génomiques qui avaient été retrouvées en cytogénétique classique ou en cytogénétique moléculaire. Il n'y a pas eu de remaniement détecté par cette méthode chez les 6 autres. Résultats obtenus avec la puce à 490 clones : 1 anomalie retrouvée en CGH classique dans la région subtélomérique a été confirmée par la CGH-Array 490 clones.

Nous discutons des avantages et des inconvénients des deux puces : la puce de 2 700 clones a une résolution moléculaire de 1Mb, les résultats sont fiables et reproductibles avec précision concernant la taille et le nombre de clones altérés. La résolution de la puce de 490 clones n'est pas suffisante : ses résultats sont difficiles à interpréter. Les difficultés méthodologiques sont exposées.

Conclusion : La CGH-Array 2 700 clones avec une résolution de 1MB a une capacité d'analyse du génome globale. Elle est un outil très intéressant pour l'étude des remaniements cryptiques, responsables de retard mental inexpliqué. La puce 490 clones ne paraît pas plus sensible que la FISH télomérique sur notre petit échantillon, mais l'étude sera poursuivre sur un plus grand nombre de patient. Le choix et le nombre des fragments d'ADN répartis sur les lames restent à définir.

Mots-clés : retard mental, CGH-Array, remaniements cryptiques.

■P116 / 153. CARYOTYPE 46,XY,dir dup(Xp)(p21.3-p22.2) ASSOCIÉ À UN RETARD MENTAL ET UN HYPOGONADISME

L. Telvi (1), M. Minz (1), C. Bellesme (2), J.M. Dupont (3), P. Bougnères (2)
(1) Service d'Histologie-Embryologie-Cytogénétique et Anatomie Pathologique, Hôpital Saint-Vincent-de-Paul, Paris ; (2) Service d'Endocrinologie Pédiatrique, Hôpital Saint-Vincent-de-Paul, Paris ; (3) Laboratoire de Cytogénétique, Hôpital Cochin, Paris

La duplication partielle du chromosome X chez un sujet masculin aboutit toujours à un tableau clinique grave. Nous nous sommes déjà intéressés à ce type d'anomalies et avons publié un cas de duplication du chromosome Xp [46,XY,inv dup(X)(p22.11->p22.32)] associé à un hypogonadisme hypogonadotrophique, des organes génitaux externes hypoplasiques, un retard mental profond et des anomalies congénitales multiples (*J Med Genet* 1996 ; 33 : 767-771).
Nous présentons un cas avec caryotype 46,XY,dup(Xp) associant un retard mental, un retard de développement et un hypogonadisme. Cet enfant est né de parents caucasiens, non consanguins, au terme de 37 semaines de grossesse. À la naissance, il présentait une hypotrophie importante, une soufrance fœtale aigue et des anomalies des organes génitaux externes à type de micropenis et cryptorchidie.
À 6 ans, l'enfant présente une dysmorphie discrète, un retard psychomoteur sévère avec épilepsie myoclonique d'apparition précoce. L'IRM montre une dilatation ventriculaire modérée et un élargissement des espaces péricérebraux. Par ailleurs, il existe un retard staturo-pondéral majeur et une hypotonie cérébelleuse.
Conclusion : Ces 2 sujets de sexe masculin présentent une duplication de Xp sur des régions différentes : dans le premier cas, la duplication porte sur la région Xp22.11->p22.32 et dans le deuxième cas la duplication porte sur la région Xp21.3->p22.2. Ils présentent tous les deux un retard mental profond, un retard staturo pondéral et des anomalies des organes génitaux externes. Cependant, dans le cas présenté à ces anomalies s'ajoutent un hypogonadisme, tandis que dans le premier cas à ces anomalies s'ajoutent une hypogonadisme hypogonadotrophique et des anomalies congénitales multiples.
Ces 2 cas sont différents et demandent une étude plus précise en biologie moléculaire que nous sommes en train d'entreprendre.

Mots-clés : hypogonadisme, retard mental, 46,XY,dup(Xp).

■P117 / 193. LES DUPLICATIONS TERMINALES INVERSÉES : CARACTÉRISATION MOLÉCULAIRE D'UN NOUVEAU CAS IMPLIQUANT LE 2p

N. Gruchy (1), M.L. Jacquemont (1), L. Finkel (1), S. Lyonnet (2), P. Labrune (3), J. El Attar (1), J.L. Taillemite (1), J.P. Siffroi (1), M.F. Portnoï (1)
(1) Service de Cytogénétique, CHU Saint-Antoine, Paris ; (2) Service de Génétique, CHU Necker-Enfants-Malades, Paris ; (3) Service de Pédiatrie, CHU Antoine-Béclère, Paris

Les duplications terminales inversées sont des anomalies chromosomiques récurrentes, de novo, récemment décrites pour un nombre croissant de chromosomes. Interprétées au départ comme de simples duplications, leur caractérisation moléculaire a montré leur association à une délétion distale, télomérique, non détectable en cytogénétique conventionnelle. Le cas, le plus connu, le mieux étudié, est celui de la duplication inversée 8p, dont l'origine est liée à la présence d'un polymorphisme, favorisant la survenue d'une recombinaison méiotique anormale maternelle. Nous rapportons une nouvelle observation de duplication inversée terminale, impliquant le 2p, découverte chez une fillette de 8 ans avec retard mental. Un premier caryotype, effectué à l'âge de 3 mois, pour dysmorphie faciale, hypotonie, et sténose des valves pulmonaires, avait montré un excès de matériel au niveau du 2p. La normalité du caryotype des parents, une hybridation complète du der(2) avec une sonde de peinture du chromosome 2, avaient conduit à interpréter l'anomalie comme une duplication 2p isolée, (2p23.1pter), de novo. Une nouvelle étude en FISH a permis de caractériser précisément l'anomalie. Des sondes du locus N-Myc (2p24.3), locus subtélomérique 2p, une série de BACs étagés de la région, ont identifié une duplication inversée terminale 2p23.2p25.3 de 28Mb, associée à une délétion de la région télomérique 2p25.3 de 1,4 Mb. Le caryotype de l'enfant est ainsi : 46,XX, invdupdel(2)(:p23.2->p25.3::p25.3->qter) de novo.
Cette double anomalie a pour conséquence cytogénétique, une trisomie 2p partielle, avec délétion 2p terminale. La trisomie 2p partielle, intéressant différents segments chromosomiques, est connue ; plus de 60 cas ont été publiés. La très grande majorité résultant d'une translocation déséquilibrée est associée à une monosomie pour un autre segment chromosomique. Le phénotype comprend le plus souvent un retard mental sévère, une dysmorphie cranio-faciale caractéristique avec grand front bombant, hypertélorisme, nez court, micrognathie, des doigts et orteils longs et une scoliose. Des cardiopathies sont fréquentes, et dans 18 % des cas, des anomalies de fermeture du tube neural, en particulier des anencéphalies, sont rapportées. Plusieurs cas de neuroblastome ont également été observés.
À notre connaissance, deux cas seulement d'invdupdel terminale 2p ont été décrits : dans l'un, il s'agit d'une petite fille avec un retard mental important, dans l'autre, d'un fœtus avec anencéphalie. Notre patiente a un phénotype de trisomie 2p, avec retard psychomoteur sévère (marche acquise à 3 ans, absence de langage à 8 ans), dysmorphie faciale caractéristique, cardiopathie, scoliose, extrémités longues. Il reste à apprécier la part de la délétion 2p télomérique dans le phénotype, jamais décrite isolée. Notre observation nous conduit à discuter le mécanisme de survenue, ainsi que la relation génotype/phénotype de ces duplications. Cette région 2p est riche en gènes impliqués dans le développement du système nerveux, avec une grande expression dans le tissu cérébral fœtal. Dans notre cas, certains sont dupliqués (SOX11, localisé en 2p25.2 ; MYT1L, localisé en 2p25.3) ou délété (SNTG2 situé en 2p25.3). Ces gènes pourraient avoir un rôle important dans le retard mental sévère et les anomalies de fermeture du tube neural, observés dans ces remaniements chromosomiques.

Mots-clés : duplication inversée, délétion, trisomie 2p partielle.

■P118 / 195. VARIANT PÉRICENTROMÉRIQUE OU DUPLICATION INTERSTITIELLE 15q PROXIMALE ? APPORT D'UNE TECHNIQUE DE PCR QUANTITATIVE

N. Carelle (1), E. Guérin (2), O. Caron (3), V. Biancalana (3), F. Girard-Lemaire (1), B. Doray (4), E. Flori (1)
(1) Service de cytogénétique, CHU Hautepierre, Strasbourg ; (2) Laboratoire de biochimie et biologie moléculaire moléculaire, CHU Hautepierre, Strasbourg ; (3) Laboratoire de génétique moléculaire, Faculté de médecine, Strasbourg ; (4) Service de génétique médicale, CHU Hautepierre, Strasbourg

Bien que les délétions ou inversions duplications surnuméraires impliquant la région proximale du bras long du chromosome 15 soient fréquentes, on observe plus rarement des duplications interstitielles ou des triplications. Ces différents remaniements impliquent souvent des points de cassure récurrents, définis par la présence de séquences répétées de type duplicons, ceci laissant supposer un mécanisme de formation commun. L'analyse de plus de 30 cas publiés de duplication interstitielle 15q11q13 permet aujourd'hui de séparer ces remaniements en deux catégories. La première regroupe les duplications n'incluant pas la région critique Prader-Willi/Angelman (PWACR). Ces duplications sont souvent familiales, sans conséquence clinique et peuvent donc être considérées comme des variants de la normale. Elles seraient composées d'amplifications de pseudogènes localisés dans la région péricentromérique du chromosome 15q. La deuxième catégorie regroupe les duplications incluant la région PWACR, héritée ou de novo, et pouvant être associées à un retard de développement et à des troubles autistiques. L'expression clinique de ces duplications est fonction de l'origine parentale du chromosome concerné, les duplications dérivées du chromosome 15 paternel paraissant être à l'origine d'un phénotype plus modéré que les duplications du dérivé 15 maternel. Après une revue de la littérature concernant les duplications interstitielles de la région proximale du chromosome 15 et de leurs conséquences cliniques, nous présentons les observations de deux jeunes patients souffrant d'un retard global du développement et d'un syndrome épileptique. L'analyse de ces deux cas met en évidence la difficulté d'interprétation des examens de cytogénétique conventionnelle et moléculaire en présence d'un allongement de la région 15q11q13. Une technique de PCR quantitative du gène UBE3A (15q11.2-15q12) a donc été mise en place, en collaboration avec le laboratoire de biochimie moléculaire. Cette analyse, associée à l'étude en biologie moléculaire des marqueurs microsatellites de la région, a permis de confirmer la présence d'une duplication de novo impliquant la région PWACR chez le patient 1. Le patient 2 présente une duplication d'origine maternelle, tandis que la mère et la grand mère maternelle de l'enfant, cliniquement non atteintes, sont toutes deux porteuses d'un variant péricentromérique du chromosome 15q. À notre connaissance, il s'agit du

premier cas familial où coexistent un variant péricentromérique et une duplication génique 15q proximale. La technique de PCR développée se révèle simple, rapide et fiable, et pourrait être transposée à la détection d'autres duplications récurrentes, comme la duplication 22q11.2.

Mots-clés : duplication, chromosome 15, PCR quantitative.

■P119 / 201. RÉARRANGEMENT CHROMOSOMIQUE COMPLEXE DÉSÉQUILIBRÉ IMPLIQUANT LES CHROMOSOMES 8, 10, 11 ET 16, DE TRANSMISSION MATERNELLE CHEZ UN PATIENT PRÉSENTANT UN SYNDROME POLYMALFORMATIF

H. Karmous-Benailly (1), F. Giuliano (1), C. Massol (1), C.Kober (1), D. De Ricaud (2), J.C. Lambert (1), S. Perelman (2)
(1) Service de Génétique Médicale, CHU de Nice ; (2) Service de Pédiatrie, Hôpital Lenval, Nice

Les réarrangements chromosomiques complexes (RCC) sont des anomalies de structure chromosomiques rares, caractérisées par au moins 3 points de cassure et impliquant au moins deux chromosomes. La majorité des RCC surviennent de novo et sont rapportés chez des patients présentant un RM et/ou des anomalies congénitales mais également chez des couples infertiles et /ou ayant des antécédents de fausses couches spontanées répétées. Nous rapportons, ici, le cas d'un patient de un an présentant un syndrome polymalformatif, associant une hypotrophie, un retard du développement psychomoteur, une dysmorphie, une dysplasie rénale multikystique, une surdité bilatérale, une hypocalcémie. Il ne présente ni fente palatine, ni cardiopathie.

Le caryotype réalisé a identifié des chromosomes 10, 11 et 16 anormaux, hérités de la maman, qui ne signale aucun antécédent particulier. Le caryotype des grands-parents est normal. Afin de mieux caractériser ce remaniement chromosomique, une étude complémentaire par FISH a été réalisée, en utilisant des peintures chromosomiques (WCP 8, 10, 11 et 16) et des sondes spécifiques des régions sub-télomériques des chromosomes 10, 11 et 16. Les résultats de la FISH, combinés au caryotype, ont montré la présence d'un RCC chez la maman, avec une translocation impliquant les chromosomes 10, 11 et 16 et une insertion d'un segment du bras court d'un chromosome 10 en 8q. Notre patient, quant à lui, a hérité des der(10), der(11) et der(16) maternels et du chromosome 8 normal de la maman et non celui présentant une insertion du segment 10p12.3-p14 en 8q12. Ainsi, le remaniement chromosomique entre le chromosome 8 et le chromosome 10, qui était apparemment équilibré chez la maman s'est déséquilibré chez son fils qui présente donc une délétion 10p partielle du segment 10p12.3 à 10p14. Cette délétion peut ainsi expliquer, en partie, son phénotype. En effet, le locus du syndrome HDR (MIM 146255), qui associe hypoparathyroïdie, surdité et dysplasie rénale a été localisé en 10p13-p14, distal à la région du syndrome de DiGeorge 2. Au total, nous avons identifié un RCC, de novo, apparemment équilibré chez une jeune femme, sans antécédent de FCS, mais qui s'est déséquilibré dans sa descendance, dans un contexte polymalformatif. En raison du risque élevé de déséquilibre de ce RCC, un diagnostic prénatal sera nécessairement réalisé lors des grossesses à venir, avec une investigation complémentaire par FISH adéquate.

Mots-clés : réarrangement chromosomique complexe, syndrome polymalformatif, caractérisation cytogénétique moléculaire.

■P120 / 216. HYBRIDATION GÉNOMIQUE COMPARATIVE EN MICRO RÉSEAU (MICROARRAY-CGH) ET DÉTECTION DE MICROREMANIEMENTS CHROMOSOMIQUES ASSOCIÉS AUX DÉFICIENCES MENTALES

Mylène Béri-Dexheimer (1), Marie-José Grégoire (1), Bruno Leheup (2), Jacqueline Vigneron (3), Karène Brochet (1), Françoise Schweitzer (3), Véronique Lateger-Cannard (4), Philippe Jonveaux (1)
(1) Laboratoire de génétique, CHU Nancy-Brabois ; (2) Service de médecine infantile 3 et génétique clinique, CHU Nancy ; (3) Service de néonatalogie, Maternité régionale de Nancy ; (4) Laboratoire d'hématologie, CHU Nancy

L'analyse cytogénétique est la première exploration envisagée dans le bilan diagnostique d'un syndrome malformatif et/ou une déficience mentale. La mise en place d'une stratégie dans l'exploitation des différents examens cytogénétiques est orientée par les données cliniques. L'identification d'une anomalie chromosomique est fonction du pouvoir de résolution de la technique d'analyse des chromosomes. La technique d'hybridation génomique comparative en micro réseau a pour objectif de caractériser des déséquilibres chromosomiques de petite taille (1 à 4Mb) et à l'échelle pan-génomique, c'est à dire sur un très grand nombre de loci de façon simultanée, en l'absence de signes cliniques évocateurs d'une région chromosomique d'intérêt. Le seuil de résolution est alors fonction du nombre de sondes déposées sur la puce. Nous rapportons notre expérience sur l'utilisation de la puce GeneSensor Array 300 (Vysis/ABBOTT) sur 57 patients avec retard mental pour lesquels les données cliniques et familiales sont évocatrices d'une éventuelle aneusomie. Cette puce, initialement ciblée sur des loci impliqués dans la cancérogenèse, permet aussi d'étudier des régions chromosomiques fréquemment altérées au cours du retard mental, en particulier les extrémités subtélomériques. Chaque anomalie suspectée par cette puce a fait l'objet d'un contrôle par une approche alternative, contrôle qui s'est avéré riche d'informations dans notre pratique de cytogénétique moléculaire. Une anomalie a été détectée chez 5 patients sur les 57 étudiés (8,7 %). Parmi ces anomalies, 3 délétions interstitielles et 2 remaniements subtélomériques ont été caractérisées plus précisément sur un plan cartographique. Il est intéressant de noter qu'une anomalie interstitielle de type délétion 22q11 a été identifiée sans éléments cliniques réellement évocateurs d'un tel syndrome et surtout deux autres anomalies interstitielles originales avec des conséquences certaines sur le suivi médical des enfants. Les résultats obtenus nous orientent vers l'utilisation réfléchie d'une telle technologie dans la prise en charge diagnostique des déficiences mentales.

Mots-clés : micro-array CGH, microremaniements chromosomiques, déficience mentale.

■P121 / 234. RESPONSABILITÉ DES GÈNES LOCALISÉS SUR LE BRAS COURT DU CHROMOSOME X, QUI ÉCHAPPENT À L'INACTIVATION, CHEZ DES PATIENTES DE PETITE TAILLE AVEC UN BILAN BIOLOGIQUE HÉPATIQUE ANORMAL

Valérie Malan (1), Dominique Roulot (2), Éva Pipiras (1), Michel Beaugrand (2), Jean-Philippe Wolf (1), Brigitte Benzacken (1)
(1) Service d'Histologie Embryologie Cytogénétique, Hôpital Jean-Verdier (AP-HP), 93143 Bondy Cedex ; (2) Service d'Hépato-Gastro-Entérologie, Hôpital Jean-Verdier (AP-HP), 93143 Bondy Cedex

Introduction : Le syndrome de Turner est dû à une monosomie complète ou partielle d'un des deux chromosomes X chez la femme. L'anomalie peut être homogène ou en mosaïque. Le phénotype est très hétérogène, et inclut fréquemment ; une petite taille, une dysgénésie gonadique, des signes dysmorphiques, des malformations cardiaques et rénales. Plus rarement, l'association entre anomalies hépatiques idiopathiques et Turner a été rapportée dans la littérature. Le but de notre étude a été de rechercher des anomalies cytogénétiques du chromosome X chez des patientes de petite taille dont les bilans hépatiques étaient anormaux de façon inexpliquée.

Matériel et Méthodes :

Groupe 1 : Vingt-cinq patientes dont le bilan hépatique était anormal sans étiologie retrouvée, ont été inclus dans notre protocole. Leur taille était toujours inférieure à 1 m 60. Elles ont toutes eu une biopsie hépatique, dans le cadre du bilan étiologique.

Groupes 2 et 3 : Deux populations témoins étaient réparties de la façon suivante : 20 patientes porteuses d'une hépatite C et 20 patientes en bonne santé dont la taille était inférieure à 1 m 60. Un caryotype sur 18 cellules et une Hybridation in situ avec la sonde alpha satellite du chromosome X sur 100 cellules (métaphases et noyaux interphasiques), ont été réalisés chez toutes les patientes des différents groupes après consentement éclairé.

Résultats :

Groupe 1 : 17 patientes présentaient une anomalie du caryotype et (ou) de l'hybridation in situ interphasique de l'alpha satellite du chromosome X sur les 25, 13 avaient une anomalie de nombre (monosomie X significative > 8 %), 4 avaient une anomalie de structure (isochromosome Xq et anneau de l'X) L'histopathologie des biopsies hépatiques a révélé des stéatoses hépatiques, des hyperplasies nodulaires régénératives et des anomalies biliaires.

Groupe 2 : Aucune anomalie cytogénétique n'a été retrouvée dans ce groupe.

Groupe 3 : Une anomalie de structure (translocation autosomique équilibrée) sans rapport avec les chromosomes X a été retrouvée chez une patiente sur les 20 étudiées.

Discussion : Chez la femme, l'inactivation du chromosome X n'est pas complète et certains loci échappent à l'inactivation. Les anomalies hépatiques chez ces patientes sont probablement dues à l'haploinsuffisance de gènes qui échappent à l'inactivation. En effet, la délétion de gènes localisés sur le bras court est probablement suffisante pour induire la pathologie hépatique.

Le phénotype des patientes avec un syndrome de Turner n'est pas toujours caractéristique et le diagnostic peut être difficile. Ainsi, notre étude montre qu'une étude cytogénétique doit être réalisée chez les patientes présentant des anomalies du bilan biologique hépatique inexpliquées et une petite taille afin de conduire au diagnostic

Mots-clés : syndrome de Turner, anomalies de structure du chromosome X, pathologie hépatique.

■P122 / 245. DÉCOUVERTE FORTUITE D'UNE MICRODÉLÉTION INTERSTITIELLE (5)(q31.1q31.2) PAR FISH CHEZ UN NOUVEAU-NÉ PRÉSENTANT UN CRI ANORMAL

A.L. Mosca (1), P. Callier (1), B. Leheup (2), N. Marle (1), M. Jalloul (3), L. Coffinet (4), F. Feillet (5), M. Valduga (6), P. Jonveaux (6), F. Mugneret (1)
(1) Laboratoire de Cytogénétique, Hôpital le Bocage, Dijon, France ; (2) Service de Médecine Infantile III et de Génétique Clinique, Hôpital d'Enfants, Vandœuvre-les-Nancy, France ; (3) Service de Pédiatrie et de Néonatologie, Hôpital de Chaumont, France ; (4) Service d'ORL et de Chirurgie Cervico-faciale, Nancy, France ; (5) Service de Médecine Infantile I, Hôpital d'Enfants, Vandœuvre-les-Nancy, France ; (6) Laboratoire de Cytogénétique, Hôpital de Brabois, Nancy, France

Les délétions interstitielles du bras long du chromosome 5 en pathologie constitutionnelle sont peu rapportées dans la littérature. Il y a donc peu de données cliniques décrivant le phénotype associé aux délétions interstitielles situées en 5q.
Nous rapportons le cas d'une petite fille présentant une dysmorphie faciale caractérisée par des fentes palpébrales orientées en haut et en dehors, un hypertélorisme, des narines antéversées et un microrétrognatisme. À la naissance elle présentait une hypotonie axiale et émettait un cri étrange évoquant un miaulement associé à des troubles sévères de la déglutition. Le premier diagnostic suspecté fut celui du syndrome du cri du chat du fait des anomalies ORL. Le caryotype standard à été interprété comme normal. L'étude FISH utilisant la sonde LSI EGR1(5q31.2)/D5S23 (Abbott) a permis de mettre en évidence une microdelétion interstitielle de la région 5q31.2 confirmé par la CGH-array (Abbott).
L'analyse par cytogénétique moléculaire, utilisant des Bacs et Pacs spécifiques de la région (Rocchi), a permis de caractériser la délétion de 4,1 Mb en 5q31.1-q31.2. L'étude du caryotype parental ainsi que la FISH utilisant la même sonde n'a pas retrouvé de réarrangements chromosomiques, ni de délétion de la même région, ceci confirmant la délétion de novo. En ce qui concerne l'évolution de l'enfant, un kyste obstructif de la vallécule à la base de la langue a été diagnostiqué vers 1 mois de vie et traité par marsupialisation. Malgré cela il persiste des anomalies importantes des praxies buccales avec troubles prolongés de la déglutition. L'évolution staturo-pondérale est normale de même que l'évolution du périmètre crânien. Au plan moteur il existe un décalage des acquisitions, la tenue assise est acquise à 10 mois. La station debout avec appui n'est pas acquise à 1 an.
Cette observation est comparée aux rares cas décrits dans la littérature.

Mots-clés : microdélétion interstitielle, FISH, CGH-array.

■P123 / 275. CONDUITE À TENIR DEVANT LA DÉCOUVERTE D'UN ISODICENTRIQUE (Yp) EN PRÉNATAL

N. Gruchy, M. Lebrun, D. Gourdier, J. Alliet, N. Leporrier
Département Génétique et Reproduction CHU de Caen

Les dicentriques (Y) sont instables ce qui entraînent leur perte dans un certain nombre de mitoses. La majorité des cas publiés proviennent de cas observés en post-natal. Ils font état de phénotypes extrêmement hétérogènes (d'hommes normaux stériles, parfois petits, à des ambiguïtés sexuelles, voire des filles avec des signes turnériens), rendant délicat le conseil génétique en cas de découverte prénatale. Nous présentons le cas « de novo » d'un isodicentrique (Yp) détecté en prénatal pour un couple de 38 et 46 ans. L'analyse cytogénétique montre une formule masculine en mosaïque, avec un Y qui paraît petit, et qui est perdu dans environ la moitié des cellules. Les marquages (RHG, GTG, CBG, QFQ) identifient ce petit Y comme un isodicentrique Yp, qui est dupliqué dans un petit nombre de mitoses. Les hybridations in situ fluorescentes (FISH) du centromère de l'Y, du télomère Yp et du locus SRY, tous présents en double exemplaire, confirment ce diagnostic. La réalisation et l'hybridation de 4 sondes de type BAC permettent de préciser le point de cassure sur le bras long de l'Y en Yq11.221. Ceci indique la perte du locus AZFc (en Yq11.223), nécessaire à la spermatogenèse. Une FISH avec une sonde centromérique de l'Y a permis d'évaluer le degré de mosaïcisme sur noyaux interphasiques à 20 %. La formule chromosomique est : 45,X[24]/46,X,idic(Y)(q11.221)[68]/47,X,idic(Y)(q11.221),idic(Y)(q11.221)[8] L'échographie de 23 SA montre un garçon à la biométrie normale, sans malformation avec des organes génitaux externes (OGE) masculins sans ambiguïté. Le couple est donc informé de la très vraisemblable stérilité de leur fils. La grossesse est poursuivie et la naissance a lieu à terme d'un garçon de taille et de poids normaux (50,5 cm et 3 420 g respectivement) avec des OGE sans hypospadias ni cryptorchidie. Le caryotype sanguin retrouve la mosaïque avec les trois populations. Une recherche d'AZFc par biologie moléculaire confirme sa délétion.
La découverte d'un petit Y, perdu dans un certain nombre de cellules, doit faire suspecter une anomalie de structure de l'Y et entraîner
– La réalisation de bandes C pour préciser la nature de cet élément, isochromosome ou isodicentrique.
– La réalisation de bandes Q pour caractériser le point de cassure, en Yq12 si l'on observe de la fluorescence, et en Yq11 en son absence.
– Une éventuelle FISH avec des BACs localisés sur le bras long de l'Y pour préciser ce point de cassure.
– Une FISH avec une sonde centromérique de l'Y afin d'évaluer le degré de mosaïcisme.
Les deux cas précédemment décrits en prénatal ont donné des garçons sans ambiguïté ni cryptorchidie.
Ce 3e cas démontre l'importance de l'identification la plus précise possible, par les techniques de cytogénétique conventionnelle et moléculaire, de l'anomalie structurale et de la quantification de la mosaïque. Il nous paraît important que, dans le futur, un grand nombre de cas observés en prénatal (sans biais de recrutement) soient étudiés selon ces mêmes critères. Ceci permettrait d'évaluer la part respective de la mosaïque et/ou de l'anomalie structurale dans la survenue de tel ou tel phénotype.

Mots-clés : diagnostic prénatal, isodicentrique Y, mosaïcisme.

■P124 / 283. PETIT MARQUEUR SURNUMÉRAIRE DE L'X N'INCLUANT PAS XIST CHEZ UN ENFANT PRÉSENTANT UN RETARD DE CROISSANCE ISOLÉ : À PROPOS D'UNE MOSAÏQUE COMPLEXE DIAGNOSTIQUÉE EN PRÉNATAL

F. Esclaire (1), F. Terro (1), S. Bourthoumieu (1), M. Bardel (1), V. Aubard (2), C. Le Caignec (3), C. Yardin (1)
(1) Laboratoire de Cytogénétique et Biologie Cellulaire, CHU de Limoges ; (2) Centre Pluridisciplinaire de Diagnostic Prénatal, CHU de Limoges ; (3) Institut de Biologie, Service de Génétique Médicale, CHU de Nantes

Une amniocentèse est réalisée à 35 SA chez une patiente primigeste de 23 ans en raison d'une hypotrophie fœtale découverte à l'échographie du 3e trimestre. Un marquage par FISH des chromosomes 13, 18, 21, X et Y sur cellules interphasiques révèle une mosaïque de type : nuc ish Xcen(DXZ1x3)[47]/Xcen(DXZ1x2)[33] évoquant un Klinefelter en mosaïque. Le caryotype réalisé après culture des amniocytes révèle une mosaïque composée de 3 populations cellulaires : 47,XY,+mar[16]/47,XXY[13]/46,XY[48]. Le marqueur surnuméraire observé, qui est de très petite taille, est identifié par FISH comme un dérivé du chromosome X à l'aide d'une sonde centromérique de l'X. L'accouchement survient au terme de 38 SA, avant que l'étude de ce marqueur ait pu être complétée, en particulier par le marquage du locus XIST. L'enfant, de phénotype masculin, présente un retard de croissance sans autre anomalie. Un prélèvement de sang du cordon ainsi qu'un prélèvement placentaire sont réalisés à la naissance. Le caryotype sanguin révèle la même mosaïque que le caryotype sur amniocytes, alors que le caryotype placentaire est homogène : 46,XY. L'étude complémentaire du marqueur surnuméraire observé sur les deux premiers prélèvements révèle que le locus XIST en Xq13.2 n'est pas présent sur ce dérivé de l'X. L'enfant, revu régulièrement jusqu'à l'âge de 2 ans, ne présente pas d'autre signe qu'un retard de croissance staturo-pondérale de l'ordre de -2 DS.
Cette observation est originale à plusieurs égards :
– les petits marqueurs chromosomiques surnuméraires dérivés de l'X sont rarement rapportés chez des sujets de sexe masculin ;
– parmi ces marqueurs dérivés de l'X, ceux n'incluant pas le locus de XIST sont généralement associés à un phénotype anormal, lié à la non-inactivation du dérivé qui entraîne une disomie fonctionnelle des régions dupliquées de l'X. Dans notre observation, et contrairement aux cas précédemment décrits dans la littérature, l'enfant porteur de ce marqueur XIST-négatif ne présente ni malformation, ni dysmorphie faciale, ni retard psychomoteur à l'âge de 2 ans ;
– les petits marqueurs dérivés de l'X sont généralement décrits en mosaïque mais les mosaïques associant 3 populations cellulaires, incluant la population « mère » trisomique, sont rares : les mécanismes possibles d'apparition d'une telle mosaïque seront discutés ;
– il s'agit d'une mosaïque apparemment confinée au fœtus, ce type de discordance fœto-placentaire étant rarement rapporté dans la littérature.
Cependant, le caractère homogène du caryotype placentaire ne peut pas être affirmé à partir d'un prélèvement unique.
Ce cas soulève par ailleurs deux problèmes bien connus en cytogénétique prénatale : d'une part la difficulté de réaliser un caryotype fœtal en toute fin de grossesse, avec le risque de ne pouvoir effectuer avant la naissance les investigations cytogénétiques complémentaires et le conseil génétique éventuellement nécessaires, et, d'autre part, les limites d'interprétation de la FISH interphasique.

Mots-clés : marqueur surnuméraire de l'X, XIST, mosaïque.

■P125 / 289. TAILLE DE 76 CM ET POIDS DE 6,5 KG CHEZ UN PATIENT ADULTE PORTEUR D'UNE MICRODÉLÉTION 1q24.2-q25.2 et 12q24.31 DE NOVO AVEC UN DÉFICIT EN HORMONE DE CROISSANCE

P. Callier (1), L. Faivre (2), N. Marle (1), C. Thauvin-Robinet (2), A.L. Mosca (1), A. Danino (3), G. Malka (3), F. Huet (2), F. Mugneret (1)
(1) Laboratoire de Cytogénétique ; (2)Génétique médicale ; (3) chirurgie maxillofaciale, CHU Le Bocage, Dijon

Nous rapportons l'observation d'un patient âgé de 26 ans présentant une extrême petite taille associée à une dysmorphie faciale avec un hypertélorisme, un nez en bec, une fente palatine, des doigts courts et un retard mental sévère. Il s'agit de l'unique enfant d'un couple non consanguin. Ses mensurations à la naissance étaient de 43 cm pour la taille et de 2 100 g pour le poids. Jusqu'à l'âge de 3 ans, il a présenté des difficultés alimentaires sévères qui ont nécessité une nutrition entérale. Un bilan réalisé pour retard de croissance sévère a révélé un déficit en hormone de croissance, non traité en raison d'un retard mental associé et une translocation apparemment équilibrée t(1;12)(q24;q24) de novo. À l'âge de 26 ans, sa taille est de 76 cm, son poids de 6,5 kg et son PC de 42,5 cm. Il n'a pas acquis la marche ni la parole et n'a pas de signes pubertaires. Des investigations complémentaires ont révélé que le déficit en hormone de croissance s'intégrait dans le cadre d'un panhypopituitarisme. Il a également été mis en évidence une dysplasie spondylo-épi-métaphysaire avec une ostéoporose sévère, une aorte élargie avec une IRM cérébrale normale. Le caryotype haute résolution a mis en évidence une délétion 1q24-q25 confirmée par hydridation génomique comparative. Une analyse FISH à l'aide de Bacs et Pacs des deux points de cassure a permis de mieux délimiter la délétion interstitielle 1q24.2q25.2 de 10,2 Mb mais a révélé une microdélétion de 2,8 Mb de la région 12q24.31. Cette observation est d'intérêt pour deux raisons : 1) elle permet de proposer 2 régions candidates pour la recherche de gènes responsable de déficit en hormone de croissance, 2) elle montre l'importance de la cytogénétique moléculaire dans l'étude de translocations apparemment équilibrées associées à un phénotype anormal.

Mots-clés : translocation apparemment équilibrée, microdélétion, déficit en hormone de croissance.

■P126 / 290. COEXISTENCE DE DEUX DÉRIVÉS CHROMOSOMIQUES 18 CHEZ UN PATIENT PRÉSENTANT UNE ASSOCIATION D'ANOMALIES CONGÉNITALES MULTIPLES ET DE RETARD MENTAL (ACM/RM)

M. Jamar, G. Pierquin, L. Mutesa, C. Herens, A.C. Hellin, J.F. Vanbellinghen, V. Bours, S. Gaillez
Centre Universitaire de Génétique Humaine, CHU Sart Tilman, Liège, Belgique

Nous présentons le cas d'un garçon qui nous est adressé à l'âge de 2 ans 1/2 pour exploration d'un retard psychomoteur. La grossesse et l'accouchement à terme (40 semaines) se sont déroulés sans particularité. Les poids et taille à la naissance étaient au percentile 3. On note dans ses antécédents une réparation chirurgicale de fistule trachéo-oesophagienne à 3 jours de vie, des infections respiratoires fréquentes, avec deux épisodes de convulsions hyperthermiques. L'examen clinique révèle une dysmorphie faciale modérée (plagiocéphalie, mastocytose, front haut, hypertélorisme, long philtrum, dents légèrement transparentes), des mains courtes avec une clinodactylie des V^{es} doigts, une syndactylie des 2e et 3e orteils, un pectus excavatum et une fistule coccygienne. Le retard psychomoteur est modéré (marche acquise à 18 mois, absence de langage, bonne compréhension). Le caryotype standard (G-banding) met en évidence une mosaïque constituée de deux lignées cellulaires d'importance similaire, une lignée à caryotype normal et une lignée avec un marqueur chromosomique surnuméraire. La formule est libellée comme suit : 46,XY[13]/47,XY,+mar[11]. Le screening multitélomérique par la technique MLPA (MRC-Holland^{o}) montre un déséquilibre au niveau des télomères du chromosome 18, avec un déficit relatif du télomère du bras court. L'emploi d'une sonde de peinture chromosomique 18-spécifique confirme que le marqueur est bien un dérivé 18. La formule est alors libellée 46,XY/47,XY,+mar.ish der(18)(WCP18+). Des analyses complémentaires par FISH et par MLPA nous ont permis de mieux caractériser le marqueur et surtout de mettre en évidence un remaniement de structure inattendu d'un des deux chromosomes 18 catalogué a priori comme normal au caryotype standard. Il s'agit d'anomalies apparues de novo, le bilan chromosomique des deux parents étant normal. Le phénotype du patient résulte donc de l'association d'une monosomie 18p homogène, d'une trisomie 18q distale homogène et d'une trisomie (ou tétrasomie ?) 18q proximale en mosaïque. Cet exemple illustre 1) une fois de plus, l'intérêt des techniques « moléculaires », FISH et MLPA, pour préciser des remaniements chromosomiques et mettre en évidence des remaniements cryptiques ; 2) l'implication fréquente du chromosome 18 dans des remaniements non équilibrés ; 3) la relative similitude clinique entre les monosomies 18 partielles et trisomies 18 partielles ; 4) l'importance de la cytogénétique fondamentale dans la compréhension de la genèse d'anomalies chromosomiques associées.

Mots-clés : chromosome 18, MLPA, MCA/MR.

■P127 / 293. DISOMIE FONCTIONNELLE DU CHROMOSOME X PAR TRANSLOCATION (X;A) DÉSÉQUILIBRÉE : À PROPOS D'UN CAS

N. Marle (1), P. Callier (1), A.L. Mosca-Boidron (1), C. Thauvin-Robinet (2), P. Khau-Van-Kien (3), L. Olivier-Faivre (2), F. Mugneret (1)
(1) Laboratoire de Cytogénétique, CHU Le Bocage, Dijon ; (2) Centre de Génétique, Hôpital d'Enfants, Dijon ; (3) Laboratoire de Génétique Moléculaire, IURC, Montpellier

Les cas de disomie fonctionnelle Xp résultant d'une translocation déséquilibrée entre le bras court d'un chromosome X et un autosome sont rares. Six cas ont été publiés à ce jour, présentant tous une trisomie Xp partielle avec présence d'une portion de Xp au niveau du bras court d'un chromosome acrocentrique (13, 15 ou 22). Nous rapportons ici une observation de disomie fonctionnelle Xp par translocation déséquilibrée entre le bras court d'un chromosome X et l'extrémité du bras court d'un chromosome 17. Il s'agit d'une fille, née à 41 SA + 3 j par césarienne pour détresse fœtale et présentant en période néonatale un retard de croissance (taille à -2,5 DS, PC à -1DS), une épilepsie à type de spasmes en extension, une CIV musculaire, un pli palmaire unique gauche, ainsi qu'une dysmorphie associant un front haut et étroit, une crête métopique marquée, un épicanthus avec télécanthus, des fentes palpébrales courtes, discrètement en bas et en dehors, un nez court avec une racine large et des narines antéversées, des oreilles larges, basculées en arrière et un petit menton. Son développement à l'âge de 3 ans est marqué par un retard staturopondéral, une microcéphalie (PC à -3DS) et un examen neurologique très perturbé. Elle présente une hypotonie axiale majeure (absence de tenue de tête prolongée, absence de tenue assise), une absence de langage, un contact fluctuant et la persistance d'une comitialité résistante au traitement. L'étude cytogénétique conventionnelle met en évidence une trisomie Xp partielle résultant de la malségrégation méiotique d'une translocation t(X;17) maternelle. Le caryotype s'écrit : 46,XX,der(17)t(X;17)(p11.4~p21;p13.3)mat. L'analyse FISH avec la sonde spécifique de la région subtélomérique 17p (Totelmix 8, Vysis) montre une délétion de cette région sur le der(17), alors que l'analyse avec la sonde Miller-Dieker (LSI LIS 1, D17S379, 17p13.3, Vysis) montre une hybridation normale. L'étude en cytogénétique moléculaire à l'aide de BACs (Rocchi) spécifiques de la région 17p13.3 permet d'évaluer la taille de la délétion à 1 Mb. L'estimation précise de la taille du segment trisomique Xp au moyen de BACs est en cours. Nous comparons le phénotype de l'enfant à celui des cas déjà publiés et nous discutons l'éventuelle implication de la délétion 17p terminale.

Mots-clés : disomie fonctionnelle de l'X, cytogénétique moléculaire, translocation (X;A) déséquilibrée.

■P128 / 311. CARACTÉRISATION CYTOGÉNÉTIQUE ET MOLÉCULAIRE D'UNE INSERTION INTRACHROMOSOMIQUE MIMANT UNE INVERSION PÉRICENTROMÉRIQUE ASSOCIÉE À UN SYNDROME DE WAARDENBURG-SHAH

Chantal Missirian (1, 2), Viola Alesi (1), Brigitte Le Goanvic (1), Fanny Mochel (1), Josette Mancini (3), Anne Moncla (1, 2)
(1) Département de Génétique Médicale, CHU Timone enfants, 264, rue Saint Pierre, 13385 Marseille, France ; (2) INSERM U491, Faculté de Médecine de la Timone, 27, bd Jean-Moulin, 13385 Marseille, France ; (3) Service de Neuropédiatrie, CHU Timone enfants, 264, rue Saint Pierre, 13385 Marseille, France

Les insertions intrachromosomiques para ou péricentriques sont des anomalies chromosomiques équilibrées encore peu rapportées, probablement en raison de la difficulté de leur mise en évidence en techniques de cytogénétique conventionnelle. Elles sont souvent interprétées comme des inversions. Nous rapportons l'observation d'une jeune patiente présentant une insertion péricentromérique d'un chromosome 22 survenue de novo, initialement interprétée comme une inversion péricentromérique. Cliniquement, cette patiente présente un retard mental sévère associé à une surdité profonde, une hétérochromie irienne évocateurs d'un syndrome de Waardenburg-Shah (WS4) sans l'expression d'une maladie d'Hirschsprung. L'association de ce remaniement apparemment équilibré à un phénotype anormal nous a incité à une étude moléculaire. Les résultats de cette étude nous ont permis de montrer qu'il s'agissait d'une insertion intrachromosomique péricentrique déséquilibrée avec une délétion à la fois sur le point de cassure proximal et distal. L'haploinsuffisance du gène SOX10 localisé sur le point

de cassure distal est responsable des signes cliniques du syndrome de WS4. Il s'agit du premier cas d'haploinsuffisance du gène SOX10 liée à une délétion chromosomique. Nous discuterons l'apport de cette observation dans les corrélations phénotype-génotype de ce syndrome (WS4).

Mots-clés : insertion intrachromosomique, syndrome de Waardenburg-Shah, gène SOX10.

■P129 / 318. FISH SUR SPERMATOZOÏDES : APPORT PRONOSTIQUE EN CAS DE REMANIEMENT ÉQUILIBRÉ PATERNEL, INTÉRÊT POUR LE CONSEIL GÉNÉTIQUE DES PATIENTS FERTILES

D. Molina-Gomes (1), F. Vialard (1), J. Roume (1), H. Dessuant (2), N. Raymond (1), J. Selva (1)

(1) Département de biologie de la reproduction, cytogénétique, génétique médicale et de gynécologie obstétrique, CHI Poissy-St-Germain, 10, rue du Champ Gaillard, 78303 Poissy Cedex ; (2) Laboratoire LCL, 37, rue Balard, 75014 Paris

Introduction : La cytogénétique moléculaire sur spermatozoïdes est couramment utilisée pour évaluer les chances de succès en assistance médicale à la procréation (AMP) des patients infertiles. L'évaluation du risque chromosomique permet d'adapter la prise en charge en AMP (transfert d'un petit nombre d'embryons pour éviter les grossesses multiples, diagnostic préimplantatoire éventuel) et le suivi de la grossesse. L'objet de cette présentation est de montrer l'intérêt pour le conseil génétiques des patients fertiles mais porteurs de remaniements équilibrés découverts en raison d'antécédents pathologiques (FCS, IMG, MFIU). Patients : Mr et Mme L, parents d'un fille bien portante de 6 ans, et ayant dans leur antécédents 3 FCS précoces sont adressés en conseil génétique car Mme L est enceinte (8,5 SA) et qu'il a été découvert une translocation équilibrée : 46,XY,t(2;4)(q34;q34) chez son époux dans le cadre du bilan de FCS à répétition. L'enquête familiale n'est pas contributive et montre une fratrie de 6 frères et sœurs fertiles sans problème particulier. Méthodes : Afin d'évaluer le pronostic et le risque chromosomique associés à cette translocation pour la grossesse en cours nous avons effectué une analyse des déséquilibres chromosomiques par FISH sur spermatozoïdes avec les sondes centromèriques des chromosomes 2 (vert) et 4 (bleu) et la sonde télomèrique du bras long du chromosome 2 (rouge). Résultats : Les résultats sur plus de 500 spermatozoïdes montrent un taux d'anomalies de 51 % et un risque d'obtenir un enfant à terme présentant un déséquilibre chromosomique, par transmission d'un déséquilibre spermatique évalué à 45 % (viabilité établie d'après HC Forum). Ce risque élevé a été expliqué au couple et nous a conduit à conseiller pour chaque grossesse un diagnostic chromosomique prénatal le plus précoce possible (biopsie de trophoblaste). Discussion – Conclusion : Cette situation est exemplaire de plusieurs cas de prise en charge de patients porteurs d'anomalies chromosomiques selon cette stratégie. Elle nous permet de conseiller une biopsie de trophoblaste ou une amniocentèse (parfois très tardive 32SA) voir un simple suivi échographique, selon que le risque de déséquilibre viable est élevé, modéré ou faible par rapport à la population générale.

Mots-clés : FISH, spermatozoïdes, translocation.

■P130 / 319. UTILISATION DE LA PUCE GÉNOMIQUE DANS UN LABORATOIRE DE CYTOGÉNÉTIQUE : UNE EXPÉRIENCE APRÈS ANALYSE DE 50 CAS ET UNE NOUVELLE STRATÉGIE DIAGNOSTIQUE

F. Vialard, D. Molina-Gomes, J. Roume, C. Larose, A. Escalona, Y. Ville, J. Selva

Département de biologie de la reproduction, cytogénétique, génétique médicale et de gynécologie obstétrique, CHI Poissy-St-Germain, 10, rue du Champ Gaillard, 78303 Poissy Cedex

Introduction : La puce génomique ou CGH array est apparue rapidement comme une technique diagnostique intéressante dans plusieurs situations comme les retards mentaux inexpliqués et les fœtus polymalformés. Dans la première situation, si le caryotype est normal, classiquement une analyse de l'ensemble des télomères et de certains syndromes microdélétionnels est demandée. Dans la seconde situation, seul un caryotype de résolution souvent moyenne est habituellement réalisé et aucune autre recherche n'est ensuite effectuée. Après avoir validé cette nouvelle technique dans notre laboratoire nous proposons une approche diagnostique par puce dans ces 2 situations à fort risque de remaniement chromosomique infracytogénétique. Patients : La technique a été validée sur 5 remaniements chromosomiques identifiés ainsi qu'un remaniement non caractérisé. Nous avons ensuite étudié 15 patients présentant un retard mental à caryotype normal en haute résolution et 30 fœtus polymalformés à caryotype normal. Méthodes : Nous avons utilisé la puce Microarray 300® avec le système Génosensor® commercialisé par Abbott®. La technique utilisée est celle proposée par le fabricant. L'ADN des patients est analysé 2 fois comme test et référence (technique de flip-flop). Seuls sont considérés comme positifs les clônes positifs dans les 2 techniques. Tous les résultats positifs ont ensuite été confirmés par FISH quand cela a été possible. Résultats : Les 5 remaniements chromosomiques connus ont été confirmés avec la puce génomique. Nous avons aussi identifié l'anomalie du fœtus à caryotype anormal (46,X,der(Y)t(Y;20)(q11;q11) de novo). Ensuite, nous avons identifié 3 anomalies fœtales non diagnostiquées : une translocation cryptique déséquilibrée, un syndrome de Di-George et une insertion 6q21(en cours de confirmation). Nous avons identifié également une délétion 2ptel dans un cas de retard mental. Discussion : Au total l'utilisation de la puce génomique a donc permis d'identifier dans 9 % des cas une anomalie chromosomique jusque là non diagnostiquée. D'un point de vu purement économique, il nous parait aujourd'hui important d'utiliser cette technologie en première intention dès lors qu'un caryotype haute résolution a pu être réalisé chez un patient présentant un retard mental inexpliqué. Certes le matériel consommable est onéreux (1 000 euros par patient) mais cette technique est peu consommatrice de temps puisque 5 puces peuvent être analysées simultanément pour une journée de travail effectif. Rappelons que l'analyse de l'ensemble des télomères et de 2 syndromes microdélétionnels coûte 400 euros mais qu'il faut au moins une journée de temps travail technicien ou cytogénéticien par patient. En ce qui concerne les fœtus, étant donné que la congélation de tissus, à visée de DNAthèque, est réalisée de façon systématique en fœtopathologie, cette approche permet de faire des diagnostics à postériori.

Mots-clés : retard mental inexpliqué, syndrome polymalformatif, CGH array.

■P131 / 320. EXPLORATION CHROMOSOMIQUE DES GAMÈTES DES COUPLES EN ÉCHEC D'IMPLANTATION APRÈS LE TRANSFERT DE 10 EMBRYONS OU PLUS

F. Vialard (1, 2), D. Molina-Gomes (1), I. Hammoud (1), M. Albert (1, 2), C. Sabbagh (1), L. Allard (1), M. Bergere (1, 2), J. Roume (1), R. Lombroso (1), J. Selva (1, 2)

(1) Departement de biologie de la reproduction, cytogénétique et gynécologie obstétrique, CHI Poissy-St-Germain, 78303 Poissy Cedex ; (2) INSERM U407, Faculté de Médecine Lyon Sud, 69924 Oullins Cedex

Introduction : L'échec d'implantation (plus de 10 embryons transférés sans grossesse) a été démontrée comme étant une situation clinique à risque chromosomique accru pour l'embryon et reconnue comme une indication au diagnostic préimplantatoire dans de nombreux pays, mais pas en France. Notre objectif a été d'évaluer l'incidence des aneuploïdies des ovocytes et spermatozoïdes des couples en échec d'implantation. Populations étudiées : Nous avons étudié 3 groupes de couples : groupe 1 (n = 11) couples dont l'homme est considéré comme témoin car il a été à l'origine d'une grossesse en FIV effectuée pour indication tubaire ou don d'ovocytes, groupe 2 (n = 20) couples infertiles mais avec grossesse obtenue en FIV après le transfert de moins de 10 embryons (La FIV a été effectuée pour cause masculine ou idiopathique), groupe 3 (n = 32) patients infertiles en échec d'implantation après le transfert de plus de 10 embryons. Méthodes : 1 000 spermatozoïdes ont été analysés par FISH (chromosome X, Y et 18 Abbott). Seuls les ovocytes des patientes en échec d'implantation ont été analysés après perforation de la zone pellucide au laser Zylos TK laser Hamilton, puis biopsie du 1er globule polaire et FISH avec le kit Polar BodyTM PGT multicolour Abbott. Résultats : Spermatozoïdes : Les résultats ont montré une augmentation significative du taux d'aneuploïdie spermatique dans les groupes 2 (1,6 % ; $p < 0,0005$) et 3 (2,1 % ; $p < 0,001$) par rapport au groupe 1 (0,6 %). Dans le groupe 3 (patients en échec d'implantation), nous avons isolé 2 patients présentant des taux très élevés d'aneuploïdies X, Y, 18 supérieurs à 5 % (6,5 % et 25 %) et 8 patients avec des taux élevés situés entre 2 et 5 %. Ovocytes : Le taux d'anomalies du 1er globule polaire (GP1) était élevée : 36,2 % sur les 127 GP1 analysés. Entre 0 et 12 ovocytes normaux ont été retrouvés par patiente. Pour 3 patientes plus de 2/3 des ovocytes étaient anormaux. En combinant les 2 types de résultats nous avons montré qu'au total, parmi les couples en échec d'implantation 22 % (5/22) n'avaient pas de risque chromosomique particulier, 68 % (15/22) présentaient un taux d'aneuploïdie spermatique ou ovocytaire élevé, 10 % (2/22) présentaient à la fois un taux d'aneuploïdie spermatique et ovocytaire élevé. Discussion : La conduite à tenir pour les tentatives d'AMP ultérieures peut être discutée avec chaque couple en fonction des résultats. Au-delà de 2/3 d'ovocytes anormaux pour 5 chromosomes testés, les chances de succès futurs en AMP paraissent très faibles voir nulles et d'autres solutions peuvent être discutées (don d'ovocytes, adoption). Conclusion : Nos résultats confirment, que le groupe de

patients en échec d'implantation est hétérogène et que les anomalies chromosomiques gamétiques sont une composante importante de l'échec pour certains d'entre eux. Le conseil génétique, indispensable après ces examens, permettra de proposer une stratégie au couple concernant la prise en charge en AMP et le suivi de la grossesse éventuelle.

Mots-clés : diagnostique préconceptionnel, 1er globule polaire, échec d'implantation en fécondation in vitro.

■P132 / 343. ANNEAU DU CHROMOSOME 9 : À PROPOS D'UNE OBSERVATION

K. Ouldim (1), D. Sanlaville (2), L. Rifai (1), N. Aboussair (1), I. Ratbi (1), A. Natiq (1), A. Sbiti (1), S. Romana (2), M. Vekemans (2), A. Sefiani (2)
(1) Département de Génétique Médicale, Institut National d'Hygiène, Rabat, Maroc ; (2) Service d'Histologie-Embryologie-Cytogénétique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France

Les chromosomes en anneau sont des anomalies chromosomiques de structure qui se définissent par des délétions plus ou moins étendues (souvent peu importantes) aux deux extrémités d'un chromosome et recollement du segment intermédiaire (par absence de télomères), ce qui aboutit à une structure annulaire. Ils sont généralement de novo. Nous rapportons dans cette observation le vingt-deuxième cas mondial d'anneau du chromosome 9. Il s'agit d'un enfant âgé de 19 mois, opéré pour sténose hypertrophique du pylore au cours de son premier mois de vie, et qui présente un retard psychomoteur important, une microcéphalie, une légère dysmorphie et une cryptorchidie bilatérale. Le reste de l'examen somatique est sans particularité. La tomodensitométrie cérébrale a mis en évidence une discrète atrophie vermienne. Nous avons effectué un caryotype en bande R qui a objectivé un anneau du chromosome 9, confirmé par peinture chromosomique (WCP9). Nous avons approfondi notre exploration par FISH en utilisant les sondes locus spécifique 9pter (9PTEL30) et 9qter (D9S2168). Le résultat a montré que l'anneau du chromosome 9 a conservé la région subtélomérique 9q et perdu la région subtélomérique 9p sur les vingt mitoses observées. La formule chromosomique est 46,XY,r(9)(p24q34).ish r(9)(9PTEL30-,D9S2168+). Les patients présentant un anneau du chromosome 9, présentent le plus souvent un retard psychomoteur, une dysmorphie faciale, une microcéphalie, ainsi que des malformations squelettiques et des membres. Le phénotype variable est attribué à la variabilité de la taille des délétions 9p et 9q de l'anneau du chromosome 9. Le plus souvent le point de cassure sur le bras court du chromosome 9 est situé entre les régions 9p22 et 9p24, alors que sur le bras long du chromosome 9 il est entre les régions 9q33 et 9q34. Notre observation confirme la variabilité phénotypique de l'anneau du chromosome 9 qui dépend des points de cassures chromosomiques et ainsi des gènes impliqués.

Mots-clés : anneau, chromosome 9, phénotype.

■P133 / 374. CARACTÉRISATION MOLÉCULAIRE D'UN RÉARRANGEMENT COMPLEXE : INSERTION D'UN CHROMOSOME 6 DANS UN CHROMOSOME 8 ASSOCIÉE À UNE DÉLÉTION INTERCALAIRE CRYPTIQUE

Bourthoumieu S. (1), De Mas P. (2), Latypova X. (1), Terro F. (1), Esclaire F. (1), Yardin C. (1)
(1) Laboratoire de Cytogénétique, CHU de Limoges ; (2) Clinique Pasteur, Toulouse

Les remaniements complexes (RCC) sont des événements rares impliquant au moins trois points de cassure situés en général sur plus de deux chromosomes. Nous rapportons le cas d'un RCC initialement suspecté au caryotype standard et confirmé par la cytogénétique moléculaire.

Nous présentons le cas d'une petite fille de 2 ans opérée d'une cardiopathie congénitale de type communication intraventriculaire à l'âge de 8 mois. Elle présente également un retard psychomoteur, des anomalies des extrémités, des troubles de l'alimentation et une dysmorphie faciale avec un nez court, un hypertélorisme, une lèvre inférieure éversée, des oreilles mal ourlées, un strabisme convergent, des bosses frontales, et une plagiocéphalie occipitale.

Devant ce tableau clinique, un caryotype standard a été réalisé et nous avons suspecté une insertion d'un chromosome 6 dans un chromosome 8. Les caryotypes parentaux sont normaux. Une étude en cytogénétique moléculaire par FISH à l'aide de BACs a été réalisée afin de confirmer le réarrangement et d'en préciser les points de cassures. Les résultats préliminaires de la FISH ont confirmé l'insertion et ont mis en évidence la présence d'une délétion intercalaire du chromosome 6 remanié. La formule chromosomique est la suivante : 46,XX,ins(8;6)(p23 ?;q22q23),del(6)(q16 ?q21).

Cette anomalie complexe survenue de novo consiste donc en une insertion déséquilibrée avec perte de matériel chromosomique lors du réarrangement. À ce jour, ce type de RCC avec 4 points de cassure impliquant 2 chromosomes n'a pas encore été publié dans la littérature. La corrélation génotype-phénotype sera discutée.

Mots-clés : réarrangement complexe, insertion, délétion intercalaire.

■P134 / 380. REMANIEMENT DU CHROMOSOME 18 ASSOCIANT UNE DUPLICATION 18p ET UNE DÉLÉTION 18q : IDENTIFICATION DES POINTS DE CASSURES ET CORRÉLATION GÉNOTYPE-PHÉNOTYPE

M.N. Bonnet-Dupeyron (1, 2), C. Goumy (2), M. Giollant (2), C. Benier (2), J.Y. Jaffray (2), C. Francannet (3), P. Vago (2), O. Boespflug-Tanguy (1, 3)
(1) UMR INSERM 384, faculté de Médecine, Clermont-Ferrand ; (2) Service de cytogénétique, CHU Clermont-Ferrand ; (3) Service de génétique, CHU Clermont-Ferrand

Nous rapportons le cas d'un jeune homme de 27 ans présentant un retard mental modéré, une dysmorphie et une atteinte neurologique associant paraplégie spastique et neuropathie périphérique axonale. L'IRM cérébrale montre un trouble de la myélinisation et un corps calleux fin. Le caryotype standard RHG ne montre pas d'anomalie. En revanche la technique de CGH retrouve une amplification de la région 18p11.2pter et une diminution de la région 18q21.3qter. Ce remaniement a été confirmé par la technique de FISH utilisant les sondes subtélomériques 18p et 18q. L'étude des deux parents avec ces mêmes sondes n'a pas retrouvé d'inversion, attestant du caractère de novo de ce remaniement. Ce patient possède des éléments phénotypiques retrouvés dans les duplications 18p (microcéphalie, orientation des fentes palpébrales en bas et en dehors, petit nez avec narines antéversées, philtrum court et grande bouche) et les délétions 18q (implantation basse des pouces, des doigts longs et fins, des pieds plats, un hypospadias, et une sténose de l'artère pulmonaire). Le retard mental et les troubles de myélinisation neurologiques retrouvés chez notre patient sont classiquement décrits dans les syndrome 18q- et sont en partie liés à l'haploinsuffisance du gène MBP contenu dans la région délétée.

L'identification par FISH des points de cassures en 18p11.21 et18q21.31 puis leur analyse in silico a révélé la présence d'un élément répété L1M1 appartenant à la famille des LINEs qui pourrait être à l'origine d'un mesappariement méiotique entre deux éléments répétés identiques.

Mots-clés : chromosome 18, CGH, FISH.

■P135 / 430. DÉTECTION D'ANEUPLOIDIES À PARTIR D'UNE CELLULE UNIQUE PAR LA MÉTHODE DE CGH ARRAY

C. Le Caignec (1, 2), C. Spits (2), K. Sermon (2), M. De Rycke (2), B. Thienpont (1), Y. Moreau (3), J.P. Fryns (1), A. Van Steirteghem (2), I. Liebaers (2), J.R. Vermeesch (1)
(1) Center for Human Genetics, University Hospital Gasthuisberg, Leuven, Belgium ; (2) Research Centre Reproduction and Genetics, University Hospital and Medical School, Vrije Universiteit Brussel, Brussels, Belgium ; (3) ESAT-SISTA, KU Leuven, Leuven, Belgium

Le diagnostic préimplantatoire (DPI) est une alternative au diagnostic prénatal proposée aux couples à risque de transmettre une maladie génétique. En Belgique, le DPI peut également être réalisé pour sélectionner les embryons ne présentant pas d'aneuploïdie (DPI aneuploidy screening, DPI-AS). Les chances d'implantation, de grossesse et de naissance pourraient être augmentées par cette approche. Actuellement, le DPI-AS est réalisé par hybridation in situ en fluorescence (FISH). L'intérêt de la FISH est limité car un nombre restreint de chromosomes peut être analysé simultanément sur une cellule unique. L'hybridation génomique comparative sur métaphase (CGH sur métaphase) a été proposée pour le DPI-AS. Cependant, la nécessité de congeler les embryons a limité le transfert en diagnostic de routine de cette méthode. La CGH array est une nouvelle méthode qui permet l'identification de délétions ou de duplications chromosomiques. À ce jour, le développement de la CGH array à partir d'une cellule unique a été limité en raison de la faible quantité d'ADN présent dans une cellule. Une amplification non spécifique de l'ensemble des séquences génomiques a été proposée afin de résoudre ce problème. Cependant, les biais d'amplification de l'ADN constituent des difficultés potentielles à l'analyse par CGH array. Nous avons évalué différentes méthodes d'amplification génomique. La qualité de l'ADN amplifié a été appréciée grâce à l'analyse de marqueurs polymorphes. Nous avons mis au point un protocole capable de générer une quantité suffisante d'ADN de bonne qualité pour la méthode de CGH array à partir d'une cellule unique. Afin d'éviter la congélation des embryons et ainsi de faciliter le transfert en diagnostic de la méthode, la durée du protocole a été réduite à deux jours. Les hybridations ont été réalisées sur des lames sur lesquelles des clones (BAC/PAC) espacés d'environ 1-Mb sont déposés. L'analyse de trois lignées de fibroblastes trisomiques pour les chromosomes 13, 18 et 21 et d'une lignée de cellules monosomiques pour le chromosome X a permis la validation de la méthode. Toutes les

anomalies chromosomiques ont été identifiées sans ambiguïté. Trois embryons humains au stade de 7-8 blastomeres diagnostiqués aneuploïdes par FISH ont été testés. L'analyse par CGH array de l'embryon 1 a confirmé l'aneuploïdie mise en évidence par FISH tandis que pour les embryons 2 et 3 des déséquilibres chromosomiques plus complexes ont été observés.

Mots-clés : cellule unique, array CGH, diagnostic preimplantatoire.

■P136 / 438. ÉTUDE CYTOGÉNÉTIQUE DE 833 PATIENTS INFERTILES AVEC UNE PERTURBATION NON OBSTRUCTIVE DU SPERMOGRAMME

H. Elghezal (1), R. Braham (2), Mounir Ajina (1), Meriam Mahdi (1), M. Fekih (2), koussai Ach (2), Hedi Khairi (3), Ali Saâd (1)

((1) Service de Cytogénétique et de Biologie de la Reproduction, Hôpital Farhat Hached, Sousse, Tunisie ; (2) Service d'endocrinologie, Hôpital Farhat Hached, Sousse, Tunisie ; (3) Service de Gynécologie Obstétrique, Hôpital Farhat Hached, Sousse, Tunisie

Il est actuellement bien admis que les anomalies chromosomiques constituent une cause majeure d'infertilité masculine. Nous rapportons dans ce travail les résultats des investigations cytogénétiques réalisées sur 833 hommes infertiles présentant une perturbation non obstructive du spermogramme. L'étude du spermogramme montre que parmi nos patients : 302 présentent une azoospermie, 286 possèdent une oligozoospermie extrême, 135 sont atteints d'une oligozoospermie sévère, 99 ont une oligozoospermie modérée et 11 patients présentent une teratozoospermie isolée. L'étude du caryotype montre la présence d'une anomalie chromosomique chez 109 patients parmi eux (13,09 %). Avec une prévalence plus élevée chez le groupe des patients azoospermiques (26,16 %). Le syndrome de Klinefelter et ses différentes formes cytogénétique constituent l'anomalie chromosomique la plus retrouvée (66 cas). Dans les 43 cas restants, les anomalies chromosomiques correspondent à des formules 46,XX, 47,XXY, des délétions partielles ou totales du chromosome Y, des translocations réciproques ou robertsoniennes, des inversions péri et paracentriques ainsi qu'a des chromosomes marqueurs surnuméraires. Parmi les 24 anomalies chromosomiques autosomiques détectées, 3 seulement sont associées à une azoospermie. La prévalence des anomalies autosomiques est significativement plus importante dans les groupes des patients oligozoospermiques par rapport aux azoospermiques. Une étude par FISH en utilisant des sondes centromériques des chromosomes X et Y montre la présence de mosaïcisme 47,XXY/46,XY dans 14 cas parmi 66 présentant un caryotype normal. Elle montre aussi le même mosaïcisme dans tous les cas étudiés et présentant une formule chromosomique 47,XXY homogène au caryotype avec un spermogramme montrant la présence d'une spermatogenèse résiduelle.

Mots-clés : infertilité masculine, anomalies chromosomiques, syndrome de Klinefelter.

■P137 / 448. DÉLÉTION INTERSTITIELLE 12q15q21 : UN NOUVEAU SYNDROME MICRODÉLÉTIONNEL ?

Caroline Schluth (1), Roselyne Gesny (2), Richard Redon (2), Véronique Abadie (3), Arnold Munnich (1), Stanislas Lyonnet (1), Laurence Colleaux (2)

(1) Département de Génétique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris ; (2) INSERM U393, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris ; (3) The Wellcome Trust Sanger Institute, Hinxton, Cambridge, UK ; (4) Service de Pédiatrie Générale, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris

La proposante a été adressée à l'âge de 6 mois pour l'association d'un retard de croissance intra-utérin, d'une hypotonie, d'une CIV, d'anomalies des extrémités (brachydactylie, syndactylie 2-3 des orteils) et d'une dysmorphie faciale (front haut, hypertélorisme, fentes palpébrales anti-mongoloïdes, bouches en carpe, lèvres fines, micrognathie). L'évolution a été marquée par des difficultés alimentaires, un retard de croissance staturo-pondérale et un retard psychomoteur. L'aspect du visage s'est modifié au cours des années avec un hypertélorisme, des fentes palpébrales mongoloïdes, des sourcils arqués surmontant des yeux en demi-lune et des lèvres fines. Le caryotype prénatal sur amniocytes (pour âge maternel) et postnatal sur lymphocytes étaient normaux (46,XX). L'étude en CGH-array a révélé une délétion interstitielle de 8 Mb du bras long du chromosome 12 : del(12)(q15q21), emportant les BACs RP11-11G4 à RP11-202G4. L'étude des parents a montré que cette délétion est survenue de novo et est d'origine paternelle. Les remaniements interstitiels du bras long du chromosome 12 sont rares et, à notre connaissance, seul un cas de délétion emportant la région 12q15q21 a été rapporté. L'étude comparative avec le cas présent met en évidence des éléments communs caractéristiques : retard de croissance accompagné de difficultés alimentaires, retard de développement psychomoteur, syndactylie 2-3 des orteils et dysmorphie faciale typique, qui évolue avec l'âge. L'association de ces signes doit motiver une exploration attentive du bras long du chromosome 12.

Mots-clés : del 12(q15-q21), dysmorphie, retard mental.

■P138 / 464. TRANSLOCATION SUBTÉLOMÉRIQUE t(6;10)(p25;q26) ET ATTEINTE FAMILIALE INVERSE. OBSERVATION CLINIQUE ET OPHTALMOLOGIQUE

H. Journel (1), M. Boceno (2), C. Le Caignec (2), P. Piloquet (2), J.M. Rival (2)

(1) Centre Hospitalier, 56000 Vannes ; (2) CHU, 44000 Nantes

La découverte d'une translocation réciproque entre un chromosome 6 et un chromosome 10 chez la mère explique la pathologie de ses deux enfants : N., était porteur d'une translocation déséquilibrée, avec trisomie 10q26 et monosomie 6p25. Sur le plan clinique il associe un pseudo syndrome de Pierre-Robin,une hypertrophie gingivale, une dysmorphie faciale et une atteinte de la chambre antérieure de l'œil à une grande encéphalopathie évolutive. F. est porteur du déséquilibre inverse, avec trisomie 6p25 et monosomie 10q26. Il présente une atteinte cérébrale moins sévère, une microphtalmie et un syndrome de Pierre Robin néonatal. La première étude télomérique a été mise en échec. Une deuxième analyse permet d'expliquer leur pathologie. L'atteinte ophtalmologique est une anomalie de la chambre antérieure (irido-cornéo-trabéculo-dysgénésie périphérique) touchant les 2 yeux, avec prédominance gauche, soit un Syndrome de RIEGER à droite (leucome cornéen adhérent total) et d'AXENFELD avec leucome cornéen supérieur à gauche et corectopie. Cliniquement l'association sclérocornée, corectopie, malvoyance semble très fréquente dans les délétions du bras court du chromosome 6.

Mots-clés : télomères, Axenfeld-Rieger, Pierre-Robin.

■P139 / 472. DUPLICATION INTERSTITIELLE 6p21.3 CHEZ UN GARÇON DE 4 ANS PRÉSENTANT UN RETARD PSYCHOMOTEUR ET UNE ÉPILEPSIE, ET REVUE DE LA LITTÉRATURE

J. Andrieux (1), S. Geffroy (1), B. Duban-Bedu (2), S. Sukno (3), M.B. Dehouck (3) F. Lebas (4) B. Delobel (2)

(1) Laboratoires de Génétique Médicale, Hôpital Jeanne-de-Flandre, CHRU de Lille ; (2) Centre de Génétique Chromosomique, Hôpital St-Vincent-de-Paul, Université Catholique de Lille ; (3) Service de Neuropédiatrie, Hôpital St-Vincent-de-Paul, Université Catholique de Lille ; (4) Service de Pédiatrie, Centre hospitalier de Calais

Nous rapportons le cas d'un garçon âgé de 4 ans, né à terme d'un couple sain non apparenté et sans antécédents familiaux. Il est le 6e d'une fratrie de 6 enfants en bonne santé. La grossesse était sans particularité, à la naissance il était eutrophique avec un examen clinique considéré comme normal. En période périnatale il présentait des épisodes de cyanose en rapport avec un reflux gastro-oesophagien. Il a marché seul à 19 mois 5, le langage se met en place tardivement, les premiers mots vers l'âge de 2 ans. À 2 ans il est admis aux urgences pour crise tonico-clonique généralisée. Les résultats des examens neurologiques (EEG et scanner encéphalique), ophtalmologiques (FO) et métaboliques étaient normaux. À l'âge de 4 ans un caryotype haute-résolution est demandé pour retard psychomoteur prédominant sur le langage, instabilité psychomotrice et troubles du sommeil, épilepsie et dysmorphie modérée (épicanthus bilatéral, microgénie, racine du nez large). La croissance staturo-pondérale est dans les normes pour l'âge, il existe cependant une microcéphalie (- 2DS). Il bénéficie d'une prise en charge au CAMSP et d'un traitement associant Dépakine® et Catapressan®. L'analyse des chromosomes par une technique standard et en haute résolution après un marquage en bandes R montre un bras court de chromosome 6 anormal avec probable duplication partielle de la bande p21 confirmée par le caryotype en bandes G et l'analyse FISH. La formule proposée est : 46,XY,dup(6)(p21.2p22.3) de novo, les caryotypes parentaux étant normaux. Une analyse FISH par BACs/PACs confirme la duplication qui mesure moins de 10 Mb.

RP11-239H6	6p22.2	20.240.421-20.413.876	non dup
RP11-317 E16	6p22,2	25.801.058-25.851.020	non dup
RP11-513I15	6p21.31	34.208.417-34.360.244	dup
RP3-51008	6p21.31	35.774.864-35.902.247	dup
RP1-90K10	6p21.2	36.944.620-37.077.773	non dup
RP3-402N21	6p21.2	37.651.818-37.822.119	non dup

À ce jour, 3 cas de duplication 6p ont été décrits (Villa *et al.*, 2000 ; Ng *et al.*, 2001 ; Dominguez *et al.*, 2003). Les deux patients ayant une duplication 6p21p22 présentaient un phénotype moins sévère que celui porteur d'une anomalie plus importante 6p12p21, ce dernier décédait à l'âge de 16 mois. Il présentait également une épilepsie. À notre connaissance la duplication intercalaire présentée ici correspond à la plus petite décrite sur le bras court du chromosome 6. Des études de liaison ont montré un locus en 6p11p12 et en 6p21.3 (complexe HLA) dans les cas familiaux

d'épilepsie myoclonique juvénile et d'épilepsie généralisée idiopathique. Dans cette région 2 gènes candidats ont été décrits dans la littérature et étudiés mais aucune mutation n'a été retrouvée : GRM4 (Izzi *et al.*, 2003) et BRD2 (Pal *et al.*, 2003). Une étude de bornage plus précise de cette duplication est en cours en cytogénétique moléculaire. Ce cas illustre la complémentarité bandes R bandes G et est en faveur de leur utilisation conjointe notamment dans le cadre du retard mental.

Mots-clés : duplication, 6p, épilepsie.

■P140 / 1013. REMANIEMENT COMPLEXE DU CHROMOSOME X PRÉCISÉ PAR LA TECHNIQUE DE M-BANDING CHEZ UNE ENFANT PRÉSENTANT UN RETARD DE CROISSANCE SÉVÈRE ET UNE HYPODONTIE

C. Leroy (1), V. Sulmont (2), A. Schneider (1), C. Eschard (2), B. Digeon (2), N. Michel (1), N. Gruson (1), S. Clomes (1), M. Mozelle (1), D. Gaillard (1), M. Doco-Fenzy (1)
(1) Service de génétique, CHU de Reims ; (2) Service de Pédiatre A, CHU de Reims

Nous rapportons l'observation d'une enfant née prématurée sous X à un terme évalué entre 33 et 38 semaines avec un poids de naissance de 1,610 kg, une taille de 45 cm et un PC de 31 cm, dans un contexte de forme infraclinique de toxoplasmose congénitale. La maman avait une taille de 1,47 m. L'enfant a présenté des difficultés alimentaires avec des vomissements récurrents vers l'âge de 1 an et 6 mois avec des infections ORL à répétition. Il n'a pas été noté de malformations internes. Les traits du visage étaient fins avec un discret rétrognathisme, des lèvres fines et des fentes palpébrales horizontales. Elle a gardé ensuite un retard de croissance staturo-pondéral à -2 DS puis à -3 DS. Sur le plan morphologique, on notait alors des taches achromiques du tronc et du cou, l'absence d'incisives latérales gauches supérieure et inférieure, permettant de suspecter une Hypomélanose de Ito. Les dosages biologiques réalisés, notamment : IGF1, prolactine, LH, T4 libres, cortisol, dérivés de la vitamine D, et Ac antigliadine, sont revenus normaux. Le dosage de la FSH était à la limite supérieure de la normale. Résultat du caryotype : Le caryotype standard réalisé montrait un chromosome X dont le bras p était anormalement long. Il était entièrement hybridé avec la peinture de l'X en FISH : 46,X,der(X)(qter->p22.3 : : ?).ish der(X)(Xp22.3)(DXS1043+,XIST+). L'analyse des prométaphases en bandes R ne permettait pas de préciser la nature du remaniement car l'X allongé était inactivé dans toutes les cellules. Par ailleurs, l'analyse en CGH sur chromosome n'a pas permis de préciser les régions remaniées sur le chromosome X. La technique de M-banding avec le Kit Xcyte X-.m BAND probe Metasystems nous a permis de corriger la formule chromosomique ainsi : der(X)(qter->p22.3::q22->qter). La patiente est donc porteuse d'une duplication du bras q du chromosome X allant de q22 à qter. L'enfant a été traitée par GH suite au résultat du caryotype. À l'âge de 9 ans on observait une nette amélioration de la courbe de croissance et elle mesurait 124,7 cm (-1 DS) pour un poids de 27,9 kg (+1 DS) (IMC : 17,9). Son développement psycho-moteur était normal et elle entrait en classe de CM1. Nous développerons cette observation, nous discuterons le diagnostic d'hypomélanose de Ito et ferons une revue de la littérature sur les associations anomalies de l'X et hypodontie.

Mots-clés : duplication, chromosome X, hypodontie.

■P141 / 1014. CARACTÉRISATION MOLÉCULAIRE D'UNE DÉLÉTION 8q ASSOCIÉE À UN PHÉNOTYPE ANORMAL CHEZ UNE JEUNE FEMME

A. Schneider, C. Leroy, N.Gruson, S. Clomes, N. Michel, C. Mangeonjean, D. Gaillard, M. Doco-Fenzy
Service de Génétique, CHU de Reims

Nous rapportons le cas d'une jeune femme de 29 ans adressée pour un retard des acquisitions, une petite taille et une dysmorphie faciale. À l'examen, elle mesure 1,45 m pour un poids de 42 kg et un PC de 54 cm. Ses mains et ses pieds sont petits (pointure 33). Elle présente des lésions xanthomateuses du dos et une dysmorphie très particulière avec un nez en « bec d'oiseau », un philtrum court, des lèvres fines, un micrognathisme et des oreilles basses et décollées. Elle a un comportement enjoué, est attirée par le comique et manque de repères dans le temps. Aucun antécédent familial n'a été retrouvé. Le caryotype standard montre une délétion interstitielle du bras long du chromosome 8 confirmée par l'analyse en prométaphase. La formule chromosomique est donc la suivante : 46,XX,del(8)(pter->q21. ?1::q21. ?3->qter). Ce résultat a été complété par l'hybridation in situ d'une sonde du locus du gène TRPS1 (8q24.12) qui n'est pas délétée. Une dizaine d'observations de délétions interstitielles proximales en 8q sont rapportées dans la littérature. Quatre syndromes sont classiquement associés aux délétions 8q : les syndromes de Duane en 8q13 (Gène DURS1), le syndrome Branchio-Oto-Rénal ou BOR en 8q13.3 (Gène EYA1), les syndromes de Langer-Giedion et Tricho-Rhino-Phalangien de type 1 en 8q24 (Gène EXT1 et Gène TRPS1). Il existe sur ces deux derniers syndromes de nombreuses publications. Cependant, notre patiente présente un phénotype différent. Après avoir caractérisé ce remaniement par différentes techniques de cytogénétique moléculaire (FISH, CGH, CGH-array) et résumé les observations rapportées dans la littérature, nous comparerons leur phénotype au cas présent.

Mots-clés : délétion interstitielle, chromosome 8, cytogénétique moléculaire.

■P142 / 1018. CARACTÉRISATION MOLÉCULAIRE DE LA DÉLÉTION CHROMOSOMIQUE TERMINALE EN 2q37.3 SUR 20 PATIENTS RECRUTÉS AU SEIN DU RÉSEAU TÉLOMÈRE DE L'ACLF

M. Doco-Fenzy (1), N. Leporrier (2), N. Gruchy (2), L. Taine (3), M. Holder-Espinasse (4), J. Lespinasse (9), P. Jonveaux (10), M.J. Grégoire (10), A. Schneider (1), F. Dastot-Le-Moal (7), N. Collot (7), B. Leheup (11), M. Mozelle-Nivoix (1), M. Khoury (5), B. Delobel (6), J. Motte (1), D. Lacombe (3), M. Goossens (7), S. Briault (8), D. Gaillard (1)
(1) Service de Génétique, CHU, UFR médecine, Reims ; (2) Département de Génétique, CHU de Caen ; (3) Service de Génétique médicale, CHU Pellegrin, Bordeaux ; (4) Service de Génétique, CHU Jeanne-de-Flandre, Lille ; (5) Service de Pédiatrie, CHG de Laon ; (6) Centre de Génétique Chromosomique, Hôpital St-Vincent-de-Paul, Lille ; (7) Hôpital Henri-Mondor AP-HP, INSERM U654, Créteil ; (8) INSERM U619, Faculté de médecine, Tours ; (9) CHG Hôtel Dieu, Chambéry ; (10) CHU Nancy-Brabois, EA 3441, Nancy ; (11) Service Médecine Infantile 3 et Génétique Clinique, CHU de Nancy, France (ACLF : Association des Cytogénéticiens de Langue Française)

De nombreuses publications rapportent des observations de délétions terminales en 2q37 associées à un syndrome Albright Hereditary Osteodystrophy-like (AHO). Les signes incluent alors une petite taille, une obésité, un retard de développement et une brachymétaphalangie ou brachydactylie de type E. La région 2q37.3 comprend le gène du récepteur 35 couplé à la protéine G (GPR35), le gène du glypican 1 (GPC1), et le gène de la sérine/threonine protéine kinase 25 (STK25) qui sont potentiellement responsables des phénotypes observés. D'autres observations rapportent des phénotypes associés tels que autisme, épilepsie, eczéma, et malformations cardiaques pour lesquelles les gènes responsables ne sont pas encore identifiés. Les délétions 2q37.3 sont souvent détectées par l'analyse de la FISH subtélomérique et la plupart des délétions 2qtel alors observées sont considérées comme des polymorphismes car elles sont retrouvées également chez les parents sans signe clinique apparent. Cependant, certaines de ces délétions très terminales surviennent de novo et sont associées à un phénotype anormal. Nous avons collecté 20 observations de patients à partir de 13 familles au sein du réseau télomères afin de définir précisément la taille des remaniements observés. Les propositus ont été détectés après une analyse tous-télomères ou sur suspicion clinique. La taille des remaniements a été établie par l'étude des marqueurs micro-satellites (D2S125 à D2S2585) et par la FISH avec des BACs et PACs spécifiques de la région allant de 2q36 à l'extrémité terminale 2qtel. Dans 7 familles la délétion concerne la région dite polymorphique en 2q37.3 c'est à dire du locus de la sonde RP11-341N2 (242.620-242.780 Kbp) jusqu'à l'extrémité terminale (242.820 Kbp) soit 0,26 Mbp. Pour 3 familles parmi les 7, la délétion du parent est plus petite que celle de l'enfant. Dans les 6 autres familles, les délétions vont de 0,5 Mbp à 8,6 Mbp Les signes cliniques ont été colligés pour toutes les familles et nous avons défini 2 groupes de patients : les patients porteurs d'une délétion de petite taille (segment 242 Mbp-qtel) et les patients porteurs d'une délétion de grande taille emportant un segment de plus de 1 Mbp à partir de l'extrémité terminale. Nous avons analysé les signes cliniques de chacun des patients de ces deux groupes afin de définir une corrélation génotype-phénotype et de pouvoir proposer un conseil génétique plus éclairé dans le cas d'observations de délétions 2qtel de novo.
Étude réalisée grâce à un budget de recherche clinique CHU-REIMS AOL 2003 et dans le cadre de la promotion du CHU de Bordeaux

Mots-clés : chromosome 2q37, délétion, télomère.

■P143 / 1045. APPLICATIONS DE L'HYBRIDATION IN SITU FLUORESCENTE DANS LE DIAGNOSTIC DES ANOMALIES DE STRUCTURE DES GONOSOMES

O. Kacem (1), N. Bouayed Abdelmoula (2), I. Ouertani (1), I. El Kamel (1), F. Zhioua (3), M.F. Portnoi (4), A. Amouri (1)
(1) Laboratoire de Cytogénétique, Institut Pasteur de Tunis, Tunisie ; (2) Département d'Histologie Embryologie, Faculté de Médecine de Sfax, Tunisie ; (3) Service de Gynécologie Obstétrique, Hôpital Aziza Othmana, Tunis ; (4) Laboratoire de Cytogénétique, Hôpital Saint-Antoine, Paris

Des anomalies de structure des chromosomes sexuels, découvertes chez 6 patients par un caryotype conventionnel, ont été confirmées et précisés par une analyse en Hybridation In Situ Fluorescente (FISH). Il s'agit de : o Trois syndromes de Turner, un par anneau, un par isodicentrique pour le bras long et le troisième dicentrique pour le bras court. o Trois hommes porteurs d'une anomalie de structure du chromosome Y : 2 découverts lors d'un bilan d'infertilité, l'un porteur d'un isodicentrique pour le bras court de l'Y, l'autre ayant une délétion du bras long de l'Y. Le troisième est un garçon ambigu avec une dysgénésie gonadique porteur d'un isodicentrique du bras long. Les résultats obtenus par FISH avec une sonde centromérique de l'X, une sonde centromérique de l'Y et une sonde de l'hétérochromatine de l'Y ont permis : – de confirmer et préciser les remaniements de structure – de corriger dans certains cas la formule chromosomique déterminée par cytogénétique conventionnelle – et enfin, grâce à l'analyse rapide et facile d'un nombre important de cellules, d'évaluer correctement les différentes populations cellulaires dans les syndromes en mosaïque. Les informations apportées par les techniques de FISH dans ces observations démontrent bien leur intérêt dans la précision du diagnostic cytogénétique.

Mots-clés : dysgonosomie, syndrome de Turner, isodicentriques du chromosome Y.

■P144 / 1051. DUPLICATION 2p14p16 DUE À UNE INSERTION DANS LE BRAS LONG DU CHROMOSOME 2 ET MICRODÉLÉTION EN 2p14 RÉVÉLÉES PAR CGH-ARRAY

B. Keren (1), J. M. Lapierre (1), M. Prieur (1), J. Amiel (1), D. Genevieve (1), M. Jacquemont (1), A. Tarrico (1), A. Munnich (1), S. P. Romana (1), A Aurias (2), C. Turleau (1), M. Vekemans (1), D. Sanlaville (1)
(1) Service de Génétique et Cytogénétique, CHU Necker, 75015 Paris ; (2) INSERM U509, Institut Curie, 75005 Paris

Les précédentes observations publiées de duplication du bras court du chromosome 2 suggèrent l'existence d'un phénotype distinct. Nous rapportons l'observation d'une fille de 5 ans et demi présentant un retard de croissance intra utérin et postnatal, une macrocéphalie, un anus antéposé, et un retard des acquisitions. Elle présente également une dysmorphie faciale avec un front proéminent, des fentes palpébrales étroites, une racine du nez plate, un nez court avec narines antéversées, un hypertélorisme, une luette bifide, des oreilles basses en rotation postérieure, un philtrum court, une grand bouche et un rétrognathisme. Les mains sont petites et larges. Aucune malformation n'a été retrouvée à l'IRM cérébrale, à l'échographie cardiaque, et à l'examen ophtalmologique. Le caryotype haute résolution a révélé l'existence de matériel chromosomique additionnel en 2q32. L'hybridation in situ fluorescente (FISH) utilisant une peinture du chromosome 2 a confirmé que ce matériel additionnel était originaire du chromosome 2, ce qui suggérait une duplication 2q32q33. Mais les différentes observations rapportées de ce déséquilibre chromosomique ne sont pas compatibles avec le phénotype de la patiente. Afin de mieux caractériser ce remaniement nous avons alors analysé l'ADN de la patiente par la technique d'Hybridation Génomique Comparative (CGH) sur microarray en utilisant une puce d'une résolution moyenne de 1 Mb. Les résultats ont montré que la région 2p14p16 était en triple exemplaire, du clone RP11-469J7 (53 Mb) au clone RP11-494E18 (64 Mb), mais qu'il existait également une délétion d'environ 600 kb adjacente au point de cassure proximal. Nous concluons donc que notre patiente présente une insertion de 9Mb du bras court du chromosome 2 dans la bande 2q32 associée à une petite délétion 2p14. Le phénotype de la patiente est plus proche d'une trisomie 2p que d'une trisomie 2q, ce qui conforte nos résultats. Cette observation souligne l'intérêt de la CGH-array pour caractériser les remaniements chromosomiques complexes et pour préciser les corrélations génotype-phénotype.

Mots-clés : chromosome 2, duplication, CGH Array.

■P145 / 1054. DISOMIE FONCTIONNELLE DE L'X SECONDAIRE À UNE INVERSION DUPLICATION DE LA RÉGION Xq28

B. Keren (1), D. Couet (2), D. Sanlaville (1), I. Texier (1), M. le Lorc'h (1), S. Chevallier (1), M.C. Perrier (1) N. Morichon-Delvallez (1), M. Vekemans (1), B. Gilbert-Dussardier (2), S. Romana (1)
(1) Laboratoire de Cytogénétique, Hôpital Necker-Enfants Malades, AP-HP, 149, rue de Sèvres 75015 Paris, France ; (2) Service de Génétique et Cytogénétique, Hôpital de la Milétrie, CHU de Poitiers, 2, rue de la Milétrie, 86021 Poitiers Cedex

Les inversions duplications sont des anomalies récurrentes qui concernent principalement les régions distales chromosomiques. Les mieux connues sont celles qui intéressent les extrémités du bras court du chromosome 8. Une délétion de l'extrémité télomérique du bras concerné est toujours associé. Elles sont générées par la présence de 2 duplicons inversés sur le même bras chromosomique ce qui favorise, lors de la méiose, un appariement intrachromosomique « en U » qui permet la formation d'un crossing-over entre chromatides sœurs lors de la recombinaison entre ces deux duplicons. Le chromosome recombiné est alors délété dans la région distale au duplicon le plus télomérique. Nous présentons ici l'observation d'un patient porteur d'une inversion duplication de la partie distale du chromosome X. L'enfant présente un tableau clinique compatible avec une disomie fonctionnelle de la région Xq28 : retard de croissance à début anténatal, retard des acquisitions psychomotrices, microcéphalie, sténose des veines pulmonaires, micropénis, troubles sévères de l'alimentation et infections pulmonaires récidivantes. Une anomalie de la région Xq28 a été suspectée sur le caryotype standard et les études en hybridation in situ ont mis en évidence une duplication de la région Xq28 associée à une délétion Xqter. Le caryotype et les études en HIS effectués chez la maman phénotypiquement normale ont révélé la même anomalie sur un de ses chromosomes X. L'incorporation de bromodéoxyuridine a révélé un biais d'inactivation, l'X anormal étant inactivé sur la totalité des cellules examinées ce qui explique le phénotype normal. Deux duplicons en position inversée sont présents dans la région proximale à la délétion, confirmant le mécanisme de ce réarrangement. Cette observation est la première observation de disomie fonctionnelle de l'X liée à ce type de mécanisme. Par ailleurs, elle précise le tableau phénotypique de la disomie fonctionelle de l'X.

Mots-clés : chromosome X, Inversion duplication Xq28, duplicons.

■P146 / 1056. LOCALISATION D'UNE DÉLÉTION INTERSTITIELLE D'UN CHROMOSOME 10p CHEZ UN PATIENT AVEC RETARD MENTAL MODÉRÉ, TRAITS AUTISTIQUES ET DYSMORPHIE FACIALE

Rack K. (1), Rombout S. (1), Sartenaer D. (1), Vidrequin S. (1), Destrée A. (1), Van Maldergem L. (1), Gillerot Y. (1), Demoulin C. (1)
(1) Service de Génétique, IPG, Loverval (Belgique)

La monosomie partielle 10p est une anomalie chromosomique rare et seulement une cinquantaine de cas ont été décrits jusqu'à présent. Un bon nombre de ces cas présentent des caractéristiques cliniques pouvant être associées à un syndrome de DiGeorge (DGS) conduisant ainsi à la description d'un second locus DGS en 10p13-14 (DGS2). DGS2 est un syndrome des gènes continus avec haplo-insuffisance d'au moins 2 gènes responsables du phénotype. Les signes cliniques associés aux délétions 10p sont extrêmement variables. Les corrélations caryotype-phénotype ont permis de définir 2 régions critiques distinctes : DGS2, associée à des anomalies cardiaques et à une déficience en cellules T, et HDR, associée à une hypoparathyroïdie, une surdité neurosensorielle et une dysplasie rénale. Nous discutons ici d'un cas présentant un retard mental modéré, des traits autistiques et une dysmorphie faciale avec suspicion d'une délétion 10p. L'analyse(s) par FISH utilisant une série de sondes locus spécifiques dans la région 10p13-14 confirme la présence d'une délétion de 6Mb qui comprend la région critique DGS2 mais pas la région HDR. Les caractéristiques cliniques de ce cas seront présentées et comparées aux cas publiés présentant une délétion dans cette région.

Mots-clés : monosomie 10p, DGS2, FISH.

■P147 / 1065. STABILITÉ MITOTIQUE ET MÉÏOTIQUE D'UNE ASSOCIATION TÉLOMÉRIQUE CONSTITUTIONNELLE (19p;22p)

S. Bernard-Beufé (1), M.C. Combrisson-Teneur (1), H. Martigny (2)
(1) Laboratoires de Biologie Associés Unité de Cytogénétique Nantes ; (2) Polyclinique de l'Atlantique Nantes

Les associations télomériques constitutionnelles sont de très rares évènements. Les télomères jouant un rôle clef dans la protection des chromosomes, leur perte de fonction lors des associations télomériques entraîne de graves perturbations dans la réparation de l'ADN. Ces anomalies confèrent donc à la cellule une grande instabilité lors des divisions pouvant donner lieu à des « jumping translocations » et/ou à une implication dans la génèse de la pathologie tumorale. Les seules associations télomériques constitutionnelles rapportées sont des mosaïques sanguines. Nous rapportons ici un cas d'association télomérique homogène constitutionnelle impliquant les télomères des bras courts d'un chromosome 9 et les télomères des bras courts d'un chromosome 22 chez un homme présentant une oligo-asthénospermie majeure isolée. L'analyse de 30 métaphases issues des cultures de lymphocytes de ce patient montre la stabilité mitotique de cette anomalie et nous permet d'écrire la formule chromosomique suivante : 46,XY,tas(19;22)(19qter->19pter::22pter->22qter). Cette association a été confirmée par des techniques d'hybridation in situ fluorescence mettant en évidence le chromosome dicentrique 19;22 avec conservation de la région sub-télomérique du 19p. La même formule chromosomique a été retrouvée

chez la mère de ce patient, qui elle aussi est phénotypiquement normale mise à part 2 avortements spontanés. Ce cas de transmission mère-fils démontre une possible stabilité méïotique de l'anomalie chromosomique. Cependant il semble licite de relier la pathologie reproductive de la mère et du fils avec un déséquilibre méïotique de cette anomalie. Après une revue de la littérature, c'est la première fois qu'une stabilité mitotique et méïotique d'une association télomérique est observée. Il semble intéressant de continuer l'étude des séquences répétitives télomériques (TTAAGGG) de cette anomalie exceptionnelle en biologie moléculaire afin d'avancer dans la compréhension des mécanismes de ces régions.

Mots-clés : association télomérique, tas(19;22), dic(19;22).

■P148 / 1070. ÉTUDE DE DEUX CAS DE DÉLÉTION 9pter DONT UNE TRANSMISE PAR LA MÈRE

B. de Fréminville (1), F. Prieur (1), V. Adouard (1), R.L. Touraine (1)
(1) Service de Génétique Clinique Chromosomique et Moléculaire, CHU de St-Étienne

Nous rapportons deux cas de délétion pure de l'extrémité des bras courts du chromosome 9 dont une est également présente chez la mère. Le premier cas est celui d'un garçon vu pour la première fois à l'âge de 1 an avec un retard psychomoteur, une hypotonie, un retard de croissance et un syndrome de West. Le caryotype en bandes R montrait une délétion pure 9p24 confirmée en hybridation in situ. La même délétion est retrouvée chez la mère dont on apprendra qu'elle a eu des difficultés d'apprentissage scolaire mais ne présente pas de dysmorphie évidente. Le deuxième cas est un jeune garçon de 11 ans vu pour un retard mental léger avec des problèmes de comportement dus à une anxiété importante. Le retard de langage a été surtout évident à l'entrée en maternelle. L'étude des extrémités subtélomériques par MLPA a montré une délétion pure de l'extrémité du bras court d'un chromosome 9, visible également sur le caryotype en synchronisation et confirmée par l'étude des télomères 9p en FISH. L'étude du caryotype des parents (bandes R et FISH) est en cours. Ces 2 enfants présentent une dysmorphie qui nous semble similaire avec une brachycéphalie, un nez un peu busqué, une hypoplasie des ailes du nez, des oreilles petites, rondes au lobe projeté en avant et au pavillon décollé. Les fentes palpébrales sont orientées en haut et en dehors, la lèvre supérieure est fine et est un peu en avant de la lèvre inférieure. Ils ont tous les deux une cyphose dorsale. En outre, le premier cas présente un petit hypospade, et le deuxième cas une attitude très raide avec un flexum des genoux. L'étude à l'aide de microsatellites est en cours pour ces deux familles. Elle devrait permettre de borner la délétion et d'en préciser la taille dans chaque cas, et en particulier de comparer les délétions chez la mère et son fils dans le premier cas.

Mots-clés : délétion 9p, cytogénétique moléculaire, phénotype.

■P149 / 1071. ANALYSE PAR HYBRIDATION IN SITU EN FLUORESCENCE (FISH) DE LA SÉGRÉGATION CHROMOSOMIQUE DANS LES SPERMATOZOÏDES D'UN PATIENT PORTEUR D'UNE GRANDE INVERSION PÉRICENTRIQUE DU CHROMOSOME 1

S. Chantot-Bastaraud (1, 3, 4), C. Ravel (1, 3, 4), I. Berthaut (1, 3), Ken MacElreavey (4), Ph. Bouchard (2, 3) et J.P. Siffroi (1, 3)
(1) Service d'Histologie, Biologie de la Reproduction et Cytogénétique, Hôpital Tenon, Faculté de Médecine Pierre et Marie Curie, Paris, AP-HP ; (2) Service d'Endocrinologie, Hôpital Saint-Antoine, Faculté de Médecine Pierre et Marie Curie, Paris, AP-HP ; (3) EA1533, Génétique et Reproduction Humaine, Faculté de Médecine Pierre et Marie Curie, Paris, AP-HP ; (4) Unité de Reproduction, Fertilité et Développement, Département de Biologie du Développement, Institut Pasteur, Paris

La majorité des sujets porteurs d'une inversion péricentrique a un phénotype normal. Néanmoins, l'association à une infertilité, à la survenue de fausses couches à répétition et à la présence de caryotypes déséquilibrés dans la descendance n'est pas rare en raison du comportement méiotique du chromosome inversé. L'appariement des segments chromosomiques homologues inversés et non inversés lors de la méiose peut se faire par formation d'une boucle d'inversion. La survenue d'une recombinaison dans le segment inversé entraîne la formation de gamètes déséquilibrés associant la duplication d'un des segments extérieurs à la boucle d'inversion, à la déficience de l'autre segment (dup(p)/del(q) et del(p)/dup(q)). La fréquence de ces événements de recombinaison est fonction de la taille de la boucle d'inversion et de son contenu. S'il y a fécondation, la viabilité des déséquilibres transmis conditionne la survenue de fausses couches précoces ou la naissance d'un enfant porteur d'une aneusomie de recombinaison (déséquilibre associant duplication et déficience des segments distaux aux points de cassure). Nous avons utilisé la technique de FISH sur spermatozoïdes pour évaluer le taux de gamètes déséquilibrés chez un patient de 30 ans, consultant pour une infertilité primaire et dont le bilan génétique a mis en évidence une grande inversion péricentrique du chromosome 1 (caryotype : 46,XY, inv(1)(p22q42). Les paramètres spermatiques montrent une oligoasthénotératozoospermie sévère (5 millions de spermatozoïdes par ml, mobilité progressive 40 %, 4 % de formes typiques). Le reste du bilan étiologique est sans particularité avec notamment une absence de microdélétion du chromosome Y. L'utilisation de sondes subtélomériques spécifiques du chromosome 1 couplées à une sonde centromérique du chromosome 18 autorisant la distinction entre spermatozoïdes diploïdes et spermatozoïdes disomiques 1, a permis de réaliser l'analyse de ségrégation. Le taux de gamètes équilibrés est de 81 %. Les taux de gamètes porteurs de dup(p)/del(q) et de del(p)/dup(q) sont respectivement de 7,6 % et de 8,1 %. et ne sont pas significativement différents du ratio 1:1 attendu. Le taux élevé de gamètes déséquilibrés nous a conduits à proposer un diagnostic préimplantatoire chez ce patient dont l'infertilité motivait déjà le recours à une fécondation in vitro avec injection intracytoplasmique de spermatozoïdes. L'utilisation de cette technique d'Assistance Médicale à la Procréation devrait améliorer le taux d'implantation et restreindre les risques de fausses couches dans ce cas particulier (déséquilibres transmis non viables). Ainsi, l'analyse de ségrégation par FISH sur spermatozoïdes chez ce patient nous a permis de réaliser un conseil génétique adéquat et de proposer une prise en charge optimale. Nous proposons de réaliser systématiquement une analyse de ségrégation par FISH sur spermatozoïdes chez les patients porteurs d'inversion péricentrique afin d'évaluer le taux de gamètes déséquilibrés et de réaliser un conseil génétique adéquat.

Mots-clés : inversion péricentrique, ségrégation chromosomique, FISH sur spermatozoides.

■P150 / 1084. ANNEAU SURNUMÉRAIRE DU CHROMOSOME 19 ET RETARD MENTAL

A. Vigouroux (1), S. Julia (2), M.C. Vincent (1), P. Calvas (2), G. Bourouillou (2)
(1) Service de génétique, CHU de Toulouse

Un patient de 8 ans présente un retard psychomoteur, ainsi que, depuis la période néonatale une scaphocéphalie secondaire à une craniosténose, une surdité neurosensorielle et quelques traits dysmorphiques : macrocéphalie, oreilles bas implantées, fentes palpébrales anti-mongoloides, synophris, front bombé, philtrum rétracté, incisives proéminentes et palais ogival. Le caryotype sanguin montre un marqueur chromosomique surnuméraire (SMC) de taille variable en mosaïque (75 %), faisant évoquer un chromosome en anneau, survenu de novo. La FISH a permis d'identifier cet anneau surnuméraire comme un chromosome 19 avec perte des régions subtélomériques. L'anomalie est rare (4 cas rapportés). Seul le retard psychomoteur est commun entre les observations : la dysmorphie est variable et donc de spécificité discutable. Afin d'évaluer l'existence d'une relation entre la taille du SMC et les manifestations cliniques nous rapportons la cartographie par FISH de ce marqueur. Son raffinement en cours devrait permettre de préciser un éventuel gène candidat à la sténose céphalique et/ou la surdité.

Mots-clés : anneau du chromosome 19, cartographie, retard mental.

■P151 / 1086. SYNDROME DE GOLDENHAR ET INVERSION PARACENTRIQUE DU CHROMOSOME 5

A.C. Tabet (1), A. Aboura (1), N. Bondeux (1), S. Kanafani (3), H. Gatti.(4), A. Verloes (2), B. Benzacken (3), C. Baumann (2)
(1) Département de Génétique, UF de Cytogénétique, Hôpital Robert-Debré, Paris (AP-HP) ; (2) Département de Génétique, UF de Génétique clinique, Hôpital Robert-Debré, Paris (AP-HP) ; (3) FAMA de cytogénétique, GHU Nord (AP-HP) ; (4) Service de Réanimation, Hôpital Robert-Debré, Paris (AP-HP)

Nous rapportons le cas d'un nouveau né né de parents sans antécédent particulier et non apparentés. La grossesse est sans particularité. La naissance se fait au terme de 39 SA. Le nouveau né est admis en réanimation pour détresse respiratoire. Le tableau clinique révèle un syndrome malformatif de Goldenhar associant :

– au niveau de la face : une hemimicrosomie faciale gauche, une agénésie du pavillon de l'oreille et du conduit auditif externe gauche, une glossoptose, un dermolipome conjonctival bilatéral ;
– au niveau cervical : 2 côtes cervicales, un bloc vertébral T4T5 ;
– au niveau auditif : surdité gauche ;
– au niveau cérébral : hypoplasie et lipome du corps calleux anomalie de giration pariétale gauche. L'examen neurologique montre une hypotonie, une hyporéactivité et une absence de contact. L'évolution se fait vers une

aggravation de l'état neurologique qui mènera au décès de l'enfant à J25. Un caryotype haute résolution met en évidence une inversion paracentrique du bras court du chromosome 5. Une étude par FISH utilisant une sonde de peinture du chromosome 5 confirme que le remaniement ne concerne que le chromosome 5. Les caryotypes des parents sont réalisés et montrent que la mère est porteuse de l'inversion paracentrique a priori identique à celle retrouvée chez le nouveau né. Le caryotype de l'enfant est : 46,XX,inv(5)(p?13.2p14)mat. Devant le tableau sévère présenté par l'enfant et l'absence de symptomatologie de la mère porteuse de l'inversion paracentrique, une étude plus approfondie en cytogénétique moléculaire est réalisée. Une série de Bacs et Yacs bordant la région 5p13-5pter est sur le point d'être conclue à la recherche d'un microremaniement chromosomique. BACs : RP11-661C8 en 5p15.33, RP11-253B9 en 5p13.2, RP11-90B23 en 5p15.1-5p15.2, YACs : 811F7 en 5p15.32, 876C5 en 5p15.3.
Nous discutons le syndrome de Goldenhar dans cette anomalie chromosomique.

Mots-clés : inversion paracentrique, chromosome 5, Bac FISH, syndrome de Goldenhar.

■P152 / 1089. CARACTÉRISATION D'UNE TRANSLOCATION COMPLEXE DE NOVO PAR CGH ARRAY

A. Aboura (1), A.C. Tabet (1), M. Jamar (4) Sci. C. Herens (4), C. Pignal (1), E. Pipiras (3), B. Benzacken (3), A. Verloes (2)
(1) Département de Génétique, UF de Cytogénétique, Hôpital Robert-Debré, Paris (AP-HP) ; (2) Département de Génétique, UF de Génétique clinique, Hôpital Robert-Debré, Paris (AP-HP) ; (3) FAMA de cytogénétique, GHU Nord (AP-HP) ; (4) Laboratoire de cytogénétique, CHU de liège, Belgique

Nous rapportons le cas d'un enfant de 8 ans né de parents bien portants et non consanguins. Il est le deuxième enfant de la fratrie, né au terme d'une grossesse sans particularité. À la naissance, l'examen clinique retrouve un cri anormal sans autre particularité. L'enfant est adressé en consultation de génétique à l'age de 9 mois, l'examen retrouve alors un retard de développement, une microcéphalie, une discrète dysmorphie faciale (hypertelorisme, front étroit) et un cri anormal. Le caryotype standard révèle la présence d'une translocation complexe impliquant 3 chromosomes : les chromosome 5, 12 et 15. Une exploration par cytogénétique moléculaire à l'aide de sondes de peintures des chromosomes 12, de sondes spécifiques des régions 5p15.2 (locus du syndrome du cri du chat) et 15q11q13 (locus du syndrome de Willi Prader) permettent de mieux identifier le remaniement chromosomique. Le caryotype de l'enfant M. est 45,XY,der(5)t(5;12)(p15.1;q12),-12, der(15)t(12;15)(q12;p11). Ce remaniement chromosomique complexe mène à une monosomie de la région distale du bras court du chromosome 5 emportant le locus 5p15.2 impliqué dans le syndrome du cri du chat. Par ailleurs, la région 15p11.3 de même que le centromère du chromosome 15 sont en place indiquant que le chromosome 15 semble totalement conservé. Le diagnostic clinique de syndrome du cri du chat est retenu. Le caryotype du père est sans particularité. Le caryotype de la mère montre une translocation réciproque équilibrée entre les chromosomes 4 et 17. Sur le plan clinique, M est revu en consultation de génétique régulièrement, on note alors que l'évolution se fait vers un autisme. Devant la complexité du remaniement chromosomique et l'évolution clinique inhabituelle, une exploration par CGH array est envisagée. Cette technique permet en une seule manipulation d'explorer à l'aide de clones Bacs la totalité du génome de façon précise. Nous utilisons une puce de 2 700 clones avec une résolution de 1Mb (Integrachip). Dans notre cas, cette technique a permis de caractériser la délétion de la région distale du bras court du chromosome 5 (5p15.2 5pter). Les Bacs délétés sont : RP11-487N22, RP11-94J21, RP11-298J13, RP11-35K22, RP11-572D16, RP11-46O23, RP11-145B1, RP11-72C10, RP11-2913, et RP11-5N8. Le clone RP11-88L18 n'est pas délété. Par ailleurs, les profils obtenus pour les chromosomes 12 et 15 montrent qu'il n'existe pas de déséquilibre sur ces régions du génome. L'apport de la CGH array dans l'exploration des remaniements chromosomiques complexes est discuté.

Mots-clés : syndrome du cri du chat, translocation complexe, CGH array.

■P153 / 1090. TRISOMIE 7q PARTIELLE PAR TRANSLOCATION DÉSÉQUILIBRÉE 46,XX,der(13)t(7;13)(q36;q34) DE NOVO

A. Aboura (1), A.C. Tabet (1), S. Drunat (2), M. Benkhalifa (3), H. Dessuant (4), P. Folliot (7), B. Benzacken (5), A. Verloes (6), C. Leonard (7), P. Landrieu (8)
(1) Département de Génétique, UF de Cytogénétique, Hôpital Robert-Debré, Paris (AP-HP) ; (2) Département de GénétiqueUF de Génétique Moléculaire Hôpital Robert-Debré, Paris (AP-HP) ; (3) ATL Reproductive Biology and Genetiçcs Laboratory, Laverriere 78300 ; (4) Laboratoire Claude Levy, Département de cytogénétique, Paris 75014 ; (5) Service d'Histologie Embryologie Cytogénétique et Biologie de la Reproduction, Hôpital Jean-Verdier (AP-HP), Bondy, France ; (6) Département de Génétique, UF de Génétique clinique, Hôpital Robert-Debré, Paris (AP-HP) ; (7) Laboratoire de Cytogénétique, Hôpital Kremlin Bicêtre, 94270 (AP-HP) ; (8) Service de Neurologie Pédiatrique, CHU Paris Sud, Hôpital Bicêtre, 94270 (AP-HP)

Nous rapportons le cas d'une enfant de 1 an adressée pour l'exploration d'un retard psychomoteur. T est née de parents bien portants et non consanguins. La grossesse a été marquée par la découverte d'une nuque épaisse à l'échographie du premier trimestre. L'amniocèntèse réalisée à 17 SA montre un caryotype sans particularité 46,XX. À la naissance, l'examen retrouve un enfant normotrophe et sans anomalies cliniques apparentes. Dès 4 mois, un retard de développement psychomoteur est noté par le pédiatre. À 1 an l'enfant est vu en consultation de neuropédiatrie. L'examen retrouve un retard psychomoteur (test Denver estimé à 5 mois pour 12 mois), une dysmorphie craniofaciale comprenant une discrète turicéphalie, une base du nez large, un discret ptosis, des oreilles bas implantées et un double menton. Par ailleurs, les bilans radiologiques et biologiques sont sans particularité Un caryotype en haute résolution fait apparaître un doute sur la partie terminale d'un chromosome 13. Une exploration par CGH array est réalisée. Cette technique permet en une seule manipulation d'explorer à l'aide de clones Bacs la totalité du génome de façon précise. Nous utilisons une puce de 2 600 clones avec une résolution de 1 Mb (Spectral Genomics) Dans notre cas, cette technique a permis de mettre en évidence une délétion de la région terminale du chromosome 13 et une trisomie partielle de la région terminale du bras long du chromosome 7. Une exploration par FISH utilisant les peintures WCP 7 et WCP 13 en double couleur a révélé une translocation entre les régions terminales des bras longs des chromosomes 7 et 13 De même, les sondes subtélomériques 7qter et 13qter en double couleur ont révélé la présence d'une seule copie de la région subtélomérique du chromosome 13 et trois copies de la région subtélomérique du chromosome 7. Nous concluons donc à la présence d'une translocation déséquilibrée : 46,XX,der(13)t(7;13)(q36;q34) de novo. L'analyse des microsatellites par PCR situés sur les chromosomes 7 et 13 ont montré que la région dupliquée du chromosome 7 est d'origine maternelle alors que la perte de la région du chromosome 13 est d'origine paternelle. Afin de mieux préciser la taille du déséquilibre, une série de BACs est en cours d'exploration. Nous discutons d'une part le mécanisme du remaniement et d'autre part la corrélation phénotype-génotype.

Mots-clés : retard psychomoteur, t(7;13) déséquilibrée de novo, CGH array.

■P154 / 1105. PRÉVALENCE DES ANOMALIES CHROMOSOMIQUES CHEZ LES COUPLES ATTEINTS D'AVORTEMENTS SPONTANÉS À RÉPÉTITION : À PROPOS DE 1 400 COUPLES

H. Elghezal (1), M. Ibn Rekaya (1), S. Hidar (2), W. Denguezli (3), K. Trabelsi (4), A. Saad (1)
(1) service de cytogénétique et de biologie de la reproduction, hôpital Farhat Hached, Sousse, Tunisie ; (2) Service de Gynécologie obstétrique, hôpital Farhat Hached, Sousse, Tunisie ; (3) service de Gynécologie obstétrique, hôpital Fattouma Bourguiba, Monastir, Tunisie ; (4) Service de Gynécologie obstétrique, hôpital Hedi Chaker, Sfax, Tunisie

Les avortements spontanés à répétition sont définis par la survenue de trois pertes embryofœtales ou plus, avant 24 semaines d'aménorrhée. Ils affectent environ 1 % des couples fertiles et constituent une cause importante de stérilité. Les étiologies sont multiples et une anomalie chromosomique chez le couple doit être recherchée systématiquement. Nous rapportons dans ce travail les résultats des analyses cytogénétiques réalisées sur 1 400 couples présentant une maladie abortive. Une anomalie chromosomique est retrouvée chez 97 couples (6,93 %). La femme est plus touchée que l'homme (5,21 % contre 1,71 %). Chez les femmes, les anomalies les plus rencontrées sont des anomalies de nombre des chromosomes X, homogènes ou en mosaïque (33 cas). Les autres anomalies sont des translocations réciproques (19 cas), des translocations robertsoniennes (8 cas), des inversions (10 cas), des chromosomes marqueurs (2 cas) et un cas de délétion partielles du bras court du chromosome X. Chez les hommes, nous avons retrouvé, 10 translocations réciproques, 4 translocations robertsoniennes, 6 inversions, 3 chromosomes marqueurs et un cas de formule 47,XXY. La fréquence des aberrations chromosomiques augmente de manière significative lorsque la femme est âgée de moins de 38 ans (58 anomalies/ 912 femmes de moins de 38 ans (6,36 %) contre 15 anomalies chez 488 femmes de 38 ans ou plus (3,07 %). Lorsqu'une histoire familiale d'avortements répétitifs est retrouvée le risque de trouver une anomalie chromosomique de structure est significativement plus important (28

anomalies de structure / 412 couples avec une histoire familiale d'avortements répétitifs (6,80 %), contre 29 anomalies de structure/ 988 couples sans histoire familiale d'avortements répétitifs (2,94 %). La recherche des anomalies chromosomiques garde donc une grande place dans le bilan étiologique. La détection d'une anomalie chromosomique chez l'un des deux parents, permet d'évaluer le pronostique des grossesses ultérieures, d'orienter le conseil génétique et de proposer au couple un diagnostic préimplantatoire ou un diagnostic prénatal en cas de grossesse ultérieure évolutive.

Mots-clés : avortement, anomalie chromosomique, caryotype du couple.

■P155 / 1108. DOUBLE DÉLÉTION DU LOCUS DIGEORGE ET DU RÉCEPTEUR D'IGF1

AAboura (1), A.C. Tabet (1), I. Pasquier (1), B. Benzacken (3), A. Verloes (2), C. Baumann (2)

(1) Département de Génétique, UF de Cytogénétique, Hôpital Robert-Debré, Paris (AP-HP) ; (2) Département de Génétique, UF de Génétique clinique, Hôpital Robert-Debré, Paris (AP-HP) ; (3) FAMA de cytogénétique, GHU Nord (AP-HP)

Nous rapportons le cas d'un garçon âgé de 10 ans né de parents non consanguins et bien portants. Il est le 1er d'une fratrie de 3. À la naissance le nouveau-né est eutrophe. Il est adressé en consultation de génétique pour l'exploration d'un tableau associant : petite taille (-3DS), dysmorphie faciale, microcéphalie (-3DS), obésité tronculaire (+ 1DS), micropenis, retard psychomoteur, troubles du comportement à type d'hyperphagie et troubles du sommeil. L'échographie cardiaque est sans particularité. Par ailleurs, on note un taux d'IGF1 augmenté, un taux de GH normal et une hypoparathyroïdie modérée. Le caryotype haute résolution montre une translocation réciproque entre les chromosomes 15 et 22 : 45,XY,der(15)t(15;22)(q26.2;q12),-22 de novo. Une série de sondes commerciales et de Bacs est utilisée (cf. : tableau) La sonde DiGeorge (Tuple 1) montre une délétion de la région chromosomique 22q11.2 ; un Bac RP11-262P8 couvrant la région 15q26.32 comportant le locus du gène IGF1R (Insuline Growth Factor 1 Receptor) est également délété. Une peinture en double couleur des chromosomes 15 et 22 montre qu'il n'existe pas de troisième chromosome impliqué dans la translocation.

Sondes et Bacs	Localisation	Der (15)
RP11-154H4	22q11.12	-
Tuple 1	22q11.2	-
RP11-1019H10	22q11.23	+
RP11-367 E7	22q12.1	+
RP11-415G2	22q12.3	+
Arsa	22q13.1	+
RP11-150C2	22q13.1	+
RP11-799F10	22q13.33	+
RP11-80F4	15q26.2	+
RP11-262P8	15q26.31	-
Tel 15qter	15q26.33	-

(+) : présent, (-) : délété

Nous discutons le phénotype de l'enfant en rapport avec la double délétion 22q11.2 et 15q26.32 emportant le récepteur d'IGF1.

Mots-clés : délétion IGF1R, délétion 22q11.2, BAC FIS.

■P156 / 1111. DÉLÉTION LINÉAIRE TERMINALE 14q32.33. CORRÉLATION PHÉNOTYPE-GÉNOTYPE

M.-L. Maurin (1), S. Brisset (1), M. Le Lorc'h (2), V. Poncet (1), P. Trioche (3), A. Aboura (1), P. Labrune (3), G. Tachdjian (1)

(1) Service de Cytogénétique, Hôpital Antoine-Béclère, Clamart.APHP ; (2) Service de Cytogénétique, CHU Necker-EM, Paris.APHP ; (3) Service de Pédiatrie, Hôpital Antoine-Béclère, Clamart.APHP

Sept cas de délétion terminale linéaire 14q32.3 ont été décrits à ce jour. Nous rapportons ici une nouvelle observation de délétion terminale linéaire du bras long du chromosome 14 concernant une petite fille née à 31 SA et 6 jours (T 38,5 cm (3e percentile) PC 28,5 cm (50e percentile), P 1740g (85e percentile)), suite à une rupture prématurée des membranes. À la naissance elle présentait une hypotonie axiale modérée et une dysmorphie faciale. Actuellement, à 3 ans et 5 mois, la marche n'est pas acquise et son langage se limite à 3 mots. La dysmorphie faciale associe : face ronde, implantation basse des cheveux, front court, creux sous orbitaires, fentes palpébrales obliques en haut et en dehors, hypertélorisme, télécanthus, épicanthus, nez court et busqué, lèvre supérieure bombante avec effacement de l'arc de Cupidon, bord charnu de la lèvre supérieure fin, lèvre inférieure éversée, petite bouche, petit menton et lobes adhérents. Des investigations complémentaires ont mis en évidence une myopie sévère et une hyperintensité périventriculaire à l'IRM cérébrale. L'étude du caryotype en haute résolution a révélé une bande claire surnuméraire à l'extrémité du bras long du chromosome 14. L'étude en cytogénétique moléculaire a montré que la bande additionnelle était constituée de séquences NOR et ne contenait pas de séquence centromérique. L'hybridation in situ fluorescente avec des sondes spécifiques de la région télomérique du bras long du chromosome 14 a révélé par ailleurs une délétion 14q terminale de 1 à 1,6 Mb avec un point de cassure situé entre les BACs RP11-1087P8 et RP11-417P24. Les caryotypes des parents sont normaux. Le caryotype de la patiente s'écrit : 46,XX,der(14)t(14;DorG)(q32.33;p12) Il s'agit de la plus petite délétion linéaire terminale du bras long du chromosome 14 décrite à ce jour. Le phénotype de la patiente est discuté par rapport aux observations de la littérature.

Mots-clés : délétion 14q terminale, NORs ectopiques, dysmorphie.

■P157 / 1122. CGH ARRAY EN CYTOGÉNÉTIQUE CONSTITUTIONNELLE PRÉ ET POST-NATALE

C. Goumy, M.N. Bonnet-Dupeyron, C. Benier, M. Giollant, J.Y. Jaffray, P. Vago

Cytogénétique Médicale, Faculté de Médecine et CHU Clermont-Ferrand

La CGH sur puces à ADN génomique ou CGH array permet l'exploration d'une grande partie du génome en une seule analyse. Cette technique permet de détecter des pertes et/ou des gains en matériel génomique de très petite taille (150 kb à 5 Mb) dans des régions génomiques « d'intérêt » (puces ciblées) ou sur l'ensemble du génome (puces pangénomiques). Elle fait appel à une hybridation compétitive d'un ADN test et d'un ADN de référence, chacun marqué avec un fluorochrome différent, sur des fragments d'ADN génomiques clonés fixées sur des lames de verre. Nous rapportons ici une série de 16 cas (6 fœtus et 10 enfants) qui ont bénéficié d'une exploration par CGH array ciblée sur des régions d'intérêt impliquées en pathologie constitutionnelle ou tumorale. La puce utilisée (GenoSensor Array 300 – Vysis/Abbott) possède 287 clones ; 74 d'entre eux explorent les régions subtélomériques et 29 les régions des syndromes microdélétionnels les plus fréquents. Ces 16 cas avaient au préalable fait l'objet d'une étude par CGH sur métaphase. Cinq anomalies chromosomiques suspectées au caryotype (der 4p, der 4q, del 5q, add 16p, der 18q) ont été confirmées et précisées. Un diagnostic a été posé (une microdélétion 22q11 à phénotype atypique). Deux polymorphismes ont été observés (del 11ptel et del 14qtel). La CGH sur métaphase n'avait mis en évidence que 3 des 6 anomalies [der(4)t(4p;10p), del 5q31, et der(18)t(17q;18q)]. Ces résultats préliminaires montrent que la CGH array avec une puce ciblée semble bien adaptée à l'activité clinique de diagnostic en constitutionnel pré et post-natal. La puce que nous utilisons permet l'exploration de 287 locus d'intérêt en un seul temps. Sa mise en œuvre est simple et son interprétation est automatisée donc très rapide. Sous réserve que les régions à explorer soient présentes sur la puce, elle s'avère beaucoup plus sensible que la CGH sur métaphase dont la résolution est comparable à celle d'un caryotype haute résolution. Cependant, les indications doivent être bien pesées, surtout en prénatal où elles doivent être limitées pour l'instant à la confirmation et à la caractérisation d'anomalies suspectées au caryotype standard. En effet, l'existence de polymorphismes et l'absence de corrélations génotype-phénotype pour certains déséquilibres que pourrait révéler la CGH array rendraient tout conseil génétique impossible.

Mots-clés : CGH array, constitutionnel, malformation / retard mental.

■P158 / 1165. SYNDROME MOMO ET TRANSLOCATION RÉCIPROQUE HOMOZYGOTE t(16;20)(q21;p11.2)

P.Y. Vu (1), M.A. Delrue (1), P. Barat (2), F. Bonnet (3), S. Briault (4), R. Saura (1), D. Lacombe (1), L. Taine (1)

(1) Service de Génétique Médicale, CHU Pellegrin, Bordeaux ; (2) Département de Pédiatrie, CHU Pellegrin, Bordeaux ; (3) Département de pathologie, CLCC Bergonié, Bordeaux ; (4) INSERM U619, Faculté de Médecine, Tours

L'obésité est un problème de santé majeur de nos jours, avec des impacts médicaux et sociaux très importants. Sur le plan étiologique, la contribution des facteurs génétiques est estimée de 30 à 70 %, avec un mode d'action oligogénique largement accepté et des formes monogéniques très sévères. Le syndrome MOMO (Macrosomy, Obesity, Macrocephaly, Ocular Abnormalities) est principalement caractérisé par une obésité sévère, liée à une boulimie morbide de survenue précoce. Avec seulement 3 cas décrits dans la littérature, un mode héréditaire autosomique dominant a été proposé pour ce syndrome. Nous avons étudié un patient porteur du syndrome MOMO présentant une obésité morbide secondaire à une polyphagie grave, une macrosomie, une macrocéphalie, une atrophie du nerf optique, une incurvation du fémur et un retard mental modéré. Les analyses chromosomiques et moléculaires ont identifié une translocation réciproque t(16;20)(q21;p11.2)x2, à l'état homozygote chez ce patient dont les parents sont consanguins. Cette observation clinico-cytogénétique exceptionnelle permet de proposer un mode héréditaire autosomique récessif avec une localisation chromosomique au niveau de l'un des points de cassure.

Mots-clés : syndrome MOMO, obésité, mode héréditaire.

■P159 / 1503. INVESTIGATION MOLÉCULAIRE D'UNE HÉTÉRO-ISODISOMIE UNIPARENTALE MATERNELLE DU CHROMOSOME 14 DANS UN CAS DE TRANSLOCATION ROBERTSONIENNE (13;14)

Kada Krabchi (1), Mélissa Ferland (1), Fahd Halal (2), Laura Russel (2), Alessandra MV Duncan (3) et Régen Drouin (1)

(1) Service de Génétique, Département de Pédiatrie, Faculté de Médecine et des Sciences de la Santé, Université de Sherbrooke, Sherbrooke, J1H5N4, Québec, Canada ; (2) Centre Universitaire de Santé McGill, Hôpital de Montréal pour Enfants, Montréal, Québec ; (3) Laboratoire de Cytogénétique, Hôpital de Montréal pour Enfants, Montréal, Québec

Nous rapportons le cas d'une fille âgée de 25 mois, seconde d'une fratrie de 2 enfants dont les signes cliniques sont représentés par un retard de croissance en période prénatale et post-natale, des difficultés alimentaires graves, une hypotonie, une hyperlaxité ligamentaire, une microcéphalie, une fontanelle antérieure petite, des bosses frontales, un télécanthus et une aplasie de la racine du nez. Ce tableau dysmorphique a suscité une investigation cytogénétique qui a mis en évidence une translocation robertsonienne t(13;14) sans la présence de trisomie 14 en mosaïque au niveau du sang. Le caryotype des parents a révélé la même translocation chez la mère et la sœur, toutes deux asymptomatiques. Le phénotype du propositus a motivé une étude génétique moléculaire à l'aide de marqueurs microsatellites afin de vérifier l'existence d'une disomie uniparentale (DUP) et d'en préciser l'origine parentale. L'observation de la distribution des marqueurs alléliques sur le bras long du chromosome 14 suggère la présence d'une hétérodisomie pour les segments proximal et distal associée à une isodisomie pour le segment médian. Cette DUP14 est d'origine maternelle et serait le résultat d'un double chiasma méiotique par recombinaison homologue des chromosomes 14. L'héritage biparental des chromosomes 13 et l'exclusion d'une fausse paternité ont été confirmés par l'analyse de plusieurs marqueurs hautement polymorphes spécifiques à différents chromosomes. Cette forme particulière de DUP14 pourrait expliquer la survenue de signes inhabituels tels que la néphrocalcinose bilatérale, l'hypercalciurie idiopathique et l'électromyogramme myopathique rencontrés chez notre patiente. Elle serait donc la conséquence d'une non-disjonction chromosomique à la méiose I maternelle et résulterait vraisemblablement du rechapage d'un zygote trisomique 14.

■P160 / 1505. CARACTÉRISATION CYTOGÉNÉTIQUE ET MOLÉCULAIRE D'UN CAS DE GÉMELLITÉ MONOZYGOTE HÉTÉROCARYOTE DANS UN CONTEXTE FAMILIAL DE GÉMELLITÉ DIZYGOTE

Macoura Gadji (1), Kada Krabchi (1), Mélissa Ferland (1), Marc Bronsard (1), Adrien Bastide (2), Jean-Luc Ardilouze (3), Chantal Caron (4), Anny Langevin (4), Régen Drouin (1)*

(1) Service de Génétique, Département de Pédiatrie, Faculté de Médecine et des Sciences de la Santé, Université de Sherbrooke, Sherbrooke, Québec, Canada ; (2) Département de Gynéco-Obstétrique, CHUQ, Québec, Québec, Canada ; (3) Service d'Endocrinologie, Département de Médecine, Faculté de Médecine et des Sciences de la Santé, Université de Sherbrooke, Sherbrooke, Québec, Canada ; (4) Clinique de Gynéco-Obstétrique du Lac St-Jean, Alma, Québec, Canada

Les jumeaux monozygotes peuvent être diamniotiques dichorioniques, diamniotiques monochorioniques ou monoamniotiques monochorioniques dépendamment du moment de la division zygotique. La première observation de jumeaux monozygotes hétérocaryotes (JMH) fut décrite en 1961 par R. Turpin et J. Lejeune. Les JMH sont définis par une identité allélique complète, une similitude des groupes sanguins, une tolérance immunologique à la greffe de peau réciproque et par une seule paire de chromosomes différents. Nous rapportons un cas similaire à l'observation princeps. L'un des jumeaux de cette grossesse monozygotique diamniotique dichorionique est de sexe mâle (46,XY), l'autre est atteint d'un syndrome de Turner (45,X). En période prénatale, le phénotype du jumeau monosomique montrait des stigmates turnériens évidents (notamment un hygroma colli remarqué dès la 14e semaine à l'échographie). L'investigation cytogénétique conventionnelle et moléculaire des deux jumeaux a été effectuée en période pré- et post-natale sur des amniocytes, des lymphocytes sanguins et des fibroblastes cutanés. L'analyse à l'aide d'une trentaine de marqueurs microsatellites spécifiques à différents chromosomes a permis de confirmer le monozygotisme gémellaire. Les deux enfants présentent un profil allélique identique avec une probabilité de monozygotie de 99,998 %.

La survenue des JMH s'explique par l'apparition de deux évènements accidentels simultanés au stade blastomérique précoce. Dans notre cas, il y a eu un clivage post-conceptionnel d'un zygote de constitution XY, générant des jumeaux monozygotes dont l'un a subi en même temps que le clivage blastomérique une perte mitotique de l'Y. Ce double mécanisme qui a entraîné la formation de JMH de constitutions chromosomiques différentes, l'un 45,X et l'autre normal 46,XY. Le clivage est possiblement survenu dès la première division du zygote et avant la formation de la morula, ce qui explique l'absence de mosaïque chez l'enfant 45,X.

Ce cas est exceptionnel d'une part par la rareté des grossesses gémellaires monozygotes hétérocaryotes et d'autre part par son originalité liée à sa survenue dans un contexte familial de gémellité dizygote.

■P161 / 1514. CARACTÉRISATION GÉNOMIQUE D'UN CARCINOME SARCOMATOÏDE PULMONAIRE MÉTASTATIQUE : AMPLIFICATION 9p23-24 INCLUANT JAK2 ET NÉOCENTROMÈRE

A. Italiano (1, 4), R. Attias (1), A. Aurias (2), G. Perot (2), F. Burel-Vandenbos (3), J. Otto (4), F. Pedeutour (1)

(1) Laboratoire de Génétique desTumeurs Solides, CHU de Nice et CNRS UMR 6543, Nice ; (2) Laboratoire de Pathologie Moléculaire des Cancers, Institut Curie, Paris ; (3) Laboratoire d'Anatomie Pathologique, CHU de Nice ; (4) Service d'Oncologie Médicale, Centre Antoine-Lacassagne, Nice

Le carcinome sarcomatoide du poumon est une entité histologique rare caractérisée par une double différenciation épithéliale et mésenchymateuse. Les données cytogénétiques concernant ce type tumoral sont presque inexistantes. Nous rapportons ici la première étude cytogénétique moléculaire d'un cas de carcinome sarcomatoïde métastatique. L'étude cytogénétique conventionnelle et moléculaire (M-FISH) a montré un caryotype voisin de la triploïdie comportant de nombreuses anomalies de structure avec présence de 4 à 6 chromosomes marqueurs surnuméraires constitués de séquences du chromosome 9. L'étude par hybridation génomique comparative (CGH-array) a mis en évidence une amplification de la région 9p23-24.3 ainsi qu'un gain au niveau des régions 1q11-q23.3, 3q26.2-q29 et 17q23.2-q24.1. Nous avons montré par FISH sur coupes incluses en paraffine que l'amplification de la région 9p23-24.3, incluant le gène JAK2, était déjà présente au niveau de la tumeur primitive et d'une autre métastase métachrone suggérant qu'il s'agit d'un événement crucial dans la tumorigénèse et le processus métastatique. Nous avons précisé la structure des chromosomes marqueurs surnuméraires par technique de FISH avec une série de clones BACs et montré qu'il s'agissait d'isochromosomes pour la région 9p23-24.3. De plus ces chromosomes marqueurs étaient porteurs d'un néocentromère (absence de séquences alpha-satellites mais présence d'un centromère fonctionnel). Les néocentromères ont été décrits à ce jour dans près de 60 cas de pathologies constitutionnelles ainsi que dans 2 types de pathologies tumorales : leucémies et liposarcomes bien différenciés. Il s'agit pour le cas présent de la première description d'un néocentromère dans un cas de carcinome suggérant que la fréquence de cette anomalie est potentiellement sous-estimée dans les cancers et pourrait se révéler être un mécanisme majeur dans la tumorigénèse.

Mots-clés : Amplification, néocentromère, carcinome sarcomatoïde.

■P162 / 1542. ÉPIDÉMIOLOGIE ET ÉTIOLOGIE DES MÔLES HYDATIFORMES COMPLÈTES EN AFRIQUE DE L'OUEST

A.L. Diatta (1), J.M. Afoutou (1), J.C. Moreau (2), M. Chavance (3), J.J. Candelier (4), J.Y. (5), Ph. Coullin (5)

(1) Laboratoire de cytogénétique et de reproduction, Hôpital Aristide-Le Dantec, av. Pasteur, Dakar, Sénégal ; (2) Service Gynécologie Obstétrique, Hôpital Aristide-Le Dantec, av. Pasteur, Dakar, Sénégal ; (3) INSERM U472, F94807 Villejuif ; (4) INSERM U504, F94807 Villejuif ; (5) INSERM U493, Endocrinologie et génétique du développement et de

la reproduction, 32, rue des Carnets, F92140 Clamart. Tél. : 01 45 37 40 84, courriel : philippe.coullin@inserm.ipsc.u-psud.fr

Les môles hydatiformes complètes (CMH) sporadiques diploïdes caractérisées par l'absence d'embryon et la dégénérescence villeuse totale du placenta sont d'origine androgénique. Elles résultent de la fécondation d'un ovule dont le pronucleus maternel est absent ou inactif par un (môles « homozygotes ») ou deux spermatozoïdes (môles « hétérozygotes »).
L'incidence des CMH en Europe occidentale et Amérique de Nord est approximativement d'un cas pour 2 500 naissances. Il est très supérieur dans de nombreux « Pays du Sud » (1/400 par exemple au Sénégal) où l'évolution fréquente des CMH en môles puis en choriocarcinomes, représente un réel problème de santé publique.
L'incidence « occidentale » correspond vraisemblablement au taux « basal » dû aux déficiences chroniques du système gamétogenèse-fécondation dans l'espèce humaine. L'excès des conceptions molaires des « pays du sud » peut être attribué à des facteurs exogènes, immunologiques ou / et alimentaires, tels que des carences.
Le Sénégal où il existe une variation cyclique importante du nombre des conceptions humaines en fonction des saisons et des périodes des travaux agraires, constitue un modèle d'étude attractif pour étudier ce dernier.
La courbe annuelle des conceptions des grossesses molaires est parfaitement parallèle à celle des conceptions normales. Par contre celle des conceptions des futures « mères de môle » est décalée par rapport aux deux autres et montre qu'une majorité de ces femmes ont effectué leur gamétogenèse durant leur vie embryonnaire et fœtale, pendant la période la plus défavorable qui correspond à la soudure alimentaire avant les récoltes. Au contraire, une minorité ont effectué leur gamétogenèse durant les périodes fastes suivant les récoltes.
Ces études indiquent, que d'éventuels facteurs alimentaires sont impliqués dans la genèse des CMH en Afrique de l'Ouest. Ils n'interviendraient pas primitivement au moment de l'ovulation et de la fécondation mais pendant la période fœtale de la gamétogenèse de la future patiente.

Mots-clés : môle hydatiforme, gamétogenèse, épidémiologie.

■P163 / 1550. DÉTECTION DE VARIATIONS D'UNE COPIE DANS DES GÉNOMES HUMAINS COMPLEXES PAR DE LA CGH BAC-ARRAYS À PARTIR D'UN NANOGRAMME D'ADN

Marine Guillaud-Bataille, Alexander Valent, Pascal Soularue (1), Christine Perot, Maria-del-Mar Inda, Aline Receveur, Sadek Smaïli, Hugues Roest Crollius (2), Jean Bénard (3), Xavier Gidrol (1), Alain Bernheim and Gisèle Danglot*
Génomique Cellulaire des Cancers, CNRS UMR 8125, Institut Gustave Roussy, 39, rue Camille-Desmoulins, 94805 Villejuif Cedex, France ; (1) Laboratoire de Génomique Fonctionnelle, CEA, 2, rue Gaston-Crémieux CP22, 91057 Évry Cedex, France ; (2) Genoscope, 2, rue Gaston-Crémieux, 91057 Évry Cedex, France ; (3) Service de Génétique, Institut Gustave-Roussy, 39, rue Camille-Desmoulins, 94805 Villejuif Cedex, France

L'hybridation in situ comparative sur des matrices de BAC (array-CGH) est une technique très efficace qui mesure simultanément le nombre de copies d'ADN en de très nombreux de points du génome. Elle permet de détecter de façon fiable des variations d'une copie. La quantité minimale d'ADN nécessaire pour l'hybridation est habituellement entre 500 ng à 3 µg, obtenue à partir d'une population cellulaire homogène. De telles quantités sont souvent difficiles à obtenir, en particulier lorsque l'on travaille sur des prélèvements de nourrissons, des aspirations de cellules tumorales ou des cellules micro-disséquées dans des tissus hétérogènes. Pour résoudre ce problème, nous avons développé une amplification génomique globale permettant d'effectuer la CGH array avec la même sensibilité à partir d'1 ng d'ADN. Nous avons fait le choix d'utiliser la méthode la plus simple possible qui permettrait une amplification homogène de l'ensemble du génome, sans utiliser des primers aléatoires qui, du fait de leur affinité variable pour leurs différentes cibles, sont une source de d'inhomogénéité incontournable. Une PCR précédée d'une ligation a été préférée. Nous avons défini les paramètres (enzyme, concentration en primers, nombre de cycles d'amplification) adaptés à une amplification par ligation-PCR la plus fidèle possible à partir d'ADN coupé par des enzymes de restriction et nous avons précisé les limites de la technique. Le protocole utilisé permet d'amplifier 3 000 fois l'ADN qui retient complètement les caractéristiques quantitatives du génome initial.
Cette amplification homogène et proportionnelle a été validée sur l'ADN de 10 lignées tumorales hybridées sur des BACs array de 1 500 spots montrant des ratios parfaitement conservés pour les régions non amplifiées et amplifiées. Le coefficient de corrélation de 0,96 a été observé pour les régions avec des faibles variations du nombre de copies qui était très similaire à un coefficient de variation de 0,957 observé pour des répliques directes de l'ADN. Ce coefficient de corrélation atteignait 0,99 quand on incluait des oncogènes amplifiés in vivo. Cette très haute reproductibilité élimine l'utilisation d'un modèle statistique pour compenser les distorsions d'amplification observées avec d'autres techniques comme les amplifications isothermiques à la polymérase Phi29 (Cartoso *et al.*, 2004). Enfin, un marquage de l'ADN utilisant deux nucléotides portant le même fluorochrome a contribué à une augmentation significative de la reproductibilité et de la détection correcte de gain d'une copie ou de perte dans plus de 90 % des données analysées même dans des tumeurs pseudo-triploïdes. La PCR secondaire à une ligation apparaît comme une technique très fiable pour mesurer une variation d'une seule copie à partir de minuscules quantités d'ADN sur des BACs- array CGH. La question se pose désormais de l'application de cette technologie aux nouvelles générations de matrices d'oligonucléotides pour la CGH. Cette technique sera d'un grand intérêt pour l'étude d'échantillons avec de très petites quantités d'ADN par array CGH.

4. Génétique Clinique

■P164 / 24. MYOTONIE PERMANENTE SÉVÈRE À RÉVÉLATION NÉONATALE SECONDAIRE À UNE NOUVELLE MUTATION DU GÈNE DU CANAL SODIUM MUSCULAIRE *(SCN4A)*

Sébastien Gay (1), Marina Colombani (2), Marc Labenne (1), Dominique Sandre (1), Delphine Dupuis (3), Frédéric Huet (2), Jean-Bernard Gouyon (1), Bernard Hainque (4), Pierre Soichot (3), Damien Sternberg (4), Laurence Faivre (2), Christel Thauvin-Robinet (2)
(1) Service de Réanimation Pédiatrique et de Médecine Néonatale, Hôpital d'Enfants, CHU de Dijon ; (2) Centre de Génétique, Hôpital d'Enfants, CHU de Dijon ; (3) Laboratoire d'Exploration du Système Nerveux, Service de neurologie, Hôpital Général, CHU de Dijon ; (4) Laboratoire de Biochimie B, UF de Cardiogénétique et Myogénétique Moléculaire et Cellulaire, Hôpital de La Pitié-Salpêtrière, Paris

Les canalopathies ou maladies des canaux ioniques musculaires se composent des paralysies périodiques, des myotonies congénitales et de la paramyotonie. Les mutations du canal sodium musculaire *(SCN4A)* sont à l'origine de la paramyotonie, de la paralysie périodique hypokaliémiante, de la myotonie aggravée par le potassium et de la myotonie permanente sévère. Le diagnostic clinique de myotonie est facilement confirmé par l'examen électromyographique qui montre des décharges myotoniques en rapport avec l'état d'hyperexcitabilité de la membrane de la fibre musculaire. Nous présentons l'observation d'une enfant âgée de 11 mois hospitalisée depuis sa naissance pour des épisodes de malaises avec désaturation et contractures musculaires généralisées. L'examen clinique note un retard staturo-pondéral sévère, une dysmorphie faciale avec une amimie et des fentes palpébrales fines, et un retard des acquisitions. L'examen musculaire retrouve une hypotonie axiale avec hypertonie périphérique et une hypertrophie musculaire importante, sans myotonie clinique. Le bilan polymalformatif est normal et le bilan radiographique montre la présence d'une luxation de hanche congénitale sans signe de chondrodysplasie associée. L'EMG met en évidence des salves myotoniques spontanées et la biopsie musculaire est normale. Un test au froid déclenche les malaises. L'analyse moléculaire du gène *SCN4A* montre la présence de la mutation N1297K à l'état hétérozygote *de novo*. Après six semaines de traitement par mexiletine, les malaises semblent moins sévères et moins fréquents en période de chaleur. Nous rapportons un cas rare de présentation néonatale sévère de myotonie permanente liée au gène du canal sodium musculaire.

Mots-clés : paramyotonie congénitale, myotonie permanente, SCN4A.

■P165 / 34. DISOMIE UNIPARENTALE MATERNELLE DU CHROMOSOME 14 DIAGNOSTIQUÉE CHEZ UNE JEUNE FEMME AU DÉCOURS D'UN ÉPISODE PSYCHOTIQUE AIGU

C. Colas (1), L. Cuisset (3), D. Cohen (2), A. Urtizberea (1), D. Héron (1)
(1) Département de Génétique, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France ; (2) Service de Psychiatrie de l'Enfant et de l'Adolescent, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France ; (3) Service de Biochimie, Hôpital Cochin, Paris, France

La disomie uniparentale (DUP) est définie par la présence, chez un individu diploïde, de deux chromosomes homologues hérités d'un même parent. Une expression phénotypique n'est observée que lorsque le chromosome en cause possède une ou plusieurs régions soumises à empreinte. C'est le cas du chromosome 14, dont la disomie maternelle est caractérisée par un retard de croissance pré- et post natal, une hypotonie néonatale, un retard moteur modéré avec ou sans retard mental, une puberté précoce, une scoliose et une discrète dysmorphie. Aucun trouble du comportement, ni manifestation psychiatrique n'ont jamais été rapportés dans ce syndrome.

Nous rapportons ici le cas d'une jeune femme ayant présenté un épisode psychotique de type bouffée délirante aiguë à l'âge de 22 ans. Son histoire et l'examen clinique ont permis de poser le diagnostic de disomie uniparentale maternelle du chromosome 14 par biologie moléculaire, alors que le caryotype était normal.
Il s'agit du premier cas décrit de DUP maternelle du chromosome 14 associé à des manifestations psychiatriques. Bien que cette association puisse être fortuite, elle semble importante à signaler d'autant que la majorité des cas rapportés dans la littérature concernent des fœtus ou de jeunes enfants et que très peu de données sont disponibles concernant leur devenir à l'adolescence puis à l'âge adulte. Un suivi prospectif paraît donc nécessaire car des manifestations psychiatriques à l'adolescence pourraient faire partie intégrante de ce syndrome comme cela est le cas dans d'autres pathologies génétiques comme, par exemple, dans la délétion 22q11.

Mots-clés : disomie uniparentale maternelle, chromosome 14, manifestation psychiatrique.

■P166 / 42. ÉVALUATION DES CRITÈRES DE GHENT À PARTIR D'UNE COHORTE INTERNATIONALE DE 1 081 PATIENTS PORTEURS D'UNE MUTATION DU GÈNE *FBN1*

L. Faivre (1, 2), G. Collod-Beroud (3), A. Child (4), B. Callewaert (5), C. Binquet (1), E. Gautier (1), E. Arbustini (6), A. Kiotsekoglou (4), P. Comeglio (4), C. Beroud (3), C. Bonithon-Kopp (1), D. Halliday (7), M. Claustres (3), C. Muti (8), H. Plauchu (9), P. Robinson (10), L. Ades (11), J. De Baecker (5), P. Coucke (5), U. Francke (12), A. De Paepe (5), G. Jondeau (8), C. Boileau (13)
(1) Centre d'investigation clinique, épidémiologie clinique, CHU de Dijon, France ; (2) Centre de Génétique, CHU Dijon, France ; (3) IURC, Montpellier, France ; (4) Cardiological Sciences, St. George's Hospital, London, UK ; (5) Medical Genetics, Ghent University Hospital, Belgium ; (6) Molecular Diagnostic Unit, Policlinico San Matteo, Pavia, Italy ; (7) Biochemistry, University of Oxford, UK ; (8) Consultation pluridisciplinaire Marfan, Hôpital Ambroise-Paré, Boulogne, France ; (9) Génétique, Hôtel Dieu, Lyon, France ; (10) Medizinische Genetik, Universitatsklinikum Charité, Berlin, Germany ; (11) Paediatrics, Royal Alexandra Hospital, Sydney, Australia ; (12) Genetics and Pediatrics, Stanford University Medical Center, USA ; (13) Génétique moléculaire, Hôpital Ambroise-Paré, Boulogne, France

Une mutation du gène *FBN1* peut être responsable du syndrome de Marfan et d'une grande variété de phénotypes plus modérés nommés fibrillinopathies de type I. Le diagnostic de syndrome de Marfan repose sur des critères cliniques (critères de Ghent). La présence de deux atteintes parmi les 5 manifestations de signification majeure (ectopie du cristallin ; dilatation ou dissection aortique ; ectasie durale ; combinaison spécifique des signes squelettiques ; apparenté du 1er degré atteint ou présence d'une mutation *FBN1*) et l'atteinte mineure d'au moins un autre système est nécessaire pour retenir le syndrome de Marfan. Ces critères initialement mis en place pour définir le syndrome de Marfan ont été progressivement utilisés pour définir les indications de recherche de mutation au sein du gène *FBN1* et du suivi cardiaque. Il existe actuellement une inquiétude concernant une interprétation trop stricte de cette nosologie, entraînant une sous-évaluation diagnostique des fibrillinopathies de type I et donc une absence de surveillance aortique. Cette étude propose d'évaluer la proportion de syndrome de Marfan défini selon les critères de Ghent parmi une série internationale de 821 probants et 260 apparentés porteurs d'une mutation *FBN1*, et de décrire les patients présentant des critères de Ghent négatifs. 21 % des patients ont une atteinte squelettique majeure, 55 % une atteinte ophtalmologique majeure et 78 % une atteinte cardiaque majeure. En considérant dans un premier temps les patients adultes, la plupart des manifestations évoluant avec l'âge, 73 % des patients adultes présentent des critères de Ghent positifs si la présence d'une mutation *FBN1* n'est pas considérée comme un critère majeur, 87 % si la présence de la mutation au sein du gène *FBN1* est considérée comme un critère majeur. Les 12 % restants permettent de mieux définir le spectre des fibrillinopathies de type I, un tiers présentant une symptomatologie aortique. Les résultats sont inférieurs chez les mineurs, 57 % des mineurs présentant des critères de Ghent positifs si la présence d'une mutation *FBN1* n'est pas considérée comme un critère majeur et 83 % si la présence de la mutation au sein du gène *FBN1* est considéré comme un critère majeur. L'évaluation des critères de Ghent en intrafamilial a permis de retrouver 27 % de discordances intrafamiliales, définies par un probant présentant des critères de Ghent positifs et au moins un apparenté négatif et inversement. En conclusion, une étude du gène *FBN1* est d'intérêt dans l'identification des individus à risque de dilatation aortique, puisqu'elle permet de reclasser 15 % des adultes présentant des critères de Ghent négatifs, et une proportion encore plus importante d'enfants. Elle suggère l'indication d'une étude moléculaire chez les patients présentant une atteinte majeure d'un système et une atteinte mineure d'un autre système seulement. De plus, une surveillance aortique doit être proposée chez tout patient présentant une atteinte majeure d'un système de façon isolée, ou une atteinte mineure d'au moins 2 systèmes.

Mots-clés : syndrome de Marfan, critères de Ghent, fibrillinopathies de type I.

■P167 / 49. UN NOUVEAU CAS DE MÉGALENCEPHALIE ET POLYMICROGYRIE PÉRISYLVIENNE AVEC POLYDACTYLIE POST-AXIALE ET HYDROCÉPHALIE (MPPH SYNDROME)

M. Colombani (1), M. Chouchane (2), G. Pitelet (3), L. Morales (4), J.P. Pinard (4), L. Lion-François (3), C. Thauvin-Robinet (1), F. Huet (2), F. Mugneret (1), L. Guibaud (5), L. Faivre (1)
(1) Département de génétique, Hôpital d'Enfants, Dijon ; (2) Département de Pédiatrie, Hôpital d'Enfants, Dijon ; (3) Département de Pédiatrie, Hôpital Debrousse, Lyon ; (4) Service de Pédiatrie, Centre Hospitalier Philippe-Le Bon, Beaune ; (5) Département d'imagerie Pédiatrique et Fœtale, Hôpital Debrousse, Lyon

Le syndrome MPPH a été décrit dans seulement 5 cas par Mirzaa *et al.* en 2004. Nous rapportons un nouveau cas de ce syndrome polymalformatif, associant une polymicrogyrie avec dilatation ventriculaire, un retard mental, une macrosomie avec macrocéphalie et une polydactylie post-axiale. Il s'agit de la première enfant d'un couple non apparenté, et sans antécédents familiaux notables. À 24 SA, l'échographie obstétricale a mis en évidence une dilatation ventriculaire modérée, une artère ombilicale unique, et un dacryocystocèle. Son poids de naissance à 38 SA était de 3 670 g (+3DS), sa taille à de 53 cm (+2DS) et son périmètre crânien de 37 cm (+ 4DS). L'examen clinique néonatal met en évidence une polydactylie post-axiale de la main droite et des deux pieds, ainsi qu'une hypotonie axiale associée à une hypertonie des 4 membres. La dysmorphie faciale comprend une macrocéphalie, un front bombé, un dacryocystocèle, un télécanthus, une racine du nez plate, un nez bulbeux, une mâchoire large avec une petite bouche et des plis palmaires profonds. Le retard psychomoteur est notable dès l'age de 3 mois. Le caryotype standard est normal (46,XX). À l'âge de 8 mois, la taille est à +1,5 DS, le poids à +3 DS et le périmètre crânien à +4 DS. Il existe un strabisme divergent et le dacryocystocèle à été pris en charge avec succès. Le contact est satisfaisant, il existe un début de préhension au contact. L'enfant tient sa tête, mais la station assise n'est pas acquise du fait d'une attitude en opisthotonos. Il n'y a pas eu de difficultés alimentaires. L'échographie cardiaque ainsi que l'échographie rénale sont normales. L'electroencephalogramme ne montre pas de manifestation épileptique. Les potentiels évoqués auditifs sont perturbés tandis que les potentiels évoqués oculaires sont normaux. L'IRM confirme la présence d'une polymicrogyrie essentiellement frontale, mais débordant en pariétal et temporal supérieur avec anomalie en regard de la substance blanche intéressant les fibres en U et la substance blanche péri ventriculaire (hyper signal en T2 avec nombreuses dilatations des espaces de Wirshow Robin). La ventriculomégalie est bilatérale et symétrique mais exclusivement frontale avec un aspect étiré non pathologique du corps calleux. L'avance d'âge osseux est significative (2 ans 1/2 à 8 mois). Cette enfant présente donc un syndrome polymalformatif très comparable aux 5 cas décrits par Mirzaa *et al.* (*Neuropediatrics* 2004 ; 35 : 353-359), à l'exception de la répartition de la polymicrogyrie qui ne prédomine pas exclusivement en perisylvien. Les anomalies de la substance blanche semblent faire partie des signes radiologiques de ce syndrome dans certains cas. À partir de cette nouvelle observation et celles précédemment décrites, la macrosomie constatée à la naissance et retrouvée dans 5 cas sur 6, semble être un des critères majeurs de ce syndrome. Un dacryocystocèle a été rapporté pour la première fois. Le mode de transmission de ce syndrome reste pour le moment méconnu, en l'absence d'histoire familiale dans l'ensemble des cas décrits.

Mots-clés : polymicrogyrie, polydactylie post-axiale, macrosomie.

■P168 / 80. UN NOUVEAU CAS DE SYNDROME BURN-MCKEOWN, DIAGNOSTIC DIFFÉRENTIEL DU SYNDROME DE TREACHER-COLLINS-FRANCESCHETTI

Florence Petit (1), Odile Boute-Bénéjean (1), Philippe Pellerin (2), Muriel Holder-Espinasse (1), Anne Dieux-Coeslier (1), Sophie Lejeune-Dumoulin (1), Alexandre Moerman (1), Sylvie Manouvrier-Hanu (1)
(1) Service de Génétique Clinique, CHRU de Lille ; (2) Service de Chirurgie plastique et reconstructive, CHRU de Lille

Le syndrome de Burn-McKeown (BMKS) est un syndrome rare dont les 5 premiers cas ont été décrits en 1992 par Burn *et al.* À notre connaissance, seulement 8 cas ont été décrits jusqu'à présent dans la littérature (7 garçons

– dont 3 couples de frères – et 1 fille, porteuse par ailleurs d'un chromosome 18 en anneau).

Ce syndrome associe une atrésie bilatérale des choanes à une dysmorphie caractéristique rappelant celle du syndrome de Treacher-Collins-Franceschetti : hypertélorisme, fentes palpébrales étroites, colobome de la paupière inférieure, racine du nez large et macrotie. Dans certains cas étaient associées d'autres malformations : fente labiale ou palatine, cardiopathie, déficit auditif. Aucun retard mental n'a été décrit jusqu'à présent. Nous rapportons une nouvelle observation d'un garçon de 5 ans présentant une atrésie bilatérale des choanes associée à une fente labiale unilatérale, dont les traits dysmorphiques sont identiques aux patients précédemment décrits.

Le diagnostic de syndrome de Treacher-Collins initialement posé a été écarté par la tomodensitométrie cranio-faciale qui retrouvait une absence d'hypoplasie des arcades zygomatiques, et une orientation normale des fentes palpébrales. De plus le séquençage du gène *TCOF1* n'a pas mis en évidence de mutation. Le mode de transmission du BMKS n'est pas connu, mais pourrait être récessif lié à l'X, en raison du sex-ratio en faveur des garçons. Notre observation chez un nouvel enfant de sexe masculin va dans ce sens.

Mots-clés : atrésie choanes, Burn-McKeown, Treacher-Collins-Franceschetti.

■P169 / 82. LES FORMES INFANTILES PRÉCOCES DE DYSTROPHIE MYOTONIQUE

B. Echenne (1, 2), H. Daudet (1), A. Roubertie (1), S. Blumenfeld (3), A. Hanauer(3), F. Rivier (1)

(1) Service de Neuropédiatrie, CHU de Montpellier (France) ; (2) Service de Neuropédiatrie, CHU de Sherbrooke (Canada) ; (3) Laboratoire de diagnostic Génétique CHU de Strasbourg (France)

Les formes congénitales de dystrophie myotonique se présentent habituellement sous l'aspect d'une atteinte neurologique sévère ou le pronostic vital est en jeu. Dans d'autres cas beaucoup plus rares, la maladie peut se révéler dès la naissance ou les premiers mois de vie par un décalage des acquisitions motrices et d'éveil, sans qu'existe aucun des signes retrouvés dans les formes néo-natales classiques. Chez ces enfants, la maladie se traduit ensuite par une déficience mentale isolée pendant des années. Ce n'est qu'à partir de 5 ans et surtout au dela de 10 ans que les manifestations habituelles de la forme adulte se font jour.

8 cas sont présentés (5 a début néo-natal, 3 avec un début avant un an) chez lesquels un retard de langage et des difficultés d'apprentissage sont venus révéler une déficience mentale isolée (QI compris entre 40 et 68). À partir de l'age de 10 ans, les dysmorphies caractéristiques de la maladie sont devenues nettes puis précocement caricaturales (recul supérieur a 10 ans dans tous les cas).

La transmission a été maternelle dans tous les cas (expansion CTG comprise entre 400 et 3 300). La recherche d'une dystrophie myotonique doit faire partie de l'enquête étiologique de toute déficience mentale du jeune enfant, même lorsqu'elle est en apparence isolée.

Mots-clés : dystrophie myotonique, déficience mentale, conseil génétique.

■P170 / 91. UN CAS MÉROVINGIEN DE DYSPLASIE SPONDYLO-ÉPIPHYSAIRE

P. Charlier (1), S. Demets (1), S. Deleu (1), S. Petit (1), L. Devisme (1), A. Cotten (2), J. Blondiaux (3)

(1) Service d'Anatomie et Cytologie Pathologiques, CHRU de Lille ; (2) Service de Radiologie Ostéo-articulaire, CHRU de Lille ; (3) Centre d'Études paléopathologiques du Nord, Walincourt-Selvigny

La paléopathologie consiste en l'étude médicale des restes humains anciens retrouvés lors de fouilles archéologiques ou bien conservés dans les musées ou les collections particulières. Elle permet d'étudier l'évolution des maladies au cours du temps, des mouvements migratoires des populations et des pratiques médico-chirurgicales. Nous présentons ici le cas d'un individu juvénile retrouvé dans les fouilles archéologiques de Magnicourt (époque mérovingienne), et qui présentait de nombreuses anomalies squelettiques, principalement une sub-luxation congénitale des hanches et un raccourcissement du tronc lié à une importante platyspondylie. Ce sont l'ensemble des signes ostéologiques (macroscopiques et radiologiques) présents chez cet individu qui seront repris dans cette communication, permettant d'établir à terme le diagnostic rétrospectif de dysplasie spondylo-épiphysaire. Plusieurs formes de dysplasie spondylo-épiphysaire existent : forme congénitale avec coxa vara sévère (notre cas), forme congénitale avec coxa vara modérée, forme tardive liée à l'X, forme tardive autosomique récessive ou dominante, forme tardive avec arthropathie progressive.

Des examens complémentaires en biologie moléculaire (extraction et amplification de l'ADN ancien puis recherche d'une anomalie liée à Col2A1) sont actuellement en cours, dans le but d'affiner ce diagnostic et de caractériser l'anomalie génétique en cause. Outre la description d'un cas ancien supplémentaire d'anomalie physique congénitale et la démonstration de l'intérêt de la paléopathologie dans l'histoire de la génétique humaine, c'est l'occasion de rappeler ici l'existence d'individus physiquement différents au sein d'une communauté villageoise mérovingienne et leur intégration complète tant dans le monde des vivants que dans celui des morts.

Mots-clés : paléopathologie, dysplasie, paléogénétique.

■P171 / 95. IDENTIFICATION D'UNE NOUVELLE MUTATION DANS LE GÈNE *MMP2* CHEZ DEUX PATIENTES ATTEINTES DE SYNDROME DE WINCHESTER

C. Rouzier (1), R. Vanatka (2), S. Bannwarth (1), N. Philip (3), A. Coussement (2), V. Paquis-Fluckinger (1, 4), J.C. Lambert (1)

(1) Laboratoire de Génétique Médicale, Hôpital L'Archet 2, CHU Nice, France ; (2) Département de Radiologie, Hôpital L'Archet 2, CHU Nice, France ; (3) Laboratoire de Génétique Médicale, Hôpital La Timone, CHU Marseille, France ; (4) FRE CNRS 2720, Medicine School, Nice, France

La Classification Internationale des Désordres Constitutionnels de l'Os de 2001 distingue 3 syndromes dans le groupe des ostéolyses multicentriques prédominant sur les mains et les pieds : le syndrome Nodulosis Athropathy Osteolysis (NAO), le syndrome de Torg et le syndrome de Winchester. Ces pathologies extrêmement rares se transmettent sur le mode autosomique récessif. Leurs frontières nosologiques sont difficiles à déterminer et ne font pas l'unanimité. Ces affections se distinguent principalement par la sévérité de l'atteinte ostéolytique et la présence de signes associés. Le syndrome NAO est considéré comme un variant du Torg alors que le syndrome de Winchester est caractérisé notamment par l'absence de nodules sous-cutanés. En 2001, le gène impliqué dans le syndrome NAO a été identifié en 16q12-21, il code pour une métalloprotéinase (MMP2) impliquée dans le remodelage de la matrice extra-cellulaire. Plus récemment, une mutation homozygote dans le gène *MMP2* a été également identifiée chez une patiente présentant un tableau de Winchester.

Nous décrivons l'évolution clinique de 2 sœurs, âgées de 24 et 35 ans, présentant un syndrome de Winchester. Le tableau clinique de ces patientes avait déjà été rapporté 16 ans plus tôt. Leur suivi sur une longue période nous a permis de préciser l'évolution générale du syndrome ostéolytique, d'en apprécier la variabilité intrafamiliale et de constater la modification des signes associés avec le temps. Chez ces deux patientes, nous avons également identifié une délétion homozygote dans le gène *MMP2*, située dans le domaine catalytique de la protéine. Nous confirmons ainsi l'implication de MMP2 dans le syndrome de Winchester, ce qui suggère que ces syndromes d'ostéolyses multicentriques prédominant sur les extrémités pourraient être des variants alléliques d'une seule pathologie. Enfin, nous montrons l'intérêt de l'étude moléculaire pour le conseil génétique dans cette famille consanguine.

Mots-clés : Winchester syndrome, ostéolyse multicentrique prédominant sur les extrémités, MMP2.

■P172 / 99. SPECTRE CLINIQUE DU DÉFICIT EN COBALAMINE C DE DÉBUT TARDIF. À PROPOS DE TROIS NOUVEAUX CAS, DU SUIVI DE DEUX CAS DÉJÀ PRÉCÉDEMMENT RAPPORTÉS ET UNE REVUE DE LA LITTÉRATURE

C. Thauvin-Robinet (1), G. Couvreur (2), M.H. Horellou (3), D. Ranoux (4), S. Giraudier (5), D. Perrenou (6), J. Desgres (7), A. Khau Van Kien (8), T. Moreau (2), M. Giroud (2), H. Ogier (9), D. Rosenblatt (10), E. Roze (11), L. Faivre (1)

(1) Centre de Génétique, Hôpital d'Enfants, CHU de Dijon ; (2) Service de Neurologie, Hôpital Général, CHU de Dijon ; (3) Service d'Hématologie Biologique, Hôpital Hôtel-Dieu, Paris ; (4) Service de Neurologie, Centre Hospitalier Sainte-Anne, Paris ; (5) Service d'Hématologie-Biologique, Hôpital Henri-Mondor, Paris ; (6) Centre de Convalescence et de Rééducation, CHU de Dijon ; (7) Laboratoire de Biochimie spécialisée, Hôpital d'Enfants, CHU de Dijon ; (8) Service de Médecine Interne, Hôpital Bocage, CHU de Dijon ; (9) Service de Neuropédiatrie, Maladies Métaboliques, Hôpital Robert-Debré, Paris ; (10) Division of Medical Genetics, MUHC, Montreal General Hospital, Montreal, Canada ; (11) Service de neurologie, Hôpital Saint-Antoine, Paris

Le déficit en Cobalamine C est la maladie la plus fréquente des erreurs du métabolisme de la vitamine B12. Classiquement les signes cliniques apparaissent dans la première année de vie incluant retard de croissance, microcéphalie, anorexie, vomissements, hypotonie, retard psychomoteur, retard

de langage et convulsions. Certains patients présentent une anémie micro- ou macrocytaire, des neutrophiles hypersegmentés, une thrombocytopénie, des manifestations ophtalmologiques et une microangiopathie rénale ou une glomérulopathie. Le bilan métabolique montre l'association d'une hyperhomocystinurie, d'une acidurie méthylmalonique et d'un déficit en méthylcobalamine et adénosylcobalamine sur fibroblastes. Le diagnostic est confirmé par des études de complémentation sur fibroblastes. Les formes de révélation tardive sont rares. Seuls dix cas sont décrits dans la littérature. Nous présentons trois nouveaux cas et le suivi de deux cas déjà publiés par Roze et collaborateurs en 2003. L'âge de début des trois nouveaux cas était compris entre 17 et 25 ans. Les premiers symptômes étaient thromboemboliques et s'associaient à des complications neuropsychiatriques dans 2/3 cas. Les trois patients ont également présenté un épisode de glomérulonéphrite. Le déficit en méthylcobalamine et adénosylcobalamine sur fibroblastes a été mis en évidence chez les trois patients et le test de complémentation réalisé chez un patient a permis de confirmer un déficit en cobalamine C.

L'analyse des cas rapportés et ceux de la littérature permettent de dégager les données suivantes : l'âge de début des symptômes varie de 10 à 44 ans. Les patients présentent des troubles neurologiques (12/13 cas) à type de syndrome pyramidal (8/12 cas), d'encéphalopathie (7/12 cas), de neuropathie (5/12 cas), d'épilepsie (4/12 cas) et d'anomalies de la substance blanche (4/12 cas), des troubles psychiatriques (6/13 cas), une maladie thromboembolique (8/13 cas), une microangiopathie rénale ou une glomérulopathie (5/13 cas), et une pâleur du nerf optique (6/10 cas). Le traitement par hydroxycobalamine a permis une amélioration chez 9/11 patients. Un décès est survenu chez 4/13 patients. Cette étude permet d'insister sur le spectre phénotypique large de cette maladie rare sans doute sous-diagnostiquée et facilement traitable par hydroxycobalamine.

Si les chromatographies des acides aminés plasmatiques font partie du bilan systématique d'encéphalopathie, des troubles psychiatriques et des maladies thromboemboliques chez l'enfant, elles doivent également faire partie du bilan de telles symptomatologies chez l'adulte.

Mots-clés : cobalamine C, thromboses, hyperhomocystinurie.

■P173 / 101. DENTINOGÉNÈSE IMPARFAITE DE TYPE II ET MUTATIONS DU GÈNE *DSPP*

B. Richard (1, 9), A. Bloch-Zupan (2), A. David (3), Y. Gillerot (4), S. Lopez-Cazeaux (5), M. Matthieu (6), M. Till (7), A. Verloes (8), D. Lacombe (9), P. Gorry (9)*

*(1) Faculté d'Odontologie, Bordeaux ; (2) Faculté d'Odontologie, Strasbourg ; (3) Service de Génétique Médicale, CHU de Nantes ; (4) Institut de Pathologie et de Génétique, Loverval, Belgique ; (5) Faculté d'Odontologie, Nantes ; (6) Service de Pédiatrie, CH de Laon ; (7) Service de Génétique Pédiatrique, Hôpital Debrousse, Lyon ; (8) Unité de Génétique Clinique, Hospital Robert-Debré, Paris ; (9) Service de Génétique Médicale, CHU de Bordeaux ; * Correspondance : gorry@bergonie.org*

La dentinogénèse imparfaite est une anomalie de la structure des dents temporaires et définitives, dont la transmission se fait selon un mode autosomique dominant avec une expressivité élevée. Deux formes cliniques principales sont décrites, la dentinogénèse imparfaite de type I associée à une ostéogénèse imparfaite (OMIM 166240) et la dentinogénèse imparfaite de type II ou maladie de Capdepont (OMIM 125490) qui affecte la dentine des dents temporaires et définitives avec une prévalence d'un individu sur 6 000 à 8 000. Dans certains cas, la présence d'une surdité a été rapportée (OMIM 605594). La couleur des dents est particulièrement dysharmonieuse (du bleu-gris au brun ambré avec un aspect opalescent) et d'importants phénomènes d'usure se produisent très rapidement. Cette perte de hauteur dentaire se traduit par une perte de la dimension verticale et un affaissement de l'étage inférieur de la face, posant de ce fait de graves problèmes esthétiques et fonctionnels. La radiographie panoramique montre une anomalie de forme dentaire très caractéristique. Les couronnes apparaissent globuleuses, avec une constriction cervicale très marquée ; les racines sont étroites et de petite taille ; l'oblitération pulpaire et canalaire est fréquemment observée. Des mutations du gène *DSPP* situé en 4q21 sont associées à cette pathologie. Ce gène, constitué de 8345 pb, est organisé en 7 exons ; il encode la sialophosphoprotéine dentinaire (DSPP) qui est clivée en deux protéines non collagéniques majeures, la sialoprotéine dentinaire (DSP) et la phosphoprotéine dentinaire (DPP). Les mutations du gène *DSPP* provoquent une perturbation de la minéralisation de la matrice dentinaire responsable du phénotype dentaire. Le rôle de ce gène dans la dentinogénèse imparfaite a été confirmé par délétion de la région codante chez la souris. De plus, le produit de transcription du gène *DSPP* a pu être mis en évidence au niveau de l'oreille interne de la souris. À ce jour, une dizaine de mutations a été rapportée dans des familles du monde entier présentant une anomalie de structure de la dentine, pour la plupart des mutations ponctuelles dans la première partie du gène *DSPP*, sans que des corrélations entre phénotype et siège ou nature des mutations puissent être définies. Dans le cadre du réseau français d'odontogénétique (GIS Maladies rares, INSERM) nous avons regroupé une quinzaine de familles atteintes, pour lesquelles données cliniques et résultats moléculaires seront présentés. À partir de l'analyse des données de la littérature et de nos observations, ainsi que de la comparaison des séquences de *DSPP* chez les mammifères, d'éventuelles corrélations génotype/phénotype et structure/fonction seront discutées.

Mots-clés : dentinogénèse imparfaite, DSPP.

■P174 / 113. LYMPHANGIECTASIE INTESTINALE CHEZ UNE PATIENTE PORTEUSE D'UN SYNDROME DE NOONAN

A. Khau Van Kien (1), C. Boubakri (1), M. Coupé (1), V. Soulier-Sotto (1), D. Brisot (1), J.P. Laroche (1), I. Quéré (1)

(1) Service de Médecine Interne et Maladies Vasculaires, CHU Montpellier

Introduction : La présence d'un lymphœdème des membres inférieurs est rare (moins de 20 %) dans le syndrome de Noonan ; la pathogénie est mal connue et la fréquence probablement sous-estimée. Il est évoqué une hypoplasie ou dysplasie lymphatique à l'origine du lymphœdème des membres inférieurs, de lymphangiectasie sus et plus rarement sous-diaphragmatique (par stase du flux lymphatique et distension lymphatique) et de certaines caractéristiques phénotypiques (ptérygium colli, épicanthus...).

Méthodes : À propos d'une patiente atteinte d'un syndrome de Noonan, nous décrivons la pathologie lymphatique associée. Une patiente de 38 ans est suivie régulièrement pour un lymphœdème du membre inférieur droit s'inscrivant dans un syndrome dysmorphique évoquant un syndrome de Noonan. L'examen clinique retrouve une petite taille (148 cm). Au niveau du visage, les traits sont grossiers avec des joues rebondies et des pommettes saillantes, des cheveux laineux avec une implantation basse sur la nuque, l'absence de sourcils et de cils, des oreilles rondes et basses implantées, un palais ogival, un excès de peau dans la partie postérieure d'un cou court sans pterygium colli avec une parésie oculomotrice à l'élévation et au regard externe. L'examen orthopédique retrouve un genu varum, un cubitus valgus, une scoliose et une déformation du thorax en bouclier. La peau est mélanique avec des zones d'hypotrichose. Elle se plaint depuis plusieurs années de douleurs abdominales et de diarrhées.

Résultats : La tomodensitométrie abdominale note la présence d'adénomégalies hypodenses, multiples rétro péritonéales et de la racine du mésentère avec œdème et engorgement du mésentère pouvant s'inscrire dans le cadre d'un lymphœdème mésentérique.

Conclusion : Le diagnostic de lymphangiectasie intestinale peut s'effectuer par la lymphoscintigraphie et/ou la lymphangiographie bipédieuse non réalisées en pratique clinique courante. La tomodensitométrie abdomino-pelvienne permet d'évoquer le diagnostic plus simplement. La ligature des vaisseaux lymphatiques incompétents et les anastomoses veino-lymphatiques permettent d'obtenir des résultats cliniques satisfaisants.

La lymphangiectasie intestinale est souvent asymptomatique, mais se manifeste parfois par des douleurs abdominales chroniques ou une entéropathie exsudative. L'amélioration clinique permise par un régime alimentaire conduit à proposer un dépistage systématique en cas d'épanchement pleural, lymphœdème ou hypoprotidémie associée.

Mots-clés : lymphœdème, mésentérique, Noonan.

■P175 / 115. MALADIE DE FABRY ET LYMPHŒDÈME

A. Khau Van Kien (1), O. Lidove (2), S. Vignes (3), P. Kaminsky (4), D. Wahl (4), I. Quéré (1)

(1) Service de Médecine Interne et Maladies vasculaires, CHU Saint-Éloi, Montpellier ; (2) Service de Médecine Interne, CHU Bichat, Paris ; (3) Unité de Lymphologie, CHRU Cognac-Jay, Paris ; (4) Département de Médecine Interne, CHU Brabois, CHU Nancy

Introduction : La maladie de Fabry est une maladie lysosomale dont la transmission est liée au chromosome X (OMIM 301 500). Le déficit enzymatique en alpha galactosidase A aboutit à l'accumulation intracellulaire lysosomale progressive de glycosphingolipides neutres, céramides di- et surtout trihexosides, dont le principal est le globotriaosylcéramide ou céramide trihexoside. Les hommes hémizygotes et certaines femmes hétérozygotes développent une atteinte multisystémique sévère (cardiaque, cérébrale et rénale). Les premières manifestations cliniques apparaissent habituellement dès l'enfance ou à l'adolescence. Les atteintes dermatologiques peuvent être des angiokératomes, des télangiectasies et/ou un lymphœdème des membres inférieurs et plus rarement des membres supérieurs. Les études ont montré que l'enzymothérapie substitutive humaine par agalsidase alpha est efficace et apporte un bénéfice clinique aux patients traités.

La physiopathologie des différentes atteintes est mal connue et plusieurs hypothèses sont avancées celle du lymphœdème.
Méthodes : Dans la base de données européenne FOS (Fabry Outcome Survey) regroupant plus de 700 patients, le lymphœdème est retrouvé avec une fréquence estimée à 22 % chez les hommes et 14 % chez les femmes dans la maladie de Fabry. Il apparaît au cours de la 3e-4e décennie avec une localisation habituelle aux membres inférieurs. L'âge moyen d'apparition est de 39 ans chez l'homme et 49 ans chez la femme. À partir de la littérature, il est rapporté des cas de lymphœdème dans la maladie de Fabry et les différentes hypothèses physiopathologiques évoquées.
Résultats : Le lymphœdème dans la maladie de Fabry est connu depuis la description princeps par W. Anderson en 1898. Dans une étude, les auteurs rapportent 11 cas d'œdèmes chroniques des membres inférieurs chez 21 patients, évoquant une perméabilité anormale des capillaires. Une équipe italienne a rapporté 3 cas de lymphœdème des membres inférieurs chez 3 frères. Cette même équipe a rapporté 2 cas de lymphœdème des membres inférieurs avec visualisation d'une aplasie lymphatique sur la lymphographie. Il a été évoqué la possibilité de gènes de contiguïté concernant le lymphœdème familial et la maladie de Fabry. Une équipe a rapporté à la lymphographie isotopique des dépôts veineux avec notification du mauvais pronostic du lymphœdème. Récemment, une équipe suisse a décrit une microangiopathie lymphatique sévère avec une fragmentation du réseau microlymphatique ainsi qu'une hypertension microlymphatique. L'atteinte est caractérisée par une oblitération du réseau microlymphatique et une modification du calibre des canaux persistants.
Conclusion : La fréquence du lymphœdème dans la maladie de Fabry est connue de façon assez précise. Une étude en cours s'intéresse à la fréquence de la maladie de Fabry au cours du lymphœdème primitif des membres inférieurs et/ou supérieurs.
Cependant, la physiopathologie mérite d'être précisée. L'hypothèse de dépôts de glycosphingolipides dans la microcirculation lymphatique et les autres réseaux vasculaires surtout microangiopathiques doit être confirmée en complétant les explorations par une étude de la microcirculation artérielle.

Mots-clés : lymphœdème, Fabry, glycosphingolipides.

■P176 / 122. NATURE ET FRÉQUENCE DES FORMES SYNDROMIQUES D'AGÉNÉSIE DU CORPS CALLEUX DANS UNE POPULATION DE 25 PATIENTS RÉFÉRÉS DANS DES SERVICES DE GÉNÉTIQUE ET NEUROPÉDIATRIE

S. Whalen (1), M.L. Moutard (2), D. Héron (1)
(1) Département de génétique, Hôpital de la Pitié-Salpêtrière, Paris ; (2) Service de neuropédiatrie, Hôpital Trousseau, Paris

L'agénésie du corps calleux (ACC) est la malformation cérébrale la plus fréquente. Sa fréquence (difficile à déterminer du fait des cas asymptomatiques jamais diagnostiqués) est estimée à 0,05 à 0,7 % dans la population générale, et à 2-3 % dans la population des patients présentant une déficience mentale. L'ACC apparaît isolée dans 50 % des cas, et peut être symptomatique (retard mental, épilepsie). Des transmissions mendéliennes ont été décrites dans certains cas familiaux. Les formes syndromiques d'ACC (c'est-à-dire associées à au moins un autre signe à l'exception du retard mental et de l'épilepsie) sont d'étiologies très variées (chromosomiques, métaboliques, géniques, acquises...).
Afin de préciser la nature et la fréquence respective des syndromes associés à l'ACC, les dossiers médicaux de 25 patients adressés à la consultation de neuropédiatrie ou de génétique et présentant une ACC associée ou isolée ont été revus. Ces patients étaient âgés de 14 mois à 25 ans (13 garçons et 12 filles). Les antécédents familiaux, la grossesse, l'accouchement, la période néonatale, le développement psychomoteur, l'examen clinique en particulier neurologique et les explorations complémentaires réalisées ont été analysés.
Les résultats montrent la grande variété des anomalies associées : malformations diverses mineures (dysmorphie, extrêmités) ou majeures (viscérales), anomalies ophtalmologiques, signes cutanés ou neurologiques, troubles de la croissance (excessive, retardée), micro ou macrocéphalie... Dans 5 cas sur 25 (20 %), un diagnostic chromosomique ou génique a été posé, et dans 6 cas (24 %) un diagnostic syndromique a été proposé. Dans plus d'un cas sur deux, le diagnostic étiologique n'a pas été fait, mais l'expertise clinique et paraclinique a été très variable d'un patient à l'autre.
Ces résultats soulignent l'importance d'une prise en charge diagnostique systématique et précoce des patients présentant une ACC comportant (1) un examen clinique rigoureux par un neuropédiatre et un généticien, (2) des examens morphologiques à visée malformative, (3) des examens cytogénétiques (caryotype HR, FISH si nécessaire), (4) des examens orientés par la clinique ou l'histoire familiale (géniques, métaboliques, électrophysiologiques...). Un diagnostic étiologique précis est indispensable pour un conseil génétique fiable, et permet souvent une amélioration de la prise en charge et du pronostic. Une étude prospective multicentrique sur une plus grande série est débutée.

Mots-clés : agénésie du corps calleux, diagnostic étiologique, étude rétrospective.

■P177 / 123. LA DYSPLASIE ISCHIO-PATELLAIRE (OU SYNDROME DE LA PETITE ROTULE) EST LIÉE À DES MUTATIONS DU GÈNE TBX4 : CONFIRMATION DANS UNE GRANDE FAMILLE ET DESCRIPTION CLINIQUE

S. Manouvrier-Hanu (1), F. Escande (2), A. Dieux-Coeslier (1), E. Mayrargue (3), A. Mezel (3), O. Boute-Bénéjean (1), B. Herbaux (3), M. Holder-Espinasse (1)
(1) Service de Génétique Clinique CHRU de Lille ; (2) Laboratoire de Biochimie et biologie moléculaire, CHRU de Lille ; (3) Service de chirurgie et orthopédie de l'enfant, CHRU de Lille

La dysplasie ischio-patellaire, encore appelée syndrome de la petite rotule (OMIM 147891), est une rare affection osseuse autosomique dominante atteignant le bassin et les membres inférieurs, parfois associée à un discret rétrognatisme et une fente palatine ou un palais ogival. Elle a été récemment rattachée à des mutations du gène *TBX4* dans 5 familles et un cas isolé. Nous rapportons une grande famille touchée par cette affection dans laquelle nous avons pu mettre en évidence une mutation « frameshift » de *TBX4*.
Les données cliniques, radiographiques et évolutives de l'affection permettent d'en préciser les signes : absence d'ossification de la jonction ischiopubienne dans l'enfance, puis aspect très dysplasique de cette jonction chez l'adulte ; encoches infra-acétabulaires ; col fémoral allongé et aspect anormal du grand trochanter ; absence ou hypoplasie rotulienne responsable d'une instabilité des genoux ; augmentation de l'écart entre les 1er et 2nds orteils et hypoplasie des 4e et 5e rayons. On note également dans cette famille chez les sujets atteints des signes non décrits antérieurement : anomalies dentaires (nombreuses caries), et retard pubertaire chez les femmes atteintes.
Le gène *TBX4*, qui fait partie de la famille des gènes T-box, code pour un facteur de transcription impliqué dans le développement des membres inférieurs (il n'est pas exprimé au niveau des membres supérieurs). Il a été longtemps considéré comme le facteur présidant à l'identité des membres inférieurs, tout comme TBX5 pour les membres supérieurs. Les études récentes montrent que s'il y participe, il n'en est pas le principal responsable. Son expression a également été décrite au cours du développement embryonnaire au niveau du poumon et de l'intestin, mais n'a pas été étudiée au niveau dentaire. Cette observation est l'occasion de faire le point clinique sur une affection rare et de rappeler les mécanismes qui président à l'identité des membres.

Mots-clés : dysplasie ischio-patellaire, TBX4, identité des membres.

■P178 / 132. OSTEODYSPLASIE FRONTO-OTO-PALATO-DIGITALE CHEZ UN FŒTUS DE SEXE FÉMININ SANS MUTATION DU GÈNE FLNA : UNE NOUVELLE ENTITÉ CLINIQUE ET RADIOLOGIQUE ?

M. Colombani (1), N. Laurent (2), A.L. Delezoide (3), M. Le Merrer (4), C. Thauvin (1), F. Huet (5), P. Sagot (6), T. Rousseau (6), L. Faivre (1)
(1) Département de génétique, hôpital d'Enfants, CHU de Dijon ; (2) Service d'anatomie et de cytologie pathologiques, CHU de Dijon ; (3) Service d'anatomie et de cytologie pathologiques, CHU de Dijon ; (4) Département de génétique médicale, hôpital Necker-enfants malades, CHU de Paris ; (5) Département de Pédiatrie, hôpital d'enfants CHU de Dijon ; (6) Service de gynécologie et obstétrique, hôpital du Bocage, CHU de Dijon

Nous rapportons un fœtus de 19 SA présentant l'association d'une micromélie majeure avec incurvation des membres, polydactylie, fente palatine et déminéralisation osseuse. Il s'agit d'une première grossesse d'une mère d'origine Française âgée de 38 ans au moment du diagnostic, et d'un père âgé de 28 ans originaire de l'île de la réunion. La mère a trois enfants en bonne santé de deux autres unions différentes. Une nuque épaisse avait été découverte à 12 SA, puis une micromélie sévère avec un retard de croissance intra-utérin à 17 SA, conduisant à une interruption médicale de la grossesse. Le caryotype fœtal réalisé sur liquide amniotique était normal. L'examen fœtopathologique montre un fœtus de 187 g (-1DS), mesurant 17 cm (-2DS). La dysmorphie faciale associe une nuque épaisse, une large fontanelle antérieure, un profil plat, un haut front avec un hypertélorisme, des fentes antimongoloïdes, un nez hypoplasique sans ensellure nasale, une atrésie des choanes, une petite bouche, une microrétrognathie, une microglossie, une glossoptose avec une fente palatine postérieure des oreilles

fines, basses implantées, orientées en arrière. Les organes génitaux externes et internes sont normaux et de type féminins. Au niveau des 4 membres, il existe une micromélie sévère et symétrique à prédominance mésomélique, une hypoplasie radio-cubitale et tibio-péronière une main bote radiale bilatérale, des doigts longs avec camptodactylie et un dédoublement du gros orteil avec polydactylie pré-axiale des pieds. L'examen du système nerveux montre une agénésie du corps calleux et un aspect distendu des ventricules latéraux. Les radiographies du squelette montrent une hypominéralisation osseuse majeure, une hypoplasie des os du crane, une incurvation des fémurs et des humérus, des mains et pieds bots avec hypoplasie des métatarsiens et des métacarpiens. L'examen histologique de l'os montre des anomalies de la plaque de croissance et un discret amincissement des travées primaires. L'os cortical, présent seulement dans la partie médiane de la diaphyse est irrégulier, avec une épaisseur quasi normale, une hypercellularité de la matrice osseuse et un cartilage épiphysaire normal. Cet aspect clinique, histologique et radiologique peut faire évoquer un syndrome oto-palato-digital (OPD) de type 2 de transmission liée à l'X dans sa forme létale. Cependant, le sexe féminin du fœtus va contre cette hypothèse, d'autant plus que la recherche d'un biais d'inactivation du chromosome X sur lymphocytes s'est révélée négative et que le séquençage du gène *FLNA* n'a pas mis en évidence de mutation.
En conclusion, une nouvelle ostéochondrodysplasie létale avec micromélie à prédominance mésomélique, incurvation des os de la jambe, polydactylie et fente palatine, différente de l'OPD de type 2 est probable chez ce fœtus de sexe féminin.

Mots-clés : osteochondrodysplasie létale, micromélie, oto-palato-digital.

■P179 / 139. CARACTÉRISATION DE L'ACTIVITÉ ENZYMATIQUE DE LA DÉOXYGUANOSINE KINASE DANS LE SYNDROME DE DÉPLÉTION DE L'ADN MITOCHONDRIAL

B. Mousson de Camaret (1), S. Padet (1), M. Chassagne (1), G. Mandon (2), M.-T. Zabot (2), P. Clerc-Renaud (1), M. Till (3), N. Guffon (4), A. Lachaux (4), D. Bozon (5)
(1) Laboratoire de Biochimie Pédiatrique, Hôpital Debrousse, Lyon ; (2) Centre de Biotechnologie Cellulaire, Hôpital Debrousse, Lyon ; (3) Unité de Génétique Médicale, Hôpital Debrousse, Lyon ; (4) Département de Pédiatrie et Centre de Référence des Maladies Métaboliques, Hôpital Édouard-Herriot, Lyon ; (5) Laboratoire de Physiologie Lyon Nord, Inserm EMI 0226, Lyon

Chez les mammifères, la déoxyguanosine kinase (DGUOK ; EC 2.7.1.113) est l'une des quatre déoxyribonucléosides kinases intervenant dans l'étape initiale limitante de la voie de récupération, mitochondriale ou cytosolique, des déoxyribonucléosides puriques et pyrimidiques. Ces kinases catalysent la phosphorylation des déoxynucléosides en présence d'ATP, donneur de phosphate. Les déoxynucléosides monophosphates sont ensuite phosphorylés en déoxynucléotides di- et tri-phosphates, précurseurs de l'ADN. Dans la mitochondrie, la DGUOK est hautement spécifique de la phosphorylation des déoxyribonucléosides puriques. Il a été décrit, chez l'homme, des mutations du gène DGUOK, responsables d'un dysfonctionnement du métabolisme mitochondrial (mt) des déoxynucléosides et secondairement d'un défaut de réplication et d'une réduction du nombre de copies de l'ADNmt [1]. Cette anomalie quantitative est à l'origine d'un syndrome de déplétion de l'ADNmt, maladie rare de transmission autosomique récessive et généralement létale avant l'âge d'un an. Nous avons identifié deux nouvelles mutations faux-sens dans le gène DGUOK chez un enfant ayant présenté une réversion inattendue d'une forme hépatique de déplétion de l'ADNmt [2]. L'impact de ces mutations sur la fonctionnalité de l'enzyme DGUOK a été évalué par un protocole optimisé de mesure de l'activité enzymatique et des constantes cinétiques, dans des mitochondries préparées à partir de fibroblastes cutanés cultivés. Nous démontrons que la réversion du phénotype clinique du patient est due à une activité enzymatique résiduelle qu'il a été possible de caractériser sur le plan cinétique. Parallèlement, un déficit sévère de l'activité DGUOK a été mis en évidence dans les fibroblastes de deux autres enfants décédés, pour lesquels le séquençage du gène DGUOK a permis d'identifier pour l'un, deux mutations d'épissage et pour l'autre, une insertion conduisant à un codon stop à l'état homozygote. Il s'agit de la première description d'un protocole de mesure de l'activité DGUOK dans les mitochondries de fibroblastes, nécessaire à l'établissement d'une corrélation entre les différents types de mutations du gène DGUOK et l'évolution clinique du syndrome de déplétion de l'ADNmt.

Mots-clés : ADN mitochondrial, déplétion, déoxyguanosine kinase.

Références

1. Mandel H, Szargel R, Labay V *et al. Nat Genet* 2001 ; 29 : 337-341.
2. Ducluzeau P-H, Lachaux A, Bouvier R, Duborjal H, Stepien G, Bozon D, Mousson de Camaret B. *J Hepatol* 2002 ; 36 : 698-703.

■P180 / 158. UNE MUTATION (V71M) DANS LE GÈNE AQUAPORINE-2 EST RESPONSABLE DU DIABÈTE INSIPIDE NÉPHROGÉNIQUE CONGÉNITAL DANS UNE FAMILLE CONSANGUINE D'ORIGINE LIBYENNE

Noura Bougacha-Elleuch (1), Mohamed Ben Lassoued (2) et Hammadi Ayadi (1)
(1) Unité de Cibles de Diagnostic et de Thérapeutique en Pathologies Humaines, Centre de Biotechnologie de Sfax, Tunisie ; (2) Cabinet d'Endocrinologie, Sfax, Tunisie

Le diabète insipide néphrogénique congénital (DINC) est une maladie rare caractérisée par une diminution de la capacité de concentration urinaire résultant d'une résistance rénale à l'action de l'hormone antidiurétique (ADH). Le mode de transmission lié au chromosome X constitue la grande majorité (plus de 90 %) des cas de DINC. Les formes autosomiques récessive et dominante sont les plus rares (10 %). Le gène responsable de la forme récessive est le gène codant pour l'aquaporine-2 *(AQP2)* localisé sur le chromosome 12q13. Ce gène contient 4 exons et code une protéine de 271 acides aminés avec 6 domaines transmembranaires. Une trentaine de mutations ont été déjà décrites dans ce gène. Dans la présente étude, nous rapportons le cas d'une famille consanguine d'origine libyenne constituée de 5 membres dont 2 enfants (une fille de 13 ans et un garçon de 11 ans) sont atteints. Les deux parents, ainsi que leur fille âgée de 7 ans sont sains. Les deux enfants malades présentent depuis la naissance un syndrome polyuro-plydipsique. Les explorations cliniques, biologiques et hormonales sont en faveur d'un DINC. L'étude généalogique de cette famille a suggéré le mode de transmission autosomique récessif. L'analyse moléculaire du gène *AQP2* (par séquençage automatique) a montré que les 2 enfants atteints sont homozygotes pour une mutation faux sens au niveau de l'exon 1 du gène. Il s'agit d'une transition G/A (V71M). Les 2 parents ainsi que leur fille normale sont hétérozygotes G/A pour la mutation, ce qui confirme la pathogénicité et la récessivité de la mutation décrite.

Mots-clés : diabète insipide néphrogénique congénital, aquaporine-2, mutation récessive.

■P181 / 160. ÉTUDE LONGITUDINALE DU PROFIL IMMUNITAIRE HUMORAL ET CELLULAIRE CHEZ 52 PATIENTS PORTEURS D'UNE DÉLÉTION 22q11.2

C. Bonnet (1), P. Bordigoni (2), V. Latger-Cannard (3), T. Lecompte (3), F. Namour (4), D. Bensoussan (5), G. Bosser (6), P. Jonveaux (7), J. Vigneron (8), J.-L. Cloez (9), B. Leheup (1)
(1) Médecine Infantile III et Génétique ; (2) Service d'Hématologie Pédiatrique ; (3) Service d'Hématologie Biologique ; (4) Laboratoire de Biochimie ; (5) Unité de Thérapie Cellulaire et Tissulaire ; (6) Service de Cardiologie Pédiatrique ; (7) Laboratoire de Génétique, CHU de Nancy ; (8) Secteur de Génétique Maternité Régionale de Nancy ; (9) Clinique Metz

Objectifs : Caractériser le profil immunitaire humoral et cellulaire chez les patients porteurs d'une délétion 22q11.2, préciser son évolution dans le temps, étudier plus particulièrement la réponse aux antigènes polysaccharidiques.
Méthodes : 52 patients avec délétion 22q11.2 ont été étudiés, pour la plupart à plusieurs reprises, l'âge moyen des valeurs étant de 5,67 ans (0-31 ans). 62 % des patients sont de sexe féminin et 38 % de sexe masculin. Les données cliniques et les résultats des explorations biologiques immunologiques systématiques ont été étudiés rétrospectivement. Les données biologiques (numération plaquettaire, sous-populations lymphocytaires, réponse aux mitogènes, immunoglobulines, réponse vaccinale), mesurées à plusieurs reprises pour chaque patient, ont été regroupées par tranches d'âge et comparées aux valeurs de référence dans la population normale afin de pouvoir évaluer le profil immunitaire et son évolution avec l'âge.
Résultats : 19 patients (36,5 %) ont eu au moins un compte plaquettaire inférieur à 150 G/L. La thrombocytémie est la plus basse dans la tranche d'âge 10-15 ans avec une moyenne sous la valeur-seuil à 141 G/L. 36 patients (69 %) ont au moins une mesure du Volume Plaquettaire Moyen supérieure à 10 fl. Le VPM est également maximum dans la tranche d'âge 10-15 ans avec une moyenne à 11,12 fl. 22 patients (42 %) souffrent d'infection à répétition (> 6/an) principalement ORL et pulmonaires. Les populations lymphocytaires T sont en moyenne diminuées par rapport à la population normale, de façon plus importante pour les LT CD3+ et CD4+ (respectivement 65,8 % et 60,2 % des valeurs inférieures à la normale) que pour les lymphocytes T CD8+ (47,4 % des valeurs inférieures à la normale). Les CD4 naïfs (CD4+ CD45RA+) sont également diminués, 59,7 % des valeurs étant inférieures à la valeur-seuil. Les lymphocytes B (CD19+) et NK (CD16/56+ CD3-) sont plus élevés que dans la population normale.

Les tests de transformation lymphoblastiques montrent : une réponse au PHA diminuée avec 21 patients (40 %) ayant au moins une valeur sous la normale, une réponse au PMA+Iono également diminuée avec 13 patients (25 %) sous la normale et surtout une réponse au tétanos basse chez 34 patients (65 %). La valeur moyenne de la réponse est inférieure à la normale pour les tranches d'âge : 6-12 mois, 1-2 ans, 2-5 ans, 5-10 ans et > 15 ans. Concernant l'immunité humorale, la moyenne du taux des IgG par classe d'âge reste dans les valeurs normales avec toutefois 30,5 % des valeurs inférieures à la normale. Les tranches d'âge 1-2 ans et 2-5 ans sont les plus touchées avec respectivement 52,4 et 50,9 % des valeurs inférieures à la normale. Les sous-classes IgG2 et IgG3 ne sont pas diminuées (1 patient a un taux < 0,15 g/L pour les IgG2 et 3 patients pour les IgG3). Le taux des IgA est normal dans 91,8 % des mesures. Les IgM sont élevées dans la tranche d'âge 2-5 ans. 7 patients (13 %) ont un taux d'IgE supérieur à la normale. L'étude de la réponse vaccinale montre une réponse faible ou absente au pneumocoque chez 13 patients (25 %), une réponse faible ou absente à l'Haemophilus Influenzae b chez 4 patients (8 %). Les réponses aux antigènes protéiques sont faibles pour le tétanos chez 4 patients (7,5 %), pour la diphtérie chez 16 patients (30,7 %), pour le poliovirus chez 22 patients (42,3 %).

Conclusion : Dans cette série de 52 patients porteurs d'une délétion 22q11, nous avons mis en évidence une atteinte quantitative de l'immunité cellulaire avec essentiellement une diminution de la lignée T. L'atteinte est aussi qualitative, comme le montrent les tests de transformation lymphoblastique. Au niveau de l'immunité humorale, même si les moyennes des taux d'immunoglobulines restent dans les limites de la normale, il existe indiscutablement une diminution de la réponse aux vaccins protéiques et polysaccharidiques.

Mots-clés : microdelétion 22q11, syndrome vélo-cardio-facial, immunité.

■P182 / 163. ÉTUDE GÉNÉTIQUE DE FAMILLES TUNISIENNES ATTEINTES DE MICROPHTALMIE POSTÉRIEURE : EXCLUSION DES GÈNES CHX10, OPA1, MITF ET DES LOCI 14q32, NNO1 ET NNO2

Hmani-Aifa mounira (1), Walid Bouassida (2), Mouna Yousfi (1), Zeineb ben Zina (2), Faïza fakhfakh (1), Hammadi Ayadi (1)

(1) Laboratoire de Génétique Moléculaire Humaine, Faculté de Médecine de Sfax, Tunisie ; (2) Service d'Ophtalmologie, CHU Habib Bourguiba, Sfax, Tunisie

La microphthalmie congénitale est une malformation oculaire rare qui se manifeste par une diminution du volume du globe oculaire par rapport à la normale. Elle présente une grande hétérogénéité phénotypique allant des malformations minimes à la quasi-anophtalmie. Les formes de microphthalmie isolées ou pures, non associées à d'autres malformations systémiques représentent uniquement 20 % des CMIC. La microphtalmie postérieure est une forme rare de micophtalmie pure caractérisée par une atteinte disproportionnelle du segment postérieur de l'œil avec un segment antérieur normal. La majorité de ces formes isolées sont sporadiques. Cependant, certaines formes familiales à transmission mendélienne ont été rapportées. La microphthalmie congénitale est caractérisée par une hétérogénéité génétique avec au moins une dizaine de gènes responsables rapportés. Dans le but d'identifier les gènes responsables de microphtalmie en Tunisie, nous avons étudié quatre grandes familles consanguines atteintes de microphtalmie postérieure bilatérale autosomique récessive. L'exploration clinique a montré, chez les patients, un globe oculaire de taille réduite avec une hypermétropie forte et une acuité visuelle basse. Le segment antérieur était d'aspect normal. L'examen général a montré l'absence de tout autre anomalie oculaire et systémique. En supposant l'existence dans ces familles d'effet fondateur, nous avons employé l'approche d'homozygotie par descendance en utilisant des marqueurs polymorphes correspondant au gène *CHX10* et au locus 14q32 responsables des microphthalmies autosomiques récessives, aux deux localisations NNO1 et NNO2 responsables de microphthalmies autosomiques dominantes et à deux autres gènes candidats (OPA1 et MITF).

L'analyse génétique a permis d'exclure l'implication de ces gènes testés dans la microphtalmie postérieure chez nos familles. Ces résultats confirment bien l'hétérogénéité génétique de cette maladie et l'existence d'autres gènes non encore connus. Ce présent travail constitue, en fait, la première étape de l'identification de ces gènes et de l'évaluation de leur contribution dans les malformations oculaires.

Ceci apporterait des éléments de réponse à ces familles et pourrait orienter le conseil génétique en particulier après dépistage des porteurs sains qui sont hétérozygotes pour une mutation donnée.

Mots-clés : microphtalmie postérieure, gènes candidats, CHX10.

■P183 / 173. DESCRIPTION CLINIQUE ET ANATOMOPATHOLOGIQUE DE FAMILLES PRÉSENTANT UNE DÉMENCE FRONTO-TEMPORALE DUE À DES MUTATIONS DU GÈNE *VCP*

L. Guyant-Maréchal (1, 2, 3), A. Laquerrière (4), C. Duyckaerts (5), C. Dumanchin (1), J. Bou (1), F. Dugny (1), I. Le Ber (1), T. Frébourg (1, 2), D. Hannequin (1, 2, 3), D. Campion (1)

(1) Inserm U614, Faculté de Médecine de Rouen ; (2) Service de Génétique, CHU de Rouen ; (3) Département de Neurologie, CHU de Rouen ; (4) Laboratoire d'Anatomopathologie et de Cytologie Pathologiques, CHU de Rouen ; (5) Laboratoire de Neuropathologie, Hôpital de la Salpêtrière, Paris

La maladie de Paget avec myopathie à inclusions et démence fronto-temporale (IBMPFD) est une maladie de système rare à transmission autosomique dominante dans laquelle des mutations faux-sens du gène *VCP* ont récemment été identifiées (Watts *et al.*, 2004). La protéine VCP/P97 est une protéine intracellulaire abondante appartenant à la famille des AAA-ATPases, dont les fonctions sont multiples. Cette protéine exerce un rôle clé dans la dégradation de protéines par la voie ubiquitine-protéasome et dans la rétro-translocation de protéines du réticulum endoplasmique vers le cytoplasme par le système ERAD. Nous avons identifié deux mutations du gène *VCP*, p. R93C et p. R155C, dans deux familles françaises dans lesquelles la démence fronto-temporale était au premier plan. La famille F1 comprenait six individus atteints et la famille F2 huit. La démence était présente chez tous les porteurs de la mutation dans la famille F1 et chez 90 % des porteurs dans la famille F2, alors que la prévalence de la démence avait été initialement estimée, dans les publications précédentes à 30 %. La démence était le symptôme initial dans 50 et 22 % des cas et l'âge moyen de début était de 58 ± 7 et 68 ± 10 ans, respectivement. La myopathie fut retrouvée respectivement dans 50 % et 66 %. La maladie de Paget était présente chez 50 % des porteurs dans la famille F1, mais, fait remarquable, aucun individu de la famille F2 n'avait de signe clinique de cette maladie. L'étude neuropathologique de trois cerveaux a mis en évidence des amas diffus de protéines intracellulaires ubiquitinées sans formation d'aggrésome et la présence de vacuoles périnucléaires dans les neurones. Ces lésions sont semblables à celles qui sont constatées dans les modèles cellulaires après inactivation du gène *VCP*. Cette étude montre que l'expressivité des mutations de *VCP* est extrêmement variable et que cette variabilité concerne l'âge de début, la sévérité et la répartition des trois signes cardinaux, démence fronto-temporale, maladie de Paget et myopathie à inclusions. En particulier nos observations montrent que la démence peut-être au premier plan. D'autre part, nos observations anatomo-pathologiques confirment que l'IBMPFD due aux mutations du gène *VCP* résulte d'une inactivation de la voie de dégradation ubiquitine-protéasome.

Mots-clés : démence, VCP, variabilité.

■P184 / 177. PERFORMANCE DE LA PRESCRIPTION DES TESTS GÉNÉTIQUES POUR L'IDENTIFICATION D'UNE THROMBOPHILIE HÉRÉDITAIRE

K. Peoc'h (1,2), S. Thomas (1), D. Paulin (1), E. Mazoyer (1), I. Lemaire (3), C. Bal (4), E. Vicaut (5), F. Cornélis (6), L. Drouet (1, 4)

(1) Service d'Hématologie ; (2) Service de Biochimie et Biologie Moléculaire ; (3) Service de Biologie du Centre Hospitalier Sud Francilien ; (4) Laboratoire thrombose et athérosclérose de l'IVS ; (5) Unité de Recherche Clinique ; (6) Unité de Génétique Clinique

Les thrombophilies héréditaires sont causées par des mutations ou polymorphismes des gènes des facteurs de l'hémostase, de la coagulation et de la fibrinolyse, ainsi que des gènes de facteurs intervenant sur les fonctions endothéliales vasculaires. Parmi les facteurs génétiques clairement identifiés, deux sont bien établis : les polymorphismes du Facteur V (FVLeiden, cG1691A) et de la Prothrombine (FII, cG20210A) augmentent le risque de thrombose veineuse à l'état hétérozygote (RR : 3 à 7) ou homozygote (RR : 10 à 30). Le polymorphisme du gène Methylène Tetra Hydro Folate Reductase (*MTHFR*, cC677T) à l'état homozygote, via l'hyperhomocystéinémie qu'il entraîne en cas de carence en folates, facteur de risque métabolique et artériel reconnu, est quant à lui moins bien établi comme facteur de risque veineux, bien que de pratique courante.

Notre objectif était de mesurer la performance de ces tests génétiques réalisés en routine au laboratoire d'Hématologie pour l'identification d'une thrombophilie héréditaire à l'hôpital Lariboisière. Nous avons analysé rétrospectivement les tests réalisés dans notre hôpital (Hôpital Lariboisière, APHP, Paris) entre le 01/01/2004 et le 28/02/2005. 567 analyses du FV, 518 analyses du FII et 399 analyses MTHFR ont été réalisées pendant ces 14 mois. Les principaux services et centres prescripteurs sont par ordre décroissant les consultations d'Angio-Hématologie (IVS), le Centre Hospitalier Sud Francilien (Corbeil-Essone, qui adresse ses prélèvements à

Lariboisière) et le service de Neurologie. La fréquence des porteurs de facteurs génétiques est de 11,3 % pour le FV, 6,7 % pour le FII et 12,0 % pour la MTHFR. Comparés à la population générale (étude nationale INSERM FITE-NAT réalisée par le laboratoire d'Hématologie et l'U525 portant sur 6064 personnes), la fréquence est plus élevée pour le FV (RR = 3,2, IC :2,4-4,3, P < 10-15) et pour le FII (RR = 2,3, IC :1,6-3,4, P < 10-5). Par contraste, la fréquence pour la MTHFR est du même ordre que celle qui est rapportée dans la littérature pour la population générale (10 à 15 %).
Cette fréquence observée accrue pour les FV et FII reflète les indications retenues par les prescripteurs de ces tests relativement coûteux (elle est en accord avec ce qui est attendu de la littérature compte tenu du type de population de patients étudiés). L'absence de différence pour la MTHFR conforte sa faible valeur comme facteur de risque thromboembolique veineux et justifie une étude complémentaire, qui pourrait conduire à des recommandations d'indications cliniques mieux ciblées et plus économes. Enfin, pour évaluer le rapport coûts/bénéfices du dépistage génétique systématique des apparentés au premier degré en cas d'identification d'une thrombophilie héréditaire.

Mots-clés : thrombophilie, MTFHR, coagulation.

■P185 / 182. RETARD MENTAL SYNDROMIQUE ET TUBULOPATHIE DE DENT CHEZ UN PATIENT PRÉSENTANT UNE MICRODÉLÉTION EN Xp11.2

V. Drouin-Garraud (1), F. Broux (2), P. Saugier-Veber (1), G. Joly-Hélas (3), E. Bessenay (1), T. Frébourg (1)
(1) Service de Génétique, CHU de Rouen ; (2) Service de Néphrologie Pédiatrique, CHU de Rouen ; (3) Laboratoire de Cytogénétique, CHU de Rouen

La maladie de Dent est une tubulopathie proximale liée à l'X, caractérisée par l'association d'une protéinurie de faible poids moléculaire, d'une hypercalcémie avec néphrocalcinose et lithiases et d'une insuffisance rénale. Cette affection résulte de mutations du gène *CLCN5* codant pour un canal chlore voltage-dépendant (Fisher *et al.*, 1995) ou du gène *OCRL1* (Hoopes *et al.*, 2005), également impliqué dans le syndrome de Lowe, prouvant l'hétérogénéité génétique déjà suspectée de la tubulopathie de Dent. Nous rapportons l'observation d'un enfant présentant un retard mental, un retard de croissance et une tubulopathie de Dent en rapport avec une délétion emportant le gène *CLCN5*. F est le 3e enfant d'un couple non apparenté, né au terme d'une grossesse sans problème avec des mensurations normales. À la naissance, l'examen retrouve une dysmorphie faciale, un palais ogival, un micropénis, une communication interventriculaire et un rein pelvien gauche. Le diagnostic de maladie de Dent est porté à l'âge de 7 ans devant une tubulopathie avec hypercalciurie et néphrocalcinose.
Il est vu en consultation de génétique à 13 ans. Il présente un retard psychomoteur (la marche a été acquise à 5 ans et il n'a pas de langage), une dysmorphie faciale, un retard statural important (1,15 m, soit – 6 déviations standard). Le caryotype lymphocytaire, en bandes R (résolution de 550 bandes), est normal. Sa mère présente également une dysmorphie faciale ainsi qu'une de ses deux sœurs. L'association de signes cliniques extra-rénaux à la tubulopathie de Dent fait évoquer l'hypothèse d'une microdélétion en Xp11.2 emportant le gène *CLCN5*. La caractérisation par QMPSF (Quantitative Multiplex PCR of Short Fluorescent Fragments) d'une délétion de 3,5 Mb emportant le gène *CLCN5* chez le cas index, sa mère et ses deux sœurs, confirme cette hypothèse. Il s'agit, à notre connaissance, de la première observation de microdélétion Xp11.2 responsable d'un retard mental syndromique associé à une maladie de Dent. La cartographie fine de cette microdélétion facilitera le clonage positionnel d'un gène de retard mental syndromique dans cette région génomique. Le phénotype clinique est très particulier et probablement reconnaissable, même en l'absence de maladie de Dent associée.

Mots-clés : retard mental, maladie de Dent, QMPSF.

■P186 / 184. SPECTRE DES CARDIOPATHIES ASSOCIÉES À UNE MUTATION DU GÈNE PTPN11 CHEZ LES PATIENTS PORTEURS D'UN SYNDROME DE NOONAN (SN)

Y. Sznajer (1, 2), B. Keren (2,3), C. Baumann (2), C Alberti (3), J. Élion (4), H. Cavé (4) et A. Verloes (2, 5) et le Groupe collaboratif français sur le syndrome de Noonan
(1) Département de Génétique Clinique, Hôpital Universitaire des Enfants Reine Fabiola, Université Libre de Bruxelles, Bruxelles, Belgique ; (2) Département de Génétique Clinique, unité de Génétique Clinique, Hôpital Robert-Debré, Paris, France ; (3) INSERM Unité d'Épidémiologie, Hôpital Robert-Debré, Paris, France ; (4) Département de Génétique Clinique, Unité de Génétique Moléculaire et de Biochimie, Hôpital Robert-Debré, Paris, France ; (5) INSERM U676, Hôpital Robert-Debré, Paris, France

Le syndrome de Noonan (SN), décrit en 1963, est la forme la plus commune de cardiopathie syndromique monogénique. Le SN est génétiquement hétérogène. Localisé en 12q24, le gène PTPN11, qui code pour la protéine SHP2, est impliqué dans 40 % des SN (SN type 1). Les fonctions précises du gène *PTPN11* sont mal connues : l'homologue murin de *PTPN11*, Shp2, potentialiserait la voie de signalisation des MAP kinases. Shp2 est notamment impliqué dans le développement des valves semi-lunaires. Le spectre des cardiopathies du SN a été largement décrit avant l'ère moléculaire : sténose valvulaire pulmonaire (SVP), communication inter-auriculaire (CIA), communication inter-ventriculaire (CIV), anomalie d'Ebstein, coarctation de l'aorte (CoA) et cardiomyopathie hypertrophique (CMH) sont les anomalies communément rencontrées. Les premières séries publiées font apparaître des différences dans la répartition des cardiopathies, entre le groupe (homogène) des SN de type 1 et le groupe (génétiquement hétérogène) des patients sans mutation de *PTPN11*. Nous avons étudié le spectre des anomalies cardiaques chez les patients avec SN de type 1afin de préciser le spectre des cardiopathies spécifiquement associé à la mutation de ce gène. Matériel et Méthodes Les patients avec SN et syndrome LÉOPARD ont été enrôlés par un réseau de généticiens de France, Suisse et Belgique. Les analyses échographiques trans-thoraciques 2D, et/ou de cathétérisme et/ou de chirurgie cardiaques ont été rassemblées. Les données ECG n'ont pas été prises en compte dans cette étude. Le séquençage en double sens des exons 2,3,4,7,8,12,13 et des limites intron-exon a été réalisé. Résultats 291 patients ont été enrôlés dans cette étude : 272 patients avec SN (149 garçons et 123 filles) ; et 19 patients avec syndrome LÉOPARD (rapportés séparément.) L'âge moyen de la cohorte est de 7 ans. Une mutation du gène *PTPN11* a été identifiée chez 104 patients (38,25 %). La substitution nucléotidique A922G (exon 8) représente la mutation prévalente (18,25 %). La SVP (58,65 %) et la CIA (18 %) représentent les deux cardiopathies significativement associées à la présence d'une mutation (p < 0,01). L'atteinte du cœur droit est prévalente dans le groupe porteur de mutation du gène *PTPN11* : sténose valvulaire (58,65 %) et sténose des branches pulmonaires (16,35 %). L'atteinte des cavités gauches se retrouve dans le groupe non muté : CIV (21 %), hypertrophie septale (7 %), CoA (5,40 %), sténose valvulaire aortique (5 %) et insuffisance mitrale (3 %) (p < 0,01). Le risque relatif – lorsque la mutation est identifiée – est de 11,3 et 3,85 pour la survenue de SVP et de CIA (par rapport à la population générale), respectivement. Cette étude définit plus complètement et plus clairement le spectre des cardiopathies associé à la présence d'une mutation du gène *PTPN11*. Elle oriente le rôle potentiel de *PTPN11* dans la voie de signalisation de la formation des structures cardiaques droites.

Mots-clés : syndrome de Noonan, gène *PTPN11*, cardiopathies.

■P187 / 185. MICROTIE, ATRÉSIE DU CONDUIT AUDITIF EXTERNE ET SURDITÉ DE TRANSMISSION CHEZ UN GARÇON ET SA DEMI-SŒUR NÉS D'UNE MÈRE INDEMNE

S. Mercier (1), E. Lescanne (2), F. Denoyelle (3), A. Toutain (1)
(1) Service de Génétique, CHU Bretonneau, Tours ; (2) Service d'ORL, CHU Clocheville, Tours ; (3) Service d'ORL Pédiatrique et de Chirurgie Cervicofaciale, Hôpital d'enfants Armand-Trousseau, Paris

L'anotie/microtie est une malformation congénitale volontiers associée à une atrésie du conduit auditif externe (CAE) et/ou une surdité de transmission. Les formes non syndromiques sont habituellement sporadiques. De rares cas familiaux ont été rapportés dans la littérature avec des hypothèses variées quant au mode de transmission : autosomique récessif, autosomique dominant ou multifactoriel. Nous rapportons le premier cas de récurrence d'une microtie unilatérale associée à une atrésie du CAE et à une surdité de transmission ipsilatérales chez un garçon et sa demi-sœur nés d'une mère indemne. Les explorations effectuées ont permis d'exclure une forme syndromique et l'étude cytogénétique en haute résolution a exclu un microremaniement de la région 18q dont la délétion cause habituellement une atrésie du conduit auditif externe. L'association d'une malformation de l'oreille moyenne, de degré de sévérité corrélé, à une anotie/microtie, sans atteinte de l'oreille interne, est bien connue et s'explique par une origine embryologique commune des oreilles externe et moyenne, qui diffère de celle de l'oreille interne. La base de données OMIM, distingue cinq entités différentes comprenant des malformations de l'oreille externe et/ou moyenne : « Microtia-Anotia » (600674), « Microtia with Meatal Atresia and Conductive Deafness » (251800), « Aural Atresia, Congenital » (607842), « Atresia of External Auditory Canal and Conduction Deafness » (108760) et « Deafness, Conductive, with Malformed External Ear » (221300). En dehors de la dernière catégorie qui concerne des formes syndromiques, il existe un chevauchement considérable entre toutes ces entités qui correspondent manifestement à un même spectre de

malformations de l'oreille externe et moyenne, avec une variabilité phénotypique intra- et interfamiliale. Parmi les rares cas familiaux de la littérature, plusieurs sont en faveur d'une hérédité dominante mais on note également quelques cas de récurrence intra-fratrie qui ont fait suggérer aux auteurs une transmission autosomique récessive. Toutefois, ces situations pourraient traduire une transmission autosomique dominante avec pénétrance incomplète ou avec mosaïque gonadique comme le suggère très fortement notre famille.
Cette observation doit conduire à adopter une certaine prudence dans le conseil génétique des anoties/microties avec atrésie du CAE et à considérer la possibilité d'une transmission dominante de ce type de malformations de l'oreille externe et moyenne.

Mots-clés : microtie, transmission dominante, mosaïque gonadique.

■P188 / 189. HUIT NOUVELLES MUTATIONS DE L'ATP7B DANS 11 FORMES NEUROLOGIQUES DE MALADIE DE WILSON EN FRANCE

P. Chappuis (1), J. Callebert (1), V. Quignon (1), F. Woimant (2), JL. Laplanche (1)
(1) Service de Biochimie et Biologie Moléculaire, CHU Lariboisière, Paris ; (2) Service de Neurologie, CHU Lariboisière, Paris

La Maladie de Wilson est une affection autosomique récessive (fréquence : 1/30 000 à 1/100 000) dont la caractéristique principale est l'absence d'excrétion biliaire de cuivre. Cette maladie est due à une mutation du gène d'un transporteur de métaux lourds, l'ATP7B. Cette protéine de 159 kD comprend 1 465 amino-acides. Le gène (80 kb, mRNA : 6,65 kb, 21 exons), porté par le chromosome 13 (MIM # 277900) est principalement exprimé dans le foie, le tissu nerveux et les reins ce qui explique en partie les troubles hépatiques, cérébraux et biologiques observés. À ce jour, plus de 350 mutations et plus de 80 polymorphismes ont été publiés par différentes équipes dans le monde. Nous rapportons ici 8 mutations et 2 nouveaux variants retrouvés chez 11 patients atteints par des formes neurologiques de la maladie. Pour cette étude l'analyse génétique a été réalisée par criblage SSCP suivi d'un séquençage des 21 exons. Deux nouvelles mutations entraînant un décalage du cadre de lecture ont été caractérisées : c.654 – 655delCC (exon 2) et c.1745-1746delTA (exon 5). Elles induisent une modification de structure des régions Cu2/3 et Cu6 de l'ATP7B. Une troisième mutation, de type non sens, entraînant la synthèse d'une protéine tronquée de 1200 amino-acides, a également été mise en évidence : p.Q1200X (exon 17).
Quatre nouvelles mutations ponctuelles ont été trouvées : p.F763Y (exon 8, domaine transmembranaire Tm4), p.G843R (exon 10, domaine de transduction), p.D918A (exon 12, domaine transmembranaire Tm5), p.L979Q (exon 13, domaine ch/Tm6). Les changements structuraux induits (amino-acide polaire vs amino-acide ionisé, amino-acide polaire vs amino-acide non polaire, amino-acide neutre vs amino-acide ionisé...) sont à l'origine d'effets importants quant à la fonctionnalité de l'ATP7B. Ces mutations faux sens ne sont pas des SNP (base de donnée NCBI) et n'ont pas été retrouvées chez 50 sujets contrôle. Trois nouveaux variants sont décrits : une mutation d'épissage (c.1947 – 1G>C, intron 6), une substitution neutre (c.2448 – 25G>T, intron 9) également retrouvée chez des sujets sains, une substitution (c.3411 + 13T>A, intron 15) caractérisée chez un patient chez lequel aucune autre anomalie moléculaire n'a pu être décrite malgré des arguments cliniques très évocateurs. La plupart des nouvelles mutations trouvées affecte des patients présentant des formes neurologiques à révélation tardive puisque 8 d'entre eux ont été diagnostiqués après l'âge de 20 ans. Ces formes neurologiques résultent probablement d'un diagnostic différé voire absent chez des sujets présentant une forme hépatique atténuée. Les mutations sévères de l'ATP7B affectant totalement l'exportation du cuivre cellulaire avec surcharge hépatique en cuivre libre oxydant entraînent probablement une rapide décompensation hépatique tandis que les mutations moins délétères, en raison d'une conservation partielle des fonctionnalités de l'ATP7B ont des conséquences plus tardives, avec accumulation progressive de cuivre au niveau du foie et du cerveau et survenue de manifestations neurologiques. De fait, au cours de ces formes, même si le foie semble cliniquement intact, ses fonctions sont toujours plus ou moins atteintes et on constate la présence invariable (souvent non constatée dans les formes hépatiques) de dépôts de cuivre au niveau cornéen.
Au total, comme pour la mutation p.C282Y, rencontrée dans l'hémochromatose, maladie se traduisant par un dépôt progressif d'un autre métal, le fer, le problème de la pénétrance de certaines mutations est posé : certains patients développent tardivement la maladie malgré des anomalies moléculaires particulièrement délétères, comme celles trouvées ici. Des facteurs épigénétiques et environnementaux influencent probablement le cours de cette thésaurismose cuprique.

Mots-clés : gène *ATP7B*, maladie Wilson, neurologie.

■P189 / 191. SYNDROME DE SAETHRE-CHOTZEN : NOUVELLES MUTATIONS, IMPORTANCE DE L'EXPLORATION MOLÉCULAIRE COMME AIDE AU DIAGNOSTIC CLINIQUE

Corinne Collet (1), Dominique Renier (2), Fabienne Giuliano (3), Gilles Morin (4), Jean-Marie Launay (1), Jean-Louis Laplanche (1)
(1) Service de Biochimie et Biologie Moléculaire, Hôpital Lariboisière, Paris, France ; (2) Service de Neurochirurgie pédiatrique, Hôpital Necker, Paris, France ; (3) Service de Génétique Médicale, Hôpital de l'Archet, Nice, France ;(4) Département de Pédiatrie, Génétique Clinique, Hôpital Nord, Amiens, France

Le syndrome de Saethre-Chotzen (SC) ou acrocéphalosyndactylie de type III comporte une craniosténose, c'est-à-dire une fusion prématurée (prénatale) d'une ou plusieurs sutures crâniennes. Il s'agit presque toujours de la suture coronale, qui est atteinte d'un ou des deux côtés (plagiocéphalie ou brachycéphalie). Les signes évocateurs de la craniosténose sont, le recul global du front dans la brachycéphalie et, dans la plagiocéphalie, du côté soudé, l'effacement de la bosse frontale, avec élévation de l'orbite et déviation de la base du nez. S'y ajoutent les signes caractéristiques du syndrome : ptosis (uni ou bilatéral), hypertélorisme, crux cymbae, syndactylie cutanée des deuxièmes et troisièmes doigts, et élargissement du gros orteil. Ces signes ne sont pas toujours faciles à observer chez le nourrisson. La transmission se fait selon un mode autosomique dominant, la pénétrance est élevée et l'expressivité est variable. Ce syndrome est parmi les plus fréquents, 1 sur 25000 à 1 sur 50000 naissances. L'étiologie génétique implique le gène *TWIST*1 (7p21.1) qui code pour un facteur de transcription de type hélice boucle hélice (HBH). Ce gène comporte 2 exons, seul l'exon 1 correspond à la séquence codante de la protéine qui régule le développement des cellules du mésenchyme lors de la formation du tube crânien. Actuellement, environ 80 mutations différentes ont été décrites incluant des mutations non-sens, faux-sens, voire des courtes délétions, insertions et duplications. Les mutations sont responsables d'une haploinsuffisance du gène.
Dans le cadre de l'exploration des craniosténoses, nous avons mis en place l'analyse de la séquence codante de *TWIST1*. Cinq mutations dont trois nouvelles (p.L149P, p.Q109X, p.G36fs+293aa) ont été détectées chez 9 patients (âge > 9 mois) atteints d'un de syndrome de SC. L'enfant porteur de la mutation p.L149P présente une forme atypique sans craniosténose et sa mère porteuse de la même mutation présente une forme classique de SC.
Cinq mutations dont deux nouvelles (p.R110W, p.L159fs+217aa) ont été observées chez 40 patients (âge < 7 mois) atteints d'une craniosténose non syndromique de type brachycéphalie ou plagiocéphalie. Le nourrisson porteur de la mutation p.R110W présente une plagiocéphalie et sa mère est porteuse de la même mutation mais sans aucun signe clinique.
Ces observations confirment l'intérêt de l'analyse de *TWIST1* dans les formes paucisymptomatiques où seules une brachycéphalie ou plagiocéphalie isolée peuvent être observables. Cela concerne plus particulièrement les nourrissons et les formes familiales où la variabilité phénotypique peut être très importantes.

Mots-clés : craniosténose, twist1, mutation.

■P190 / 204. MACROCÉPHALIE, CUTIS LAXA, HYPERTROPHIE DES TISSUES MOUS DE LA FACE, ET SCOLIOSE : UNE NOUVELLE ENTITÉ À TRANSMISSION AUTOSOMIQUE RECÉSSIVE

Alain Verloes (1), A Benmansour (2), Geert Mortier (3), Gérald Piérard (4), Martine Le Merrer (5)
(1) Unité de Génétique Clinique et INSERM U676, CHU Robert-Debré, Paris, France ; (2) Pédiatre, Oran, Algeria ; (3) Dpt de Génétique Médicale, CHU de Gand, Belgique ; (4) Dpt de Dermatopathologie, CHU Sart Tilman, Liège, Belgique ; (5) Dpt de Génétique et INSERM U393, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France

Nous rapportons une fratrie de 3 enfants issus d'une union consanguine, atteints par la même affection progressive. Les signes clé de cette maladie sont 1) une macrocéphalie (de +2 à +3 DS), 2) une hypertrophie molle des joues, des lèvres et des tissus périorbitaires, 3) une rétrognathie avec mal alignement dentaire et palais ogival, 4) des sourcils épars et une hypotrichose modérée, 5) des oreilles proéminente et mal ourlées, 6) une peau fine, hyperextensible, sans cutis laxa ni cicatrices pathologiques, 7) une scoliose progressive, sévère, à début prépubertaire, 8) une hyperlaxité majeure des articulations des chevilles et, dans une moindre mesure, des petites articulations des mains. Il s'y associe des difficultés d'apprentissage (2/3) et une épilepsie (1/3). Il n'y a pas de diathèse hémorragique, pas de dysostose, pas de cicatrices pathologiques, pas d'anomalies des sclères, pas de valvulopathies ni d'arachnodactylie. Une biopsie cutanée montre des anomalies cutanées compatibles avec un syndrome d'Ehlers-Danlos

ou une élastopathie. Cette famille présente une forme unique de maladie du tissu de soutien, associée à une hypertrophie des tissus mous de la face, et à une scoliose grave, transmise sur un mode autosomique récessif. Il semble que cette entité n'ait pas été décrite précédemment.

Mots-clés : Ehlers-Danlos, cutis laxa, scoliose.

■P191 / 206. UN SYNDROME CHARGE-LIKE CHEZ 2 GERMAINS

Alain Verloes (1), C. Baumann (1), Stanislas Lyonnet (2), Jeanne Amiel (2), Damien Sanlaville (3)
(1) Département de Génétique Clinique et INSERM U676, CHU Robert-Debré, Paris, France ; (2) Service de Génétique et INSERM U393, hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France ; (3) Service de Cytogénétique et INSERM U393, hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France

Le syndrome CHARGE est une affection autosomique dominante, dont la cause la plus commune est une mutation du gène *CHD7* (Chromodomain Helicase DNA binding 7) localisé en 8q12. Des mutations de ce gène sont responsables de 70 % des cas de ce syndrome. Les observations familiales de syndrome CHARGE sont exceptionnelles, et compatibles avec une hérédité dominante à pénétrance variable.

Nous décrivons 2 enfants présentant des anomalies compatibles avec un syndrome CHARGE atypique. Les 2 enfants, issus d'un couple non consanguin, présentent une aréflexie vestibulaire (unilatérale chez le patient 1, bilatérale chez le patient 2) associé à une aplasie des canaux semi-circulaires. Le patient 1 est agé de 9 ans. Il présente un tableau malformatif associant une fente labiopalatine bilatérale, une atrésie de l'œsophage de type 3, une cardiopathie complexe (CIV, aorte dextroposée, atrésie du tronc brachiocéphalique G), une anomalie de segmentation de D4. Son frère n'a pas de malformations. Il est épileptique. Les 2 enfants ont un retard de développement, et une dysmorphie faciale. Les oreilles sont dysplasiques. Aucun des 2 enfants n'a d'atrésie choanale ni de colobome. Le patient 2 est épileptique.

L'association d'une anomalie des CSC, de malformations multiples et les anomalies auriculaires permettent d'évoquer un diagnostic de syndrome CHARGE chez le 1er patient. Bien que le tableau soit moins riche, le patient 2 entre également dans cette catégorie. Le caryotype des 2 enfants, et la recherche d'anomalies télomériques n'ont pas apporté de solution. Au moment de soumettre cette communication, le screening du *CHD7* n'est pas achevé. A priori, une telle famille pourrait s'expliquer par une mosaïque germinale ou une non pénétrance parentale (dans l'hypothèse d'une mutation dominante) pour *CHD7* ou un autre gène, par une anomalie chromosomique non détectée par les techniques utilisées, ou par une transmission récessive, non décrite dans le cas de mutations de *CHD7*, et très exceptionnellement évoquée dans la littérature.

Mots-clés : syndrome CHARGE, canaux semi-circulaires, cas familial.

■P192 / 207. DIMINUTION DE LA SUBSTANCE GRISE PARIÉTO-OCCIPITALE CHEZ UN GROUPE DE 9 ENFANTS PRÉSENTANT UN SYNDROME DE WILLIAMS

F. Mochel (1), I. Meresse (2), S. Lyonnet (1), F. Brunelle (3), M. Zilbovicius (2), N. Boddaert (2, 3)
(1) Service de Génétique Médicale, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris ; (2) ERM 0205 INSERM CEA, Orsay ; (3) Service de Radiologie Pédiatrique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris

Le syndrome de Williams-Beuren (WS) est un syndrome de gènes contigus du à la délétion hétérozygote d'une vingtaine de gènes en 7q11.23. Le phénotype clinique comprend classiquement l'association d'une sténose aortique supravalvulaire avec une hypercalcémie infantile, un retard de croissance postnatal, une dysmorphie faciale caractéristique, un retard psychomoteur modéré et une hypersociabilité. Depuis plus de dix ans, de nombreux scientifiques se sont intéressés au syndrome de Williams en raison du phénotype neurocognitif très particulier observé chez ces patients. Ainsi, bien que leur aptitude au langage, leur capacité de reconnaissance des visages ou encore leur mémoire auditive soient relativement préservées, les patients WS présentent des difficultés majeures dans le domaine de d'abstraction visuospatiale et du calcul.

Afin de rechercher les anomalies structurales cérébrales pouvant être impliquées dans le profil cognitif des patients WS, nous avons réalisé une étude anatomique morphométrique en imagerie résonance magnétique statistique en tout point du cerveau (VBM) chez 9 enfants atteints d'un syndrome de Williams (âge moyen : 11,6 ans +/- 3,15 ans) en les comparant à un groupe témoin de 11 enfants du même âge (âge moyen : 11,8 ans +/- 2,2 ans). VBM (voxel based morphometry) est une technique entièrement automatisée permettant l'évaluation sur l'ensemble des régions cérébrales de la concentration respective de substance blanche et de substance grise à l'échelle du voxel. Nous avons ainsi mis en évidence une diminution significative ($p < 0,05$) de la substance grise au niveau du sillon pariéto-occipital gauche des enfants WS. Parallèlement, la technique d'imagerie VBM a permis d'identifier la même anomalie pariéto-occipitale chez des adultes WS dont le QI est inférieur à 70 (Reiss *et al.*, 2004), mais également chez des adultes WS dont le QI est normal (Meyer-Lindenberg *et al.*, 2004). Une diminution similaire de substance grise pariétale a été observée dans des cohortes de patients dyscalculiques, que cette dyscalculie ait un caractère primaire (Stanescu-Cosson *et al.*, 2002) ou secondaire (Isaacs *et al.*, 2001 ; Molko *et al.*, 2003). Cette anomalie pariéto-occipitale est donc probablement impliquée dans le déficit visuospatial et la dyscalculie observés chez les patients WS.

Bien que l'origine physiopathologique des troubles d'abstraction visuospatiale soit encore incertaine, l'originalité de notre étude tient à la démonstration de l'origine précoce d'une anomalie pariéto-occipitale dans le syndrome de Williams. Ainsi, l'utilisation de techniques nouvelles d'imagerie anatomique trouve un intérêt certain dans l'exploration physiopathologique des phénotypes neuropsychologiques complexes associés à des syndromes génétiques par ailleurs clairement définis.

Mots-clés : syndrome de Williams, IRM cérébrale, sillon pariéto-occipital.

■P193 / 208. CONTROVERSE AUTOUR DE L'IMPLICATION DES GÈNES VCX-A ET NLGN4 DANS LE RETARD MENTAL ET L'AUTISME

F. Mochel (1), C. Missirian (1), M. De Victor (1), R. Reynaud (2), N. Philip (1), A. Moncla (1)
(1) Département de Génétique, Hôpital La Timone, Marseille ; (2) Service d'Endocrinologie Pédiatrique, Hôpital La Timone, Marseille

Le phénotype associé aux délétions de la région Xp22.3 chez des patients mâles varie en fonction de l'extension de la délétion et peut intéresser, en partant du télomère, les gènes SHOX (petite taille), ARSE (chondrodysplasie ponctuée), MRX (retard mental), STS (ichtyose), KAL1 (syndrome de Kallmann lié à l'X) et OA1 (albinisme oculaire). L'étude des délétions interstitielles chez des patients présentant une nullisomie partielle du chromosome X a permis l'identification du gène VCX-A (Fukami *et al.*, 2000) au locus MRX situé en Xp22.3. Par ailleurs, à moins de 350 Kb du gène VCX-A, des mutations STOP ont été identifiées dans le gène NLGN4 chez des patients mâles autistes et/ou présentant un retard psychomoteur modéré (Jamain *et al.*, 2003, Laumonnier *et al.*, 2004). Le rôle pathogène des délétions ou des mutations au sein des gènes VCX-A (dont la fonction est encore mal connue) et *NLGN4* (codant pour une molécule d'adhésion cellulaire post-synaptique) a donc été fortement suspecté dans la survenue de troubles du développement et/ou autistiques chez le garçon.

Nous rapportons le cas d'un patient âgé de 17 ans présentant un hypogonadisme hypogonadotrophique avec hyposmie, associé à une ichtyose sévère. Ce phénotype est en rapport avec une délétion interstitielle d'origine maternelle en Xp22.3, entraînant respectivement la délétion des gènes STS et KAL1. Cependant, malgré la délétion en amont des gènes *VCX-A* et *NLGN4*, ce patient ne présente aucun trouble d'apprentissage, ni de trouble du comportement.

Une revue attentive de la littérature permet de mettre en évidence d'autres patients mâles présentant une intelligence et des interactions sociales normales malgré des délétions emportant *VCX-A* et/ou *NLGN4* (Schaefer *et al.*, 1993). À l'inverse, il existe au moins un cas rapporté de patient présentant un retard psychomoteur dans le cadre d'une délétion interstitielle Xp22.3, mais non associée à la délétion de la région contenant les gènes *VCX-A* et *NLGN4* (Schaefer *et al.*, 1993). Enfin, l'étude de cohortes de patients présentant un retard mental lié à l'X ou un syndrome autistique n'a pas permis d'identifier de mutations au sein du gène *VCX-A* (Fukami *et al.*, 2000) ou NLGN4 (Vincent *et al.*, 2004) respectivement.

En conséquence, le cas que nous rapportons ne soutient pas un rôle majeur des gènes *VCX-A* et *NLGN4* dans la survenue de troubles cognitifs et/ou autistiques. Il est vraisemblable que des mécanismes plus complexes, impliquant peut-être un effet de dosage génique (Van Esch *et al.*, 2005), soient en cause dans les troubles du développement associés aux délétions de la région Xp22.3 chez le garçon.

Mots-clés : Xp22.3, *NLGN4*, autisme.

■P194 / 230. LES AMÉLOGENÈSES IMPARFAITES ASSOCIÉES À UNE NÉPHROCALCINOSE SONT-ELLES EXCEPTIONNELLES OU SOUS-DIAGNOSTIQUÉES ?

I. Bailleul-Forestier (1, 2), M. Molla (3), G. Zanni (4), D. Griffiths (5), B. Llanas (5), C. Loirat (6), D. Lacombe (5), A. Berdal (2, 3), A. Verloes (4, 7)
(1) Service de Stomatologie, Hôpital R. Debré ; (2) Service d'Odontologie Pédiatrique, Hôpital Hôtel Dieu ; (3) Laboratoire de Biologie Oro-Faciale et Pathologie, Inserm U714, Paris ; (4) Unité de génétique clinique, Hôpital Robert-Debré, Paris ; (5) Service de génétique médicale, Hôpital

Pellegrin, Bordeaux ; (6) Service de Néphrologie Pédiatrique, Hôpital Robert-Debré, Paris ; (7) Inserm E676, Hôpital Robert-Debré, Paris, France

Les amélogenèses imparfaites héréditaires (AI) sont un groupe cliniquement et génétiquement hétérogène d'anomalies du développement de l'émail. Ces anomalies de la structure amélaire apparaissent isolées, ou associées, dans des formes syndromiques. Les mutations des gènes codant pour différentes protéines de la matrice amélaire (amélogénine, enaméline) ou des enzymes intervenant dans la maturation tissulaire (enamélysine ou kallikréine) ont été identifiées dans des familles présentant respectivement des formes liées à l'X et autosomiques dominantes et récessives non syndromiques. Les AI associées à une néphrocalcinose (AIN) ou syndrome émail-rein sont de transmission autosomique récessive et ont fait l'objet de rares publications. Les néphrocalcinoses passent longtemps inaperçues et ne s'accompagnent pas de perturbation du métabolisme phosphocalcique. Elles peuvent conduire à l'insuffisance rénale à l'âge adulte. Actuellement la protéine mutée n'est pas encore connue. Il devrait s'agir d'une protéine commune au rein, à la dent et probablement la salive. L'albumine, l'ostéocalcine, la calbindin D-28k, l'ostéopontine et le récepteur du calcium peuvent être proposées. Nous rapportons 4 familles et 2 cas sporadiques d'AIN. Les patients présentent une amélogenèse imparfaite de type hypoplasique généralisée, plus marquée en denture permanente, associée à une microdontie. Plusieurs patients présentent un retard ou une absence d'éruption, une béance antérieure marquée et des dépôts de tartre importants. Aucun de ces patients n'a d'altération de la fonction rénale. Dans une fratrie, la néphrocalcinose n'atteint qu'un sujet sur 3. Comme un bilan rénal n'est pas fait systématiquement chez tous les patients porteurs d'AI, et qu les manifestations fonctionnelles peuvent être tardives, il est vraisemblable que ce syndrome soit sous-diagnostiqué, et que sa fréquence soit sous-estimée. Le diagnostic précoce permettant en théorie un meilleur pronostic rénal, tous les patients atteints d'AI devraient avoir au moins une échographie rénale afin d'éliminer la néphrocalcinose. L'histoire naturelle de l'affection n'étant pas connue, cet examen devrait être répété régulièrement.

Mots-clés : amélogenèse imparfaite, néphrocalcinose, génétique dentaire.

■P195 / 266. MUTATIONS DANS OPA 3 ET SYNDROME « ATROPHIE OPTIQUE – CATARACTE » AUTOSOMIQUE DOMINANTE : confirmation par une nouvelle famille

H. Dollfus (1), L. Ballonzoli (1), C. Speeg-Schatz (1), J. Flament (1),P. Reynier (2), Y. Malthièry (2), D. Bonneau (2), P. Amati-Bonneau (2)
(1) Centre de Référence pour les Affections Génétiques Ophtalmologiques, Service de Génétique Médicale, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France ; (2) Laboratoire de Biochimie et Biologie Moléculaire, INSERM U694, Service de Génétique Médicale, CHU Angers, Angers, France

Introduction : Les atrophies optiques (AO) héréditaires sont un groupe hétérogène d'affections où des formes isolées ou syndromiques peuvent être distinguées.
Pour les formes dominantes isolées, de loin les plus fréquentes, le gène OPA1 est fréquemment impliqué. Les formes syndromiques d'AO, habituellement récessives, sont plus rares.
La 3-méthylglutaconique acidurie de type III (syndrome de Costeff) est une forme syndromique autosomique récessive d'AO associant des troubles neurologiques sévères (chorée, spasticité) a une AO précoce due à l'altération du gène OPA3. Récemment, Reynier *et al.*, ont montré qu'un syndrome dominant associant cataracte et AO est due à une mutation hétérozygote dans le gène OPA3. Nous rapportons une nouvelle famille qui confirme l'existence de ce phénotype particulier.
Famille et méthode : Un enfant est examiné dans la cadre d'une baisse de vision inexpliquée (attribuée initialement à une simulation) alors que sa mère présente une malvoyance attribuée à une cataracte congénitale. Un examen clinique et des examens complémentaires ont permis d'identifier chez les deux individus une neuropathie optique associée à une cataracte. Les gènes OPA1 et OPA 3 ont été séquencés directement sur l'ADN génomique.
Résultats : La mutation G277A dans le gène OPA 3 a été identifiée. Cette mutation a déjà été rapportée pour une autre famille avec le syndrome « cataracte-AO ».
Conclusion : Cette troisième famille avec un syndrome « atrophie optique plus cataracte » autosomique dominant, dû à une mutation hétérozygote dans le gène OPA 3 confirme cette entité syndromique. OPA3, gène nucléaire codant pour une protéine mitochondriale, présente une variabilité allélique remarquable. Nos cas illustrent les multiples modes de révélation de cette pathologie, parfois trompeuse dans la présentation clinique. Ceci souligne l'importance de l'examen du segment antérieur dans une atrophie optique et l'importance du suivi à long terme du fond d'œil dans les cataractes juvéniles dites isolées, pour le diagnostic des basses visions et le conseil génétique.

Mots-clés : atrophie optique, gène *OPA3*, cataracte.

■P196 / 269. UNE DÉLÉTION ÉTENDUE DU GÈNE *NF1* À L'ORIGINE D'UN SYNDROME DE WATSON CHEZ UN ENFANT DE UN AN

D. Martin-Coignard (1, 2), S. Lyonnet (3), C. Bellane-Chantelot (4), J. Maheut-Lourmière (5), I. Mortemousque (6), H. Maillard (7), G. Bah (2), H. Cave (8), D. Vidaud (9)
(1) UF Génétique, CH Le Mans ; (2) CPDP, CH Le Mans ; (3) Service de Génétique médicale, CHU Necker-Enfants malades Paris ; (4) Unité de Génétique et de biologie moléculaire, CHU Saint-Antoine, Paris ; (5) Service de Neurochirurgie Neurologie pédiatrique, CHRU Tours ; (6) génétique médicale, CHRU, Tours ; (7) Service de Dermatologie, CH Le Mans ; (8) Service de biochimie génétique, CHU Robert-Debré, Paris ; (9) Service de biochimie, CHU Beaujon, Paris

Le syndrome de Watson (OMIM 193520) a été décrit en 1967 chez des sujets de petite taille porteurs d'une sténose de l'artère pulmonaire, de taches café au lait, de difficultés cognitives et d'un facies de type « neurocristopathie » rappelant le syndrome de Noonan. Nous rapportons l'observation d'un enfant né en juin 2004, premier enfant d'un couple jeune non apparenté sans antécédents familiaux. Le caryotype réalisé en raison de l'existence d'une clarté nucale de 4,2 mm à 12 SA est normal 46, XY. L'enfant naît à 35 SA avec RCIU (inférieur au 3° percentile), sténose de l'artère pulmonaire, cardiomyopathie hypertrophique et une dysmorphie faisant évoquer un syndrome de Noonan associant front large, hypertélorisme, philtrum plat. Puis la symptomatologie se complique d'une hydrocéphalie triventriculaire nécessitant une dérivation ventriculo péritonéale. Neuf taches café au lait apparaissent en l'espace de 4 semaines, suivies du développement de neurofibromes sous-cutanés et d'une scoliose. Le syndrome de Watson est alors évoqué et confirmé par la mise en évidence d'un remaniement de la région 17q11.2 à l'origine d'une délétion de grande taille du gène NF1 s'étendant au minimum de l'exon 6 à l'exon 48 (#140 kb). Cette délétion n'est pas retrouvée chez les parents, confirmant le caractère sporadique de la maladie.
L'analyse du gène PTPN11 impliqué dans la moitié des cas de syndrome de Noonan s'est avérée négative. Une délétion de 80 kb et une duplication en phase de 42 pb dans l'exon 28 du gène NF1 ont été rapportées chez des patients présentant un syndrome de Watson, confirmant les résultats préalables des analyses de liaison qui avaient permis d'identifier ce syndrome comme une forme allélique de la neurofibromatose de type 1 (Allanson *et al.*, 1989 ; Upadhyaya *et al.*, 1992 ; Tassabehji *et al.*, 1993). Notre observation d'un enfant de 15 mois avec une expressivité complète de NF1 et du syndrome de Noonan est, à notre connaissance, un des plus jeune cas de la littérature dont la forme d'emblée sévère est probablement en rapport avec la présence d'un grand remaniement du locus NF1 soulevant à nouveau l'hypothèse d'un syndrome de gènes contigus ; la cartographie exacte de la délétion est actuellement en cours.
Par ailleurs, ce résultat confirme l'importance de l'analyse moléculaire concomitante des gènes NF1 et PTPN11 devant une association Noonan-NF1 ou un syndrome de Watson.

Mots-clés : syndrome de Watson, *NF1*, neurocristopathie.

■P197 / 281. DÉLÉTION 1p36 : PRÉSENTATION CLINIQUE D'UN ADULTE

I. Mortemousque (1), B. Laudier (1)
(1) Service de Génétique, CHU Tours

Nous rapportons l'observation d'un adulte âgé de 37 ans (J.M.), porteur d'une déficience mentale d'étiologie initialement non étiquetée. Récemment, il est réévalué en consultation de génétique dans le cadre d'un projet de grossesse de sa sœur cadette.
L'histoire familiale met en évidence la notion d'un frère aîné décédé à la naissance dans un contexte de malformations (anomalie des mains, hirsutisme), aucune exploration complémentaire n'avait pu être effectuée. J.M. est né au terme d'une grossesse sans évènement intercurrent. Son développement psychomoteur a rapidement été jugé anormal avec une hypotonie axiale marquée, une acquisition de la marche à l'âge de 3 ans, un langage pauvre se résumant à 3-4 mots.
Un caryotype sanguin conventionnel effectué dans l'enfance n'objectivait pas d'anomalie chromosomique. Ses antécédents médicaux comportent une cataracte congénitale unilatérale, une scoliose nécessitant un port de corset pendant 3 ans et une épilepsie à type de crise tonico-clonique généralisée. Lors de l'examen clinique à l'âge de 37 ans, il est noté des particularités

faciales avec notamment un pincement bitemporal, des yeux enfoncés dans les orbites avec des sourcils rectilignes et bas implantés. Les mains sont de morphologie normale avec des phalanges distales élargies.
La suspicion clinique d'une délétion 1p36 est confirmée par l'étude du caryotype haute résolution et par l'hybridation in situ métaphasique avec une sonde subtélomérique 1p. Les études cytogénétiques complémentaires des 2 parents permettent de conclure à une délétion 1p36 de novo.
L'intérêt de cette observation est de détailler le phénotype clinique d'un sujet adulte porteur d'une délétion 1p36, dans la mesure où les cas décrits dans la littérature concernent essentiellement des enfants ou des adolescents.

Mots-clés : délétion 1p36, adulte, dysmorphie.

■P198 / 298. SYNDROME ATRX CHEZ UNE FILLE

C. Badens (1, 2), N. Martini (1), S. Courrier (2), V. DesPortes (3), R. Touraine (4), N. Levy (1, 2), P. Edery (5, 6)
(1) Laboratoire de Génétique Moléculaire, Hôpital de la Timone, Marseille ; (2) Centre d'Enseignement et de Recherche en Génétique Médicale, Faculté de Médecine, Marseille ; (3) Service de Neuropédiatrie, Hospices Civils de Lyon ; (4) Service de Génétique, Hôpitaux de Saint-Étienne ; (5) Service de Cytogénétique Constitutionnelle, Hospices Civils de Lyon ; (6) Équipe d'Accueil 3739 Université Lyon 1

Nous rapportons la première observation de syndrome alpha-thalassémie/retard mental lié au chromosome X (ATR-X) chez une fille. Le syndrome ATR-X (OMIM 301040) associe un retard mental sévère, une dysmorphie faciale caractéristique, une alpha-thalassémie inconstante et des anomalies uro-génitales. De nombreuses études ont montré que les femmes conductrices, porteuses d'une mutation ATR-X ont un biais complet d'inactivation du chromosome X et ne présentent aucun signe du syndrome. Très récemment, Wada *et al.* (2005) ont décrit une inactivation aléatoire de l'X chez une femme présentant une mutation ATR-X et un retard mental modéré, sans qu'un lien n'ait pu être établi entre le retard mental et la présence de la mutation. Par ailleurs, un phénotype ATR-X chez une fille présentant un remaniement complexe impliquant le chromosome 16 a été rapporté par Akahoshi *et al.* (2005). Nous décrivons ici l'observation d'une fille de 4 ans, née après FIV, présentant un syndrome ATR-X et un biais complet d'inactivation portant sur le chromosome X sauvage. Les signes cliniques de la patiente comportent un retard de croissance intra-utérin, un retard statural (-2 DS) et pondéral (-2,5 DS), une microcéphalie (-3 DS), un retard psychomoteur sévère, une hyperlaxité, une dysmorphie avec un front bombant, haut et large, un strabisme, une dystopie des canthi, une racine du nez plate et large, des narines antéversées, des joues pleines, une bouche aux coins tombants, une lèvre inférieure éversée, une micrognathie et des anomalies génitales discrètes incluant une hypoplasie des grandes et des petites lèvres. La recherche de corps de Heinz s'est avérée négative mais le phénotype clinique caractéristique nous a incité à étudier le gène ATR-X. Nous avons mis en évidence la mutation récurrente R246C (c.951C->T) du domaine à doigts de zinc du gène ATR-X, à l'état hétérozygote. L'absence de la mutation chez les parents a démontré son caractère de novo. L'analyse du profil de méthylation au locus du récepteur des androgènes (AR) d'une part et le séquençage après clonage d'un produit de PCR contenant un polymorphisme informatif dans la famille et la mutation, ont montré respectivement que le chromosome X actif était toujours d'origine maternelle et que la mutation R246C était toujours portée par l'allèle maternel (9 clones étudiés). La recherche d'une mutation du promoteur de XIST et l'analyse des régions 15q12 et 11p15 soumises à empreinte génomique parentale sont décrites. L'hypothèse d'un lien entre la FIV et le biais complet d'inactivation du chromosome X est discutée.

Mots-clés : syndrome ATR-X, biais d'inactivation de l'X, anomalies du profil de méthylation.

■P199 / 300. SYNDROME DE TAYBI-LINDER : UN PHÉNOTYPE HOMOGÈNE

A. Labalme (1), E. Steichen (2), A. Toutain (3), M. Till (1) P. Edery (1, 4)
(1) Service de Cytogénétique Constitutionnelle, Hospices Civils de Lyon ; (2) Universitätsklinik f. Kinder-und Jugendheilkunde, A-6020 Innsbruck, Austria ; (3) Service de Génétique, Tours ; (4) Équipe d'Accueil 3739 Université Lyon1

Nous rapportons trois nouveaux cas de syndrome de Taybi-Linder ou « Microcephalic Osteodysplastic Primordial Dwarfism (MOPD) type I/III » (OMIM 210710). Ce syndrome malformatif est très rare, puisque moins de trente cas ont été rapportés à ce jour, et son étiologie reste totalement inconnue. Le syndrome de Taybi-Linder est caractérisé par un retard de croissance intra-utérin (RCIU), un nanisme, une ostéochondrodysplasie, des anomalies faciales, une microcéphalie et des malformations cérébrales. Nous présentons ici deux familles comportant chacune deux enfants atteints. Trois observations sont documentées. D'après les arbres généalogiques, nous confirmons le mode d'hérédité autosomique récessif préalablement suggéré. Nous montrons l'extraordinaire ressemblance des phénotypes, en particulier de la morphologie faciale, des anomalies osseuses et des malformations cérébrales, chez les trois patients. De plus, l'histoire naturelle de la maladie est superposable chez les trois patients présentés ici et dans la littérature. Le plus souvent, les enfants atteints décèdent brutalement dans les suites d'une infection apparemment banale, alors que le pronostic vital ne semble pas mis en jeu a priori. Nous formulons l'hypothèse qu'une susceptibilité particulière à certaines infections ou aux situations de catabolisme, puisse être à l'origine des décès précoces dans le syndrome de Taybi-Linder.

Mots-clés : Taybi-Linder, phénotype homogène, décès précoce.

■P200 / 314. INTÉRÊT DE L'ÉTUDE DU MÉTABOLISME DE LA CRÉATINE DANS L'EXPLORATION DES TROUBLES DU DÉVELOPPEMENT

F. Prieur (1), D. Cheillan (3), J. Tinat (1), C. Gay (2), S. Chabrier (2), R. Touraine (1)
(1) Service Génétique, CHU Saint-Étienne ; (2) Service Pédiatrie, CHU Saint-Étienne ; (3) Service Biochimie, Hôpital Debrousse, Lyon

Nous rapportons deux histoires familiales distinctes avec troubles du développement, dans lesquelles l'étude du métabolisme de la créatine sur les urines pour les cas index s'est avérée anormale.
Famille n° 1 : Mehdi, le cas index, est vu à l'âge de 11 ans pour un retard global de développement. Il fait partie d'une fratrie de deux, son frère aîné a un développement normal mais l'histoire familiale est chargée du côté maternel : sa mère appartient a une fratrie de huit : deux frères et deux sœurs présentent un handicap mental et travaillent en CAT. À la génération précédente, on note l'existence de trois tantes paternelles qui auraient également présenté un handicap mental. La famille est dispersée et l'interrogatoire ne suffit pas pour dire si les symptomatologies sont tout à fait similaires. Mehdi présente un déficit intellectuel marqué. Le contact avec lui est facile, plutôt jovial. Il existe un trouble important du langage avec de nombreuses écholalies, il n'y a pas de difficultés motrices. L'autonomie est toutefois restreinte, il mange seul, il s'habille partiellement seul. Les consignes simples sont réalisées mais il faut souvent les renouveler. L'examen clinique et neurologique est normal. La dysmorphie est peu spécifique : visage allongé, grande bouche avec incisives médianes importantes, lèvre inférieure éversée. Compte tenu de l'histoire et des antécédents familiaux, une anomalie chromosomique est suspectée. Les différentes investigations cytogénétiques resteront négatives. Le bilan neuroradiologique et métabolique est poursuivi systématiquement. L'étude du métabolisme de la créatine montre un taux élevé alors que le guanidinoacétate est normal, ce qui fait évoquer un déficit en transporteur de la créatine, affection récessive liée à l'X. L'étude est poursuivie par une spectroRMN. L'histoire familiale est à première vue trompeuse et on peut penser que la pathologie ne doit pas être homogène dans cette famille.
Famille n° 2 : Mickaël est le cas index, vu à l'âge de 4 ans, il présente un trouble envahissant du développement. Il a un frère aîné qui a un développement normal. Des antécédents de nature épileptique sont notés du côté paternel. Du côté maternel, il y a une fratrie de quatre sœurs, l'une d'entre elles a un fils qui présente un fils qui présente un trouble autistique avec retard mental. Mickaël a présenté un retard d'acquisition du langage, il présente de nombreuses écholalies et jargonne encore beaucoup mais l'amélioration est régulière, l'enfant fait preuve de compétences dans certains domaines, lecture de certains mots, informatique... Par contre il ne mange pas seul et est sujet a de fréquentes angoisses, il existe un trouble de la communication. Le bilan effectué a là encore montré une élévation du taux de la créatine urinaire avec un taux de guanidinoacétate normal, pour lequel nous évoquons le même diagnostic. L'histoire familiale est ici tout à fait compatible avec une transmission liée à l'X. Les examens complémentaires pour confirmer le diagnostic sont prévus.
Conclusion : La fréquence du déficit en transporteur de la créatine semble être importante dans la population de patients présentant un retard mental familial (Rosenberg *et al.* 2001). Les deux familles que nous rapportons montrent l'intérêt de rechercher ces pathologies par un « dépistage urinaire » devant tout trouble du développement non expliqué.

Mots-clés : créatine, développement, transporteur.

■P201 / 317. POLYMICROGYRIE ET MICRODÉLÉTION 22q11 : CAUSE OU COÏNCIDENCE ?

G. Viot (1), A. Lebbar (1), F. Lewin (2), C. Adamsbaum (3), M.C. Nassogne (4), A. Raas-Rothschild (5)

(1) Département de Génétique, Hôpital Cochin, Paris ; (2) Maternité, Hôpital St-Vincent-de-Paul, Paris ; (3) Service de Radiologie, Hôpital St-Vincent-de-Paul, Paris ; (4) Département de Neurogénétique, Hôpital St-Luc, Bruxelles ; (5) Département de Génétique Humaine, Centre Hospitalier d'Hadassah, Jérusalem

Des anomalies de la migration neuronale ont été rapportées chez des patients porteurs d'une microdélétion 22q11 (*Am J Med Genet* 2004; 131 (3) : 322-324). Nous présentons ici le cas d'un jeune garçon de 7 ans adressé pour retard psychomoteur sévère (absence de marche et de langage), épilepsie de type grand mal, microcéphalie postnatale (-2,8 DS), troubles du comportement. La dysmorphie faciale associe des oreilles cupuliformes, des sourcils broussailleux, un hypertélorisme, une grande bouche avec une lèvre supérieure fine. Le palais est normal. Au niveau des extrémités, les doigts sont effilés. Cet enfant ne présente pas de cardiopathie ni de malformation rénale. Les parents mentionnent des infections ORL récurrentes au cours des 18 premiers mois de vie. L'IRM cérébrale met en évidence une polymicrogyrie périsylvienne bilatérale avec élargissement des scissures Sylviennes, une dilatation modérée des ventricules latéraux. Les circonvolutions des aires frontales, pariétales et temporales sont anormalement petites et partiellement fusionnées. Une délétion 17p13.3, une mutation des gènes LIS1 et DoubleCortine, ont été recherchées et exclues. Par contre, une microdélétion 22q11 a été mise en évidence chez cet enfant par hybridation in situ. Les caryotypes parentaux étaient normaux. Il s'agit du douzième enfant rapporté présentant l'association d'une polymicrogyrie et d'une délétion 22q11. Une IRM cérébrale semble donc justifiée chez tout enfant porteur d'une délétion 22q11 dès lors qu'il existe des signes neurologiques associés. À l'inverse, la découverte d'une polymicrogyrie avec élargissement des scissures Sylviennes doit faire suspecter une délétion 22q11, même en l'absence des signes cardinaux du syndrome de DiGeorge.

Mots-clés : polymicrogyrie, délétion 22q11, anomalie de la migration neuronale.

■P202 / 325. MONOCHROMATISME DES CÔNES BLEUS, MALVOYANCE LIÉE À L'X MÉCONNUE. PRÉSENTATION DE 15 PATIENTS (4 FAMILLES)

P. Bitoun (1, 2), M. Meyer (2), F. Rigaudiere (3), I. Ingster-Moati (3), S. Kohl (4), B. Wissinger (4), E. Delouvrier (5), J. Gaudelus (6)

(1) Génétique Médicale Hôpital Jean-Verdier, Bondy 93143 ; (2) SIDVA 91, Savigny s/o 91600 ; (3) Service de Biophysique, Hôpital Lariboisière 75010, Paris ; (4) Ophthalmic Molecular Genetics laboratory, University of Tuebingen Allemagne ; (5) Ophtalmologie, Hôpital Robert-Debré, 75019 Paris ; (6) Pédiatrie, Hôpital Jean-Verdier, Bondy 93143

Le monochromatisme des cônes bleus est une cause de malvoyance liée à l'X et du nystagmus congénital à fond d'œil normal. Les caractéristiques spectrales des photopigments des cônes dépendent des acides aminés présents dans les positions clés des opsines protéiques. Les gènes des opsines rouge et verte sont en Xq28 et celui de l'opsine bleue en 7p. Nous avons mis au point une méthode diagnostique simple et fiable avec un test de la vision des couleurs spécifique sur ordinateur réalisable dès l'age de 3 ans. Le diagnostic a ensuite été confirmé par étude moléculaire. Le diagnostic précoce est difficile chez le petit enfant car le diagnostic de dyschromatopsie est souvent tardif mais il est important de diagnostiquer cette affection non évolutive (contrairement à d'autres causes de nystagmus congénital cécitantes) et dont la transmission est liée à l'X (contrairement à l'achromatopsie complète autosomique récessive). La prise en charge et l'orientation scolaire de ces enfants étant différente selon le risque évolutif et la sévérité de la malvoyance. L'électrophysiologie nous a aussi permis de décrire des signes nouveaux chez les conductrices. Nous présentons 4 familles d'origine différentes (italienne, françaises, vietnamienne) avec plusieurs sujets atteints. Nous décrivons une nouvelle mutation à l'origine d'une forme sévère et détaillons le mécanisme qui invalide un gène hybride rouge-vert et laisse seuls fonctionnels les cônes bleus (cônes S). Le conseil génétique approprié et le diagnostic précis de cette affection souvent méconnue sont désormais facilement réalisables par un professionnel averti.

Mots-clés : monochromatisme, malvoyance, chromosome Xq28.

■P203 / 339. ATRÉSIE DES CHOANES ET TRISOMIE 7p21-pter

D. Couet (1), P. Christin (1), O. Ingster (1), E. Descombes (2), B. Gilbert-Dussardier (1)

(1) Service de Génétique Médicale ; (2) Département de Pédiatrie, CHU Poitiers

L'atrésie des choanes est une malformation généralement dépistée à la naissance par l'impossibilité de passer une sonde par voie nasale. Elle peut être isolée ou associée à d'autres anomalies morphologiques ou de développement dans un contexte syndromique. Dans certains syndromes (CHARGE, Schinzel-Giedon), l'atrésie des choanes est un élément assez spécifique du syndrome. Dans d'autres syndromes, cette malformation est rapportée de manière anecdotique, mais les autres éléments du syndrome permettent de faire le diagnostic. Dans l'observation que nous rapportons, l'atrésie des choanes est associée à d'autres anomalies peu spécifiques du développement et le caryotype a mis en évidence une trisomie pure 7p21-pter, de novo. D'autres cas similaires ayant déjà été rapportés dans la littérature, nous pensons que l'atrésie des choanes dans un contexte syndromique peu spécifique doit orienter vers cette anomalie chromosomique à rechercher éventuellement par hybridation in situ si nécessaire. L'enfant, de sexe masculin, est né à terme à la suite d'une grossesse normale. Ses mensurations à la naissance sont normales. Il développe une détresse respiratoire en rapport avec une atrésie bilatérale des choanes. Il présente une dysmorphie avec de grandes oreilles carrées, dysplasiques, très bas implantées, avec une partie supérieure de la conque anormalement enroulée et un lobe très hypoplasique. Le nez est triangulaire, hypoplasique. La columelle est très large et il existe un léger rétrognatisme. La fontanelle antérieure est très large Les mains sont maintenues fermées avec un pouce adductus bilatéral. Les doigts sont très longs et hyperlaxes. Les plantes de pied présentent des plis capitonnés. Il présente un micropénis avec ectopie testiculaire unilatérale et scrotum peu développé. Le bilan paraclinique retrouve une hypoplasie partielle postérieure du corps calleux, une communication inter auriculaire minime et une dysplasie de hanches. Le bilan endocrinien est normal. En néonatal, l'enfant présente un bon tonus, tant axial que périphérique. Il tète bien et ne présente pas de trouble du sommeil. À l'âge de 6 mois, il présente un infléchissement de la courbe staturo-pondérale à - 2DS et un retard de tonus puisqu'il ne tient pas sa tête. Le caryotype en bandes R et G (résolution de 550 bandes) montre une anomalie avec présence de matériel chromosomique supplémentaire à l'extrémité de 7q. Une étude en FISH avec sonde télomérique 7p et une peinture du chromosome 7 permettent de définir l'anomalie : 46, XY, add(7qter).ish dup(7)(p21pter)(WCP7+D7S2644+). Le caryotype des parents est normal, permettant de conclure à une trisomie 7p21pter pure de novo. Plus de 40 cas de trisomie partielle 7p ont été rapportés, généralement secondaires à une translocation équilibrée parentale et associant donc un déséquilibre au niveau d'un autre chromosome. Le phénotype décrit à partir de ces observations associe : retard mental modéré à sévère, petite taille, dolicho- ou microbrachycéphalie, fontanelle et sutures larges, front large, hypertélorisme, racine nasale large, atrésie des choanes, micrognatie, oreilles larges et bas implantées, plis palmaires anormaux, cutis laxa et anomalies articulaires et cardio-vasculaires. En dehors de l'atrésie des choanes qui nous paraît être un bon point d'appel pour rechercher une duplication 7p, surtout si elle est associée à une fontanelle large, les éléments de ce phénotype peuvent être difficile à évaluer à la naissance. Par ailleurs, le caractère pur de la duplication 7p que présente notre patient est en faveur du fait qu'un ou des gènes d'intérêt pour cette malformation sont situés dans cette région ou au niveau du point de cassure en 7p21.

Mots-clés : atrésie des choanes, trisomie 7p21-pter, duplication 7p21-pter.

■P204 / 350. EXPRESSION DE LA MYOPATHIE MYOTUBULAIRE LIÉE AU CHROMOSOME X (MTM1) CHEZ LES FEMMES : À PROPOS DE 3 NOUVEAUX CAS

V. Biancalana (1, 2), M. Cossée (1, 2), E. Ollagnon-Roman (3), I. Penisson Besnier (4), C. Rogers (5), N. Dondaine (1), S. Samimi (1), J.L. Mandel (1)

(1) Service de Diagnostic Génétique, CHRU, Strasbourg ; (2) Laboratoire de Génétique Médicale, Université Louis-Pasteur, Faculté de Médecine, Strasbourg ; (3) Service de Génétique, Hôtel Dieu, Lyon ; (4) Département de neurologie, Hôpital Larrey, Angers ; (5) Clinical Genetic, Greenwood, South Carolina, USA

La myopathie myotubulaire liée à l'X (MTMX) se transmet sur le mode récessif et se présente sous une forme congénitale sévère chez les garçons dans 85 % des cas rapportés. Les enfants souffrent d'une hypotonie majeure qui entraîne des difficultés respiratoires nécessitant une ventilation assistée et la plupart décèdent dans l'enfance. La biopsie musculaire met en évidence des myofibres hypertrophiques avec prédominance de noyaux centrés. Le gène en cause MTM1 comporte 15 exons et code pour une phosphoinositide phosphatase nommée myotubularine. Quelques rares cas de femmes atteintes de myopathie myotubulaire ont été rapportés au sein des familles et également de manière sporadique. La sévérité de l'atteinte est variable et paraît être en relation avec des biais d'inactivation du chromosome X. Nous rapportons le cas de 3 nouvelles familles chez lesquelles le diagnostic de myopathie myotubulaire liée à l'X a été posé chez des femmes âgées de 26 à 84 ans au moment du diagnostic (deux cas

sporadiques et un cas familial avec 3 femmes atteintes). Les données cliniques, histologiques et les résultats des recherches de mutation et de biais d'inactivation seront présentés ainsi qu'une revue de la littérature.

Mots-clés : myopathie myotubulaire, femmes, inactivation X.

■P205 / 352. RETARD DE CROISSANCE ET ÉLÉVATION DU TAUX D'IGF1 RÉVÉLATEURS D'UNE DÉLÉTION DE NOVO 15qter ENGLOBANT LE GÈNE CODANT POUR LE RÉCEPTEUR À L'IGF1

C. Vincent-Delorme (1), P. Bernard (2), B. Benzacken (3)
(1) Consultations de génétique, CH d'Arras ; (2) Service de Pédiatrie, CH d'Arras ; (3) Laboratoire de Cytogénétique, Hôpital Jean-Verdier, Bondy

Nous rapportons l'observation d'un premier enfant d'un couple jeune et non apparenté, présentant un retard de croissance intra utérin et post natal, à périmètre crânien préservé. Le tableau clinique de cet enfant associait une atteinte squelettique et articulaire, un syndrome malformatif et l'absence de déficience intellectuelle. On observait en effet, dès la naissance, une luxation bilatérale des hanches, unilatérale du genou droit ; l'évolution a été marquée par l'apparition d'une gracilité des os longs des membres. Le bilan malformatif retrouvait une cryptorchidie, un hypospadias, une anomalie de rotation intestinale. On ne notait pas de dysmorphie faciale. Le bilan endocrinologique réalisé ne décelait pas d'anomalie significative. Dans le cadre de la prise en charge thérapeutique des retards de croissance intra utérin, cet enfant a été traité par hormone de croissance, permettant un gain statural initial incontestable puis une stagnation. Le contrôle régulier des dosages d'IGF1, sous hormone de croissance, révélait des taux anormalement élevés laissant suspecter une anomalie du récepteur à l'IGF1 localisé en 15q26. Un caryotype constitutionnel en haute résolution et l'étude par FISH de la région subtélomérique 15qter ont été réalisés. La FISH a mis en évidence une délétion de la région 15qter. Pour préciser la taille de la délétion, et établir une relation génotype-phénotype des bacs spécifiques de la région ont été hybridés sur les chromosomes métaphasiques. La FISH de la région 15q26 englobant le locus du gène codant pour le récepteur à l'IGF1 détectait une délétion de novo ; la perte d'une des 2 copies du récepteur à l'IGF1 permettait d'expliquer le tableau clinico-biologique de cet enfant. Cette observation illustre l'intérêt à réaliser l'étude du télomère 15q, voire l'étude spécifique de la région 15q26 chez des enfants présentant un retard statural pré et postnatal associé à des signes articulaires, dont le taux d'IGF1 s'élève anormalement sous traitement par hormone de croissance. Il permet également de rappeler qu'une anomalie subtélomérique n'est pas nécessairement associée à un retard mental. Il est vraisemblable que de telles délétions soient sous diagnostiquées et leurs recherches dans le champ d'investigations d'endocrinologie pédiatrique devraient volontiers être proposées.

Mots-clés : retard de croissance, récepteur à l'IGF1, délétion 15qter.

■P206 / 378. CARACTÉRISTIQUES PHÉNOTYPIQUES ET FRÉQUENCE DES MUTATIONS DU GÈNE *MAPT* DANS LES DÉMENCES FRONTOTEMPORALES

Isabelle Le Ber (1, 2, 3), Agnès Camuzat (1, 2, 3), Patrice Verpillat (1, 2, 3), Didier Hannequin (4), Martine Vercelletto (5), Dominique Gaillard (6), François Tison (7), Alexis Brice (1, 2, 3) et le Réseau de Recherche Français sur les DFT
(1) INSERM U679, neurologie et thérapeutique expérimentale, Paris, France ; (2) Hôpital de la Pitié-Salpêtrière, Paris, France ; (3) Université Pierre et Marie Curie, Faculté de Médecine, Paris, France ; (4) Service de Neurologie, CHU de Rouen ; (5) Service de Neurologie, CHU de Nantes ; (6) Service de Génétique et biologie de la reproduction, CHU de Reims ; (7) Service de Neurologie, CHU, Bordeaux

Introduction Les démences frontotemporales (DFT) sont des affections neurodégénératives responsables de troubles comportementaux, de troubles affectifs et du langage. Elles pourraient représenter de 10 à 20 % des cas de démences. Dans de rares cas, la DFT est associée à une sclérose latérale amyotrophique (DFT-SLA) responsable d'un déficit moteur progressif, dont le pronostic est sévère. Le gène MAPT est le premier gène identifié dans les formes autosomiques dominantes de DFT. Ce gène est localisé sur le chromosome 17. Il code pour la protéine tau qui joue un rôle dans l'assemblage et la stabilisation des microtubules.
Patients/méthodes. Le gène MAPT a été analysé chez 203 cas index d'origine française (98 cas familiaux, 105 cas sans histoire familiale) incluant 142 patients atteints de DFT isolée et 61 patients atteints de DFT-SLA. Les exons et les jonctions intron-exon du gène MAPT ont été analysés par séquençage.
Résultats. Quatre mutations faux-sens (P301L, P301S, G389R, L266V) ont été identifiées chez dix cas index. La mutation P301L est la plus fréquente. Aucune mutation n'a été identifiée chez les patients sans histoire familiale, ni chez les 61 patients atteints de DFT-SLA montrant que les DFT-SLA sont génétiquement différentes des DFT. La fréquence des mutations est de 5 % dans la population globale étudiée, et de 10 % dans les cas familiaux. Les caractéristiques épidémiologiques et phénotypiques des patients avec et sans mutation du gène MAPT sont analysées. Chez les patients avec une mutation du gène MAPT, l'âge de début est plus précoce (43,6 ± 13 ans), les troubles comportementaux de type désinhibition et un tremblement postural sont plus fréquents. La mutation P301S est associée à une dystonie et un syndrome parkinsonien sévères.
Conclusions Cette étude permet d'établir des corrélations phénotype-génotype, et montre que les mutations du gène MAPT sont rares dans une population de patients d'origine Française.

Mots-clés : démences frontotemporales, gène *MAPT*, démences.

■P207 / 383. FIBROSE PULMONAIRE IDIOPATHIQUE DU NOURRISSON ET MUTATION I73T DU GÈNE DE LA PROTÉINE C DU SURFACTANT

J.P. Saulnier (1), F. Bilan (2), A. Martin-Berge (2), G. Fromont-Hankard (3), O. Ingster (2), G. Levard (3), J.C. Meurice (4), A. Kitzis (2), R. Hankard (1)
(1) Département Médico-chirurgical de Pédiatrie, CHU de Poitiers ; (2) Laboratoire de Génétique Cellulaire et Moléculaire, CHU de Poitiers ; (3) Laboratoire d'anatomie Pathologique, CHU de Poitiers ; (4) Service de Pneumologie, CHU de Poitiers

Les fibroses pulmonaires idiopathiques de l'enfant et de l'adulte sont des pathologies graves dont le mécanisme fait l'objet de recherches actives. Il a été décrit des anomalies de l'expression et de l'adressage de la protéine C du surfactant (SP-C) associées à des mutations du gène SFTPC.
Nous avons diagnostiqué une pneumopathie interstitielle chez un nourrisson de 5 mois aux antécédents familiaux de pathologie respiratoire : grand-mère paternelle décédée d'une fibrose pulmonaire, tante paternelle décédée d'un syndrome de détresse respiratoire aiguë lors d'une infection pulmonaire grave. La fibroscopie bronchique et le lavage bronchoalvéolaire orientent vers une fibrose pulmonaire idiopathique (FPI) : prédominance de polynucléaires neutrophiles, quasi-absence de lymphocytes, ratio CD4/CD8 normal, absence de CD1a, pas d'excès de macrophages spumeux. Le diagnostic de « non specific interstitial pneumonitis » (NSIP) est porté à la lecture anatomopathologique de la biopsie pulmonaire chirurgicale. L'enfant a bénéficié d'un traitement associant bolus de solumédrol et hydrocortisone-hydroxychloroquine au long cours, avec une bonne réponse thérapeutique. Devant le caractère familial de cette pathologie et le diagnostic de NSIP, nous avons exploré SFTPC sur l'ensemble de la famille en séquençant ce gène dans son intégralité.
La mutation cT218C est retrouvée chez l'enfant Il en résulte sur la SP-C la substitution d'une isoleucine par une thréonine au niveau du codon 73 (I73T). Cette mutation est fortement associée aux pathologies respiratoires familiales et en particulier aux FPI. Cette mutation I73T, a été retrouvée chez le père de l'enfant ainsi que chez son frère aîné, tous deux en parfaite santé, alors qu'elle n'existe pas chez la mère.
Bien que des mutations de novo aient été décrites, le mode de transmission de cette mutation semble être autosomique dominant dans la majorité des cas décrits. Il semble par ailleurs que la mutation I73T puisse intéresser d'autres pathologies pulmonaires. Ceci suggère une hétérogénéité du phénotype des pathologies associées à cette mutation. Lorsque cette pathologie est symptomatique le patient nécessite une prise en charge spécifique et très spécialisée. Il n'existe toutefois pas de consensus sur la prise en charge des sujets mutés asymptomatiques. Certaines études suggèrent cependant que ces patients sont à haut risque de développer des signes cliniques.
Ces données incitent 1) à réaliser un suivi régulier des patients mutés 2) à rechercher cette mutation chez des patients à la symptomatologie évocatrice.

Mots-clés : fibrose pulmonaire idiopathique, protéine C du surfactant, gène *SFTPC*.

■P208 / 384. AMÉLIORATION CLINIQUE MAJEURE DE L'ÉRYTHRODERMIE ICHTYOSIFORME CONGÉNITALE SÈCHE DUE À DES MUTATIONS DU GÈNE DE LA LIPOXYGÉNASE 12B (ALOX12B)

J. Mazereeuw-Hautier (1, 2), P. Descargues (2), F. Jobard (3), J.L. Bonafé (1), J. Fischer (3), A. Hovnanian (2, 4)
(1) Service de Dermatologie, Toulouse ; (2) INSERM U563, Toulouse ; (3) Service de Génétique, Toulouse ; (4) Centre National de Génotypage, Évry

Les ichtyoses congénitales autosomiques récessives (ICAR) forment un groupe hétérogène de maladies génétiques cutanées d'évolution chronique, caractérisées par un épaississement et une desquamation généralisés de la couche cornée (ichtyose lamellaire), parfois associés à une érythrodermie

(érythrodermie ichtyosiforme congénitale sèche : EICS). Six gènes responsables d'ICAR ont été identifiés, dont le gène de la Lipoxygénase 12 (ALOX12B). À ce jour, seuls 3 patients atteints d'EICS due à des mutations de ce gène ont été rapportés. Les caractéristiques cliniques et évolutives des EICS dues à des mutations d'ALOX12B sont mal connues. Nous rapportons 2 enfants atteints d'EICS due à de nouvelles mutations du gène ALOXB12B, qui ont présenté une amélioration clinique majeure au fil des années.
Cas 1 : M. de sexe féminin, issue de parents non consanguins, est née bébé collodion à 28 SA. Elle a développé une EICS avec érythème marqué et fine desquamation, responsable d'un prurit réfractaire et invalidant. Elle n'a présenté que quelques rares épisodes de surinfection cutanée dans l'enfance. L'évolution s'est faite progressivement vers une amélioration majeure de l'érythème et plus modérée de l'état squameux. À l'âge de 10 ans, il ne persiste qu'un état squameux extrêmement discret. L'analyse moléculaire montre que l'enfant est hétérozygote composite pour 2 mutations du gène ALOX12B : une mutation faux sens dans l'exon 12 (p.R548W) et une délétion dans l'exon 13 (c.1668_1680del) conduisant à un décalage du cadre de lecture et un codon stop prématuré. Chacun de ses parents est porteur d'une des 2 mutations.
Cas 2 : J. de sexe féminin est née à terme de parents non consanguins avec un aspect de bébé collodion. L'enfant a développé une EICS avec un érythème extrêmement sévère, un ectropion bilatéral, de fines squames, un prurit réfractaire et invalidant. L'évolution dans la 1re année a été marquée par plusieurs épisodes de septicémie et un retard staturopondéral justifiant une alimentation entérale. À l'âge de 5 ans on note une très nette amélioration de l'ichtyose avec disparition du prurit et diminution de l'érythème. L'analyse moléculaire montre que l'enfant est hétérozygote composite pour une insertion-déletion dans l'exon 7 (c.845_846delGinsAA) et une mutation faux sens dans l'exon 13 (p.R565P). L'étude histologique réalisée à l'âge de 1 an montre une hyperplasie épidermique associée à une agranulose et une parakératose. Dans le derme superficiel on note la présence de nombreux vaisseaux ainsi qu'un infiltrat très dense. Le contrôle histologique réalisé à l'âge de 5 ans montre une réduction de l'hyperplasie épidermique mais surtout une très nette diminution du nombre de vaisseaux et de l'infiltrat inflammatoire.
ALOX12B appartient à la famille des gènes des lipoxygénases, enzymes qui catalysent l'oxygénation des acides gras polyinsaturés en dérivés hydroperoxides. La lipoxygénase 12B et ses métaboliques sont impliqués dans l'élaboration de la barrière cutanée, l'inflammation et le système neurogène, ce qui pourrait expliquer le phénotype des patients. Nous rapportons ici 4 nouvelles mutations du gène ALOX12B responsables d'EICS. Les délétions observées conduisent à des codons stop et prédisent la synthèse d'une protéine tronquée ou une dégradation de l'ARN médiée par le codon stop. Les substitutions observées sont non conservatives, surviennent au niveau du site catalytique, et pourraient donc entraîner une perte de fonction de l'enzyme. Ces 2 observations sont intéressantes car ces 2 enfants ont présenté une amélioration très significative de la symptomatologie cutanée au fil des années, ce qui ferait de l'EICS due à ALOX12B une ichtyose de bon pronostic. Cette donnée évolutive demande à être confirmée, mais pourrait permettre d'améliorer le conseil génétique donné aux familles.

Mots-clés : ichtyose, lipoxygénase, ALOX12B.

Référence

1. Jobard F *et al. Hum Mol Genet* 2002 ; 11 : 107-13.

■P209 / 387. ANÉVRISMES DE L'AORTE THORACIQUE ET/OU DISSECTIONS AORTIQUES (AAT/DA) FAMILIAUX : N'OUBLIONS PAS LE SYNDROME D'EHLERS-DANLOS DE TYPE VASCULAIRE !

P. Khau Van Kien (1), N. Pallares-Ruiz (1), A. Khau Van Kien (2), I. Queré (2), M. Claustres (1)
(1) Laboratoire de Génétique Moléculaire, IURC-CHU de Montpellier ; (2) Service de Médecine Interne et Maladies Vasculaires, CHU de Montpellier

Les anévrismes de l'aorte thoracique et/ou dissections aortiques (AAT/DA) familiaux non-syndromiques, constituent un groupe hétérogène de prédispositions mendéliennes essentiellement autosomiques dominantes. Plusieurs loci de prédisposition ont été identifiés (ie : TAAD1:5q13-14, TAAD2:11q23.2-24, FAA1:3p24-25, TAAD3:15q). Les AAT/DA peuvent également être en rapport avec des formes sub-cliniques de maladie de Marfan, de syndrome d'Ehlers-Danlos de type vasculaire (SED vasculaire) et de syndrome de Loeys-Dietz (mutation des gènes : FBN1, TGFBR2, COL3A1) ou causés par une mutation du gène MYH11 lorsqu'ils sont associés à des cas de persistance du canal artériel.
Nous avons eu l'opportunité de suivre une jeune femme avec une forte histoire familiale d'AAT/DA : 4 cas de mort subite, dont 2 en rapport avec une DA de type A chez son frère aîné (17 ans) et son oncle paternel (44 ans) et 2 sans données post-mortem disponibles chez son père (44 ans) et son grand-père paternel (38 ans). Les données d'interrogatoire et de son examen clinique révèlent qu'elle remplie les critères diagnostiques du SED vasculaire (selon la classification de Villefranche) : antécédent d'anévrisme rompu de l'artère splénique, peau fine, translucide et veloutée, hématomes facilement provoqués et histoire familiale positive.
Nous avons réalisé un test génétique basé sur le séquençage total de l'ADN complémentaire de COL3A1 obtenu à partir de la reverse-transcription d'ARN totaux extraits d'une culture de fibroblastes cutanés établie sur une biopsie cutanée. Les réactions de PCR sont réalisées en condition unique. Grâce à ce test nous avons identifié une transversion (c.1835C>A) résultant en la substitution d'un résidu glycine (p.Gly612Asp) dans le domaine répété Gly-X-Y de la triple hélice du collagène de type III. La confirmation de cette mutation à partir d'un prélèvement sanguin sur l'ADN génomique permet de disposer d'un test simple qui pourrait s'avérer utile à l'enquête familiale et au suivi préventif ciblé des apparentés.
Le SED vasculaire expose classiquement à des accidents vasculaires impliquant très majoritairement les artères musculaires de moyen calibre. Cependant, les accidents aortiques et notamment les AAT/DA qui grèvent le pronostic vital des patients, ne sont pas exceptionnels. Une particulière agrégation d'AAT/DA dans certaines familles touchées par le SED vasculaire est possible.
En conclusion, la possibilité d'un syndrome d'Ehlers-Danlos vasculaire doit être évaluée attentivement devant une forme familiale d'AAT/DA.

Mots-clés : Ehlers-Danlos vasculaire, anévrisme aortique, dissection aortique.

■P210 / 392. UNE NOUVELLE MUTATION DU GÈNE ND3 DE L'ADN MITOCHONDRIAL ASSOCIÉE À UN DÉFICIT ISOLÉ DU COMPLEXE I ET UN SYNDROME DE LEIGH DANS TROIS FAMILLES INDÉPENDANTES

E. Sarzi (1), D. Chretien (1), S. Lebon (1), A. Rötig (1), A. Munnich (1), M. Brown (2), V. Procaccio (3)
(1) INSERM U393, Genetics Department Necker Hospital, Paris, France ; (2) Mercer University School of Medicine, Macon, GA, USA ; (3) Center for Molecular and Mitochondrial Medicine and Genetics, University of California, Irvine, USA

Le complexe I (NADH : ubiquinone oxydoréductase) est le plus gros complexe de la chaîne respiratoire mitochondriale et les déficits de ce complexe représentent une des causes les plus fréquentes de maladie mitochondriale. Ce complexe est constitué d'au moins 46 sous-unités dont 7 sont codées par l'ADN mitochondrial (ADNmt). Plusieurs études ont rapporté qu'environ 20 % des déficits du complexe I sont dus à des mutations de l'ADNmt. Nous rapportons ici trois familles indépendantes présentant un syndrome de Leigh. La mère de la première famille d'origine française présente des difficultés à la marche et des migraines. Elle a trois enfants qui ont rapidement présenté dans les premières semaines de vie un syndrome de Leigh et un déficit isolé du complexe I dans le muscle et le foie. Le séquençage des gènes mitochondriaux du complexe I a permis de mettre en évidence une transversion homoplastique G en A au nucléotide 10197 (G10197A) du gène ND3 dans le muscle du patient. Dans les leucocytes de la mère, cette mutation se retrouvait avec un taux d'hétéroplasmie de 50 %. La deuxième famille, elle aussi d'origine française, comprend deux enfants atteints d'un syndrome de Leigh avec un déficit du complexe I identifié dans le foie et les fibroblastes. La mutation G10197A est présente à l'état homoplasmique dans ces tissus tandis que la mère présente 70 % de molécules mutées dans ses leucocytes. La mère de la troisième famille présente une dystonie apparue dans l'enfance et des lésions des noyaux gris. Elle a trois enfants atteints d'un syndrome de Leigh chez qui un déficit isolé du complexe I a été identifié dans le muscle et la mutation G10197A à l'état hétéroplasmique. La mutation G10197A modifie une alanine, acide aminé hydrophobe, en une thréonine, acide aminé hydrophile (A47T) dans une région très conservée de la sous-unité ND3. L'identification dans trois familles indépendantes de la mutation G10197A associée à un phénotype similaire établit la pathogénicité de cette mutation et montre l'importance de résidu A47 de ND3 dans la fonction du complexe I.

Mots-clés : mitochondrie, ADNmt, complexe I.

■P211 / 394. NOUVELLE IDENTIFICATION D'UNE MICRODÉLÉTION SUBTÉLOMÉRIQUE 6p CHEZ UN PATIENT ÉVOQUANT UN SYNDROME 3C (CRANIO-CÉRÉBELLO-CARDIAQUE, OU SYNDROME DE RITSCHER-SCHINZEL)

F. Petit (1), O. Boute-Bénéjean (1), J. Andrieux (2), M. Vinchon (3), M. Holder-Espinasse (1), A. Dieux-Coeslier, B. Delobel (2), S. Manouvrier-Hanu (1)

(1) Service de Génétique Clinique « Guy Fontaine », CHRU de Lille ; (2) Service de Cytogénétique, Hôpital Saint-Vincent-de-Paul, Lille ; (3) Service de Neurochirurgie, CHRU de Lille

Le syndrome 3C [OMIM # 220210] associe des malformations cérébelleuses de type Dandy-Walker, et cardiaques (anomalies septales le plus souvent), une dysmorphie cranio-faciale (macrocéphalie, front et occiput proéminents, hypoplasie de la racine du nez, hypertélorisme, fentes palpébrales obliques en bas et en dehors, colobome oculaire), ainsi qu'un retard mental modéré. Bien que ses bases moléculaires ne soient pas connues, le mode de transmission du syndrome 3C semblerait être autosomique récessif.

Nous rapportons l'observation d'un nouveau patient porteur d'une délétion 6p de novo, dont le phénotype est similaire à celui d'un syndrome 3C. Notre patient est le premier enfant d'un couple non apparenté sans antécédent, et présente un syndrome polymalformatif associant une malformation de Dandy-Walker, une communication inter-auriculaire, et une dysmorphie cranio-faciale tout à fait superposable à celle du syndrome 3C. Il présente également un retard psycho-moteur modéré.

L'étude cytogénétique par FISH a permis de mettre en évidence une microdélétion 6p25.3 non retrouvée chez ses parents. À notre connaissance, plus de 10 cas similaires ont été rapportés dans la littérature, soulignant l'importance d'étudier la région subtélomérique 6p dans les syndromes 3C afin d'orienter le conseil génétique. Cette microdélétion n'est pas retrouvée dans la totalité des cas (DeScipio *et al.*, 2005), des études moléculaires plus approfondies sont en cours afin de déterminer si un gène causal est localisé dans cette région critique ou bien s'il existe une hétérogénéité génétique.

Mots-clés : syndrome 3C, syndrome de Ritscher-Schinzel, microdélétion 6p.

■P212/ 396. ÉTUDE DU SOMMEIL CHEZ 21 ENFANTS ATTEINTS DE FORME INFANTILE DE MYOTONIE DE STEINERT

A. Jacquette (1), M.-A. Quera-Salva (2), M. Blumen (2), H. Radvanyi (3), B. Eymard (1), D. Héron (1)

(1) Service de Génétique Médicale et Institut de Myologie, Hôpital de la Pitié-Salpétrière, Paris ; (2) Laboratoire du sommeil, Hôpital Raymond-Poincaré, Garches ; (3) Service de biologie moléculaire, Hôpital Ambroise-Paré, Boulogne-Billancourt

La dystrophie myotonique de Steinert est une affection neuromusculaire autosomique dominante touchant l'adulte et l'enfant, dont le tableau clinique varie notamment en fonction de l'âge de début. La forme infantile, qui débute entre un et dix ans, se manifeste essentiellement par des difficultés d'apprentissage, une lenteur, une fatigue et une somnolence excessive.

La somnolence diurne excessive est une plainte fréquemment exprimée par les jeunes patients atteints de myotonie de Steinert et a des conséquences sociales importantes. Elle a été documentée chez des patients adultes, des traitements sont même disponibles, mais aucune étude n'a été menée chez l'enfant.

Nous avons donc réalisé une étude prospective de l'exploration du sommeil et de la vigilance chez 21 patients, âgés de 6 à 19 ans, atteints d'une forme infantile (non congénitale) de myotonie de Steinert. Tous ont bénéficié d'un examen clinique, d'un enregistrement polysomnographique nocturne et de tests itératifs d'endormissement. Ils ont également complété un questionnaire d'auto-évaluation de la somnolence diurne (Lecendreux).

Une somnolence diurne est objectivée chez 43 % des patients à l'aide du questionnaire d'auto évaluation, mais ces résultats sont en désaccord avec ceux des tests itératifs d'endormissement, qui ne sont pathologiques que chez un enfant. Par contre, des troubles du sommeil ont été mis en évidence chez 66 % des patients. 29 % ont un syndrome d'apnées du sommeil, principalement de nature centrale et 38 % ont un syndrome des mouvements périodiques de jambes.

Les apnées du sommeil ont déjà été décrites chez des enfants atteints de myotonie de Steinert, par contre, les mouvements périodiques de jambes n'ont jamais été rapportés chez ces enfants. Nous n'avons pas mis en évidence de lien entre ces symptômes et des critères cliniques ou moléculaires, cependant un score plus élevé au MDRS (Myotonic disability rating scale) et une fatigue plus importante sont plus fréquemment retrouvés en présence de trouble du sommeil.

Cette étude a permis (i) d'objectiver la nature et la fréquence des troubles du sommeil chez les enfants atteints de dystrophie myotonique de type I et (ii) d'envisager une thérapeutique adaptée au type de trouble, susceptible d'améliorer les performances scolaires de ces enfants, en diminuant la fatigabilité et la somnolence diurne.

Mots-clés : myotonie de Steinert, somnolence diurne excessive, mouvements périodiques de jambes.

■P213 / 413. MANIFESTATIONS CUTANÉES ET NEUROLOGIQUES TRÈS SÉVÈRES DANS UN CAS DE XERODERMA PIGMENTOSUM DU GROUPE XP-A FAISANT DISCUTER UNE FORME XP-COCKAYNE

A. Goldenberg (1), X. Balguerie (2), P. Young (2), A. Charollais (3), M.C. Boullié (2), D. Dehesdin (4), T. Frébourg (1), A. Sarasin (5)

(1) Service de Génétique, CHU de Rouen ; (2) Service de Dermatologie, CHU de Rouen ; (3) Service de Néonatalogie, CHU de Rouen ; (4) Service d'ORL et de Chirurgie Cervico-Faciale, CHU de Rouen ; (5) UPR2169 CNRS, Institut Gustave-Roussy, Villejuif

Le Xeroderma Pigmentosum (XP) est un syndrome autosomique récessif rare dû à des mutations de l'un des sept gènes permettant la réparation de l'ADN par excision de nucléotides. Il est caractérisé cliniquement par une photosensibilité oculaire et cutanée majeure et un risque extrêmement accru de cancers cutanés. Environ 30 % des cas s'accompagnent de troubles neurologiques (surdité, neuropathie périphérique, retard mental, microcéphalie). Certains patients XP présentent l'association d'un XP et de signes caractéristiques du syndrome de Cockayne (retard staturo-pondéral sévère, ataxie, retard mental, dysmorphie, rétinite pigmentaire), ce qui définit le syndrome XP-Cockayne. Nous rapportons ici l'observation d'un patient appartenant au groupe de complémentation XP-A et chez qui l'efficacité de réparation des lésions induites par les UV est quasiment nulle. L'enfant BL, âgé des 9 ans, est issu de parents consanguins d'origine française. La symptomatologie a débuté à l'âge de 9 mois par une photosensibilité sévère responsable de lésions érythématobulleuses puis croûteuses des régions photoexposées des mains et du visage. L'évolution initiale a été marquée par l'apparition progressive de troubles pigmentaires et d'une poïkilodermie dans les mêmes localisations, ayant fait évoquer en premier lieu un syndrome de Rothmund-Thomson. Sur le plan dermatologique, l'évolution est sévère puisque à l'âge de 9 ans, cet enfant a déjà présenté plusieurs lésions pigmentaires ambiguës (mélanome malin intraépidermique, naevus de Spitz, naevus de Reed, plusieurs lésions cliniquement atypiques), de nombreuses lésions de kératose actinique, deux kérato-acanthomes et cinq carcinomes basocellulaires. Toutes ces lésions siègent dans les régions photoexposées. Il existe de plus une conjonctivite chronique avec poussées de kératite. D'autre part, cet enfant présente une absence de langage, un retard mental et psychomoteur sévère, une ataxie, une surdité et un retard de croissance staturale (-2DS) avec microcéphalie (-4DS). Les explorations neurologiques sont normales (IRM, vitesse de conduction) alors que l'enfant présente des malaises à type d'absence atypique depuis peu. Cette observation illustre la gravité de certaines formes XP-A, groupe de complémentation particulièrement rare en France et caractérisé par l'existence de formes très sévères aussi bien sur le plan dermatologique que neurologique. Les signes neurologiques associés ont été décrits sous l'appellation de syndrome de De Sanctis-Cacchione. Cette observation fait discuter un chevauchement phénotypique avec les formes XP-Cockayne. Enfin, cette observation soulève des problèmes majeurs de prise en charge liés à la difficulté d'imposer une photoprotection efficace dans un contexte de retard mental et troubles du comportement majeurs en institution spécialisée.

Mots-clés : xeroderma pigmentosum, Cockayne, UV.

■P214 / 418. DÉFICIT EN CRÉATINE PAR DÉFICIT EN GAMT CHEZ DEUX ENFANTS ET DIAGNOSTICS PRÉNATALS DANS LA FRATRIE

C. de La Rochebrochard (1), A. Goldenberg (1), F. Laurence (2), V. Drouin-Garraud (1), G.S. Salomons (3), S. Marret (4), V. Desportes (2), T. Frebourg (1), D. Cheillan (5)

(1) Service de Génétique, CHU de Rouen ; (2) Service de Neuropédiatrie, Hôpital Debrousse, Lyon ; (3) Department of Pediatrics, Amsterdam, Holland ; (4) Service de Réanimation Pédiatrique-Néonatalogie, CHU de Rouen ; (5) Laboratoire de Biochimie Pédiatrique, Hôpital Debrousse, Lyon

Le déficit en GAMT (guanidoacétate méthyltransferase) est une pathologie autosomique récessive rare appartenant aux syndromes de déficit en créatine. Le déficit en GAMT est à l'origine d'une encéphalopathie progressive associant une déficience mentale et des troubles neurologiques à type d'épilepsie et de signes extrapyramidaux. Parfois un retard de langage, un déficit cognitif et des troubles du comportement de type autistique sont notés sans signes neurologiques ni convulsions. Le diagnostic est suspecté devant l'association d'un taux élevé de guanidoacétate et d'un taux bas de créatine dans les urines et/ou sur l'absence de créatine intracérébrale en spectroscopie à résonance magnétique. La confirmation diagnostique est obtenue

par mesure de l'activité enzymatique de la GAMT et/ou par criblage du gène. Nous rapportons ici deux cas de déficit en GAMT identifiés chez des enfants présentant un retard psychomoteur et ayant permis d'emblée la réalisation de diagnostics prénatals dans la fratrie. 1. LS âgée de 3 ans est l'enfant unique d'un couple consanguin d'origine française. Elle a présenté un retard de la station assise (10 mois). Un arrêt du langage a été noté à 13 mois. La marche a été acquise à 18 mois. À l'âge de 19 mois le retard psychomoteur global est patent et s'accompagne de troubles du comportement et de la relation. À l'âge de 3 ans, le langage est extrêmement pauvre (5 mots), et on note de grandes difficultés de socialisation ainsi qu'un retard de la motricité fine dans le contexte d'un retard mental important. Elle n'a jamais convulsé (EEG normal) et l'IRM est normale. Les taux de créatine urinaire et plasmatique sont augmentés. Le criblage du gène GAMT a révélé une mutation homozygote (c.327 G>A). La mère étant enceinte de 8 SA, un diagnostic prénatal a été proposé par ponction de villosités choriales et recherche de la mutation identifiée. Le fœtus n'était pas atteint. 2. CCD, dix ans, est le deuxième enfant de parents cousins germains d'origine algérienne, issu d'une grossesse gémellaire dizygote spontanée. Il présente un retard psychomoteur, a acquis la marche à 30 mois, n'a pas acquis le langage à 4 ans. À partir de 4 ans et demi, il a présenté des crises tonico-cloniques généralisées et des troubles du comportement (hétéroagressivité, agitation motrice). Une augmentation des taux de créatine urinaire et plasmatique a été retrouvée. Une spectroscopie à résonance magnétique a montré l'absence de créatine intracérébrale et la mise en évidence d'une mutation homozygote dans le gène GAMT (c.148 A>C) a confirmé le diagnostic. La mère étant enceinte à 14 SA, un diagnostic prénatal a été proposé par prélèvement de liquide amniotique. Les études moléculaires et biochimiques menées conjointement ont montré que le fœtus était atteint, ce qui a conduit à une interruption médicale de grossesse. Ces observations soulignent la variabilité de la présentation clinique du déficit en GAMT et ainsi l'importance du dépistage systématique des troubles du métabolisme de la créatine devant un retard mental inexpliqué. L'efficacité du traitement actuellement proposé associant créatine et fortes doses d'ornithine méritera d'être évalué à moyen et long terme chez ces deux enfants.

Mots-clés : créatine, GAMT, retard mental.

■P215 / 457. TROUBLES DE CONDUCTION CARDIAQUE PROGRESSIFS ASSOCIÉS À UN PR COURT DANS UNE FAMILLE AVEC MUTATION DU GÈNE PRKAG2

Pochmalicki G. (1), Richard P. (2), Genest M. (1), Komajda M. (3), Charron P. (4)

(1) Service de Cardiologie, CH Provins ; (2) UF Cardiogénétique Fédération de Génétique ; (3) Département de Cardiologie, (4) Département de Génétique, CHU Pitié-Salpêtrière, Paris

Introduction : Diverses mutations du gène PRKAG2, codant la sous unité gamma 2 de la protéine kinase activée par l'AMP, ont été décrites comme pouvant conduire à un syndrome de Wolff-Parkinson-White (WPW) (expression d'une voie électrique cardiaque accessoire) ou bien à une hypertrophie ventriculaire gauche pouvant mimer une cardiomyopathie hypertrophique (CMH). Les anomalies sont souvent associées, mais elles sont parfois dissociées. Le pronostic apparaît globalement très péjoratif. Objectif : Rechercher l'implication du gène PRKAG2 dans une famille avec un phénotype particulier caractérisé par l'absence de syndrome de WPW, l'absence d'hypertrophie cardiaque ou CMH, mais des troubles de conduction progressifs associés à un PR court. Méthodes et résultats : Cinq membres de la famille J, sur trois générations, ont été étudiés. La grand-mère (I-1) est suivie en raison de lipothymies et le tracé ECG montrait un espace PR court (< 120 ms), un bloc de branche droit et un hémibloc antérieur gauche. Le diagnostic de dysfonction sinusale a conduit à l'implantation d'un pace maker à 66 ans. Sa fille (II-1), 49 ans, se plaint de palpitations, l'ECG montre un PR court sans onde delta, un bloc de branche droit, un hémibloc antérieur gauche. L'exploration électrophysiologique a retrouvé une voie de conduction accessoire. Sa sœur (II-2) est asymptomatique mais son ECG montre un PR court avec aspect d'hypertrophie bi-auriculaire. La fille de II-1 (III-1), 22 ans, présente des palpitations liées à des extrasystoles auriculaires. L'ECG retrouve un PR court, une hypertrophie bi-auriculaire, et un bloc de branche droit. Son frère (III-2) est asymptomatique, l'ECG est normal. Aucune hypertrophie ventriculaire gauche n'a été retrouvée en échographie dans la famille. L'analyse du gène PRKAG2 par séquençage a permis de retrouver la mutation R302Q chez les quatre personnes avec ECG anormal. La mutation est absente dans une population de 200 chromosomes contrôles. Conclusion : Nous avons identifié une mutation du gène PRKAG2 responsable d'un phénotype particulier caractérisé par des troubles progressifs de la conduction électrique (bloc de branche droit puis hémibloc antérieur gauche puis dysfonction sinusale sévère) contrastant avec un PR court. Il n'y a pas de cas de CMH dans la famille et pas non plus de syndrome ECG de WPW. Ces résultats suggèrent à la fois une entité clinique distincte de celles précédemment décrites, et son lien avec le gène PRKAG2.

Mots-clés : *PRKAG2*, troubles conduction, cardiologie.

■P216 / 463. DYSPLASIE OSSEUSE AVEC GRANDE TAILLE ET CROISSANCE ANOMALE DES GROS ORTEILS : DESCRIPTION DE 4 CAS DONT DEUX PRÉSENTANT UNE TRANSLOCATION ÉQUILIBRÉE IMPLIQUANT LA RÉGION CHROMOSOMIQUE 2q37

N. Philip (1), E. Balsamo (1), C. Missirian (1), M. Le Merrer (2), G. Plessis (3), P. Cacciagli (1), A. Moncla (1), L. Villard (4)

(1) Département de Génétique Médicale, Hôpital d'enfants de la Timone, Marseille ; (2) Service de Génétique, Hôpital Necker-Enfants malades, Paris ; (3) Service de Génétique, Caen ; (4) Inserm U491, Marseille

Nous rapportons un nouveau phénotype osseux chez quatre enfants présentant une grande taille entre +4 et +5 DS, une arachnodactylie, et une dysplasie osseuse généralisée. Le signe le plus caractéristique, présent chez les 4 patients était une croissance très anormale des deux gros orteils ayant justifié pour deux d'entre eux une intervention chirurgicale de raccourcissement. L'examen radiologique du squelette a mis en évidence un aspect très allongé des premières et deuxièmes phalanges, des lésion métaphysaires évolutives prédominant au niveau des cols fémoraux, de l'extrémité supérieure de l'humérus et des extrémités inférieures du radius, du cubitus et du tibia et du péroné avec un aspect strié des métaphyses. Le développement psychomoteur était normal dans tous les cas. Les bilans hormonaux réalisés chez deux patients ont montré des résultats normaux. Il s'agissait de deux cas sporadiques et de deux frères issus de parents consanguins. Le caryotype des deux cas sporadiques a montré l'existence chez chacun d'entre eux d'une translocation chromosomique équilibrée impliquant le chromosome 2 : t(2;8) (q37 ; q21) et t(2 ; 13) (q37.1 ; q22), respectivement. Les caryotypes parentaux étaient normaux dans les deux cas indiquant que ces translocations étaient survenues de novo. Une étude en hybridation in situ à l'aide de Bacs du chromosome 2 a montré que les points de cassure des deux translocations étaient distincts. Les deux bacs chevauchants les deux points de translocation sont distants de 14 Kb et recouvrent une régions chromosomique 554 Kb. Ceci permet d'évoquer soit un effet de position, soit l'interruption d'un gène de grande taille. Le clonage des deux points de cassure est encours.

Mots-clés : dysplasie osseuse, grande taille, remaniement chromosomique.

■P217 / 467. SYNDROME DE KLINEFELTER ET DÉLÉTION TERMINALE D'UN CHROMOSOME 15 CHEZ UN NOURRISSON AYANT UN RETARD DE CROISSANCE, UN RETAD PSYCHOMOTEUR ET UNE DYSMORPHIE

D. Amram (1), D. Reboul (2), C. Arnould (2), J. Chiesa (2)

(1) Service de Pédiatrie néonatale CHU de Nîmes ; (2) Unité de Cytogénétique CHU de Nîmes

Nous rapportons l'observation de EM, garçon de 3 ans et demi qui a un retard de croissance, un syndrome dysmorphique et un retard psychomoteur. EM est né à terme, poids de naissance 2,420 kg taille de naissance 45,5 cm, PC : 32 cm il présente une hypotonie, un retard de langage, et des troubles du comportement à type de colère.

À 3 ans et 10 mois son poids est de 11,630 kg (< 3e percentile) sa taille est de 94 cm (-2 DS) son PC est de 46,5 cm (<-2DS). La dysmorphie comporte une microcéphalie, un hypertélorisme, un blépharophimosis, un microrétrognatisme, une clinodactylie des 5e doigts et un pied gauche valgus Le caryotype : 47,XXY del(15)(q26.1), caryotype de Klinefelter associé à une délétion terminale d'un des deux chromosomes 15 responsable d'une monosomie partielle 15q26.115qter. Le caryotype des parents est normal. Discussion : Le tableau clinique est en accord avec les autres cas rapportés de del 15q ter et en contretype avec le phénotype relatif à une trisomie 15q26.1-qter. Le gène IGF1R (Insulin-like Growth Factor 1 Receptor) a été localisé en 15q26.1 ce qui explique le retard de croissance des enfants présentant cette délétion. L'absence d'un IGF1R sera affirmée par hybridation in situ sur métaphase à l'aide d'une sonde fluorescente spécifique du IGFR1, l'origine maternelle ou paternelle du chromosome 15 délété par PCR sur des microsatellites informatifs du 15, idem pour le chromosome X surnuméraire. Les délétions terminales du chromosome 15 sont rares dans la littérature 7 cas rapportés, il faut y penser comme étiologie possible devant un retard de croissance associé à un retard mental et à une dysmorphie. L'association Klinefelter et délétion terminale du 15 n'a pas été décrite à ce jour ; la seule observation est celle d'un Willi-Prader.

Mots-clés : délétion du chromosome 15, syndrome de Klinefelter, retard de croissance.

■P218 / 469. SYNDROME DE SOTOS AVEC NEUROBLASTOME : ABSENCE DE PERTE D'HÉTÉROZYGOTIE AU LOCUS NSD1 ET D'ANOMALIE DE L'EMPREINTE AU LOCUS WIEDEMAN-BECKWITH AU SEIN DE LA TUMEUR

C. Bonnet (1), L. Mansuy (2), P. Chastagner (2), C. Philippe (3), V. Cormier-Daire (4), N. Rahman, S. Rossignol (6), Y. LeBouc (6), P. Jonveaux (3), B. Leheup (1)

(1) Service de Médecine Infantile III et de Génétique Clinique, CHU de Nancy ; (2) Service d'Hématologie Pédiatrique, CHU de Nancy ; (3) Laboratoire de Génétique, CHU de Nancy ; (4) Service de Génétique, Hôpital Necker, Paris ; (5) The Institute of cancer Research, Sutton, UK ; (6) Laboratoire d'explorations fonctionnelles endocriniennes, Hôpital Armand-Trousseau, Paris

Objectifs : Le syndrome de Sotos est classiquement associé à une augmentation du risque tumoral. Depuis la mise en évidence de mutations du gène NSD1, l'éventuelle perte d'hétérozygotie ou une altération de l'empreinte du locus Wiedeman-Beckwith n'ont pas été étudiés chez des patients présentant une mutation de NSD1. Méthodes : Nous rapportons l'observation d'une fille, seule enfant d'un couple sans antécédent particulier. Les mensurations à la naissance sont dans les limites de la normale (taille 52 cm, poids 3 600 g, PC : 36 cm). Il existe à la naissance un angiome plan important de la racine du nez. Elle présente une croissance post-natale très rapide avec accélération de la croissance du PC, de la taille et du poids après l'âge de trois mois. Elle est vue pour la première fois à l'âge d'un an. La taille est de 81 cm (+3 DS), le poids est de 12,5 kg (IMC 19,2 supérieur au 75e percentile) et le PC de 51,5 cm (+5 DS). La dentition lactéale est anticipée avec les premières dents apparues à 5,5 mois. Il existe une discrète asymétrie corporelle. Le développement moteur est retardé avec une position assise instable à l'examen clinique. L'association clinique est très suggestive du syndrome de Sotos. L'association d'une scoliose à l'âge de 14 mois conduit au diagnostic d'un neuroblastome thoracique sans amplification de l'oncogène N-myc traité par exérèse chirurgicale macroscopiquement complète. L'étude moléculaire du gène NSDS1 a été réalisée sur sang et la perte d'hétérozygotie au locus NSD1 sur un prélèvement tumoral a été recherchée par étude du profil des marqueurs microsatellites de la région. L'analyse du profil de méthylation de la région Wiedemann Beckwith sur le chromosome 11p15 (H19 et KCNQ01T1) a été réalisée sur leucocytes sanguins et sur la tumeur par Southern blot. Résultats : Une mutation du gène NSD1 conduisant à un décalage du cadre de lecture a été démontrée (c.1766_1767delC>T). L'amplification de l'exon 5 du gène NSD1 à la recherche de la mutation présente a clairement affirmé l'état hétérozygote de la mutation sur l'ADN tumoral. Les profils sanguin et tumoral des locus H19 et KCNQ01T1 sont normaux. Conclusion : Le développement tumoral avec apparition d'un neuroblastome dans cette observation ne semble pas être associé avec une perte d'hétérozygotie au locus NSD1 ou au locus 11p15, ni à une modification détectable du profil de l'empreinte parentale de la région11p15.

Mots-clés : syndrome de Sotos, tumeur, empreinte parentale.

■P219 / 482. TIPLET CTG ET DYSFONCTIONNEMENT COGNITIF DANS LA FORME INFANTILE DE LA DM1

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

(1) Service de génétique clinique, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris ; (2) Service de Maladies Neuromusculaires, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris

La dystrophie myotonique type 1 (DM1) est la plus fréquente des affections musculaires héréditaires non liée au sexe. On estime sa prévalence à 1/8000 naissances environ, mais celle-ci est probablement sous estimée du fait de la non-reconnaissance de forme frustres ou atypiques. L'atteinte cérébrale et cognitive associée à cette maladie se décline d'un retard mental, caractéristique des formes congénitales (Ashizawa, 1998), à une atteinte sélective de type dysexécutif et/ou visuo-spatial (Meola, 2003) dans la forme classique de l'adulte. À notre connaissance, très peu de recherches se sont penchées sur l'étude de corrélations phénotype-génotype dans la forme pédiatrique non-congénitale de la DM1 (i.e., la forme infantile). Notre objectif est d'opérationnaliser l'hypothèse, pour ce phénotype clinique spécifiquement, d'un dysfonctionnement cognitif relevant (1) du mode de transmission (maternel versus paternel) et (2) de la taille de l'expansion du triplet CTG. 36 sujets présentant la forme infantile de la DM1 (21 de transmission maternelle, 15 de transmission paternelle) ont participé à une batterie de tests évaluant à la fois l'efficience intellectuelle (WISC/WAIS) mais aussi les fonctions exécutives (TMT, Stroop, Fluence, Digit Span) et visuo-spatiales (Cubes de khos, Figure de Rey). Nos résultats mettent en évidence deux patrons de dysfonctionnement cognitif : (1) dans le groupe transmission maternelle, on observe une amplification significative de la taille du triplet CTG chez l'enfant, celle-ci étant fréquemment associée à une déficience intellectuelle légère (en termes de QIV, QIP et QIT). (2) Les sujets dont le père est atteint, présentent des expansions plus réduites, mais démontrent néanmoins des atteintes cognitives sélectives (fonctions exécutives) touchant essentiellement la mémoire de travail auditivo-verbale (processus attentionnels, shifting, contrôle inhibiteur) et les capacités de planification de l'action dans le domaine visuo-constructif. L'objectivation du type d'atteinte (globale versus sélective) et des processus ou fonctions altérées (processus attentionnels, planification) devrait trouver des bénéfices directs à la fois dans la prise en charge de l'enfant mais également lors du conseil génétique.

Mots-clés : triplet CTG, forme infantile (DM1), dysfonctionnement cognitif.

■P220 / 1003. UN CAS FAMILIAL D'ATAXIE-TÉLANGIECTASIE DE L'ADULTE

K. Nguyen (1), C. Missirian (1), A. Moncla (1), B. Quilicchini (1), D. Stoppa-Lyonnet (2), J.P. Azulay (3)

(1) Département de Génétique Médicale, CHU Timone, Marseille ; (2) Service de Génétique Oncologique, institut Marie-Curie, Paris ; (3) Service de Neurologie, CHU Timone, Marseille

L'ataxie-télangiectasie est une maladie autosomique récessive dûe à des mutations perte de fonction dans le gène ATM qui code une protéine nucléaire impliquée dans la réparation de l'ADN et la régulation du cycle cellulaire. Il existe un phénotype variant d'ataxie-télangiectasie, \"mild\", caractérisé par un début plus tardif que dans la forme classique, une progression plus lente et une instabilité chromosomique atténuée. Le phénotype variant associe volontiers une neuropathie périphérique sévère, des mouvements anormaux de type dystoniques ou choréiques, alors que les télangiectasies et le déficit immunitaire peuvent être absents. Nous rapportons un cas familial d'ataxie-télangiectasie \"mild\" et soulignons les difficultés diagnostiques de cette ataxie à début tardif. De plus, nous discutons le problème de la grossesse chez une jeune femme atteinte et de la perturbation du triple test sérique due à l'élévation majeure de l'alpha-fœtoprotéine dans le sang maternel. Deux sœurs agées de 32 et 30 ans nées d'une union consanguine, présentaient une ataxie cérébelleuse de début précoce vers 10 ans associée à une dystonie cervicale importante et des anomalies oculomotrices. La sœur cadette était plus sévèrement atteinte. Elles n'avaient pas de télangiectasie ni de problèmes de tumeurs ni d'infections à répétition. À l'âge adulte, la dystonie cervicale était au premier plan. L'alpha-fœtoprotéine était très élevée chez les deux patientes, à 15 fois la normale. Le caryotype avec agent clastogène a montré des cassures chromatidiennes et des remaniements chromosomiques pathognomoniques à type de translocations (7,14). L'analyse du gène ATM a identifié une mutation faux-sens homozygote Leu2068Ser non décrite. La sœur aînée moins atteinte, a débuté une grossesse qui se passe sans problème actuellement. Le conseil génétique est rassurant.

Mots-clés : ataxie-télangiectasie variant, gène *ATM*, translocation (7 ; 14).

■P221 / 1022. ANALYSE DE DIX MUTATIONS RARES DE L'ADNmt POUR DES PATIENTS

M. Pinheiro-Fazenda (1), S. Szpiro-Tapia (2), A. Bazin (2), V. Geromel (1)

(1) Laboratoire Pasteur-cerba, Unité de biologie Moléculaire Génomique, Cergy-Pontoise ; (2) Laboratoire Pasteur-cerba, Département de Génétique, Cergy-Pontoise

L'atrophie optique de Leber (LHON Leber Heretity Optic Neuropathy) est une maladie caractérisée par la perte rapide de la vision centrale par dégénérescence du nerf optique vers l'âge de 20 ans. Plus de 30 mutations dans l'ADN mitochondrial ont été observées pour l'atrophie optique de Leber. Plus de 90 % des cas d'atrophie optique de Leber sont le résultat de la présence d'une des trois mutations primaires : G11778A, G3460A, T14484C, toutes impliquant des gènes codant des sous-unités du complexe I de la chaîne respiratoire mitochondriale. D'autres mutations sont connues en tant que \mutations secondaires\", car elles sont habituellement associées à une mutation primaire. Il semble que ces mutations secondaires ne peuvent pas modifier l'évolution et l'expression clinique de la maladie. Environ 5 % des individus atteints d'atrophie optique de Leber ne présentent pas l'une des trois mutations primaires mais l'exploration de ces familles est rendue difficile étant donné le caractère très polymorphe de l'ADN mitochondrial. Plusieurs mutations de l'ADN mitochondrial ont été décrites au sein d'une seule famille cependant, un changement de base dans l'ADN mitochondrial ne peut pas être considéré comme pathogène tant que ce changement n'a pas été observé au moins

à deux occasions ou plus, et seulement avec un tableau clinique évocateur d'une atrophie optique de Leber. Nous avons recherché par séquençage la présence de dix mutations rares (G3496T, C3497T, T4216C, 13708A, G15257A, G3460A, T4160C, G7444A, A9016G, T9101C) sur trente sept patients atteints d'atrophie optique de Leber et pour lesquels aucune des trois mutations primaires n'avait été détectée. Seize variations nucléotidiques à l'état homoplasmique ont été observées. Treize entre elles ont été considéré des polymorphismes (MitoMap). Pour quatre patients, la mutation secondaire T4216C a été retrouvée associée à une autre mutation secondaire, la G15257A ou la G13708A, toujours à l'état homoplasmique. Pour ces patients les deux mutations sont probablement la cause de l'atrophie optique de Leber. Pour trois patients, une seule variation a été observée : T4216C, A13708G ou T3308C, et la nature pathogénique de ces mutations secondaires à l'état homoplasmique reste douteuse. D'autre part, la mutation T3308C à l'état homoplasmique, et toujours associée à d'autres variations nucléotidiques, a aussi été décrite chez un patient espagnol atteint de MELAS et chez un autre patient pour une tumeur colorectale.

Mots-clés : Leber, homoplamique, ADNmt.

■P222 / 1025. SYNDROME DE MOWAT-WILSON ET SYNDROME DE GOLDBERG-SHPRINTZEN, À PROPOS DE 3 CAS DANS 2 FAMILLES

S. Fontaine-Carbonnel (1), M.L. Poli-Merol (2), C. Leroy (3), N. Bednarek (1), J. Motte (1), F. Dastot-Lemoal (4), M. Goossens (4), M. Doco-Fenzy (3), D. Gaillard (3)
(1) Pédiatrie ; (2) Chirurgie pédiatrique ; (3) Génétique, CHU Reims, Inserm U514, IFR 53 ; (4) Biochimie et Génétique, Hôpital H. Mondor, Inserm U468, Créteil

Les syndromes de Mowat-Wilson (SMW) et de Goldberg-Shprintzen (SGS) associent une maladie de Hirschsprung, une dysmorphie faciale, un retard mental et diverses malformations. Les phénotypes se ressemblent, mais leur mode de transmission est différent. Il était difficile de les distinguer avant la description de délétions partielles du bras long du chromosome deux, puis l'identification de l'homéogène en doigt de zinc ZFHXB1 (SIP1) en 2001. Actuellement une trentaine de SMW sporadiques ont été décrits avec mutation. Nous rapportons 3 cas de maladie de Hirschspung associés à une dysmorphie et un retard, sans anomalie cytogénétique, avec étude de ZFHXB1. H. 3e geste, 2e pare, d'un couple non apparenté, présentait une artère ombilicale unique et une dilatation pyélocalicielle bilatérale à l'échographie anténatale. Il est né à terme, eutrophique avec un périmètre crânien normal, un hypertélorisme, des fentes palpébrales obliques en bas et en dehors, des yeux enfoncés, des lobes très épais et haut au niveau des oreilles, un hypospade balanique. Rapidement une occlusion a conduit au diagnostic de maladie de Hirschsprung rectosigmoidienne, puis une hernie inguinale avec ectopie testiculaire. Le séquençage du gène ZFHXB1 a mis en évidence une mutation non sens K878X dans l'exon 8, à l'état hétérozygote, non retrouvée chez les parents. L'IRM cérébrale a révélé une image d'hétérotopie dans la paroi du ventricule gauche, sans anomalie du corps calleux. H. a marché à 2 ans et présenté un retard du langage, sans épilepsie, avec une croissance harmonieuse. C. est le premier fils d'un couple de cousins germains, est né à terme à 3,2 kg et un périmètre crânien de 32 cm. Il a été opéré pour une maladie de Hirschsprung rectosigmoidienne et adressé en génétique à 3 ans pour retard des acquisitions, mais de nature joyeuse et une dysmorphie avec un occiput plat, un petit périmètre crânien, des fentes palpébrales obliques en bas et en dehors, un ptosis bilatéral, de grandes oreilles décollées avec un lobe épais et haut, un palais très ogival, des doigts fins. Il présentait une dysplasie des valves aortiques. L'IRM cérébrale ne montrait pas d'images anormales. La recherche de mutations dans le gène ZFHXB1 est revenue négative. Son frère cadet n'avait aucun problème et le couple, informé du risque possible de récidive, a souhaité une nouvelle grossesse. L'échographie anténatale a détecté un rein kystique et une courbe de croissance normale. À la naissance à terme, R. avait des mensurations normales, mais la même dysmorphie que son grand frère et une maladie de Hirschsprung. Au cours de l'évolution, C. et R. avaient un caractère joyeux, sans épilepsie, une microcéphalie pour C., alors que le retard de langage était plus marqué pour R. La première observation correspond à un cas sporadique de SMW, sans retard majeur, lié à une mutation de novo. Pour la deuxième famille avec notion de consanguinité, absence de mutation du gène ZFHXB1, le diagnostic de SGS peut être retenu, avec 25 % de risques de récidives pour une nouvelle grossesse, une expression clinique variable dans la famille, sans marqueur moléculaire actuellement connu.

Mots-clés : Hirschsprung, *ZFHXB1*, retard mental.

■P223 / 1028. DYSPLASIE SPONDYLO-EPIPHYSAIRE AVEC OSTÉOLYSE CARPO-MÉTACARPIENNE PRIMITIVE : UNE NOUVELLE OSTÉODYSPLASIE DOMINANTE

Kanetee Busiah (1), Martine Le Merrer (2), Pierre Maroteaux (2), Alain Verloes (1, 3)
*(1) Unité de génétique clinique ; * Dept de Génétique médicale, Hôpital Robert-Debré, Paris, France ; (2) Département de génétique clinique et INSERM U393, Hôpital Necker-Enfants-Malades, Paris, France ; (3) INSERM U6764, Hôpital Robert-Debré, Paris, France*

Nous vous présentons une nouvelle forme d'ostéodysplasie dominante, dont les principales caractéristiques sont l'association d'une dysplasie spondylo-épiphysaire (DSE) avec une ostéolyse carpo-métacarpo-phalangienne primitive. La DSE est une entité clinique hétérogène comprenant de nombreuses anomalies squelettiques, atteignant tout particulièrement la colonne vertébrale et l'épiphyse proximale des os longs. Nous vous rapportons l'histoire clinique et radiologique d'une femme de 42 ans et de son fils. Cette femme souffrait durant son enfance et son adolescence, d'une dysplasie osseuse rachidienne et fémoro-épiphysaire primitive évolutive. Cette dysplasie fut décrite radiologiquement comme semblable aux dysplasies spondylo-épiphysaires tardives liées à l'X. À l'âge adulte, sont apparus des lyses des os de la main, ce qui n'a jamais été rapporté dans les DSE.

Mots-clés : dysplasie spondylo-épiphysaire, acro-ostéolyse, ostéodysplasie.

■P224 / 1030. QUE PEUT APPORTER GENATLAS EN RECHERCHE CLINIQUE ?

Turleau C. (1), Chauvet M.L. (1), Tanin K. (1), Dumesnil S. (1), Poizot N. (1), Frézal J. (1), Mugnier C. (2), Le Merrer M. (1)
(1) INSERM U393, Hôpital Necker, 145, rue de Sèvres, Paris ; (2) DSI Université Paris-Descartes, Rue de l'école de médecine, 7505 Paris

Genatlas est une base de données généraliste qui a pour objet d'enregistrer et d'intégrer les informations issues de la littérature. Il est également un portail d'entrée vers de nombreuses bases spécialisées. Un des points faibles des principales bases de données en génétique est l'insuffisance d'informations cliniques permettant la confrontation des données médicales et biologiques. En effet la description d'un nombre croissant de mutations n'est pas toujours corrélée à la variabilité phénotypique sinon dans quelques bases de données récentes dédiées à des gènes ou des maladies précises. Genatlas pour sa part a toujours fait une large place à la description des phénotypes. De nouvelles fonctionnalités actuellement disponibles portent sur : i) une fiche « phénotype » plus complète incluant les mécanismes physiopathologiques (type de mutation ou d'anomalie chromosomique, effet sur la protéine), la prévalence et les corrélations phénotype/génotype disponibles ii) les nouvelles pathologies chromosomiques, liées aux microdélétions/microduplications et désordres génomiques, généralement absentes des bases de données ont été largement introduites iii) une troisième fonctionnalité est en cours de développement. Elle permettra de retrouver un syndrome clinique à partir de quelques signes spécifiques grâce à la mise à disposition d'un thésaurus compatible avec les systèmes d'aide au diagnostic de référence que sont Possum et LDDB. L'identification du syndrome permettra d'accéder à l'ensemble des renseignements concernant le ou les gène(s) correspondants, ses mutations, son profil d'expression, etc. Genatlas poursuit son objectif d'aider la communauté scientifique et médicale à accéder de façon simple et rapide aux informations essentielles en matière de génétique tout en offrant de nombreux liens vers des bases spécialisées qui permettront à chacun d'obtenir une réponse ciblée.

Mots-clés : bases de données, corrélation génotype phénotype, recherche clinique.

■P225 / 1038. ÉTUDE DE L'EXPRESSION CLINIQUE D'UNE MUTATION INACTIVATRICE DU GÈNE PTHR1 PRÉSENTE À L'ÉTAT HÉTÉROZYGOTE OU HOMOZYGOTE

B. Gérard (1), M. Vibert (2), D. Menzies (3), J. Ragage (2), G. Bertrand (1), D. Prié (4), B. Grandchamp (1), C. Silve (5)
(1) Hôpital Bichat, Service de Biochimie Hormonale et Génétique, Paris ; (2) Hôpital Ste-Croix, Metz ; (3) Centre de Pathologie, Metz ; (4) Service d'Explorations Fonctionnelles, Hôpital Necker, Paris ; (5) INSERM U683, Faculté de Médecine Xavier-Bichat, Paris

La chondrodysplasie de Blomstrand est une pathologie récessive autosomique rare liée à l'inactivation du gène PTHR1 codant pour le récepteur de la parathormone (PTH) et du peptide PTHrP. Les atteintes osseuses (avance de maturation et différenciation chondrocytaire accélérée), dentaires et des glandes mammaires observées dans ce syndrome ont été reliées

à l'anomalie de la voie de signalisation impliquant le PTHR1. En revanche, la cause du décès précoce de ces enfants reste inconnue et l'impact physiologique d'un déficit de 50 % des récepteurs de la PTH (sujets porteurs de la mutation à l'état hétérozygote) n'a jamais été exploré. Nous présentons ici l'étude d'une nouvelle famille porteuse d'une mutation inactivatrice du gène PTHR1 qui permet de répondre en partie à ces questions. À la naissance, le fœtus de 29 semaines présentait une anasarque sans anomalie cardiaque mise à part une hypertrophie ventriculaire droite. Le diagnostic de Blomstrand, évoqué au cours de la grossesse par l'analyse échographique, a été confirmé par les études radiologiques, histologiques et génétiques. Chez le propositus, l'étude du gène PTHR1 a montré la présence d'une délétion à l'état homozygote d'environ 10 kb et emportant les promoteurs P2, P3, le premier exon et la presque totalité de l'intron 1 du gène. Cette délétion, présente à l'état hétérozygote chez chacun des parents, empêche toute transcription du gène PTHR1. L'analyse des os longs a montré une diminution très importante des espaces médullaires, liée à la réduction majeure de la taille des os et aux anomalies de structure des trabécules osseuses. Une érythropoïèse hépatique associée à une hépatosidérose a été notée. L'accumulation du fer était diffuse avec un gradient décroissant partant des espaces périportaux. Au vu de données récentes montrant que l'activation du PTHR1 exprimé sur les ostéoblastes est impliquée dans l'ontogénie des cellules stromales médullaires et de la \\\niche cellulaire\\\" nécessaire à la différenciation et prolifération des cellules hématopoïétiques médullaires, ces résultats suggèrent que le décès précoce des fœtus atteints de chondrodysplasie de Blomstrand pourrait être relié à une anémie secondaire à une anomalie de la mise en place de l'hématopoïèse médullaire osseuse et responsable d'une défaillance cardiaque. Les parents, porteurs de l'anomalie à l'état hétérozygote, présentaient une hyperphosphatémie (mère : 1,45 ; père : 1,74 pour des normales à 0,80-1,40 mM), une réabsorption augmentée du phosphate par le rein (1,6 et 1,8 pour des normales comprises entre 0,4 et 1,7 mM) et en présence d'un taux normal de PTH. La calcémie et la calciurie étaient normales. Ces résultats suggèrent que l'absence de 50 % des récepteurs de la PTH induit une résistance partielle du tubule proximal rénal à l'action phosphaturique de la PTH.

Mots-clés : *PTHR1*, chondrodysplasie, mutation.

■P226 / 1057. DIFFICULTÉS DU CONSEIL GÉNÉTIQUE CHEZ LES PATIENTS PORTEURS D'UNE MUTATION DE GNAS

G. Baujat (1), M.L. Kottler (2), G. Pinto (1), A. Dieux-Coeslier (3), C. Morisot (4), M. Le Merrer (1)
(1) Service de Génétique Médicale et d'Endocrinologie Pédiatrique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris ; (2) Service de Génétique Moléculaire, Hôpital Universitaire de Caen, Caen ; (3) Service de Génétique Clinique, Hôpital Jeanne-de-Flandres, Lille ; (4) Service de Médecine Néonatale, Hôpital du Docteur Schaffner, Lens

Les entités cliniques associées aux anomalies du locus GNAS sont hétérogènes mais leur physiopathologie est aujourd'hui mieux connue. La mise en évidence récente de la variabilité phénotypique intrafamiliale et de l'implication d'anomalies épigénétiques à ce locus GNAS rend aujourd'hui le conseil génétique, pour ce groupe d'affections, souvent difficile. L'Ostéodystrophie Héréditaire d'Albright (AHO) est une entité clinique décrite depuis 1942, caractérisée par l'association d'une petite taille avec parfois obésité, d'une dysmorphie, d'ossifications sous-cutanées (ostéoma cutis) et d'une brachymétacarpie. Considérée comme une affection relativement bénigne, elle se transmet classiquement selon le mode autosomique dominant. La pseudohypoparathyroïdie de type Ia, ou syndrome d'Albright associe cette AHO à un syndrome de résistance hormonale multiple (résistance à la PTH, à la TSH et au GHRH). Il s'associe à des mutations de l'allèle maternel du gène GNAS. La pseudo-pseudohypoparathyroïdie est définie par des anomalies de l'allèle paternel de GNAS se manifestant par une AHO isolée. L'Hétéroplasie Osseuse Progressive (POH) est marquée par des ossifications sous-cutanées extensives (sans autre signe d'AHO). Elle est également liée à des mutations géniques de l'allèle paternel de GNAS. La pseudohypoparathyroïdie Ib est cliniquement caractérisée par une résistance isolée à la PTH sans signe de AHO. Il est lié à des anomalies de méthylation du locus GNAS. Nous présentons trois cas cliniques illustrant cette variabilité intrafamiliale et soulignant la difficulté à évaluer le pronostic de l'affection pour la descendance. Nous décrivons d'abord une première famille où la mère est atteinte d'une AHO associée à une mutation de GNAS (A102V). Elle a donné naissance à une fille présentant une pseudohyperparathyroïdie Ia selon le schéma le plus fréquemment rapporté. Nous présentons ensuite une seconde famille, où une mutation (345 insert T) de l'allèle paternel de GNAS est retrouvée chez une enfant présente une POH sévère invalidante. Cette mutation n'est pas retrouvée chez le père, mais pose le problème d'une éventuelle mosaïque germinale. Enfin, dans une troisième famille, la mère présente une AHO classique (petite taille, osteoma cutis et anomalie des mains) associée à une délétion de 6 pb de l'exon 1 du gène GNAS. Cette même anomalie moléculaire est retrouvée chez sa fille présentant un tableau complexe et inhabituel de pseudohyperparathyroïdie Ia associé à des anomalies osseuses à type d'acroscyphodysplasia. L'ensemble de ces observations met en évidence la variabilité d'expression chez les descendants de sujets porteurs d'une AHO, empêchant d'établir un conseil génétique simple et rassurant dans cette affection d'allure à priori bénigne.

Mots-clés : ostéodystrophie héréditaire d'Albright, pseudohypoparathyroïdie, locus *GNAS*.

■P227 / 1060. PHÉNOTYPE ADULTE DU SYNDROME DE WILLIAMS : À PROPOS DE TROIS OBSERVATIONS

B. Doray (1), N. Carelle (2), Frédéric Blanc (3), A. Toutain (4), F. Girard-Lemaire (2), H. Dollfus (1), E. Flori (2)
(1) Service de Génétique Médicale, Hôpital de Hautepierre, Strasbourg ; (2) Service de Cytogénétique, Hôpital de Hautepierre, Strasbourg ; (3) Fédération de Neurologie, Hôpital Civil, Strasbourg ; (4) Service de Génétique, CHU de Tours

Les syndromes génétiques responsables de troubles du développement ont pour la plupart fait l'objet d'études phénotypiques multiples et détaillées chez le nourrisson et l'enfant, mais plus rarement chez l'adulte. Le diagnostic étiologique est souvent difficile chez l'adulte, éventuellement porté avec retard et le suivi médical empirique en l'absence de données significatives sur l'histoire naturelle de ces affections. Le syndrome de Williams est un syndrome microdélétionnel dont la fréquence est estimée à 1 sur 20 000 naissances. Classiquement diagnostiqué chez le nourrisson et le jeune enfant, ce syndrome se caractérise par une morphologie particulière, un retard statural pré et postnatal modéré, un syndrome malformatif avec fréquente atteinte cardiaque, un déficit cognitif et un phénotype comportemental caractéristique. Nous rapportons trois patientes dont le diagnostic génétique de syndrome de Williams, suspecté à l'âge adulte, a été confirmé en cytogénétique moléculaire. La première patiente, âgée de 46 ans, est hospitalisée suite à un accident vasculaire cérébral ischémique survenu dans un contexte d'infarctus myocardique et de thrombose de la carotide interne. Le diagnostic de syndrome de Williams est posé chez cette patiente présentant une déficience mentale et une morphologie faciale particulière avec hétérochromie irienne. La seconde patiente, âgée de 39 ans est adressée par le service de chirurgie thoracique dans les suites d'une cure chirurgicale d'un volumineux goître thyroïdien cervico-thoracique. Cette patiente présente un déficit cognitif léger, des troubles de l'humeur de type anxio-dépressif et une morphologie faciale particulière avec en particulier des rides profondes et une éversion sévère de la lèvre inférieure. La troisième patiente, âgée de 29 ans, est examinée dans le service de génétique accompagnée par son frère qui s'inquiète du risque de récurrence de déficit mental pour sa descendance. En raison de l'association d'un déficit cognitif léger avec une efficience verbale satisfaisante, d'une petite taille et surtout d'une hypertension artérielle associée à une sténose de l'artère mésentérique, un syndrome de Williams est recherché chez cette jeune femme présentant néanmoins un syndrome dysmorphique discret. Ces trois observations illustrent les difficultés et le délai du diagnostic de syndrome de Williams chez l'adulte déficient mental. Nous proposons, à partir de ces trois observations et d'une revue de la littérature, une évaluation précise du phénotype chez l'adulte ; sur le plan morphologique, l'analyse de photographies à plusieurs âges successifs permet d'apprécier l'évolutivité du syndrome dysmorphique. Nous précisons ensuite l'histoire naturelle de cette affection et les complications à long terme, notamment cardio-vasculaires et neuro-psychologiques. Nous discutons en dernier lieu l'hypothèse d'un phénomène de vieillissement prématuré dans ce syndrome et soumettons une proposition de suivi médical.

Mots-clés : Williams, phénotype, adulte.

■P228 / 1072. SYNDROME DE BOHRING OPITZ. VERS UNE DÉFINITION PLUS PRÉCISE DU PHÉNOTYPE ?

F. Giuliano (1), J. Griffet (2), T. Noormahomed (3), J.C. Lambert (1)
(1) Service de Génétique Médicale, Hôpital Archet 2, CHU Nice ; (2) Service de Chirurgie Infantile, Hôpital Archet 2, CHU Nice ; (3) Service de Pédiatrie, Hôpital Archet 2, CHU Nice

Les premières descriptions du syndrome Bohring Opitz ont été confondues avec celles du syndrome C Opitz trigonocéphalie du fait de manifestations communes dont la présence d'une trigonocéphalie. Treize patients on été rapportés jusqu'alors. Les principales caractéristiques de ce syndrome sont (i) la dysmorphie faciale avec notamment une trigonocéphalie, des yeux proéminents, des joues pleines, un hémangiome facial, des anomalies de

la sphère buccale (ii) des déformations en flexion des membres et notamment des extrémités et (iii) une évolution péjorative comprenant typiquement des difficultés d'alimentation, une mauvaise croissance, un retard psychomoteur sévère et enfin un décès dans près de 40 % des cas. Nous rapportons ici le cas de deux petites filles. La première a un tableau très typique comprenant les caractéristiques faciales (à l'exclusion de la trigonocéphalie), les déformations des membres et l'évolution défavorable. Elle présente en plus, et cela n'a jamais été décrit dans la littérature, un rétrécissement du canal cervical secondaire à une malformation de la première vertèbre cervicale. La seconde petite fille présente une dysmorphie très évocatrice avec trigonocéphalie, hémangiome facial, yeux proéminents et anomalie buccale. Elle est née hypotrophe mais elle n'a pas de déformation majeure des membres, simplement une anomalie de position des bras. De plus, les difficultés alimentaires néonatales semblent avoir régressé. L'ensemble du tableau pourrait correspondre à un syndrome Bohring Opitz dans une forme atténuée. Une autre hypothèse diagnostique serait une trisomie 3p, dont le tableau clinique a de nombreux traits communs avec le syndrome Bohring Opitz. Le caryotype est en cours.

Voici donc deux observations de probables syndromes de Bohring Opitz qui ont en commun une dysmorphie spécifique. L'une présente le tableau complet compliqué d'une malformation de la charnière cranio-cervicale, l'autre présente un phénotype qui, pour l'instant semble atténué, mais dont l'évolution sera importante à suivre.

Mots-clés : Bohring Opitz, trigonocéphalie, c Opitz trigonocéphalie.

■P229 / 1082. ANALYSE DU PHÉNOTYPE ET ÉTUDE IN VITRO DE 2 NOUVELLES MUTATIONS FAUX-SENS DU GÈNE *CYP21, H62L* ET *G424S*, RESPONSABLES DE DEUX FORMES DE DÉFICIT EN 21-HYDROXYLASE

R. Menassa (1), D. Mallet (1), P. Barat (2), H. Testard (3), F. Despert (4), V. Tardy (1), Y. Morel (1)

(1) Biochimie Endocrinienne, EA3739, Hôpital Debrousse, Lyon ; (2) Service de Pédiatrie, CHU de Bordeaux ; (3) Service de Pédiatrie, Centre Hospitalier intercommunal Annemasse, Annemasse ; (4) Service de Pédiatrie Gatien de Clocheville, Centre hospitalier Universitaire de Tours, Tours

Le déficit en 21-hydroxylase, maladie autosomique récessive, est dû le plus souvent à des mutations ponctuelles du gène CYP21. Le phénotype des patients est déterminé par la mutation la moins sévère. L'étude chez plus de 2 000 patients d'origine française a retrouvé une cinquantaine de nouvelles mutations. Même si leur sévérité peut souvent être déduite du phénotype des patients, il était indispensable de le confirmer in vitro pour 3 raisons : 1 – confirmer les corrélations génotype-phénotype ; 2 – apporter un conseil génétique correct ; 3 – mieux comprendre les relations structure-fonction du cytochrome P450c21. Nous avons étudié les mutations H62L et G424S, les deux nouvelles mutations faux-sens les plus fréquentes. La mutation G424S est due à la substitution du nucléotide G en A. Elle a été identifiée chez 9 patients non apparentés. La mutation H62L est due à la substitution du nucléotide A en T : elle a été identifiée chez 8 patients de 7 familles non apparentées, soit isolée, soit associée sur le même allèle à une mutation modérée (P453S ou P30L). La gravité de ces deux mutations a été évaluée selon deux critères, le phénotype puis le retentissement fonctionnel in vitro : 1/ Étude du phénotype : – Patients porteurs de la mutation G424S (9) : les 7 patients G424S / mutation sévère avaient une forme virilisante pure avec une virilisation des 4 filles à la naissance (Prader I à III) et une pseudo-puberté précoce avant 5 ans sans perte de sel clinique chez les 3 garçons. Les taux de 17OH-Progestérone (17-OHP) de base étaient élevés, entre 150 et 680 nmol/l. Seuls les enfants G424S/mutation nulle ont été diagnostiqués par le dépistage néonatal. Ces données suggéraient que la mutation G424S était sévère. Les 2 patients V281L/G424S avaient une forme non classique (FNC). – Patients porteurs de la mutation H62L (8) : les 3 patients H62L / mutation sévère avaient une FNC : pas d'ambiguïté sexuelle chez les 2 patientes, pas de perte de sel chez le garçon. Le pic de 17-OHP sous ACTH était entre 108 et 130 nmol/l. Les 5 patients hétérozygotes composites pour l'association H62L+P453S (4) ou H62L+P30L (1) et une mutation sévère avaient une forme virilisante pure : virilisation à la naissance (Prader I et II) chez les 2 filles, pseudo-puberté précoce avant l'âge de 4 ans chez 3 garçons. Les taux de 17-OHP de base étaient compris entre 350 et 1 500 nmol/l. Ceci suggérait que la mutation H62L est modérée lorsqu'elle est isolée et plus sévère quand elle est associée à une autre mutation modérée sur le même allèle. 2/ Retentissement fonctionnel in vitro par mutagenèse dirigée. L'expression transitoire de chaque plasmide PCMV-c21B dans les cellules a été réalisée dans les cellules eucaryotes (COS-1). Outre les témoins classiques (plasmide vide, plasmide sauvage), des contrôles d'activité 21-hydroxylase ont été utilisés : mutation modérée V281L ou P453S et mutation sévère Q318X (pas d'activité). 48 heures après transfection des différents plasmides, les substrats de P450c21 Progestérone (P) et 17-OHP ont été incubés pendant 1 h, 2 h, 4 h, 8 h et 24 h. L'activité était analysée pour chaque plasmide muté par rapport au sauvage et ce pour chaque substrat. Les résultats pour H62L étaient comparables à P453S (75,6 % pour P et 71,8 % pour 17-OHP) confirmant que H62L est une mutation modérée. L'association H62L+P453S réduit l'activité enzymatique à 26,6 % pour P et 26 % pour 17OHP alors que la mutation G424S la réduit davantage (6,71 % pour P et 10,12 % pour 17-OHP), s'approchant de la mutation I172N associée à la forme virilisante pure. En conclusion, l'étude in vitro semble confirmer la sévérité attendue par le phénotype : la mutation H62L semble modérée quand elle est isolée et associée à la forme virilisante pure quand elle est associée à une autre mutation modérée. La mutation G424S paraît encore plus sévère entraînant aussi une forme virilisante pure. Ces premières études devront être complétées par celles des autres nouvelles mutations.

Mots-clés : 21-hydroxylase, nouvelles mutations, étude fonctionnelle.

■P230 / 1088. CONVULSIONS PRÉCOCES ET DYSMORPHIE FACIALE ASSOCIÉES AUX MUTATIONS DU GÈNE STK9/CDKL5

Marlène Rio (1), Delphine Louesdon (1), Nadia Bahi-Buisson (2), Bertard Godet (2), Perrine Plouin (2), Jeanne Amiel (1), Valérie Cormier-Daire (1), Olivier Dulac (2), Stanislas Lyonnet (1), Arnold Munnich (1), Jean-Paul Bonnefont (1)

(1) Service de Génétique Médicale, Hôpital Necker 75015 Paris ; (2) Service de Neuropédiatrie, Hôpital Necker, 75015 Paris

En 2003, une translocation X ; autosome survenue de novo et interrompant le gène CDKL5/STK9 est identifiée chez deux patientes présentant des spasmes infantiles précoces, un retard psychomoteur, une hypsarythmie, et un retard mental sévère. Depuis, des mutations tronquantes ou faux-sens du gène CDKL5/STK9 ont été rapportées chez 16 patients présentant une encéphalopathie neurodévéloppementale grave avec des spasmes infantiles précoces et/ou un tableau clinique proche du syndrome de Rett. Nous rapportons ici un phénotype atypique en relation avec des mutations du gène STK9/CDKL5 chez 3 patientes non apparentées. La patiente 1, âgée de 3 ans et demi, a présenté dès 3 semaines de vie des crises tonico-cloniques pharmacorésistantes. L'évolution est marquée par la survenue de spasmes à partir du troisième mois, initialement sans traduction électrique, puis secondairement s'associant à un tracé électrique proche de l'hypsarythmie. À partir de 24 mois, les crises convulsives disparaissent. Le développement psychomoteur est lent avec une hypotonie axiale persistante, une tenue de tête acquise à 18 mois, une station assise avec appui acquise à 3,5 ans, une amélioration progressive du contact visuel initialement absent, un sourire réponse à 2,5 ans. Le séquençage de la région codante du gène CDKL5 montre une délétion de 2 paires de bases (pb) dans l'exon 16 (c.2323_2324 delGA, p.E775fsX799). Pour la patiente 2, âgée 7 ans, les crises convulsives débutent au 15e jour de vie, initialement toniques, puis tonico-cloniques à 1 mois de vie, pharmacorésistantes mais disparaissant à l'âge de 2 ans. L'épilepsie est associée à un retard psychomoteur avec une hypotonie axiale, une station assise acquise à 16 mois, une marche à 3,5 ans, et un début de langage à 2 ans. Les manifestations épileptiques pharmacorésistantes reprennent à l'âge de 3,5 ans avec des manifestations polymorphes toniques, cloniques, myocloniques et absences. La recrudescence des crises s'accompagne d'une régression vers l'âge de 5 ans avec pertes des aptitudes verbales et motrices. L'analyse du gène CDKL5 identifie une délétion de deux pb dans l'exon 18, mutation précédemment rapportée dans la littérature (c.2635_2636 delCT, pL879fsX908). La troisième patiente, âgée de 2 ans, présente des mouvements anormaux dès la naissance puis des crises pharmacorésistantes tonicocloniques à partir de 1 mois, et à partir de 17 mois des sursauts non épileptiques et des spasmes avec un tracé proche de l'hypsarythmie. Le développement psychomoteur est lent avec une hypotonie axiale, un sourire réponse à 2 mois, une tenue de tête acquise à 11 mois, une absence de tenue assis, de préhension et de babillage à 24 mois. Une délétion de 2pb dans l'exon 10 du gène CDKL5 est identifiée (c.800_801 delAT, p.N267fsX272). Indépendamment de l'encéphalopathie convulsivante, les trois patientes présentent une dysmorphie faciale commune caractérisée par une énophtalmie, un enfoncement de l'étage moyen et des lèvres charnues. L'analyse phénotypique de ces 3 patientes associée à une revue de la littérature justifie l'analyse du gène CDKL5/STK9 devant un retard psychomoteur associé à une épilepsie précoce et pharmacorésistante, mais de caractère polymorphe, les spasmes infantiles n'étant pas la règle, d'autant qu'il s'y associe une dysmorphie faciale évocatrice. Enfin, il ne semble pas exister de « point chaud » de mutation, ni probablement de corrélation génotype-phénotype puisque les tableaux cliniques du patient 2 et du patient de la littérature porteur de la même mutation ne sont pas strictement superposables.

Mots-clés : épilepsie, retard mental, dysmorphie faciale.

■P231 / 1093. UNE FAMILLE DE DÉMENCE-ATAXIE D'HÉRÉDITÉ AUTOSOMIQUE DOMINANTE AVEC DÉLÉTIONS MULTIPLES DE L'ADN MITOCHONDRIAL SANS MUTATION IDENTIFIÉE DANS LES GÈNES *ANT1, POLG* ET *TWINCKLE*

K. Nguyen (1), W. Casseron (2), V. Paquis (3), D. Figarella-Branger (4), J. Pouget (2)

(1) Département de Génétique Médicale, CHU Timone Marseille ; (2) Service de Neurologie, CHU Timone Marseille ; (3) Laboratoire de Génétique moléculaire, CHU Nice ; (4) Laboratoire d'anatomopathologie, CHU Timone Marseille

Les délétions multiples de l'ADN mitochondrial (ADNmt) ont été initialement identifiées dans des familles présentant une ophtalmoplégie externe progressive d'hérédité autosomique dominante (ad-OEP). Elles ont été ensuite retrouvées dans des familles présentrant des phénotypes variés mais toujours avec une OEP, d'hérédité autosomique récessive et dans des cas sporadiques. Trois gènes nucléaires ont été identifiés dans les ad/arOEP : ANT1 (adenine nucleotide translocator) en 4q34-35, Twinkle (hélicase) en 10q23.3-q24.3 et POLG (polymérase gamma) en 15q22-q26. Nous présentons une grande famille du Sud de la France, dans laquelle plusieurs individus ont un phénotype neurologique associant de façon variable une ataxie cérébelleuse, une démence frontale et une dysphonie, de début tardif à l'âge adulte. Certains individus ne présentent que la démence frontale ou l'ataxie. L'hérédité est autosomique dominante. Aucun individu ne présente d'OEP. Tous les sujets étudiés ont des délétions multiples de l'ADNmt dans le muscle. Les gènes ANT1, Twinckle et POLG ont été séquencés et aucune mutation n'a été identifiée. L'intérêt de cette famille est d'une part le phénotype de démence-ataxie cérébelleuse sans ophtalmoplégie externe ; d'autre part, l'absence de mutation dans les trois gènes nucléaires connus suggérant la responsabilité d'un autre locus dans cette famille. Enfin, la taille de la famille nous permet d'envisager une étude de liaison génétique.

Mots-clés : démence-ataxie, délétions multiples ADNmt, hérédité nucléaire.

■P232 / 1106. ASSOCIATION D'UN AUTISME, D'UNE DYSGÉNÉSIE GONADIQUE 46, XY ET D'UNE DÉLÉTION TERMINALE 9p24

G. Vinci (1), S. Chantot-Bastaraud (1, 2, 3), J.P. Siffroi (2, 3), R. Brauner (4), K. McElreavey (1)

(1) Unité de Reproduction, Fertilité et Développement, département de biologie du Développement, Institut Pasteur, Paris ; (2) Service d'Histologie, Biologie de la Reproduction et Cytogénétique, Hôpital Tenon, Faculté de Médecine Pierre et Marie Curie, Paris, AP-HP ; (3) EA1533, Génétique et Reproduction Humaine, Faculté de Médecine Pierre et Marie Curie, Paris, AP-HP ; (4) Université Paris-Descartes et Unité d'Endocrinologie Pédiatrique, Hôpital Bicêtre, Paris

Les délétions terminales du bras court du chromosome 9 sont associées au syndrome de monosomie 9p ou syndrome d'Alfi, caractérisé par l'association d'un retard mental à une dysmorphie faciale caractéristique. 70 % des patients dont le caryotype est masculin 46, XY présentent une ambiguïté sexuelle de degré variable allant d'un phénotype féminin avec dysgénésie gonadique complète à un phénotype masculin avec un hypospade mineur. Nous avons déjà décrit deux cas de dysgénésie gonadique 46,XY associés à une délétion terminale du 9p en l'absence du phénotype caractéristique de la monosomie 9p. En revanche, ces deux patients présentaient des troubles du comportement apparentés à ceux observés chez les autistes. Nous décrivons un troisième cas de délétion 9p associé à une dysgénésie gonadique partielle et à des troubles du comportement en l'absence de la dysmorphie faciale caractéristique de la monosomie 9p. Ce patient présentait une ambiguïté des organes génitaux externes et un comportement autistique. Les caryotypes parentaux étaient normaux. L'analyse de marqueurs polymorphes de la région 9p24 a montré que le chromosome délété était d'origine paternelle. En utilisant une nouvelle technologie d'oligo microarray de très haute résolution nous avons défini le point de cassure dans le gène GASC-1 (gene amplified in squamous cell carcinoma 1). Les deux gènes candidats pour le phénotype gonadique en 9p24, DMRT1 et DMRT3 ont été séquencés afin d'éliminer l'hypothèse d'une mutation récessive démasquée par la délétion. Les séquences de ces deux gènes étaient identiques à celle observée chez un sujet contrôle mâle. Ainsi, il est probable que l'haploinsuffisance est responsable du phénotype. Nous suggérons que les délétions terminales 9p24 ne sont pas seulement associées à un dysgénésie gonadique mais également à un autisme. L'implication d'un ou plusieurs gènes reste encore à déterminer.

Mots-clés : délétion terminale 9p24, dysgénésie gonadique, autisme.

■P233 / 1112. IDENTIFICATION D'UNE MUTATION DU GÈNE TP63 ALTÉRANT SPÉCIFIQUEMENT LES ISOFORMES DELTANp63 DANS UN SYNDROME DE RAPP-HODGKIN FAMILIAL : UN ÉCLAIRAGE SUR LA PHYSIOPATHOLOGIE DES SYNDROMES EEC ET EEC-LIKE

S. Julia (1), G. Bougeard (2), M. Titeux (3), N. Chassaing (1), P. Calvas(1), T. Frebourg (2), A. Hovnanian (1, 3)

(1) Service de Génétique Médicale, CHU Purpan, Toulouse, France ; (2) Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHU de Rouen, France (3) INSERM U563, CHU Purpan, Toulouse, France

Le syndrome de Rapp-Hodgkin (RHS MIM 129400) est une dysplasie ectodermique autosomique dominante rare, associant une dysplasie pilaire caractéristique (cheveux épais et vrillés), une hypodontie, une hypohidrose, une fente labio-palatine, une hypoplasie de l'étage moyen de la face et une dysplasie unguéale. L'affection est allèlique aux autres dysplasies ectodermiques associées à une fente labio-palatine, avec ankyloblépharon (syndrome d'Hay-Wells ou syndrome ankyloblepharon-dysplasie ectodermique-fente labio-palatine, AEC) ou avec ectrodactylie (syndrome ectrodactylie-dysplasie ectodermique-fente palatine, EEC et syndromes EEC-like), toutes dues à des mutations du gène TP63. Le gène TP63 génère 6 isoformes : l'utilisation d'un promoteur alternatif conduit à des isoformes de p63 (TAp63) contenant un domaine de transactivation et à des isoformes dépourvues de ce domaine (DeltaNp63). Tous contiennent un domaine de fixation de l'ADN et un domaine d'oligomérisation. Pour chaque isoforme, trois parties C-terminales distinctes sont produites par épissage alternatif, dont une seule contient un domaine SAM (sterile alpha motif) impliqué dans les interactions protéine/protéine. La majorité des mutations retrouvées dans le syndrome EEC sont localisées dans le domaine de fixation de l'ADN, celles du syndrome AEC et du RHS sont situées dans le domaine SAM. AEC et RHS apparaissent donc être deux entités cliniques très proches. Nous rapportons l'observation d'une mère et de ses deux filles présentant un tableau très évocateur de syndrome de Rapp-Hodgkin, malgré l'absence de fente labio-palatine chez la mère et la notion de synéchie des paupières chez une fille. L'analyse de TP63 dans cette famille a permis d'identifier une mutation causale dans l'exon 3' [c.2T>C, p.Met1 ?], qui supprime le codon d'initiation de la traduction des isoformes DeltaNp63. Il s'agit de la seconde mutation de TP63 affectant spécifiquement les isoformes DeltaNp63, ce qui montre qu'une anomalie de DeltaNp63 seule est suffisante pour conduire au phénotype de RHS. Ces résultats suggèrent que le RHS pourrait résulter d'un déséquilibre entre les isoformes DeltaNp63 et TAp63 par perte de fonction de DeltaNp63, conduisant à une levée de l'effet dominant négatif de DeltaNp63 sur TAp63.

Mots-clés : Rapp-Hodgkin, syndrome EEC, TP63.

■P234 / 1113. SYNDROME D'HOYERAAL-HREIDARSSON ET DYSKÉRATOSE CONGÉNITALE LIÉE À L'X SURVENANT DANS UNE MÊME FAMILLE

S. Julia (1), M.P. Castex (2), G. Bourrouillou (1), P. Calvas (1), I. Dokal (3), A. Robert (2), et A. Hovnanian (1, 4)

(1) Service de Génétique Médicale, Hôpital Purpan, Toulouse, France ; (2) Service d'Hématologie Oncologie Pédiatrique Hôpital des enfants, Toulouse, France ; (3) Department of Hematology, Hammersmith Hospital, Londres, Grande Bretagne ; (4) INSERM U563, Hôpital Purpan, Toulouse, France

Le syndrome d'Hoyeraal-Hreidarsson est caractérisé par l'association d'un retard de croissance pré et post natal, d'une microcéphalie, d'un retard psychomoteur, d'une hypoplasie cérébelleuse, d'une aplasie médullaire, d'un déficit immunitaire combiné et de lésions cutanéomuqueuses. Il a été montré qu'il s'agissait d'une forme sévère de dyskératose congénitale liée à l'X. Ces deux affections sont dues à des mutations du gène DKC1 situé en Xq28, mais les corrélations entre le génotype et le phénotype ne sont pas établies. Nous rapportons l'observation d'une famille dont le grand père maternel était atteint d'une dyskératose congénitale et dont le petit fils est décédé des suites d'un syndrome d'Hoyeraal-Hreidarsson. L'analyse du gène DKC1 dans cette famille a permis d'identifier une mutation causale [p.Ala353Val]. La responsabilité du gène DKC1 inscrit les deux maladies dans un continuum. La survenue des deux entités dans une même famille n'avait pas été décrite et vient souligner la variabilité de l'expression clinique d'une même mutation du gène. L'observation ouvre ainsi un champ de réflexion sur les mécanismes qui gouvernent l'expression phénotypique des mutations du gène DKC1.

Mots-clés : syndrome d'Hoyeraal-Hreidarsson, dyskératose congénitale, gène *DKC1*.

■P235 / 1134. UNE NOUVELLE OBSERVATION DE SYNDROME OCULO-FACIO-CARDIO-DENTAIRE CHEZ UNE FILLETTE DE 12 ANS ET REVUE DE LA LITTÉRATURE SUR CETTE AFFECTION EXCEPTIONNELLE DLX DONT LE GÈNE A ÉTÉ RÉCEMMENT IDENTIFIÉ

S. Manouvrier-Hanu (1), B. Maisonneuve (2), A. Dieux-Coeslier (1), O. Boute-Bénéjean (1), J.F. Rouland (3), M.M. Baralle (4), M. Holder-Espinasse (1)

(1) Service de Génétique Clinique CHRU de Lille ; (2) Service de médecine physique et réadaptation Centre Marc Sautelet, Villeneuve d'Ascq ; (3) Service d'ophtalmologie, CHRU de Lille, (4) Service de chirurgie maxillo-faciale et stomatologie, CHRU de Lille

Le syndrome oculo-facio-cardio-dentaire (OFCD) est une affection exceptionnelle, transmise sur le mode dominant lié à l'X, décrite à ce jour chez moins de 30 patientes. Le gène responsable de cette affection, BCOR (BCL6 co-repressor) a été identifié en 2005. Ce syndrome, dont la variabilité d'expression s'explique par la lyonisation, associe classiquement des anomalies oculaires (cataracte congénitale, microphtalmie), faciaux (pointe du nez large, philtrum long et plat, protrusion mandibulaire, fente palatine ou de la luette), cardiaques (CIV, CIA...) dentaires (diastème inter-incisif supérieur, retard d'éruption, oligodontie, radiculomégalie) et des anomalies des extrémités (orteils en marteau, syndactylie II-III, écart augmenté entre premiers et seconds orteils...). Nous décrivons une nouvelle observation de sévérité modérée chez une fillette âgée de 12 ans, sans aucun antécédent familial, qui présente l'association d'une cataracte congénitale postérieure, d'anomalies dentaires (diastème inter-incisif supérieur, retard d'éruption des dents lactéales et définitives, éruption anarchique, oligodontie, anomalies d'implantation) et des extrémités (augmentation de l'écart entre premiers et seconds orteils, orteils en marteau, syndactylie II-III) L'analyse de BCOR est en cours à la date de la soumission de ce résumé. Cette nouvelle observation est l'occasion de faire une synthèse de la littérature, permettant de préciser la fréquence relative des différents signes du OFCDS. La difficulté du conseil génétique, compte tenu du mode de transmission et des cas sévères décrits sera également abordée.

Mots-clés : OFCD, cataracte, anomalies dentaires.

■P236 / 1139. HYPERPARATHYROIDIE RÉVÉLÉE EN ANTÉNATAL PAR UNE INCURVATION FÉMORALE ET UN RETARD DE CROISSANCE : QUELLE ÉTIOLOGIE ?

M. Holder-Espinasse (1), J. Weill (2), V. Rouland (3), A. Dieux-Coeslier (1), M. LeMerrer (4), O. Boute (1), S. Manouvrier-Hanu (1), V. Houfflin-Debarge (5), P. Truffert (3)

(1) Service de Génétique Médicale, CHRU Lille ; (2) Service d'Endocrinologie Pédiatrique, CHRU Lille ; (3) Service de Néo-Natologie, CHRU Lille ; (4) Département de Génétique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris ; (5) Service de Gynécologie-Obstétrique, CHRU Lille

La conduite à tenir devant une incurvation fémorale et un retard de croissance en anténatal est souvent difficile et pose parfois des difficultés nosologiques. Nous rapportons l'observation d'une grossesse gémellaire, bi choriale bi amniotique, au cours de laquelle un diagnostic de « fémur court », inférieur au 10e percentile, était réalisé à 26 SA chez l'un des jumeaux. Le caryotype fœtal était normal, le bilan infectieux maternel était négatif et les radiographies de contenu utérin avaient mis en évidence un aspect d'incurvation fémorale ainsi qu'une augmentation de la transparence osseuse. Chez l'autre jumeau, une dilatation ventriculaire unilatérale modérée était mise en évidence. À 37 SA, il existait un retard de croissance post natal et un raccourcissement rhizomélique des membres sans autre anomalie. Les radiographies de squelette, réalisées à 3 jours de vie, montraient une impression d'augmentation de la transparence osseuse, une irrégularité et un élargissement des métaphyses des os longs, et un aspect incurvé des fémurs. Le bilan phosphocalcique mettait en évidence une hypercalcémie majeure et une augmentation des phosphatases alcalines. La parathormone était à la limite supérieure de la normale. Il n'y avait aucun signe clinique d'hypercalcémie et le bilan à la recherche de lithiase était négatif. Un traitement par Zometa® était institué, permettant une normalisation rapide de la calcémie. La revue de la littérature fait état de cas d'hyperparathyroidies sévères révélées en anténatal dans des contextes d'hypoparathyroidie maternelle ou de mucolipidose de type II. Notre observation semble se limiter à une atteinte osseuse sans signe associé, mais nous ne pouvons présager de l'évolution clinique et le bilan étiologique est en cours.

Mots-clés : hyperparathyroidie, incurvation fémorale, retard de croissance intra-utérin.

■P237 / 1151. ASSOCIATION D'UNE NEUROPATHIE AXONALE OU VÉGÉTATIVE ET D'UNE CARDIOMYOPATHIE DUE À UNE NOUVELLE MUTATION DU GÈNE LMNA. VERS UN CONTINUUM MUSCLE, CŒUR ET NERF AU SEIN DES LAMINOPATHIES

P. Cintas (1), R. Ben Yaou (2), A. Duparc (3), L. Demay (4), P. Richard (4), E. Bieth (5), M.C. Arné-Bes (1), G. Bonne (2)

(1) Service de neurologie et d'explorations fonctionnelles du système nerveux, CHU Rangeuil, Toulouse, France ; (2) Inserm U582, Institut de Myologie, GH Pitié-Salpêtrière, AP-HP, Paris, France ; (3) Service de cardiologie, CHU Rangueil, Toulouse, France ; (4) UF Cardiogénétique et Myogénétique, Service de Biochimie B, GH Pitié-Salpêtrière, AP-HP, Paris, France ; (5) Laboratoire de génétique médicale, Hôpital Purpan, Toulouse, France

Introduction-Objectifs : Les laminopathies sont des affections dues à des mutations du gène LMNA. Elles affectent le plus souvent les tissus musculaires striés squelettique et cardiaque. Diverses mutations LMNA sont responsables soit de neuropathies isolées, soit d'association neuropathie-myopathie-cardiomyopathie, soit de forme neurogène de myopathie d'Emery-Dreifuss. Nous rapportons le cas d'une famille où une nouvelle mutation LMNA a été identifiée chez le propositus et sa sœur atteints d'une cardiomyopathie associée à une atteinte nerveuse périphérique sensitive ou végétative. Méthodes : Les 2 patients ont fait l'objet de bilans neurologique et cardiologique complets. Le gène LMNA a été analysé par la technique de DHPLC. Résultats : Les 2 patients présentent une cardiomyopathie associant troubles conductifs et rythmiques avec ou sans dysfonction ventriculaire, coexistant avec une neuropathie axonale sensitive chez le propositus et une neuropathie végétative chez sa sœur. Une mutation non-sens (c.1496delC, p.A499VfsX48) a été identifiée sur le gène LMNA chez ces 2 patients. Conclusion : Cette famille montre un phénotype original associant une double atteinte cardiaque et nerveuse périphérique. Cette observation suggère l'existence d'un continuum phénotypique au sein des laminopathies neuromusculaires et cardiaques allant de l'atteinte neuropathique à la myopathie d'Emery-Dreifuss en passant par diverses associations neuropathie/myopathie/cardiomyopathie.

Mots-clés : laminopathies, neuropathie, cardiomyopathie.

■P238 / 1160. ENQUÊTE DU GEIST LANGUEDOC-ROUSSILLON SUR LA PRÉVALENCE DE L'OBÉSITÉ CHEZ LES ENFANTS PORTEURS DE TRISOMIE 21

Maurice C., Tissie G., Morel M.E., Henri F., Ratsimba D., Garandeau P., Rodière M., Picot M.C., Sarda P.

Conseil scientifique du GEIST-Languedoc-Roussillon

En France, comme dans d'autres pays, la prévalence de l'obésité ne cesse d'augmenter. Jusqu'à ce jour, aucune étude concernant l'obésité chez les sujets atteints de Trisomie 21 n'a été réalisée en France. L'objectif principal de l'étude est de déterminer la prévalence de l'obésité chez les enfants trisomiques dans la région du Languedoc-Roussillon ainsi que l'âge de sa survenue (rebond d'adiposité). Les objectifs secondaires sont d'étudier les facteurs de risque de l'obésité, les comportements alimentaires et l'activité physique. Pour 180 questionnaires envoyés par courrier pour des enfants trisomiques de 3 à 20 ans, 88 sujets ont répondu. 12 sujets ont été sortis de l'étude (hors critères d'éligibilité). Au total 76 sujets ont été retenus (59 % de garçons, 41 % de filles), ils sont âgés de 5 à 20 ans (âge moyen 13,3 +/-5,1). La prévalence de l'obésité déterminée par le calcul de l'IMC est de 35,6 % (2,4 % pour la population témoin enquête OBEPI-SOFRES 2003), celle du surpoids de 13,7 %. La fréquence de l'obésité est plus élevée chez les filles (73,3 %) que chez les garçons (9,3 %). Chez l'enfant trisomique, l'obésité apparaît plus tôt (11,4 ans vs 13,6 ans pour les normaux, différence non significative). Certains types de comportement alimentaire ont été identifiés chez les enfants trisomiques de forte corpulence. Dans l'ensemble aucune association n'a été mise en évidence entre l'activité physique et l'obésité. En revanche, chez les sujets âgés de 12 ans ou plus, les sujets obèses sont moins actifs le week-end (non obèse : 61,5 % / obèse : 45,4 %). Chez les enfants de moins de 12 ans, le niveau d'activité physique n'est pas corrélé au degré de corpulence. Ces résultats renforcent l'utilité de l'éducation nutritionnelle précoce des enfants atteints de Trisomie 21 et de la sensibilisation des parents sur les comportements à risque d'obésité. L'association du GEIST-LR se propose de coordonner une enquête nationale des GEIST sur 400 familles et de dégager des recommandations de prise en charge et de suivi des enfants porteurs de Trisomie 21 pour les familles et les professionnels de santé.

Mots-clés : trisomie 21, prise en charge, obésité.

■P239 / 1162. LE SYNDROME ICF : DESCRIPTION DE 3 NOUVEAUX PATIENTS AVEC MALFORMATIONS MULTIPLES ET RÉALISATION DU PREMIER DIAGNOSTIC MOLÉCULAIRE PRÉNATAL

Lefort G. (1), Rigolet M. (2), Blanchet P. (1), Coubes C. (1), Rodiere M., Viegas-Péquignot E. (2), Sarda P. (1)
(1) Service de Génétique Médicale, Hôpital Arnaud de Villeneuve, CHU Montpellier ; (2) INSERM U741/Service de Pédiatrie, Hôpital Arnaud de Villeneuve, CHU Montpellier

Le syndrome ICF est caractérisé par une immunodéficience (I) associée à une instabilité centromérique (C) et à des anomalies faciales (F). Ce syndrome rare (50 patients décrits) se transmet sur le mode autosomique récessif, 60 % des sujets ont des mutations du gène de la DNA méthyltransférase 3b (DNMT3B). Ce défaut moléculaire est responsable d'une hypométhylation de l'hétérochromatine. L'instabilité centromérique des chromosomes 1, 9, 16 augmente le risque de recombinaison somatique des bras de ces chromosomes avec tendance à former des duplications, des délétions de ces chromosomes ainsi que des configurations multiradiales. Les patients présentent des infections respiratoires, cutanées et digestives récurrentes et précoces. Le déficit immunitaire est caractérisé par une baisse des immunoglobulines. Les anomalies faciales associent une face plate, un hypertélorisme, une microrétrognatie, des oreilles bas implantées et une macroglossie. Des malformations variables ont été rapportées dans de rares observations, cérébrales, rénales, ombilicales, génitales ou des extrémités. Nous rapportons une nouvelle famille dans laquelle 2 enfants sur 3 sont atteints. Pour une 4e grossesse un diagnostic prénatal moléculaire a permis de diagnostiquer la récurrence du syndrome. Sur le plan clinique, les éléments particuliers à noter comportent : l'existence d'une hernie diaphragmatique (malformation non décrite dans ce syndrome) pour le premier enfant, d'une cardiomyopathie hypertrophique et d'une atrophie cérébrale chez le second. Sur le plan cytogénétique, il existe des anomalies diverses du chromosome 1 pour les deux enfants, des remaniements diverses des chromosomes 1, 10 et 16 sur le sang fœtal prélevé avant l'interruption de grossesse pour la dernière grossesse. Les caryotypes sur fibroblastes et trophoblaste ne révèlent aucune anomalie. Sur le plan moléculaire, une mutation homozygote Asp 809 Gly a été mise en évidence chez le second enfant et le fœtus (INSERM U741).

Mots-clés : syndrome ICF, gène DNMT3B, diagnostic prénatal.

■P240 / 1164. ATTEINTE RADIALE, ATRÉSIE DES CHOANES, ET ANOMALIES VISCÉRALES MULTIPLES RÉSULTENT D'UNE MUTATION DE SALL4 CHEZ UNE MÈRE ET SON FILS : EXTENSION DU PHÉNOTYPE DU SYNDROME D'OKIHIRO – ACRO-RÉNO-OCULAIRE

Gilles Morin (1, 6), Muriel Holder-Espinasse (2), Michèle Mathieu (1, 6), Fabienne Escande (3), Louis-Michel Collet (4), Vladimir Strunski (5), Philippe Naepels (6), Jean Gondry (6), Sylvie Manouvrier-Hanu (2)
(1) Unité de Génétique Clinique, Département de Pédiatrie, Amiens, France ; (2) Service de Génétique Clinique, Hôpital Jeanne-de-Flandre, CHRU, Lille, France ; (3) Biologie Moléculaire, Eurasanté, CHRU, Lille, France ; (4) Unité de Chirurgie Pédiatrique, Département de Pédiatrie, Amiens, France ; (5) Service d'Oto-rhino-laryngologie, Amiens, France ; (6) Centre de Diagnostic Prénatal, Amiens, France

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 absence bilatérale des pouces, trois doigts à chaque main et une réduction importante de la taille du membre supérieur gauche. Elle a aussi un strabisme convergent conséquence d'une anomalie de Duane bilatérale. Sur le plan viscéral, elle présente un utérus bifide, un rein pelvien et l'absence de vésicule biliaire. Son fils a une absence bilatérale de pouce, quatre doigts à chaque main et une réduction de la taille du membre supérieur gauche. Il présente aussi un strabisme convergent, une cardiopathie (CIV multiple et CIA). Tous deux ont un développement psychomoteur satisfaisant. L'association d'une atteinte du rayon radial et d'une atrésie des choanes n'a que rarement été décrite. En 1987 Goldblatt et Viljoen la rapporte chez un père et ses deux filles, associée à un starbisme. En 1992, Meinecke et Pepper la décrivent chez un nouveau-né de sexe féminin présentant un tableau léthal associé à une cardiopathie, un rein pelvien, un utérus bifide et l'absence de vésicule biliaire. Le syndrome de Okihiro et le syndrome acro-réo-oculaire ont été rapportés pour être tous deux alléliques et reliés à des mutations du gène SALL4. Leurs points communs cliniques sont évidents et ils constituent probablement une seule et même entité. Une mutation de SALL4 a été retrouvée chez nos deux patients confirmant l'existence de cette entité chez eux. La présence d'une atrésie des choanes chez les deux patients et de certaines anomalies viscérales chez la mère (utérus bifide, absence de vésicule biliaire) constitue un élément clinique nouveau qui permet d'élargir le spectre de cette pathologie.

Mots-clés : syndrome d'Okihiro, SALL4, atrésie des choanes.

■P241 / 1502. TROUBLES COGNITIFS CHEZ DES PATIENTS AU STADE PRÉSYMPTOMATIQUE DE LA MALADIE DE HUNTINGTON

Prundean A. (1), Allain P. (1, 2), Malinge M.C. (3), Dubas F. (1), Le Gall D. (1, 2), Bonneau D. (3), Verny C. (1)
(1) Département de Neurologie, Centre Hospitalier Universitaire, 49933 Angers Cedex 9 ; (2) Laboratoire de Psychologie (UPRES EA 2646), Université d'Angers, 49045 Angers ; (3) Service de Génétique, Centre Hospitalier Universitaire, 49933 Angers Cedex 9

Introduction : La maladie de Huntington est une affection neurodégénérative héréditaire autosomique dominante provoquée par une répétition excessive de triplets CAG (supérieure à 36) dans l'exon 1 du gène de la huntingtine situé sur le bras court du chromosome 4. Sur le plan clinique, il demeure une controverse quant à la nature des premiers symptômes observés dans l'évolution de la maladie (neuropsychologique, neurologique, psychiatrique). Les études qui se sont intéressées aux capacités cognitives des sujets porteurs de la mutation génétique cliniquement asymptomatiques ont abouti à des résultats contradictoires.
Patients : Dans ce travail, nous avons comparé, en situation de test présymptomatique et avant que les patients ne connaissent leur statut, les performances neuropsychologiques de 83 sujets à risque théorique de 50 %. Quarante quatre sujets étaient porteurs du gène muté et 39 porteurs des deux allèles sains. Les 2 groupes étaient appariés par l'âge, le sexe et le niveau d'étude. Nous nous sommes intéressés à l'efficience cognitive globale, aux capacités mnésiques, attentionnelles et/ou exécutives ainsi qu'à la rapidité psychomotrice.
Résultats : Notre étude a permis de constater des écarts inter-groupes très significatifs au niveau mnésique et de la rapidité mentale (tous les p étaient inférieurs à .01). Les sujets non porteurs de la mutation étaient plus performants. De plus, nous avons constaté une relation significative entre le nombre de répétitions de triplets et les scores aux taches cognitives.
Conclusion : Nos résultats confirment que la détérioration cognitive peut précéder les troubles neurologiques dans la maladie de Huntington. Ils suggèrent également l'existence d'un lien entre la sévérité des dysfonctionnements cognitifs précoces et le statut génétique (nombre de CAG).

Mots-clés : Huntington, présymptomatique, neuropsychologie.

■P242 / 1508. À PROPOS D'UNE ASSOCIATION MURCS DÉCOUVERTE CHEZ UNE PATIENTE ÉTIQUETÉE « GOLDENHAR »

A. Vigouroux (1), C. Pienkowski (2), E. Bieth (1)
(1) Service de Génétique Médicale, Hôpital Purpan, TSA 40031, 31059 Toulouse Cedex 9 ; (2) Service d'endocrinologie pédiatrique, Hôpital des Enfants, TSA 70034, 31059 Toulouse Cedex 9

L'association MURCS se définit par la coexistence d'une agénésie/hypoplasie des dérivés mülleriens (MU), de malformations rénales (R) et d'une dysplasie des dérivés des somites cervico-thoraciques (CS), celle-ci se traduisant par différentes atteintes morphologiques touchant le rachis cervical et thoracique, les premières côtes et l'oreille externe. Le mécanisme étiopathogénique de ce syndrome est encore non élucidé mais il est vraisemblable que ces malformations soient liées à un défaut embryologique affectant l'organisation du mésoblaste intermédiaire et para-axial vers la quatrième semaine de vie fœtale.
Nous rapportons le cas d'une patiente âgée de 16 ans pour qui un diagnostic de syndrome de Goldenhar avait été porté dès la naissance devant une asymétrie faciale et une agénésie des pavillons des deux oreilles avec hypoplasie du conduit auditif externe. Elle présentait en outre une agénésie d'un pouce, une atrésie anorectale basse et des malformations des vertèbres du rachis cervical (de type Klippel-Feil) et de la région cervico-thoracique responsables d'une scoliose sévère (vertèbres en puzzle de C4 à D1). Ce n'est que plus tardivement qu'ont été découverts une agénésie utéro-vaginale, ainsi qu'un rein pelvien en fer à cheval associé à un reflux vésico-urétéral, faisant reconsidérer le diagnostic en faveur d'une association MURCS.
Cette observation illustre la difficulté à délimiter précisément au sein du large spectre des embryopathies d'origine mésodermique des entités telles que le syndrome de Goldenhar, l'association VACTERL ou le syndrome de Rokitansky-Kuster-Hauser. Les données actuelles indiquent que ces entités ont des spectres phénotypiques chevauchants, suggérant l'implication de mécanismes étiopathogéniques communs mais chronologiquement distincts, ceux survenant les plus précocement au cours de l'embryogenèse étant à l'origine des phénotypes les plus riches (association MURCS ou

VACTERL par exemple). En pratique, devant la découverte d'anomalies faisant évoquer une embryopathie d'origine mésodermique, il apparaît nécessaire de réaliser un bilan squelettique et viscéral complet visant à dépister des malformations de révélation tardive et qui pourraient bénéficier d'une prise en charge précoce.

Mots-clés : MURCS, syndrome de Goldenhar, agénésie utéro-vaginale.

■P243 / 1512. SIX ANS DE SCREENING MOLÉCULAIRE DU GÈNE DE LA CONNEXINE 26

V. Geromel (1), S. Szpiro-Tapia (2), A. Bazin (2)
(1) Unité de Biologie Moléculaire-Laboratoire Pasteur-Cerba (Cergy-Pontoise) ; (2) Département de Génétique-Laboratoire Pasteur-Cerba (Cergy-Pontoise)

Les surdités non syndromiques peuvent être représentées par des cas sporadiques ou familiaux. Les formes autosomiques récessives sont les plus fréquentes et la surdité est en générale congénitale. Dans les formes dominantes, la surdité est le plus souvent progressive ou d'apparition retardée, au cours de l'enfance ou de l'âge adulte. Plus de 70 gènes ont été localisés, chacun responsable d'une forme de surdité isolée : locus DFNA (pour Deafness Autosomique Dominante), DFNB (pour Deafness Autosomique Récessive), DFN (pour Deafness liée à l'X).
On sait depuis 1997 que la forme de surdité autosomique récessive (DFNB1), due à l'atteinte du gène de la connexine 26 (GJB2 ou CX26) est en cause dans la moitié des surdités récessives congénitales et dans 30-40 % des cas sporadiques congénitaux en France. Plus de 100 mutations différentes du gène GJB2 sont rapportées. Bon nombre d'entre elles sont des mutations « privées », elles ont été observées dans seulement un ou quelques pedigrees, mais des exemples d'allèles très communs ont été également rapportés dans plusieurs populations.
Nous présentons nos résultats du screening moléculaire du gène GJB2 sur une période de six ans. Des études moléculaires ont été réalisées par séquençage de l'exon 1 et 2 du gène GJB2. Au cours des 6 dernières années nous avons étudié 2 600 individus d'origine caucasienne présentant principalement une surdité sporadique ou congénitale.
Bien qu'une une hétérogénéité élevée ait été observée dans ce type de mutations parmi les patients, la mutation 30delG demeure la mutation la plus commune dans notre population : 48,6 % des patients analysés ont présenté cette mutation à l'état homozygote et 25,4 % à l'état hétérozygote. Dans les 26 % restants nous avons observé 55 diverses variations nucléidiques incluant une nouvelle variation : 407insA.
D'autres gènes de connexine peuvent être responsables d'une surdité isolée. L'un de ces gènes GJB6 (Connexine 30 ou CX30), semble être particulièrement important. Ce gène est très proche du gène de la connexine 26 et une délétion d'un seul allèle de ce gène est fréquemment retrouvée en association avec une mutation hétérozygote du gène de la connexine 26 chez des sujets sourds congénitaux. Nous avons décidé d'explorer le gène de la connexine 30 pour des patients présentant la mutation 30delG à l'état hétérozygote et une perte d'audition grave ou profonde.

Mots-clés : surdité non syndromique, GJB2, GJB6.

■P244 / 1513. ÉTUDE DES MUTATIONS DE TSC1 ET TSC2 CHEZ 146 PATIENTS ATTEINTS DE SCLÉROSE TUBÉREUSE DE BOURNEVILLE

Malinge Marie-Claire (1), Verny Christophe (2), Bersani Audrey (1), Kopf-Pottecher Audrey (2), Péculier Séverine (1), Guichet Agnès (1), Pinson Lucile (1), Triau Stéphane (3), Bonneau Dominique (1, 4)
(1) Service de Génétique Médiacle, CHU Angers ; (2) Service de Neurologie, CHU Angers ; (3) Laboratoire d'Anatomie et de Cytologie Pathologiques ; CHU Angers ; (4) Unité INSERM U694, Angers

Introduction : La sclérose tubéreuse de Bourneville (STB) est une maladie génétique autosomique dominante due à des mutations dans deux gènes suppresseurs de tumeurs TSC1 (9q34) et TSC2 (16p13) codant respectivement pour l'hamartine et la tubérine. Il s'agit d'une affection touchant de nombreux organes (cerveau, peau, rein, cœur, poumons) avec une grande hétérogénéité clinique. Le risque majeur de la STB est du à la présence de lésions cérébrales responsables de retard du développement, d'épilepsie et de troubles du comportement.
Patients et méthodes : Cette étude porte sur 146 patients atteints de STB vus en consultation au CHU d'Angers ou provenant de 37 centres français et de 3 centres étrangers (Liège, Lausanne et Genève). Il s'agit de 114 cas sporadiques (78 %) et de 32 cas familiaux (22 %). Le nombre des patients étudiés était initialement de 185 mais seuls les cas index ont été retenus dans les formes familiales. Cette population comprend également 14 fœtus. Les données cliniques ont été obtenues à partir des dossiers pour les patients vus à Angers et par une fiche standardisée pour les patients de l'extérieur. Les cas découverts en prénatal ont été retirés pour les analyses statistiques. L'ensemble de la séquence codante de TSC1 et TSC2 a été étudié par DHPLC puis par séquençage direct. La recherche de grands remaniements des gènes n'a pas été réalisée pour cette série.
Résultats et discussion : Le taux de détection des mutations TSC1 et TSC2 est de 72 % (105 patients/146). Les mutations de TSC1 représentent 34,2 % (n = 36) et celles de TSC2 65,8 % (n = 69) du total. La majorité de ces mutations (81/105 ; 77,1 %) n'a pas été décrite à ce jour.
Dans les cas sporadiques, on trouve une plus forte proportion de mutations de TSC2 (n = 56 ; 49 %) que de TSC1 (n = 19 ; 17 %) (p = 0,009). Aucune mutation n'a été mise en évidence pour 39 cas sporadiques (34 %).
Dans les cas familiaux, l'équilibre entre les mutations de TSC 1 (n = 17 ; 53 %) et de TSC2 (n = 13 ; 41 %) est mieux respecté. Dans ce groupe, aucune mutation n'a été détectée chez 2 individus (6 %).
Les mutations de TSC1 entraînent toutes une troncation de la protéine alors que celles de TSC2 sont dans 23 % des cas des mutations faux-sens.
Les signes cliniques les plus fréquents dans cette population sont neurologiques (n = 124 ; 91,1 %) avec une épilepsie, un retard mental et des troubles du comportement dans 90 %, 59 % et 48 % des cas respectivement. Les signes neurologiques sont plus fréquents dans les cas sporadiques que dans les cas familiaux (65 % vs 44 %) et chez les sujets porteurs de mutation TSC2 (96 % vs 85 % ; p = 0,01). Ce dernier point est encore plus marqué quand on considère les sujets ayant un retard mental chez qui l'on trouve plus de mutations de TSC2 que de TSC1 (70 % vs 35 % ; p = 0,01). En ce qui concerne les corrélations génotype-phénotype, il existe une association entre les mutations TSC1 et la présence de fibromes unguéaux (p < 0,001) et, à un degré moindre, entre les mutations de TSC2 et la présence d'un retard mental (p = 0,055).
Des mosaïques somatiques ont été mises en évidence chez 7 individus (5 TSC2 et 2 TSC1) comprenant 2 proposants atteints, 4 parents de proposants atteints et porteurs eux-mêmes de signes cliniques et 1 parent asymptomatique.
Les 14 fœtus de cette série ont tous été diagnostiqués en raison de la découverte de rhabdomyomes cardiaques ; il s'agissait toujours de cas sporadiques. Dix fœtus étaient porteurs de mutations de TSC2 et un seul de mutation de TSC1 ; aucune mutation n'a été mise en évidence pour les 3 derniers. L'atteinte fœtale était corrélée au fait qu'il s'agissait de cas sporadiques et à la présence de mutation de TSC2 (p = 0,009).

Mots-clés : sclérose tubéreuse de Bourneville, TSC1, TSC2.

■P245 / 1524. ÉRYTHRODERMIE CONGÉNITALE ICHTYOSIFORME BULLEUSE CHEZ DEUX ENFANTS NON APPARENTÉS ISSUS DE PARENTS PORTEURS D'UNE MOSAÏQUE SOMATIQUE : DIAGNOSTIC MOLÉCULAIRE ET PRÉNATAL

N. Chassaing (1), J. Kanitakis (2), S. Sportich (3), M.-P. Cordier-Alex (4), A.-M. Mazarguil (1), P. Calvas (1, 5), A. Claudy (2), P. Berbis (3), A. Hovnanian (1, 5)
(1) Service de Génétique Médicale, CHU Purpan, Toulouse ; (2) Service de Dermatologie, Hôpital Édouard Herriot, Lyon ; (3) Service de Dermatologie, Hôpital Nord, Marseille ; (4) Service de Génétique Médicale, Hôpital Édouard-Herriot, Lyon ; (5) INSERM U563, CHU Purpan, Toulouse

L'érythrodermie congénitale ichtyosiforme bulleuse (ECIB) est une forme rare et sévère d'ichtyose héréditaire. La maladie est caractérisée par un aspect de bébé « ébouillanté » à la naissance. L'évolution est ensuite marquée par l'apparition de bulles et d'érosions pendant la petite enfance, puis par le développement d'une hyperkératose étendue et invalidante. L'ECIB est transmise sur le mode autosomique dominant, et est due à des mutations des gènes codant pour les kératines 1 et 10 (KRT1, KRT10). Des mosaïques somatiques pour des mutations de KRT1 et KRT10 ont été rapportées, et se traduisent cliniquement par la présence de naevi verruqueux épidermolytiques (ou hamartomes cutanés acanthokératolytiques) suivant les lignes de Blaschko. Nous rapportons le cas de deux enfants non apparentés, atteints d'ECIB, pour lesquels nous avons identifié deux nouvelles mutations faux sens (p.Phe190Ile, et p.Glu489Lys) dans les séquences très conservées (Helix initiation and termination peptides) des domaines en bâtonnet 1A et 2B respectivement, du gène KRT1. Ces deux enfants sont nés de parents présentant des naevi verruqueux épidermolytiques étendus, reflet d'un mosaïcisme somatique pour la mutation dans le gène KRT1 héritée de façon homogène par leurs enfants. Pour une de ces deux familles, nous avons pu mettre en évidence la présence de la mutation familiale à partir d'une biopsie de peau atteinte du parent transmetteur, alors que cette mutation n'était pas retrouvée en peau saine, ni dans les leucocytes. Pour l'autre famille, la mutation n'a pu être identifiée au niveau de l'hamartome verruqueux, probablement en raison d'une faible proportion de cellules porteuses de cette mutation dans la région biopsiée. Ces résultats nous ont

permis de réaliser deux diagnostics prénataux pour deux grossesses successives chez une des deux familles, en raison du risque de récurrence familiale d'ECIB. Dans les deux cas, le fœtus n'avait pas hérité de la mutation familiale, et les deux enfants sont nés indemnes d'ECIB. L'étude de marqueurs polymorphes de la région du gène KRT1 a permis de prouver la présence du mosaïcisme germinal. Ainsi, la naissance d'un enfant atteint d'ECIB, doit faire rechercher la présence chez les parents d'hamartomes cutanés acanthokératolytiques évocateurs d'une mosaïque. Le risque de récurrence dépend du taux de mosaïcisme germinal, et est donc difficile à évaluer. Si une mutation des gènes KRT1 ou KRT10 a été identifiée chez le cas index, la sévérité de l'ECIB justifie de proposer systématiquement un diagnostic prénatal pour les grossesses suivantes.

Mots-clés : érythrodermie congénitale ichtyosiforme bulleuse, *KRT1, KRT10*, naevus verruqueux épidermolytique.

■P246 / 1525. EXTENSION DU SPECTRE PHÉNOTYPIQUE LIÉ AUX MUTATIONS DU GÈNE *SOX2* : DE L'ANOPHTHALMIA-ESOPHAGEAL-GENITAL (AEG) SYNDROME, À L'ABSENCE D'ANOMALIE OCULAIRE

Nicolas Chassaing (1), Brigitte Gilbert-Dussardier (2), Florence Nicot (1), Férechté Encha-Razavi (3), Véronique Fermeaux (4), Sandra Ibos (1), Maryse Fiorenza (2), Annick Toutain (5), Patrick Calvas (1)

(1) Service de Génétique Médicale, CHU Purpan, Toulouse ; (2) Service de Génétique Médicale, Hôpital Jean-Bernard, Poitiers ; (3) Service d'Histologie et d'Embryologie, Hôpital Necker, Paris ; (4) Service d'Anatomopathologie, CHU Dupuytren, Limoges ; (5) Service de Génétique Médicale, Hôpital Bretonneau, Tours

Introduction : Les anophtalmies/microphtalmies sont les plus sévères des malformations oculaires. Récemment, il a été montré que ces anomalies pouvaient être secondaires à des néo mutations dominantes du gène *SOX2*. Les anomalies sont alors le plus souvent bilatérales, mais peuvent être asymétriques. Le phénotype extra oculaire lié aux mutations de ce gène est variable, mais associe essentiellement des malformations cérébrales et génitales. Le syndrome AEG (ou AMEA pour Anophthalmia-Microphthalmia-Esophageal Atresia) (MIM 600992) peut être considéré comme une forme syndromique rare d'anophtalmie dans laquelle, aucune anomalie génétique n'est identifiée. Observation clinique et analyse moléculaire : Nous présentons le cas de deux enfants, issus d'un couple non apparenté en bonne santé. Le diagnostic de syndrome AEG/AEMA a été retenu chez la première fille du couple devant l'association d'une anophtalmie bilatérale, et d'une atrésie de l'œsophage (Menetrey *et al.*, 2002). La quatrième grossesse de ce couple a été interrompue devant une hydrocéphalie sévère. L'examen fœtopathologique a confirmé une sténose de l'aqueduc de Sylvius et retrouvé 11 paires de côtes. Aucune autre anomalie, en particulier ophtalmologique n'a été identifiée malgré une évaluation attentive. L'existence de signes communs entre le syndrome AEG/AMEA et les anomalies rencontrées dans les mutations du gène SOX2, nous a amené à rechercher une mutation dans cette famille. L'identification d'une délétion hétérozygote délétère de 16 pb de la région codante c.[del70_86] + [=] ; p.[Asn24_Ala29>GlyfsX66] chez l'enfant porteur du syndrome AEG/AEMA, absente chez les 3 sujets sains de la famille nucléaire, suggère très fortement l'implication de SOX2 dans le syndrome. Cette mutation a également été identifiée chez le fœtus présentant une hydrocéphalie, sans atteinte oculaire. Conclusion : Une part au moins des syndromes AEG/AMEA est secondaire à des mutations du gène SOX2. L'absence d'anomalie oculaire chez l'un des deux enfants porteur de la mutation délétère du gène SOX2, impliqué très précocement dans le développement oculaire, suggère l'existence de voies alternatives du développement précoce de l'œil. L'existence très probable d'une mosaïque germinale doit être prise en compte dans le conseil génétique. L'implication du gène SOX2 dans des présentations cliniques peu spécifiques, telles les hydrocéphalies isolées, mérite d'être évaluée afin de préciser le spectre phénotypique de ses mutations.

Mots-clés : anophtalmie, AEG, *SOX2*.

■P247 / 1538. HAMARTOMES DIENCÉPHALIQUES GÉANTS ET ANOMALIES ASSOCIÉES : SYNDROME DE PALLISTER-HALL « PLUS » OU AUTRE ENTITÉ ?

Fabien Guimiot (1), Pascale Marcorelles (2), Georges Bonyhay (3), Sophie Patrier (4), Valérie Drouin-Garraud (5), Valentine Icowick (6), Danièle Eurin (6), Hélène Moirot (5), Éric Verspyck (7), Pascale Saugier-Veber (5), Anne Lise Delezoide (1), Annie Laquerrière (4)

(1) Service de Biologie du Développement, Hôpital Robert-Debré, AP-HParis ; (2) Laboratoire de Pathologie, CHU Brest ; (3) Service d'anatomo-pathologie, Montfermeil ; (4) Laboratoire de Pathologie, CHU Rouen ; (5) Département de Génétique Médicale, CHU Rouen ; (6) Département de Radiologie Pédiatrique, CHU Rouen ; (7) Département de Gynécologie Obstétrique, CHU Rouen

Les hamartomes hypothalamiques sont de petites masses tissulaires de moins de 2 cm de diamètre constituées de tissu neuroglial. Ils sont pour la plupart observés dans un contexte polymalformatif, en particulier le syndrome récessif autosomique de Pallister-Hall. Ce syndrome associe une polydactylie centrale, une épiglotte bifide, une fente labio-palatine, une microphtalmie, une imperforation anale et un hamartome hypothalamique. Il est lié à des mutations du gène Gli3, localisé en 7p13, codant pour un facteur de transcription de type « doigt de zinc ». Les différentes mutations retrouvées sont exclusivement situées dans la région 3' du domaine « doigt de zinc ». Des mutations extérieures à cette région ont également été retrouvées dans d'autres syndromes, tels le syndrome de Greig (ou céphalopolysyndactylie), la polydactylie préaxiale de type IV, les polydactylies postaxiales de type A et B. Ce gène joue un rôle dans la croissance du squelette des mains en inhibant notamment Sonic Hedgehog.

Nous rapportons 4 cas d'hamartomes hypothalamiques géants associés à d'autres anomalies de la ligne médiane cérébrale et à des malformations faciales. Les fœtus âgés de 19 à 28 semaines d'aménorrhée sont issus de grossesses de parents jeunes non consanguins (après FIV, dans un cas). Ils présentent tous une asymétrie faciale avec hypertélorisme, hypoplasie majeure du massif médian, absence de choanes, et absence de fermeture du palais postérieur, ainsi que des anomalies oculaires (anophtalmie – 1 cas – ou microphtalmie unilatérale – 3 cas) et des oreilles : pavillons hypoplasiques et dysmorphiques (4 cas) avec condylomes prétragiens (3 cas). Les autres anomalies observées sont, dans un cas, une hémivertèbre avec synostoses costales, une cardiopathie complexe (1 cas), une hypoplasie unguéale (2 cas). Il n'y a jamais de polydactylie. La masse hamartomateuse est localisée dans la région diencéphalique, développée surtout aux dépens d'un des deux hémisphères et s'étend jusque dans les fosses nasales, empêchant la fermeture du palais. Le corps calleux est absent deux fois, la ligne médiane étant occupée par la tumeur ; dans un cas, il existe une holoprosencéphalie de type syntélencéphalique. L'hypophyse est toujours absente (hypoplasie des surrénales constante), de même que les bulbes olfactifs (bulbe unique hypoplasique dans un cas). L'analyse histologique de la tumeur montre des îlots focaux de neuroblastes au sein d'un réseau fibrillaire, formant parfois des pseudorosettes périvasculaires, évoluant selon un gradient de maturation en fonction de l'âge fœtal. L'extension de la tumeur à l'ensemble du diencéphale, par comparaison aux hamartomes habituellement décrits, ainsi que sa nature histologique, la font considérer comme une lésion dysembryoplasique dont la croissance précoce a entravé le développement facial et oculaire. De très rares cas similaires ont été antérieurement rapportés. Cette séquence malformative et les anomalies qui s'y associent se distinguent clairement du syndrome de Pallister-Hall et suggèrent un autre processus physiopathologique. Aucune exposition tératogène n'a été retrouvée dans les 4 cas. La recherche d'une homologie phénotypique avec des modèles murins n'a pas fourni une hypothèse génétique satisfaisante.

Mots-clés : syndrome de Pallister-Hall, hamartomes diencéphaliques géants, holoprosencéphalie.

■P248 / 1544. MUTATIONS DE *ZMPSTE-24 (FACE1)* ET HÉTÉROGÉNÉITÉ CLINIQUE DANS LES SYNDROMES PROGEROÏDES SEGMENTAIRES

C.L. Navarro (1), A. De Sandre-Giovannoli (2), R. Ben Yaou (3), K. Lagerstedt (4), D. Amor (5), F. Beemer (6), C. Massart (3), A. Boyer (2), V. Cormier-Daire (7), G. Bonne (3), N. Lévy (1, 2)

(1) Inserm U491, Genetique Medicale et Developpement, Faculte de Medecine de la Timone, Marseille, France ; (2) Département de Génétique Médicale, Hôpital d'Enfants la Timone, Marseille, France ; (3) Inserm U582, Institut de Myologie, GH Pitié-Salpêtrière, Paris, France ; (4) Department of clinical genetics karolinska university hospital, Solna, Sweden ; (5) Royal children's Hospital, Victoria, Australia ; (6) Universitair Medisch Centrum Utrecht, Department of Medical Genetics, Utrecht, Netherlands ; (7) Unité de génétique clinique, Hôpital Necker, Paris, France

Certains syndromes progéroïdes tels que la dysplasie acromandibulaire (MAD) ou la Dermopathie Restrictive (DR), ont été récemment associés à des mutations du gène LMNA. La DR est une génodermatose létale en période néonatale, caractérisée par une peau rigide et épaisse, une contraction des articulations, de nombreuses anomalies osseuses et une insuffisance pulmonaire généralement à l'origine du décès. Dans cette pathologie, les mutations du gène LMNA se produisent de novo et entraînent la production de Prélamine A tronquée, selon un mécanisme identique à celui identifié dans la Progeria de Hutchinson Gilford.

Par ailleurs, nous avons récemment montré que la forme autosomique récessive de DR était associée à des mutations « perte de fonction » dans le gène codant ZMPSTE24, une métalloprotéase essentielle à la maturation post-traductionnelle de la Lamine A. Ces mutations entraînant une accumulation de Prélamine A farnésylée avec, là encore, un mécanisme très similaire à celui de la Progeria.
Nous rapportons ici de nouvelles mutations récessives du gène FACE1, identifiées chez des patients atteints de Dermopathie Restrictive ou de syndromes progéroïdes segmentaires, parfois complexes, et rentrant seulement partiellement dans des catégories nosologiques définies.
Cinq nouvelles mutations ont été identifiées dans le gène FACE1, trois mutations d'épissage et deux mutations non sens, chez trois cas de DR classiques. Dans ces cas, la présence exclusive de Prélamine A avec absence de Lamine A mature a été démontrée. Une délétion homozygote de 3bp du gène FACE1 a été par ailleurs identifiée et associée à un syndrome progéroïdes complexe associant un vieillissement prématuré à une myopathie congénitale. Dans ce cas, nous avons démontré la co-existence de forme mature et immature de Lamine A.
Enfin, chez une enfant présentant un syndrome progéroïdes associant un retard de croissance et des acquisitions à une dysmorphie faciale et à une lipodystrophie avec résistance à l'insuline, une hétérozygotie composite pour deux nouvelles variations de FACE1 a été identifiée.
Chez les patients explorés, une désorganisation nucléaire a été observée avec des niveaux variables en fonction du type de mutations et du phénotype clinique.
Au total, nos données moléculaires et cellulaires nous ont permis de montrer que (i) l'accumulation de précurseur de la Lamine A avait un effet toxique pour la cellule ; (ii) que cet effet était directement dépendant de la quantité de précurseur accumulé et corrélable avec la sévérité de l'atteinte clinique ; (iii) que le mécanisme de la toxicité était lié au maintien d'un groupement farnésyl à l'extrémité C-terminale du précurseur de la Lamine A. Enfin, des données récentes obtenues in vitro, et en cours de confirmation à partir de modèles animaux, démontrent que des inhibiteurs de la farnésylation permettent de restaurer une morphologie cellulaire normale et représentent ainsi une voie thérapeutique potentielle dans la progeria et les pathologies apparentées.

Mots-clés : syndromes progéroïdes, lamine, ZMPSTE24 (FACE-1).

5. Génétique des Maladies Complexes

■P249 / 26. RECHERCHE D'UNE ASSOCIATION GÉNÉTIQUE ENTRE LE GÈNE *VDR* ET LA SUSCEPTIBILITÉ À LA PR DANS LA POPULATION FRANÇAISE

A. Maalej (1), E. Petit-Teixeira (2), L. Michou (2, 3), A. Rebai (4), F. Cornelis (2, 3), H. Ayadi (1)
(1) Laboratoire de Génétique Moléculaire Humaine, Faculté de Médecine de Sfax, Tunisie ; (2) GenHotel Laboratoire de Recherche Européen pour la Polyarthrite Rhumatoïde, Université d'Évry-Val-d'Essonne, ECRAF-Université Paris 7, 2, rue Gaston-Crémieux, CP 5727 91057, Évry, France ; (3) Unité de Génétique Clinique, Hôpital Lariboisière, Assistance Publique, Hôpitaux de Paris, France ; (4) Unité de Bio-informatique, Centre de Biotechnologie de Sfax, BP K. Sfax, Tunisie

La polyarthrite rhumatoïde (PR) est une maladie inflammatoire chronique. La susceptibilité à cette maladie auto-immune la plus fréquente est sous le contrôle de facteurs génétiques et environnementaux. Dans cette étude, nous avons recherché une éventuelle association entre le gène codant pour le récepteur de la vitamine D (VDR) et la susceptibilité à la PR. Trois polymorphismes du gène VDR, FokI T>C (rs 10735810), BsmI A>G (rs 1544410) et TaqI C>T (rs 731236) ont été analysés sur deux séries (Set 1 et 2) de cent familles nucléaires chacune. Toutes les familles sont caucasiennes d'origine française et comprennent chacune un patient et ses deux parents. Le génotypage des différents polymorphismes a été effectué par la technique de PCR-RFLP. L'analyse statistique a été effectuée notamment avec les tests de déséquilibre de Transmission (TDT) et de Risque Relatif du Génotype (GRR). L'analyse de la première série (Set 1) a montré un excès de transmission de l'allèle F de parents hétérozygotes aux enfants atteints (TDT : p = 0,01). De même nous avons remarqué une fréquence élevée du génotype F//F chez les atteints (GRR : p = 0,01). L'analyse de la seconde série (Set 2) a également montré un excès de transmission de l'allèle F et du génotype F//F chez les atteints mais les valeurs ne sont pas significatives (TDT : p = 0,20 ; GRR : p = 0,14). L'analyse de l'ensemble des familles (Set 1+Set 2) a montré une association très significative de l'allèle F et du génotype F//F (TDT : p = 0,006 ; GRR : p = 0,005). Par ailleurs, la recherche d'une éventuelle association de l'allèle F et du génotype F//F dans le sous groupe de malades portant l'allèle de susceptibilité HLA-DRB1 n'a pas montré une association plus significative par rapport à l'ensemble des familles du set 1 (TDT : 0,02). Des résultats similaires ont été trouvées dans les sous groupes de malades ayant une érosion ou une maladie auto-immune associée (TDT : p = 0,02 et p = 0,05) respectivement. En conclusion, nos résultats suggèrent que l'allèle F et le génotype F//F sont des marqueurs de prédisposition à la PR dans les familles Françaises.

Mots-clés : récepteur de la vitamine D, étude d'association, polyarthrite rhumatoïde.

■P250 / 27. DIMINUTION DE L'ACTIVITÉ ENZYMATIQUE DE LA GLYCÉROL-3-PHOSPHATE DÉHYDROGÉNASE MITOCHONDRIALE CHEZ UN ENFANT AUTISTE. UN NOUVEAU GÈNE IMPLIQUÉ DANS LES TROUBLES ENVAHISSANTS DU DÉVELOPPEMENT ?

H. Daoud (1), N. Gruchy (2), A. Roetig (3), N. Leporrier (2), S. Briault (1)
(1) INSERM U619, Faculté de médecine, Tours, Laboratoire de génétique chromosomique, CHR Orléans ; (2) Département de Génétique et reproduction, CHU de Caen ; (3) INSERM U393, Faculté de médecine Paris V, Necker, Paris

L'autisme est un syndrome neuro-développemental sévère, caractérisé par un déficit des interactions sociales et de la communication, associé à un répertoire de comportement restreint, répétitif et stéréotypé. Les causes en restent mal connues. Cependant, des arguments plaident en faveur d'une forte contribution génétique. Afin d'identifier de nouveaux gènes impliqués dans des pathologies à composante génétique, notre équipe a appliqué depuis plusieurs années, les stratégies de clonage positionnel à l'étude de remaniements chromosomiques équilibrés associés à des phénotypes anormaux. Cette approche nous a déjà permis d'identifier deux gènes impliqués dans les déficiences mentales liées au sexe (SOX3 & PHF8) ainsi qu'un gène impliqué dans l'autisme (KCNMA1). Nous rapportons ici l'étude d'une nouvelle translocation réciproque équilibrée, entre un chromosome 2 et un chromosome 7, apparue chez une fillette autiste. Un gène, GPD2, qui code la glycérol-3-phosphate déhydrogénase mitochondriale, est situé au niveau d'un des points de cassure. Des analyses par RT-PCR quantitative et des études fonctionnelles confirment la dérégulation de ce gène par le remaniement.
Nous espérons que les analyses complémentaires, en cours, nous permettrons d'élucider les mécanismes physiopathologiques qui aboutissent à une symptomatologie autistique chez la patiente porteuse de la translocation.

Mots-clés : autisme, clonage positionnel, gène GPD2.

■P251 / 56. ÉPIDÉMIOLOGIE GÉNÉTIQUE ET RELATIONS PHÉNOTYPE / GÉNOTYPE DES SURDITÉS POST-LINGUALES

L. Jonard (1), S. Marlin (2, 3), I. Rouillon (4), M. Louha (1), D. Feldmann (1, 3), E.N. Garabédian (4), R. Couderc (1, 3), C. Petit (3), F. Denoyelle (3, 4)
(1) Laboratoire de Biochimie et de Biologie Moléculaire, CHU Trousseau, AP-HP, Paris, France ; (2) Unité de Génétique Clinique, CHU Trousseau, AP-HP, Paris, France ; (3) INSERM U587, Institut Pasteur, Paris, France ; (4) Service d'ORL et de Chirurgie Cervico-Faciale, CHU Trousseau, AP-HP, Paris, France

La surdité neurosensorielle est le handicap sensoriel le plus fréquent et peut survenir à divers âges de la vie. La majorité des cas ont une origine génétique, les causes extrinsèques (infections, exposition au bruit, ototoxicité médicamenteuse essentiellement), restant minoritaires, de l'ordre de 25 % pour les surdités congénitales.
À la différence des surdités congénitales très étudiées, très peu de données existent sur l'implication des différents gènes de surdité post-linguale, en général de transmission autosomique dominante.
42 loci différents ont déjà pu être identifiés dans des études familiales de surdité dominante non syndromique, mais seuls 21 gènes sont connus. De plus, cette affection apparaît très hétérogène génétiquement. Enfin, l'absence de corrélation phénotype-génotype clairement établie rend impossible l'étude moléculaire de chacun de ces gènes pour chaque patient.
Les objectifs de ce projet collaboratif sont les suivants :
1. Rassembler des données cliniques et personnelles (interrogatoire, arbre généalogique, audiogramme, scanner des rochers, épreuves vestibulaires) ainsi que du matériel biologique pour des familles possédant de nombreux cas de surdités post-linguales avec une transmission dominante probable.
2. Réaliser une étude à large échelle afin d'estimer la prévalence des différents gènes responsables de surdités post-linguales.
3. Établir des relations phénotype/génotype pour chacun des gènes impliqués afin de proposer un arbre décisionnel en vue d'une étude génétique.

À ce jour, plus de 230 familles ont été collectées dans 20 centres. 58 familles ont été sélectionnées pour réaliser des analyses de liaison, ce qui représente la plus large cohorte de familles de surdités dominantes jamais étudiée. Grâce à une collaboration avec le Centre National du Génotypage, une étude complète du génome par SNP sera réalisée pour tous les membres des familles sélectionnées. L'analyse statistique des résultats devrait nous permettre de dégager, les loci impliqués pour les familles étudiées et d'analyser les gènes correspondants.

Nous tenterons ensuite d'établir des corrélations phénotype/génotype qui permettront de valider des arbres décisionnels diagnostiques chez le sujet sourd et de donner selon les cas un conseil pronostique, en fonction des risques évolutifs de chaque forme de surdité.

Enfin, dans un deuxième temps, nous étudierons les bases moléculaires et biochimiques impliquant les gènes les plus fréquemment retrouvés dans les surdités de transmission autosomique dominante.

En effet, les gènes connus à ce jour ont été peu caractérisés sur le plan fonctionnel et c'est dans le domaine des surdités d'installation progressive que l'on peut espérer développer le plus vite des thérapeutiques curatives (à ce jour inexistantes pour les surdités neurosensorielles), avant qu'apparaissent des lésions irréversibles de l'organe de Corti comme cela a été observé dans des surdités congénitales.

Mots-clés : surdités dominantes, analyse génétique, projet collaboratif.

■P252 / 79. ÉTUDE DU MICROSATELLITE GXAlu SITUÉ DANS LE GÈNE *NF1* (17q11.2) DANS LA DÉFICIENCE MENTALE

Tabagh R., Vourc'h P., Mbarek O., Marouillat S., Moraine C., Andres C.
INSERM U619, Université François-Rabelais de Tours, CHRU de Tours

La prévalence de la neurofibromatose de type 1, due à la mutation du gène *NF1* en 17q11.2, est augmentée de 60 fois dans la population autiste comparée à la population contrôle. Par ailleurs la délétion du locus du gène *NF1* est souvent associée à des difficultés d'apprentissage et à une déficience mentale parfois sévère. Ces informations suggèrent que le locus du gène *NF1* pourrait être un facteur de risque dans l'autisme et la déficience mentale non syndromique. Nous avons étudié par électrophorèse en condition dénaturante la distribution des allèles d'un marqueur microsatellite GXAlu situé dans l'intron 27b du gène *NF1* dans la déficience mentale. Des études préliminaires sur de petites populations nous ont permis de montrer qu'un allèle rare (allèle 4) de ce marqueur GXAlu est 14 fois plus fréquent dans la population avec déficience mentale que dans la population contrôle. L'allèle 4 apparaissait toujours à l'état hétérozygote chez les patients. Dans le but de confirmer ces observations sur de plus grandes populations, nous avons mis au point un protocole de dHPLC en condition non dénaturante. Ce protocole nous permet d'identifier rapidement le génotype GXAlu des individus testés.

Ces résultats préliminaires suggèrent que la région du marqueur multiallèlique GXAlu dans le gène NF1 est un locus de susceptibilité dans les déficiences mentales et l'autisme.

Remerciements : INSERM, Fondation Jérôme Lejeune, Fondation France Télécom, Conseil Régional de la Région Centre.

Mots-clés : déficiences mentales, *NF1*, dHPLC.

■P253 / 87. ASSOCIATION AU LOCUS GEFS+3 DE DEUX FAMILLES TUNISIENNES ATTEINTES DU SYNDROME GEFS+ ET RECHERCHE DE MUTATIONS AU NIVEAU DU GÈNE *GABRG2*

Faiza Fakhfakh (2), Nourhène Fendri (1, 2), Fatma Kammoun (1), Ahmed Rebaï (3), Chahnez Triki (1)
(1) Unité de Neuropédiatrie de Sfax, CHU Habib Bourghiba de Sfax ; (2) Laboratoire de génétique moléculaire humaine, Faculté de Médecine de Sfax ; (3) Unité de Biostatistique, Centre de Biotechnologie de Sfax

Une crise fébrile (CF) est définie comme une épisode convulsive survenant entre 3 mois et 6 ans sans évidence d'infection du système nerveux central. Récemment, un syndrome associant des CFs à une épilepsie et appelé GEFS+ a été décrit. Ce syndrome est caractérisé par une persistance des CF après l'âge de 6 ans et par une hétérogénéité phénotypique. Ce syndrome se transmet selon un mode autosomique dominant avec une pénétrance incomplète et pour lequel 4 gènes responsables ont été identifiés : *SCN1B, SCN1A, SCN2A* et *GABRG2* respectivement localisés sur les chromosomes 19q13.1, 2q24 et 5q31.1-q33.1. Cependant aucun gène n'est encore identifié pour les CF et seulement 5 loci ont été décrits. L'objectif de ce travail est de rechercher une liaison et/ou association aux loci connus de CF et de GEFS+ chez des familles Tunisiennes atteintes du syndrome GEFS+ et de rechercher ensuite des mutations ou des SNPs au niveau de gène candidat responsable.

Nous avons étudiés deux familles Tunisiennes atteintes de GEFS+ et comportant 69 individus. 14 individus présentant des CFs et/ou des crises afébriles ont été considérés atteints de GEFS+ et 55 individus qui n'ont jamais présenté de crises ont été considérés comme témoins normaux selon l'exploration clinique.

Les marqueurs microsatellites des différents loci de CF et de GEFS+ ont été utilisés pour une amplification par PCR des ADN des différents membres des deux familles. Une étude d'association a été réalisée par le test d'association intrafamiliale (FBAT). Les tests statistiques de liaison paramétriques et non paramétriques en plus du test de déséquilibre de transmission (TDT) ont été réalisés à l'aide du programme GENHUNTER v 2.1. Le gène *GABRG2* considéré candidat majeur de ce locus, a été ensuite testé pour la recherche de mutations ou de SNP par séquençage automatique de ses 9 exons et des régions flanquantes chez tous les patients et individus normaux des deux familles. L'analyse des résultats de génotypage par le test d'association FBAT a révélé pour les deux familles étudiées, une association au locus GEFS+3 (5q31.1-q33.1) avec une valeur de « p » très significative. Lesquels ont été confirmés par le test de déséquilibre de transmission (TDT).

Les résultats du séquençage du gène *GABRG2* ont montré la présence de 5 SNPs au niveau des exons 1, 5, 7, 8 et 9 chez certains patients des deux familles. Une analyse statistique de ces résultats est en cours pour tester l'éventuelle association de ces SNP avec la maladie.

Mots-clés : GEFS+, *GABRG2*, association.

■P254 / 94. DYSKINÉSIE CILIAIRE PRIMAIRE : RECHERCHE DES CAUSES MOLÉCULAIRES D'UN SYNDROME GÉNÉTIQUEMENT HÉTÉROGÈNE

Failly M. (1), Gehrig C. (1), Duriaux Saïl G. (1), Lazor R. (3), DeLozier Blanchet C.D. (2), Antonarakis S.E. (1, 2), Blouin J.-L. (1, 2)
(1) Université de Genève, Département de Médecine Génétique et Développement ; (2) Génétique Médicale, Hôpitaux Universitaires de Genève ; (3) Swiss Orphan Lung Disease Registry, Suisse

La Dyskinésie Ciliaire Primaire (PCD) est une maladie héréditaire autosomique et récessive (1/20'000) causée par une disfonction des cils ou des flagelles due à un défaut ultrastructural/fonctionnel de l'axonème. Des infections respiratoires, sinusites chroniques, et des bronchiectasies en résultent. Lorsqu'un situs inversus est associé, la maladie est appelée Syndrome de Kartagener (KS).

Cette étude présente nos recherches sur l'étiologie génétique de la PCD et du KS. Un criblage du génome humain par analyse de liaison sur l'ADN des membres atteints et non-atteints de 31 familles avec une ségrégation de la PCD pour localiser les gènes candidats a permis d'identifier 14 loci. Ce résultat supporte l'hétérogenéité génétique que suggéraient les variabilités cliniques et ultrastructurales de l'axonème observées chez les patients. Comme la plupart des intervalles de liaison co-localisent avec les gènes codant pour des isoformes des dynéines axonémiques, nous avons alors recherché des mutations dans plusieurs de ces gènes candidats. Ces protéines sont des composants majeurs des bras de dynéines qui sont fréquemment altérés sur les microscopies électroniques des axonèmes de patients atteints.

À ce jour, l'hétérogénéité génétique est confirmée par des mutations trouvées dans 3 gènes codant pour des dynéines *(DNAI1, DNAH5, DNAH11)* dans seulement 10-24 % des patients avec PCD/KS et un quatrième gène sur le chromosome X est actuellement pressenti *(RPGR)* ; l'analyse de dix autres gènes candidats (dynéines et autres) s'est révélée négative. Cependant il convient de moduler ces résultats en raison du petit nombre de patients qui ont été analysés en raison de leurs grandes tailles (chaines lourdes de dynéines) ou, par l'implication d'autres gènes non encore explorés qui pourraient également causer la maladie.

Dans le but de déterminer l'impact des 3 gènes autosomiques connus pour la PCD, nous étudions maintenant une large cohorte de patients pour les mutations dans *DNAI1, DNAH5, DNAH11*. Cette étude devrait déterminer le taux de patients avec une mutation dans l'un des 3 gènes, et par conséquent estimer le rôle pathologique de chacun de ces gènes dans la PCD. L'identification et la caractérisation des gènes responsables de la PCD devrait contribuer à une amélioration des connaissances sur les bases moleculaires de la Dyskinésie Ciliaire Primaire, étapes nécessaires pour améliorer le diagnostic et surtout pour la découverte de nouveaux traitements.

Mots-clés : dyskinésie ciliaire, kartagener, PCD.

■P255 / 103. UNE NOUVELLE MUTATION AU CODON 211 DU GÈNE DE LA PROTÉINE PRION (PRNP)

Katell Peoc'h (1, 2), Émilien Delmont (3), Stéphane Haïk (4), Jean-Jacques Hauw (4), Pierre Bedoucha (3), Jean-Philippe Brandel (5), Stéphanie Chasseigneau (1, 2), Martine Lenne (1), Jean-Louis Laplanche (1, 2)

(1) Service de Biochimie et Biologie Moléculaire (associé au CNR ATNC), Hôpital Lariboisière, Paris, France ; (2) UPRES EA 3621 « Biologie des Maladies à Prions et Régulations Cellulaires », Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, Paris ; (3) Service de Neurologie, Hôpital Pasteur, Nice, France ; (4) Service de Neuropathologie R. Escourolle et U360 INSERM Hôpital de la Pitié-Salpêtrière Paris, France ; (5) U360 INSERM, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France

Les maladies à prions humaines sont des maladies neurodégénératives rares (1/106), toujours mortelles, liées à l'accumulation dans le système nerveux central d'une forme modifiée de la protéine prion, codée par le gène *PRNP* (20pter). On décrit classiquement plusieurs formes distinguées par leur phénotype clinique et neuropathologique : (i) la maladie de Creutzfeldt-Jakob (MCJ), qui existe sous une forme sporadique, génétique ou acquise, (ii) le syndrome de Gertsmann-Sträussler-Scheinker (SGSS) et (iii) l'insomnie familiale fatale qui sont tous deux des formes génétiques très rares. Les formes génétiques, de transmission autosomique dominante, représentent environ 15 % des cas et sont liées à des mutations ponctuelles et des insertions dans le gène *PRNP* codant la protéine prion (PrP). Plus d'une cinquantaine de mutations ont été décrites à ce jour.
Dans le cadre du réseau Français d'Épidémiosurveillance des maladies à prions, une patiente d'origine franco-russe présentant des troubles neurologiques évocateurs a été signalée. La symptomatologie était marquée par des troubles de la marche, un syndrome cérébelleux, une évolution lente, supérieure à deux ans, puis dans un second temps par une démence de type frontal. La protéine 14-3-3 dans le LCR, habituellement élevée dans la MCJ, s'est avérée négative, de même que l'EEG et l'IRM de diffusion. L'examen neuropathologique a retrouvé de nombreux dépôts à centre PAS positifs abondants dans l'isocortex et le cervelet, marqués par un anticorps dirigé contre la PrP, avec un aspect multicentrique caractéristique du SGSS. Des lésions de spongiose et de gliose y étaient associées. La recherche par Western blot dans le tissu cérébral de la forme protéinase K-résistante, pathologique, de la PrP était positive. La mère et la sœur de la patiente étaient décédées d'une maladie neurodégénérative d'évolution similaire. L'analyse de la séquence codante de PRNP a révélé la présence de la mutation c.682G>C (p.E211D ; seqref M13899) portée à l'état hétérozygote. La mutation E211D est la douzième mutation décrite à ce jour associée au SGSS. Le résidu 211, conservé chez les mammifères et situé à la surface de la troisième et dernière hélice alpha de PrP, pourrait jouer un rôle critique dans la stabilité de la protéine ou son interaction avec une protéine partenaire.
Cette nouvelle observation souligne la complexité de la physiopathologie des maladies à prions, puisque une autre mutation affectant le même codon, E211Q, est associée à un tableau différent, typique de la MCJ (Peoc'h *et al.*, *Hum Mut*, MIB # 323, 2000).

Mots-clés : prion, maladies neurodégénératives, syndrome de Gerstmann-Sträussler-Scheinker.

■P256 / 108. ASSOCIATION DE POLYMORPHISMES DES GÈNES *KCNQ1*, *KCNE1*, *SCN5A* ET *KCNH2* AVEC LA LONGUEUR DE L'INTERVALLE QTc CHEZ DES SUJETS SAINS

Laetitia Gouas (1), Viviane Nicaud (2), Myriam Berthet (1), Anne Forhan (3), Laurence Tiret (2), Beverley Balkau (3), Pascale Guicheney (1) et le groupe DESIR
(1) INSERM U582, Institut de Myologie, IFR 14, UPMC, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France ; (2) INSERM U525, IFR 14, UPMC, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France ; (3) INSERM U258, IFR 69, Villejuif, France

L'intervalle QT reflète la durée de la repolarisation ventriculaire à l'électrocardiogramme. Sa longueur est variable et dépend du rythme cardiaque, de l'âge et du sexe. Il a été suggéré que l'intervalle QT chez des sujets sains était en partie déterminer par des facteurs génétiques. L'objectif de notre étude est de déterminer si des polymorphismes, présents dans les gènes codant des sous-unités de canaux ioniques cardiaques, sont associés à la durée de l'intervalle QT corrigé (QTc) chez des sujets sains. Nous avons constitué deux groupes de 200 sujets (100 hommes, 100 femmes) présentant les intervalles QTc les plus courts et les plus longs à partir d'une cohorte de 2 008 sujets sains. Dix polymorphismes du gène KCNQ1, quatre du gène SCN5A, deux du gène KCNE1 et un du gène KCNH2 ont été étudiés.
Tous les polymorphismes étaient en équilibre de Hardy-Weinberg dans les deux groupes de sujets. Les fréquences haplotypiques et alléliques des 10 polymorphismes de KCNQ1 n'étaient pas significativement différentes entre les deux groupes. Les allèles 5457 T (5457 C>T, D1819D) de SCN5A et 2690 C (2690 A>C, K897T) de KCNH2 étaient significativement plus fréquents dans le groupe de sujets présentant les intervalles QTc les plus courts. En revanche, les allèles 253 A (253G>A, D85N) de KCNE1, 1673 G (1673 A>G, H558R) et 1141-3 A (1141-3 C>A) de SCN5A étaient significativement plus fréquents dans le groupe de sujets présentant les intervalles QTc les plus longs. Par ailleurs, une interaction entre les polymorphismes 2690 A>C de KCNH2 et 2031+32 A>G de KCNQ1 a été identifiée suggérant que l'effet de l'allèle 2690 C dépend d'un contexte génétique particulier.
Ces résultats suggèrent que des déterminants génétiques localisés dans les gènes KCNQ1, SCN5A, KCNE1 et KCNH2 influencent la longueur de l'intervalle QTc chez des sujets sains et pourraient représenter des facteurs de risque d'arythmies ou de mort subite dans les pathologies cardiovasculaires.

Mots-clés : intervalle QT, polymorphismes, canaux ioniques.

■P257 / 109. MISE EN ÉVIDENCE D'UNE LIAISON ET D'UNE ASSOCIATION ENTRE L'ALLÈLE PTPN22*620W ET LA POLYARTHRITE RHUMATOÏDE SÉROPOSITIVE POUR LE FACTEUR RHUMATOÏDE

Philippe Dieudé (1, 2), Sophie Garnier (1), Laëtitia Michou (1), Élisabeth Petit-Teixeira (1), Élodie Glikmans (1), Céline Pierlot (1), Sandra Lasbleiz (1, 2), Thomas Bardin (1, 2), Bernard Prum (3) et François Cornélis (1, 2, 4)
(1) GenHotel-EA3886, Évry-Genopole, France ; (2) Unité de Génétique Clinique, Fédération de Rhumatologie, Centre Viggo-Petersen, Hôpital Lariboisière, Assistance Publique des Hôpitaux de Paris, Paris, France ; (3) Laboratoire Statistique et Génome, Évry-Genopole, France ; (4) Consultation de Génétique Adulte, Centre Hospitalier Sud-Francilien, Évry-Corbeil, France

Introduction : *PTPN22* (Protein Tyrosine Phosphatase Non-receptor 22) code pour une tyrosine phosphatase (LYP) impliquée dans la régulation négative des lymphocytes T activés. Un polymorphisme fonctionnel situé sur le codon 620 qui remplace un résidu arginine (R) par un résidu tryptophane (W) a pour conséquence une diminution de cette régulation négative conduisant à une « auto-activation » lymphocytaire. L'allèle PTPN22*620W a été trouvé associé à de nombreuses autres maladies auto-immunes telles que le diabète de type 1, la polyarthrite rhumatoïde (PR), le lupus, les dysthyroïdies auto-immunes ou encore le vitiligo. Si de multiples études d'association cas-témoins ont répliqués l'association de l'allèle 620W avec la PR (association restreinte à la PR séropositive pour le facteur rhumatoïde[FR+]), l'argument de liaison n'a jamais été apporté par les études de familles multiplex ou ASP (Affected Sib Pair).
Objectif : Recherche de l'argument de liaison de l'allèle PTPN22*620W avec la PR séropositive pour le FR+. Matériel et Méthodes. 2 échantillons de 100 familles trio chacun (un patient atteint de PR et ses 2 parents) et 1 échantillon de 88 familles ASP ont été génotypés pour le polymorphisme PTPN22*R620W. Le génotypage a été réalisé par PCR-RFLP, en utilisant les enzymes de restriction XcmI et RsaI. L'information de liaison a été obtenue par le transmission disequilibrium test (TDT). Lest tests d'association réalisés sont le génotype relative risk (GRR) et une étude cas-témoins avec les familles ASP.
Résultats : L'analyse TDT a montré un excès de transmission de l'allèle PTPN22*620W pour les patients PR RF+ (61 % de transmission, P = 0,037). L'analyse GRR, a trouvé une surreprésentation des génotypes portant l'allèle à risque (R/W et W/W) : 34 % chez les patients PR FR+ et 24 % chez les contrôles (P = 0,047, OR = 1,69, 95 %IC [1,03-2,78]). Les analyses réalisées sur l'échantillon ASP n'ont pas suggéré d'évidence de liaison au locus PTPN22, suggérant un manque de puissance, en accord avec les résultats négatifs publiés.
Conclusion : Cette étude est la première à apporter l'argument de liaison génétique de PTPN22 avec la PR RF+, permettant d'affirmer PTPN22*620W comme authentique facteur génétique de la PR.

Mots-clés : *PTPN22*, liaison, polyarthrite rhumatoïde.

■P258 / 111. ABSENCE D'ASSOCIATION ENTRE L'ALLÈLE PTPN22*620W ET LA SCLÉRODERMIE DANS LA POPULATION FRANÇAISE CAUCASIENNE

Dieudé P. (1, 2), Wipff J. (3), Meyer O. (4), Mouthon L. (5), Guillevin L. (5), Pierlot C. (1), Glikmans E. (1), Bardin T. (2), Cornélis F. (1, 2, 6), Kahan A. (3), Boileau C. (7), Allanore Y. (3, 7)
(1) GenHotel-EA3886, Évry-Genopole, France ; (2) Fédération de Rhumatologie, Centre Viggo-Petersen, Hôpital Lariboisière, AP-HP, Paris, France ; (3) Service de Rhumatologie A, Hôpital Cochin, AP-HP, Paris, France ; (4) Service de Rhumatologie, Hôpital Bichat, AP-HP, Paris, France ; (5) Service de Médecine Interne, Hôpital Cochin, AP-HP, Paris, France ; (6) Unité Oncogénétique-Génétique Adulte, Centre Viggo Petersen, Hôpital Lariboisière, AP-HP, Paris, France ; (7) INSERM U383, Hôpital Necker, AP-HP, Paris, France

Introduction : *PTPN22* (Protein Tyrosine Phosphatase Non-receptor 22) code pour une tyrosine phosphatase (LYP) impliquée dans la régulation négative des lymphocytes T activés. Un polymorphisme fonctionnel situé sur le codon 620 qui substitue un résidu arginine (R) par un résidu tryptophane (W) a pour conséquence une diminution de cette régulation négative conduisant à une « auto-activation » lymphocytaire. L'allèle PTPN22*620W a été trouvé associé à de nombreuses autres maladies auto-immunes telles que le diabète de type 1, la polyarthrite rhumatoïde, le lupus, les dysthyroïdies auto-immunes ou encore le vitiligo. PTPN22*620W semble donc être un facteur génétique commun à de nombreuses maladie auto-immunes. À ce jour, aucune d'étude d'association concernant la sclérodermie systémique n'a été rapportée. Objectif : Le but de cette étude est de tester l'association de l'allèle PTPN22*620W avec la sclérodermie systémique.
Matériel et Méthodes : Étude cas-témoins au cours de laquelle 111 patients atteints de sclérodermie systémique et 120 contrôles ont été génotypés pour le polymorphisme PTPN22*R620W. Le génotypage a été réalisé par PCR-RFLP, en utilisant les enzymes de restriction XcmI et RsaI. Les fréquences alléliques et génotypiques ont été comparées entre les cas et les témoins.
Résultats : Le polymorphisme testé était à l'équilibre de Hardy-Weinberg pour les 2 populations explorées. La fréquence de l'allèle PTPN22*620W était de 7,7 % chez les patients et 7,9 % chez les contrôles (P = 0,91).La fréquence des génotype comprenant l'allèle à risque (R/W et W/W) était de 14,4 % chez les patients et de 15 % chez les contrôles (P = 0,9). Une analyse en sous-groupe prenant en compte la présence ou non d'anticorps spécifiques de la sclérodermie systémique (anti-topoisomérase I et anti-centromère) n'a pas montré d'association restreinte à ce sous groupe.
Conclusion : Le polymorphisme fonctionnel PTPN22*R620W dont l'allèle 620W a été rapporté comme associé à de nombreuses pathologies auto-immunes n'est pas associé à la sclérodermie systémique dans cette population française caucasienne européenne.

Mots-clés : *PTPN22*, sclérodermie, association.

■P259 / 116. UN TDT 2-LOCUS POUR TESTER L'INTERACTION GÈNE – GÈNE DANS LA SUSCEPTIBILITÉ À LA MALADIE

S. Kotti (1), F. Clerget-Darpoux (1)
INSERM U535, Villejuif, France

Pour bon nombre de maladies multifactorielles, il est vraisemblable que plusieurs gènes interagissent dans le processus physiopathologique. Dans ces situations d'interaction, il est possible que chaque gène pris isolément ait peu, voire pas d'effet. Les méthodes qui recherchent à mettre en évidence dans un premier temps les effets individuels de gènes seront donc dans ces cas inefficaces. Nous proposons ici une nouvelle méthode : le TDT 2-locus (Transmission Disequilibrium Test 2-locus) qui peut répondre à une telle situation. Notre méthode s'applique à des familles de trios génotypés pour deux loci A et B. L'enfant atteint représente le « génotype cas » alors que le « génotype contrôle » est constitué des allèles parentaux non transmis à l'enfant atteint. Les génotypes des cas et des contrôles sont d'abord utilisés pour estimer les pénétrances marginales relatives à chaque génotype au niveau de chaque gène (F A) et (F B) et du génotype commun (F AB). Dans une deuxième étape, nous évaluons l'hypothèse nulle d'absence d'interaction qui est équivalente à tester l'égalité suivante : (F AB) = (F A) × (F B)T. Pour deux loci bi-alléliques, le test d'absence d'interaction peut être réalisé par un test de chi2 avec quatre degrés de liberté. Sous l'hypothèse alternative de l'existence d'une interaction, la statistique suit une distribution de chi'2 pour laquelle nous pouvons calculer le paramètre de non-centralité et la taille de l'échantillon requise pour réaliser un test avec une puissance et une erreur de type I données. Nous avons démontré qu'il existe des modèles pour lesquels la taille de l'échantillon exigée est plus petite pour détecter l'effet commun que l'effet marginal de chaque gène. Cette stratégie permet également de démontrer le rôle de deux gènes dans la susceptibilité à la maladie sans qu'ils aient d'effet marginal propre. À l'heure où les études d'association sur le génome sont à la mode et visent à ne détecter que des effets individuels, l'étude simultanée de plusieurs gènes d'un même système biologique par cette approche nous semble intéressante.

Mots-clés : TDT 2-locus, interaction gène-gène, étude d'association.

■P260 / 162. ASSOCIATION DU GÈNE DE LA FIBRILLINE1

Allanore Y. (1), Wipff J. (1), Guidicci S. (6), Giraud M. (3), Garchon H.J. (3), Mouthon L. (4), Guillevin L. (4), Meyer O. (5), Matucci-Cerinic M. (6), Kahan A. (1), Boileau C. (2)
Paris 5 Services de Rhumatologie A (1), Médecine Interne (4), hôpital Cochin, AP-HP, Paris, France. Université Paris 12, Service de Rhumatologie (5), hôpital Bichat, AP-HP, Paris, France. Université Paris 5, INSERM U383 (2), INSERM U580 (3) hôpital Necker, AP-HP, Paris, France. Service de Médecine interne (6), Azienda Ospedaliera Careggi, Florence, Italie

Introduction : Le syndrome de Marfan est le prototype des fibrillinopathies. Il relève de mutations dans 2 gènes : le gène de la fibrilline1 (FBN1) et celui du récepteur 2 du TGFbeta (TGFBR2) (Boileau C. *Curr Opin Cardiol* 2005). Un faisceau d'arguments fait penser que la sclérodermie systémique (ScS) appartient au groupe des fibrillinopathies. En effet, il a été montré qu'une duplication du gène *FBN1* était responsable du phénotype d'un des modèles animaux de la ScS, la souris Tight skin, et que des marqueurs polymorphes semblent associés à la maladie chez les malades appartenant à l'ethnie des indiens choctaws et chez des malades japonais.
Objectif : Notre objectif était d'étudier dans des populations caucasiennes européennes l'implication des gènes *FBN1* et *TGFBR2* dans la ScS.
Patients et Méthodes : 266 sujets français non apparentés comprenant 141 patients ScS ayant une moyenne d'âge de 56,8 ± 13,2 ans, une durée moyenne de la maladie de 8,2 ± 7,8 ans, avec 85/141 (60 %) formes cutanées limitées et 125 témoins appariés en âge et sexe ont d'abord été inclus. Dans un 2e temps, 168 sujets italiens avec 89 patients et 79 témoins ont été inclus. Dans le cadre d'une étude cas-témoins, six polymorphismes du gène FBN1 ont été étudiés (1 SNP dans l'intron C et 5 marqueurs microsatellites, D15S1028 en 5', MTS2 et MTS3 intragéniques, D15S123 et D15S143 en 3') et un microsatellite intragénique du gène TGFBR2 (D3S3727). De plus, un séquençage du gène *TGFBR2* a été réalisé chez 25 patients et 6 témoins de la cohorte française. L'analyse statistique a fait appel à trois logiciels différents « Arlequin », « Cocaphase » et « Phase 2 ».
Résultats : Les 2 populations étaient en équilibre d'Hardy-Weinberg. Deux blocs de déséquilibre ont été mis en évidence pour le gène FBN1 : un en 5' et un en 3' du gène. Dans la cohorte française, l'allèle 146 du marqueur MTS3 est plus fréquent chez les patients que chez les témoins (p = 0,046). Cette différence s'accentue dans les sous-groupes avec atteinte pulmonaire : les patients avec une fibrose pulmonaire versus les témoins (p = 0,008) et les patients avec une CVF < 75 % (p = 0,04). Par ailleurs, il existe une association entre l'allèle 173 du marqueur D15S1028 et le phénotype ScS (p = 0,024). Dans la cohorte italienne, c'est l'allèle 164 du marqueur MTS2 qui est associée à la ScS (p = 0,03). L'analyse du marqueur du gène *TGFBR2* n'a pas révélé d'association et le séquençage n'a pas mis en évidence de variations nucléotidiques spécifiques de la ScS.
Conclusion : Ces résultats obtenus à partir d'un large échantillon de malades caucasiens européens montrent une association entre des marqueurs de la région 5' du gène FBN1 et la sclérodermie systémique. Aucune anomalie du gène TGFBR2 n'a été détectée chez les patients ScS. Ces résultats confortent l'hypothèse du rôle clé de la fibrilline-1 dans la ScS.

Mots-clés : fibrilline-1, sclérodermie systémique, gène.

■P261 / 248. ÉTUDE GÉNÉTIQUE DES CARDIOMYOPATHIES DILATÉES PAR ANALYSE DE SÉGRÉGATION

A. Maltret (1), C. Bonaïti-Pellié (2), D. Sidi (3), A. Munnich (1), D. Bonnet (3)
(1) Service de Génétique Médicale, Hôpital, Necker-Enfants Malades, Paris ; (2) INSERM U535, Hôpital Paul-Brousse, Villejuif ; (3) Service de Cardiologie pédiatrique, Necker-Enfants Malades, Paris

Les cardiomyopathies dilatées (CMD) de l'enfant sont des maladies complexes, qui se caractérisent par une atteinte de la fonction contractile du myocarde et une dilatation du ventricule gauche. Cette pathologie est rare puisque son incidence est estimée à 0,52/100 000 et 0,72/100 000 habitants par an respectivement aux USA et en Australie. La CMD n'en reste pas moins une maladie très grave, l'évolution est volontiers marquée par une défaillance cardiaque et les CMD restent la première cause de transplantation cardiaque de l'enfant. L'hérédité des CMD familiales de l'adulte est bien connue. Le mode de transmission autosomique dominant est le plus fréquent chez l'adulte et un grand nombre de gènes ou de loci a été d'ailleurs identifié comme responsable de forme familiale dominante de cette affection. Chez l'enfant aucune étude de génétique formelle n'a été réalisée et aucune base moléculaire de formes dominantes de CMD n'est connue. Nous avons repris 188 dossiers d'enfant atteint de CMD et ayant été hospitalisé dans le service de Cardiologie pédiatrique de l'hôpital Necker-Enfants Malades. L'âge moyen au diagnostic est de 30 mois. Les cardiomyopathies se repartissent en 99(52 %) de formes idiopathies et 91(48 %) de formes dont l'étiologie a pu être identifiée. Les étiologies principales sont, dans notre série, les cytopathies mitochondriales, les troubles du rythme ventriculaire et les séquelles d'intoxication aux anthracyclines alors que dans la littérature les principales causes rapportées de CMD sont les maladies neuromusculaires et les séquelles de myocardite. Dans les formes idiopathiques, une échographie cardiaque a été proposée aux parents et aux frères et sœurs. Un tiers des familles ainsi recensé et exploré comportait plus d'un membre atteint, soit un taux de formes

familiales comparable aux adultes. Nous avons retrouvé autant de filles que de garçon atteints. Nous avons réalisé une analyse de ségrégation sur les 76 familles informatives afin de déterminer avec quel mode de transmission la répartition des individus atteints dans notre échantillon était la plus compatible. Nous concluons à une transmission autosomique dominante à pénétrance incomplète sans cas sporadique. La pénétrance, probabilité qu'un individu porteur ait une anomalie cardiaque (symptomatique ou non), est de 36 %.

L'homogénéité de ce mode de transmission a été testée en examinant si la fréquence de ségrégation variait selon le statut phénotypique des parents. Que les parents soient sains, atteints ou de statut indéterminé, la fréquence de ségrégation ne diffère pas significativement. Nous ne mettons donc pas en évidence une hétérogénéité du mode de transmission. Ces résultats, ainsi que l'absence d'excès de consanguinité observée dans notre échantillon, vont à l'encontre de l'hypothèse selon laquelle les CMD de l'enfant relèvent volontiers d'une hérédité récessive ou sont sporadiques. Nous pensons donc que, comme pour les cardiomyopathies hypertrophiques, il serait nécessaire de proposer une enquête familiale aux ascendants et germains d'un cas index atteint de CMD. L'identification et le phénotypage de familles de CMD devraient ainsi aider à la recherche des bases moléculaires des CMD de l'enfant.

Mots-clés : cardiomyopathie dilatée, enfant.

■P262 / 273. RECHERCHE DE MUTATIONS DU GÈNE *CLCN2* DANS DES FAMILLES AVEC ÉPILEPSIE GÉNÉRALISÉE IDIOPATHIQUE PAR DHPLC

C. Saint-Martin (1), C. Depienne (1), I. An (1), J.C. Poncer (2), E. Fedirko (1), R. Nabbout (3), E. LeGuern (1)

(1) INSERM U679, Hôpital de la Pitié-Salpêtrière, Paris ; (2) INSERM U739, Hôpital de la Pitié-Salpêtrière, Paris ; (3) Service de Neuropédiatrie, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris

Les Épilepsies Généralisées Idiopathiques (EGI) correspondent à 30 % de toutes les épilepsies. Elles sont cliniquement très hétérogènes, de la crise « grand mal » aux absences, avec une forte composante génétique. La plupart des gènes responsables des formes familiales d'épilepsie code pour des transporteurs ioniques. Récemment, des mutations du gène CLCN2, codant pour le canal chlore voltage-dépendant CLC-2, ont été identifiées dans 3 familles avec un phénotype EGI hétérogène. Afin de déterminer si CLCN2 est impliqué dans différentes formes d'EGI, nous avons recherché des mutations de ce gène par DHPLC dans 43 familles avec EGI (des familles avec épilepsie myoclonique juvénile, avec épilepsie généralisée associée à des convulsions fébriles et avec différents type d'EGI) et 23 cas isolés avec une épilepsie myoclono-astatique (épilepsie sévère avec absences et myoclonies massives avec chutes en arrière). À ce jour, aucune mutation de CLCN2 n'a pu être identifiée dans cette série, indiquant que ce gène ne contribue qu'à une très faible proportion des EGI. En revanche, nous avons identifié deux nouveaux variants faux-sens de CLC-2, R235Q et R644C, également présents dans les populations témoins. Ces deux substitutions altèrent des acides aminés fortement conservés de la protéine et sont susceptibles de modifier les propriétés électrophysiologiques du canal. De plus, nous avons montré qu'un variant décrit récemment chez un patient souffrant d'une épilepsie partielle est en fait un polymorphisme présent dans la population témoin appropriée. Si le très petit nombre de mutations de CLCN2 semble indiquer une faible implication de ce gène dans les EGI, certains polymorphismes rares pourraient constituer des facteurs de susceptibilité et/ou modulateurs du phénotype épileptique.

Cette étude souligne aussi l'importance de tester les nouveaux variants dans une population contrôle suffisamment grande et de même origine ethnique.

Mots-clés : épilepsie, canal chlore, mutation.

■P263 / 285. LUXATION CONGÉNITALE DE HANCHE : UNE ÉTUDE D'ASSOCIATION POUR ANALYSER L'IMPLICATION DE DIFFÉRENTS GÈNES CANDIDATS

K. Rouault (1), V. Scotet (1), F. Dubrana (2), B. Fenoll (3), F. Gaucher (4), D. Tanguy (5), C. Yaacoub (6), C. Férec (1)

(1) INSERM U613 « Génétique moléculaire et génétique épidémiologique », Brest ; (2) Service de Chirurgie Orthopédique, CHU La Cavale Blanche, Brest ; (3) Service de Chirurgie Pédiatrique, CHU Morvan, Brest ; (4) Service de Chirurgie Orthopédique, Hôtel Dieu, Pont-L'Abbé ; (5) Service de Médecine Physique, Centre de Perharidy, Roscoff ; (6) Service de Chirurgie Orthopédique, CH Cornouaille, Quimper

Introduction : La luxation congénitale de hanche (LCH), qui est l'une des anomalies du squelette les plus fréquentes, est un problème de santé publique en raison de sa fréquence élevée, du handicap fonctionnel sévère qu'elle induit si elle n'est pas prise en charge précocement et de son évolution naturelle vers la coxarthrose. Cette maladie est très fréquente dans le département du Finistère, et plus particulièrement dans le Pays Bigouden où il a été montré que 3,8 % des filles nées dans les années 1950 étaient luxées. Sur le plan étiologique, cette pathologie présente une composante mécanique liée aux conditions de la grossesse et de l'accouchement (facteurs exerçant des excès de pression sur le fémur fléchi), mais les prédispositions ethniques et l'agrégation familiale observées suggèrent qu'elle présente également une composante génétique. Afin d'étudier l'implication de différents gènes candidats dans cette pathologie complexe, nous avons mis en place une étude d'association dans le département du Finistère. Notre premier objectif est de décrire les caractéristiques épidémiologiques de notre cohorte de patients. Méthode : Les patients luxés sont recrutés par les chirurgiens au sein des services de chirurgie pédiatrique et/ou orthopédique des principaux centres de traitement de la LCH dans le département. La participation à l'étude inclut la réalisation d'un prélèvement sanguin et la réponse à un questionnaire. Lorsque cela est possible, un prélèvement sanguin des deux parents est également demandé en vue de réaliser le test de déséquilibre de transmission. Les témoins sont appariés selon l'âge, le sexe et l'origine géographique des cas inclus dans le protocole. Résultats : À ce jour, 229 patients ont été recrutés et la cohorte est composée à 92,1 % par des femmes (n = 211 – sex-ratio : 1:12). L'atteinte est bilatérale dans 61,0 % des cas et lorsqu'elle est unilatérale, elle affecte de façon similaire chaque côté (hanche gauche : 50,6 % – hanche droite : 49,4 %). Le mode de présentation à la naissance est documenté chez 165 patients. La présentation en siège est observée chez 12,7 % des personnes et 55,0 % de ces naissances ont nécessité une césarienne. Dans la cohorte, 15,8 % des patients avaient un poids de naissance élevé (supérieur ou égal à 4 kg) et 5,6 % étaient nés après le terme (supérieur ou égal à 42 semaines de gestation). La LCH touche le premier enfant de la fratrie dans 42,9 % des cas. Sur le plan clinique, des anomalies posturales ont été observées chez 11,4 % des patients. Une hyperlaxité ligamentaire était également présente dans 11,8 % des cas et une antétorsion fémorale dans 22,3 %. Du point de vue génétique, l'étude d'association est réalisée, dans un premier temps, sur deux gènes candidats impliqués dans la morphogenèse des organismes multicellulaires (HOXB9) et la constitution du tissu cartilagineux (COL2A1). Le choix des polymorphismes SNPs à étudier est conditionné par le pourcentage d'hétérozygotie et la localisation des marqueurs dans les gènes. Cette sélection permet d'isoler trois marqueurs pour l'exploration du gène codant pour la chaîne alpha-1 du collagène de type II (rs2070739, rs1635550 et rs1793913) et deux marqueurs pour l'analyse du gène de la famille des homeobox (rs8844 et rs2303487). L'analyse des polymorphismes s'effectue par la technique d'extension d'amorces en fluorescence (SNaPshot®). Les résultats préliminaires ne semblent pas mettre en évidence d'association entre le gène HOXB9 et la LCH tandis que l'étude du gène COL2A1 se poursuit. Conclusion : Cette première étude d'association cas-témoins réalisée sur la LCH permettra de déterminer le rôle de gènes candidats dans cette pathologie complexe. Cette étude bénéficie du soutien financier d'un Projet Hospitalier de Recherche Clinique.

Mots-clés : luxation congénitale de hanche, étude d'association, gènes candidats.

■P264 / 330. LA SÉLECTION DE MARQUEURS AU LOCUS CYP2D6 POUR UNE PRÉDICTION EFFICACE DU STATUT DE MÉTABOLISEUR

A. Sabbagh, P. Darlu

INSERM U535, Hôpital Paul-Brousse, Villejuif

L'enzyme CYP450 2D6 joue un rôle majeur dans le métabolisme des xénobiotiques et est impliqué dans la biotransformation de près de 20 % des médicaments couramment prescrits en clinique. De nombreux polymorphismes génétiques dans le gène *CYP2D6* sont responsables d'une importante variation interindividuelle et interethnique de l'activité de cet enzyme. Quatre principales classes phénotypiques ont été décrites dans les populations humaines : les métaboliseurs lents, les métaboliseurs intermédiaires, les métaboliseurs rapides et les métaboliseurs ultrarapides. La détermination du statut de métaboliseur du patient avant le début du traitement médicamenteux est cruciale pour améliorer l'efficacité thérapeutique et limiter les réactions indésirables ou toxiques. L'objectif de cette étude est de sélectionner au sein du gène *CYP2D6* les marqueurs les plus indépendants et les plus informatifs pour la prédiction du statut de métaboliseur du patient. Différentes méthodes statistiques ont été utilisées : la régression logistique conditionnelle, la méthode MDR (Multifactor Dimensionality Reduction) et les réseaux neuronaux artificiels. La procédure de sélection a été appliquée à huit échantillons de populations humaines d'origine ethnique variée. Nos résultats montrent que le nombre de marqueurs génétiques à typer pour une prédiction fiable du phénotype de réponse aux

médicaments métabolisés par CYP2D6 peut être considérablement réduit du fait de la forte structure haplotypique observée au niveau de cette région chromosomique et grâce à la prise en compte de la structure génétique de chaque population pour ce gène (nature des polymorphismes, fréquences alléliques, profils et niveaux de déséquilibre de liaison entre marqueurs). Le sous-groupe optimal de marqueurs à typer varie selon l'origine ethnique de l'échantillon mais concorde entre populations d'un même groupe continental.

Mots-clés : pharmacogénétique, *CYP2D6*, sélection de marqueurs.

■P265 / 409. ASSOCIATION DE POLYMORPHISMES ET DE MUTATIONS DU GÈNE *CFTR* CHEZ 16 PATIENTS ATTEINTS D'UNE FORME ATYPIQUE DE MUCOVISCIDOSE (CF)

M.-N. Feuillet-Fieux (1), M. Ferrec (2), I. Sermet (3), B. Lacour (1), R. Gesny (4), G. Lenoir (3), J.-P. Bonnefont (4)
(1) Biochimie A ; (2) Biochimie B ; (3) Pédiatrie Générale ; (4) Génétique Médicale Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris

Des paramètres autres que les mutations de la protéine CFTR, qu'ils soient génétiques ou environnementaux, affectent clairement le phénotype CF. Le but de cette étude est de tester l'association éventuelle de différentes combinaisons de polymorphismes et de mutations *CFTR* à des phénotypes atypiques variés dans une cohorte de 16 patients CF avec un test de la sueur normal ou peu augmenté.
Après séquençage de la totalité des régions codantes et des jonctions exons-introns du gène *CFTR*, 9 mutations ont été identifiées : IVS2+28A>G (int 2), R75Q (ex 3), S519G et Q493X (ex 10), V562I et G576A (ex 12), R668C (ex 13), A1006E (ex 17a), I1366T (ex 22). L'analyse a porté sur leur association à 14 polymorphismes de type SNP ou de répétition [(125G>C (promoteur), 405+46G>T (IVS3), 875+40A>G (IVS6a), (GATT)6/(GATT)7 et 1001+11C>T (IVS6b), (TG)m-Tn (IVS8), 2752-15C>G (IVS14b), 3041-71G>C (IVS15) et M470V (ex 10), T854T (ex 14a), P1290P (ex 20), T1299T (ex 21), et Q1463Q (ex 24)].
Il apparaît que :
i) Chez les 3 patients atteints de SINUSITE, on voit toujours sur au moins 1 allèle [(TG)10T9, 1001+11C>T et T854T] ce qui n'est jamais retrouvé dans les autres groupes. Le 470V, fréquemment rapporté dans les sinusites, n'est pas présent. 2 fois sur 3, aucune mutation CFTR n'est détectée. 1 patient a 2 mutations faux sens dans le domaine NBF1 : S519G, G576A portées par l'allèle paternel.
ii) Chez les 5 patients avec POLYPOSE NASALE, on a – chez 2 patients 1 haplotype [(TG)11T7-470V-405+46G>T] homozygote – chez les 3 autres, [(TG)10T7] hétérozygote toujours associé à Q1463Q et 2 fois sur 3 à 470V hétérozygote. Il s'y associe d'autres polymorphismes hétérozygotes qui ne sont jamais présents dans les 3 autres catégories de patients (P1290P, T1299T, et IVS15-71G>C).Ces polymorphismes sont associés à des mutations dans les domaines TM1 (R75Q), et TM2 (A1006E) ainsi que NBF1 (Q493X et V562I) et NBF2 (I1366T).
iii) Chez les 4 patients atteints de DILATATION DES BRONCHES, on observe : _ chez 3 patients, 1 haplotype [(TG)11T7-470V] homozygote qui, contrairement à ce que l'on observe dans le groupe 2, n'est jamais associé à 405+46G>T, _ chez 1 patient, 1 haplotype [(TG)10T7] hétérozygote associé à Q1463Q hétérozygote comme dans le groupe 2 mais à la différence du groupe 2, associé à T854T hétérozygote. Ces haplotypes sont associés à des polymorphismes dans le promoteur (125G>C) ou introniques (IVS6a+40A>G et IVS14b-15C>G). Dans ce groupe, aucune mutation n'a été identifiée contrairement aux 3 autres groupes.
iiii) Chez les 4 patients INSUFFISANTS PANCRÉATIQUES, on voit 1 allèle [(TG)11T7-470V] soit hétérozygote, toujours associé à T854T-Q1463Q hétérozygote et à une mutation délétère contrairement aux autres groupes, soit homozygote et dans ce cas associé à 405+46G>T comme dans le groupe 2. Les mutations faux sens associées se situent dans le domaine NBF1 (G576A, R668C) ou dans un intron (IVS2+28A>G).
Bien que l'analyse d'une plus grande série de patients atteints de CF atypiques soit indispensable afin de vérifier ces associations clinique-mutation-polymorphisme, ces données constituent cependant une approche permettant un début de corrélation phénotype-génotype dans les formes atypiques de CF.
Cette étude a été supportée par l'Association \\Mucoviscidose ABCF2 protéines\\.

Mots-clés : mucoviscidose, CF atypique, génotype-phénotype.

■P266 / 425. RÔLE DE RET DANS LA MALADIE DE HIRSCHSPRUNG SYNDROMIQUE

Loïc de Pontual, Anna Pelet, Delphine Trochet, Francis Jaubert*, Yolanda Espinosa-Parrilla, Arnold Munnich, Jean-François Brunet**, Christo Goridis**, Josué Feingold, Stanislas Lyonnet, Jeanne Amiel
*Unité de Recherches sur les Handicaps Génétiques de l'Enfant INSERM U393, et Département de Génétique ; * Service d'Anatomopathologie, Hôpital Necker-Enfants Malades ; ** CNRS UMR 8542, Département de Biologie, École Normale Supérieure, Paris, France*

L'expressivité variable et la pénétrance incomplète sont des questions fondamentales en génétique humaine aussi bien dans maladies Mendéliennes que multifactorielles. La maladie de Hirschsprung est un bon modèle d'hérédité complexe. Il s'agit d'une malformation congénitale du système nerveux entérique. Le gène majeur, RET, est impliqué dans la quasi-totalité des formes sporadiques de maladies de Hirschsprung, bien qu'une mutation de la séquence codante ne soit identifiée que dans 15 % des cas. Un allèle hypomorphe, contenu dans un haplotype de 3 SNPs en 5' du gène *RET*, est retrouvé à l'état homozygote chez la quasi-totalité des patients non mutés. Dans 30 % des cas la maladie de Hirschsprung est syndromique, associée à une anomalie chromosomique (Trisomie 21...) ou génique (Wardenburg de type IV, Mowat-Wilson, Bardet-Bield...). Parmi les formes syndromiques, le syndrome d'Ondine est caractérisé par une anomalie du contrôle autonome de la ventilation et associé dans 20 % des cas à une maladie de Hirschsprung. Le gène majeur, *PHOX2B*, localisé en 4p12, code pour un facteur de transcription à homeodomaine. La comparaison des types de mutations hétérozygotes de novo de *PHOX2B* dans notre série de 143 patients (dont 44 ont une maladie de Hirschsprung), permet d'établir des corrélations génotype/phénotype insuffisantes. En effet, une expansion de 7 alanines est la mutation la plus fréquente dans les deux groupes. Cette observation implique le rôle de gènes modificateurs parmi lesquels le gène *RET* est candidat pour son rôle majeur dans les cas sporadiques de maladie de Hirschsprung ainsi que par son expression en aval de *PHOX2B* dans la cascade de développement du système nerveux entérique. L'étude de la séquence codante de *RET* n'identifie que d'exceptionnelles mutations. Nous avons alors poursuivi l'étude de *RET* en étudiant la ségrégation de l'haplotype prédisposant à la maladie de Hirschsprung à la fois chez les patients ayant un syndrome d'Ondine isolé et chez ceux présentant une maladie de Hirschsprung associée. La fréquence de l'haplotype prédisposant est de 21 % (semblable à la population générale) chez les patients ayant un syndrome d'Ondine isolé et de 40 % chez ceux qui ont une maladie de Hirschsprung associée. La différence est très significative (chi2=11,73 ; p>0,001). Si l'on considère les génotypes, le risque relatif d'avoir une maladie de Hirschsprung est 5 fois supérieur chez les patients homozygotes pour l'allèle prédisposant et 2,4 fois supérieure pour les hétérozygotes ce qui suggère un effet dose. Nous avons tenté de reproduire ce modèle en croisant les souris invalidées à l'état hétérozygote pour Ret avec celles invalidées à l'état hétérozygotes pour Phox2b. L'étude de 30 souriceaux issus de 5 portées ne révèle pas d'anomalie du système nerveux entérique aussi bien macroscopiquement que sur des coupes histologiques quelque soit leur génotype (9/30 doubles hétérozygotes). Une perte de fonction de 50 % pour chaque gène reste suffisante pour un développement entérique normal chez la souris. Parmi les autres formes syndromiques de maladie de Hirschsprung, le syndrome de Mowat-Wilson associe une dysmorphie faciale caractéristique, un retard mental et une maladie de Hirschsprung dans 60 % des cas. Ces patients présentent une mutation hétérozygote de novo du gène *ZFHX1B*. Nous avons génotypé l'allèle prédisposant de *RET* chez 30 patients atteints de syndrome de Mowat-Wilson dont 10 ont une maladie de Hirschsprung. La fréquence de l'haplotype prédisposant de *RET* est semblable dans les 2 groupes (~20 %). *RET* est donc impliqué dans le phénotype maladie de Hirschsprung chez les patients atteints de syndrome d'Ondine mais pas chez les patients atteints du syndrome de Mowat-Wilson. Ceci démontre que le gène majeur d'une maladie peut être également un gène modificateur.

Mots-clés : maladie de Hirschsprung syndromique, syndrome d'Ondine, proto-oncogene *RET*.

■P267 / 452. MICA ALLÈLES ET IMGT COLLIERS DE PERLES, UN EXEMPLE DE LA STANDARDISATION IMGT EN GÉNÉTIQUE HUMAINE ET MÉDICALE

Aurélie Frigoul, Arnaud Henry, Vijay Garapati, Chantal Ginestoux, Marie-Paule Lefranc, Gérard Lefranc
Laboratoire d'ImmunoGénétique Moléculaire LIGM, Université Montpellier II et IGH-UPR CNRS 1142, Montpellier

IMGT, the international ImMunoGeneTics information system®, http://imgt.cines.fr, créé en 1989 à Montpellier, France (Université Montpellier II et CNRS), est la référence internationale en immunogénétique et immunoinformatique. IMGT fournit une analyse standardisée des protéines de la superfamille des immunoglobulines (IgSF) et de la superfamille du complexe majeur d'histocompatibilité (MhcSF). Les protéines IgSF sont caractérisées par un domaine de type V et/ou de type C (V-DOMAIN et C-DOMAIN des immunoglobulines (IG) et récepteurs T (TR),

V-LIKE-DOMAIN et/ou C-LIKE-DOMAIN des protéines IgSF autres que les IG et TR). Les protéines MhcSF sont caractérisées par des domaines de type G (G-DOMAIN du CMH et G-LIKE-DOMAIN des protéines MhcSF autres que le CMH). La charte scientifique IMGT basée sur les concepts de IMGT-ONTOLOGY permet une standardisation des données génomiques, génétiques et structurales de ces protéines. En particulier, des représentations graphiques ou « IMGT Colliers de Perles », basées sur la numérotation unique IMGT, permettent d'appréhender les relations séquences – structures des domaines et des interaction ligand-récepteur. À partir de l'exemple du gène et la protéine MICA, nous montrerons comment la standardisation IMGT permet une description des allèles MICA et présenterons, les fréquences des allèles de séquences et microsatellites qui ont été décrits dans la littérature en relation avec des maladies [1]. Nous utiliserons les « IMGT Colliers de Perles » pour la caractérisation des interactions MICA et de son récepteur NKG2D. [1] Frigoul A. and Lefranc M.-P. MICA : standardized IMGT allele nomenclature, polymorphisms and diseases. Recent Res. Devel. Human Genet. 3 : 95-145 (2005).

Mots-clés : MICA, superfamille MHC MhcSF, IMGT.

■P268 / 476. ANALYSE DE POLYMORPHISMES DU CHROMOSOME Y DANS LA POPULATION FINISTÉRIENNE

K. Rouault (1), C. Férec (1)
(1) INSERM U613 « Génétique moléculaire et génétique épidémiologique », Brest, France

Introduction : L'analyse des marqueurs SNPs localisés sur le chromosome Y est devenue une approche normalisée dans les études de génétique de populations. Leur abondance, leur faible taux de mutation, leur transmission paternelle et leur absence de recombinaison confèrent à ces polymorphismes un intérêt significatif. De plus, l'analyse des haplogroupes, définis par les SNPs, a révélé la spécificité de ces marqueurs vis-à-vis d'une population ou d'une région géographique. En 2003, le Y Chromosome Consortium (YCC) a uniformisé la nomenclature des 245 Y-SNPs les plus informatifs. L'arbre phylogénétique établi regroupe les polymorphismes au sein de 18 haplogroupes (de A à R). L'étude de génétique de populations entreprise dans le département du Finistère a pour objectif de caractériser la distribution de marqueurs génétiques afin d'identifier les mouvements migratoires des populations et d'intégrer les données au contexte historique de la Bretagne. Méthodes : La cohorte a été constituée au cours de collectes de don du sang dans le département du Finistère. La participation à l'étude impliquait un prélèvement sanguin et la réponse à un questionnaire renseignant sur les origines géographiques de la famille. Le critère d'inclusion retenu, assurant l'ascendance finistérienne des personnes, est le lieu de naissance du grand-père paternel. Cette sélection permet d'analyser les marqueurs SNPs du chromosome Y sur 348 hommes de la cohorte. La méthode retenue pour l'analyse des Y-SNPs est l'extension d'amorces en fluorescence par la technique SNaPshot®. La stratégie adoptée au cours de l'étude est d'explorer préalablement les branches ancestrales de l'arbre phylogénétique de manière hiérarchique. Ainsi, les marqueurs Y-SNPs définissant les haplogroupes les plus représentés dans la population caucasienne sont analysés en priorité. Résultats : En Europe Occidentale, l'haplogroupe majoritaire est l'haplogroupe R1, défini par le marqueur M173. L'analyse de ce polymorphisme sur la cohorte permet de constater que l'haplogroupe R1 est représenté à 87,93 % dans la population finistérienne. Les marqueurs SRY10831.2 et P25 permettent d'affiner l'arborescence de cet haplogroupe et révèlent une prépondérance de l'haplogroupe R1b dans notre cohorte (82,18 %). Au total, notre étude de génétique des populations est basée sur l'analyse de 19 marqueurs Y-SNPs. Ainsi, l'haplogroupe I, défini par le marqueur M170 et observé majoritairement dans les pays de l'Est de l'Europe, en particulier les pays scandinaves, est représenté à 6,03 % dans la population finistérienne. L'haplogroupe E3b, caractéristique des populations d'Afrique et d'Asie Mineure, est retrouvé à 1,15 % dans notre cohorte. Les haplogroupes G et J, représentatifs des populations du Moyen Orient, sont observés respectivement à des fréquences de 1,15 % et 3,16 % au sein du département du Finistère. Il est intéressant de noter que les haplogroupes caractéristiques des populations d'Asie Mineure sont exclusivement retrouvés sur le pourtour littoral du département. Cette observation suggère que les ports bretons ont contribué à l'hétérogénéité génétique du Finistère en favorisant les mouvements migratoires en Bretagne. Conclusion : Une étude des marqueurs Y-STRs (Short Tandem Repeat) sur notre cohorte a permis d'extraire un haplotype majoritaire retrouvé en Irlande et au sein de populations méditerranéennes (Espagne, Italie, Portugal). L'analyse des marqueurs Y-SNPs a permis de confirmer la prédominance de l'haplogroupe R1b, majoritaire en Europe Occidentale. La présence des haplogroupes I, J et G dans la population finistérienne est le témoin de migrations de populations du berceau indo-européen vers l'Europe Occidentale. Les évènements migratoires, mis en évidence par l'analyse du chromosome Y, sont en corrélation avec le contexte historique de la Bretagne.

Mots-clés : génétique des populations, chromosome Y, haplogroupe.

■P269 / 1001. PRÉVALENCE, INCIDENCE ET DISTRIBUTION DES MALADIES AUTO-IMMUNES DANS LES FAMILLES DE POLYARTHRITE RHUMATOÏDE

Laëtitia Michou (1, 3), Anne-Christine Rat (2), Sandra Lasbleiz (1, 3), Thomas Bardin (1, 3), François Cornélis (1, 3)
(1) GenHotel-EA 3886, Université Évry-Paris 7, Évry-Genopole ; (2) Service d'épidémiologie et évaluation cliniques EA 3444, CEC-INSERM, CHU Nancy ; (3) Unité de génétique clinique, Hôpital Lariboisière, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Paris

Objectif : Ce travail avait pour objectif d'évaluer l'agrégation des maladies auto-immunes dans des familles atteintes de polyarthrite rhumatoïde et de déterminer la prévalence, l'incidence et la distribution de ces maladies chez les apparentés. Patients et méthodes : Des enquêtes téléphoniques ont été réalisées auprès des 384 cas index atteints de polyarthrite rhumatoïde de la population française caucasienne, inclus en 1994-1998, appartenant soit à des familles trio, soit à des familles avec paires de germains atteints (ASP), à la recherche des 16 maladies auto-immunes les plus fréquentes chez leurs apparentés jusqu'au second degré. Les diagnostics de maladies auto-immunes évoquées par le cas index ont été vérifiés auprès du médecin en charge. Résultats : Parmi les 3 797 apparentés des familles trio, la prévalence des maladies auto-immunes était de 6,1 % au premier degré et de 2,4 % au second degré. Parmi les 5 435 apparentés des familles ASP, elle était respectivement de 10,2 % et de 1,8 %. Les maladies auto-immunes les plus fréquentes étaient la polyarthrite rhumatoïde, les maladies thyroïdiennes auto-immunes et le vitiligo. L'incidence de la polyarthrite rhumatoïde et des maladies thyroïdiennes auto-immunes était la plus élevée parmi les apparentés au premier degré des familles ASP, atteignant 0,24 % et 0,12 % respectivement. Les apparentés au premier degré les plus fréquemment atteints étaient les mères dans les familles trio et les sœurs dans les familles ASP, et au second degré de parenté, respectivement, les tantes maternelles et les nièces. Dans les familles trio, globalement la survenue de maladies auto-immunes chez les apparentés était corrélée avec un âge moyen de début de la polyarthrite rhumatoïde inférieur à 30 ans chez le cas index (P = 0,0027) et spécifiquement le risque de polyarthrite rhumatoïde au premier degré de parenté était multiplié par 3 en cas d'index masculin. Conclusion : Ce travail confirme l'agrégation des maladies auto-immunes dans les familles atteintes de polyarthrite rhumatoïde, renforçant l'hypothèse d'un terrain génétique commun. Certaines caractéristiques du cas index et/ou de sa famille semblent associées avec la survenue de ces maladies chez les apparentés, suggérant qu'elles puissent représenter des facteurs de risque d'agrégation familiale.

Mots-clés : polyarthrite rhumatoïde, maladies auto-immunes, agrégation familiale.

■P270 / 1002. RÉPLICATION D'UNE NOUVELLE CLASSIFICATION DES ALLÈLES HLA-DRB1 DANS LA POLYARTHRITE RHUMATOÏDE

Laëtitia Michou (1), Pascal Croiseau (2), Élisabeth Petit-Teixeira (1), Sophie Tezenas du Montcel (3), Isabelle Lemaire (1, 5), Céline Pierlot (1), José Osorio (1), Wafa Frigui (1), Sandra Lasbleiz (1, 6), Patrick Quillet (1, 5), Thomas Bardin (1, 6), Bernard Prum (4), Françoise Clerget-Darpoux (2), François Cornélis (1, 6)
(1) GenHotel-EA 3886, Évry-Genopole ; (2) INSERM U535, Villejuif ; (3) Service de biostatistiques et informatique médicale, CHU Pitié-Salpêtrière, AP-HP, Paris ; (4) Laboratoire Statistique et Génome, Évry-Genopole ; (5) Laboratoire de Biologie, Centre Hospitalier Sud Francilien, Corbeil-Essonne ; (6) Unité de génétique clinique, hôpital Lariboisière, AP-HP, Paris

Introduction : Une nouvelle classification des allèles HLA-DRB1 a été proposée récemment en réinterprétant l'hypothèse de l'épitope partagé dans la polyarthrite rhumatoïde (*Arthritis Rheum* 2005 ; 52 : 1063-8). Le risque de développer la polyarthrite rhumatoïde était augmenté en cas de présence de la séquence RAA en position 72 à 74 et modulée par les acides aminés en position 71 (la lysine (K) conférant le risque le plus élevé, l'arginine (R) un risque intermédiaire, l'alanine (A) et l'acide glutamique (E) ayant le risque le plus faible) ainsi qu'en position 70 (la glutamine (Q) et l'arginine (R) étant plus à risque que l'acide aspartique (D)). L'objectif était de tester cette nouvelle classification sur un échantillon indépendant. Patients et méthodes : Un nouvel échantillon de 100 familles trio d'origine française caucasienne a été génotypé pour le gène HLA-DRB1. Les allèles ont été regroupés en fonction du motif présent en position 71 à 74 : allèles S1

pour ARAA et ERAA, allèles S2 pour KRAA, allèles S3 pour RRAA (avec division en 2 catégories selon la position 70, S3D pour DRRAA et S3P pour QRRAA ou RRRAA), et allèles X pour tous les allèles non porteurs de la séquence RAA. L'analyse statistique a porté sur le test de déséquilibre de transmission et la régression logistique conditionnelle permettant le calcul d'odds ratio (OR). Résultats : Il existe un excès de transmission des allèles S2 (P = 1,9x10-6) et S3P (P = 0,001). Les autres allèles S1, S3D et X étant sous-transmis, ils ont été regroupés et appelés allèles L. En régression logistique conditionnelle, la classification des génotypes par OR décroissants est superposable à la classification proposée : S2/S3P (OR = 19,5 ; 6,6-57,2) et S2/S2 (OR = 17,9 ; 4,5-71,1) puis S3P/S3P (OR = 8,7 ; 2,1-36,9), S2/L (OR = 5,3 ; 2,0-13,9) et S3P/L (OR = 3,1 ; 1,4-6,9), le génotype de référence étant L/L. Conclusion : La nouvelle classification des allèles HLA-DRB1 dans la polyarthrite rhumatoïde basée sur la séquence peptidique en position 70 à 74 est répliquée sur un échantillon indépendant, ainsi que la hiérarchie des risques génotypiques.

Mots-clés : polyarthrite rhumatoïde, épitope partagé, HLA-DRB1.

■P271 / 1007. DIAGNOSTIC MOLÉCULAIRE DES HÉMOCHROMATOSES HÉRÉDITAIRES : STRATÉGIE ET EXPÉRIENCE DU LABORATOIRE NATIONAL DE VIROLOGIE ET BIOLOGIE MOLÉCULAIRE DE L'ÉTABLISSEMENT FRANÇAIS DU SANG

G. Le Gac (1, 2), I. Gourlaouen (1), G. Bihel (1), L. Bryckaert (1), C. Férec (1, 2)

(1) Laboratoire National de Virologie et Biologie Moléculaire de l'Établissement Français du Sang, Brest ; (2) INSERM U613 « Génétique moléculaire et génétique épidémiologique », Brest

Introduction : L'hémochromatose héréditaire a d'abord été présentée comme une maladie monogénique, dont les caractéristiques génétiques principales étaient d'être transmise selon le mode autosomal récessif, d'être liée au gène *HFE* et d'être majoritairement associée aux génotypes C282Y homozygote et C282Y/H63D hétérozygote composite. Au cours de ces cinq dernières années, cette vision restreinte de la maladie a largement été remise en cause. D'abord parce que l'on reconnaît aujourd'hui l'existence d'une hétérogénéité allélique plus importante au locus HFE, ensuite parce que des formes rares d'hémochromatoses héréditaires ont successivement pu être associées à des mutations sur les gènes *TFR2* (récepteur de la transferrine de type 2), *SLC40A1* (ferroportine 1), *HAMP* (hepcidine) et *HJV* (hémojuvéline), enfin parce que l'existence de modes de transmissions digéniques ont été avancé pour expliquer certains phénotypes de surcharges en fer. Depuis 2000, l'objectif de notre laboratoire a été de tenir compte de l'avancée des connaissances sur les bases moléculaires des hémochromatoses héréditaires pour mettre en place une analyse exhaustive de l'ensemble des parties codantes des gènes *HFE, TFR2, SLC40A1, HAMP* et *HJV*. Cette analyse exhaustive intervient en seconde intention, après le dépistage classique des mutations C282Y et H63D. À la fin de l'été 2005, elle avait été mise en œuvre pour répondre à 100 demandes. Il nous paraît intéressant de faire le bilan de ces demandes et d'en tirer les premiers enseignements. Matériel et Méthode : Nous avons basé notre stratégie sur la combinaison d'une analyse par D-HPLC et d'un séquençage systématique des profils positifs. Résultats : Pour 12 des 100 cas de surcharges en fer plus ou moins sévères que nous avons traitées, nous avons pu soit démontrer, soit proposer l'existence d'une origine génétique. Dans le second cas de figure, notre réserve est essentiellement liée à l'absence d'une étude familiale (temporaire ou définitive) et/ou au fait d'avoir détecté de nouvelles mutations qui soient à la fois faux-sens et privées. Les variations identifiées ont concerné l'ensemble des 5 gènes analysés. Conclusion – Discussion : Il est évident que l'analyse des gènes des hémochromatoses héréditaires par D-HPLC doit être réservée à un nombre limité de cas, pour lesquels l'origine génétique de la maladie repose sur des bases solides, et qu'elle doit impliquer un nombre restreint de laboratoires spécialisés. Néanmoins, on peut aujourd'hui attester de son utilité. D'abord, parce que l'on s'intéresse non plus à un gène, mais à un groupe de gènes. Ensuite, parce que cette méthodologie est peu onéreuse, rapide et très sensible. Enfin, parce que cette stratégie permet de détecter les variations connues comme les variations encore inconnues et, ainsi, d'améliorer la mise en place de dépistages familiaux. Dans un peu plus d'un cas sur huit (12 %), dépendamment de la nature des nouvelles variations identifiées, de la possibilité de disposer d'une étude familiale et de notre capacité à mettre en œuvre des tests fonctionnels, nous avons ainsi pu soit démontrer, soit proposer, une relation entre la présence d'anomalies sur un ou deux des gènes des hémochromatoses héréditaires et la présence d'un phénotype plus ou moins sévère de surcharge en fer. À l'inverse, nos analyses se sont révélées négatives dans près de 7 cas sur 8. Même si on ne pas écarter l'hypothèse de mutations dans des régions non codantes ou celle de larges délétions qui conduiraient à une analyse incomplète (un allèle analysé sur deux ; celui qui n'est pas délété), on doit s'interroger sur la légitimité des demandes qui nous ont été adressées et insister sur le fait que le diagnostic des hémochromatoses héréditaires est un diagnostic d'exclusion. Les causes possibles de surcharges en fer acquises sont nombreuses et doivent être envisagées avant d'engager des analyses moléculaires complexes.

Mots-clés : hémochromatose héréditaire, maladie multigénique, diagnostic.

■P272 / 1050. ESTIMATION DU COEFFICIENT DE CONSANGUINITÉ DES INDIVIDUS EN POPULATION ISOLÉE À PARTIR DE LEUR SEULE INFORMATION GÉNOMIQUE

AL. Leutenegger (1, 2, 3), C. Bourgain (4, 5, 6), C. Ober (7), F. Clerget-Darpoux (4, 5, 6)

(1) INSERM U679, Paris, France ; (2) Université Paris 6, France ; (3) Hôpital Pitié-Salpétrière, Paris, France ; (4) INSERM U535, Villejuif, France ; (5) Université Paris 11, France ; (6) Hôpital Paul Brousse, Villejuif, France ; (7) University of Chicago, USA

Nous avons proposé une nouvelle méthode, FEstim, (Leutenegger *et al.*, *Am J Hum Genet*, 2003) pour estimer le coefficient de consanguinité d'un individu, c'est-à-dire la probabilité que deux allèles en un locus soient identiques par descendance (IBD). Pour chaque individu, l'estimation utilise uniquement ses données génotypiques venant de marqueurs répartis sur son génome. Nous étudions ici les propriétés de FEstim sur un échantillon de 600 individus venant d'une population isolée bien caractérisée : les Hutterites du Dakota du sud. Les individus descendent de 64 fondateurs ayant vécu au XVIIIe siècle et sont tous apparentés par différents ancêtres communs. Les liens généalogiques sont tous connus. On peut donc estimer à partir de cette généalogie le coefficient de consanguinité de chaque individu (fg). Sa valeur moyenne est de 0,033 (intervalle de variation à 95 % [0,011, 0,061]). Par ailleurs, les individus étaient génotypés pour une carte dense de microsatellites (658 marqueurs, ~5cM, het. moyen=0,7). En utilisant ces données génotypiques, nous avons obtenu avec FEstim un coefficient de consanguinité moyen de 0,018 (intervalle de variation à 95 % [0, 0,066]). La corrélation entre FEstim et fg n'est pas élevée (0,6). Pour comprendre ces divergences, nous avons effectué des simulations sur la généalogie complète des Hutterites en conservant les caractéristiques originales de la carte génétique. On montre ici que la vraie proportion du génome IBD, que FEstim reflète, peut être très différente de la proportion attendue sur la généalogie, qui est fg par définition. D'autre part, l'estimation obtenue par FEstim suppose connues les fréquences alléliques de tous les marqueurs chez les fondateurs de la généalogie, ce qui n'est pas le cas. Nous montrons que l'utilisation de fréquences estimées sur les individus génotypés en tenant compte de leur apparentement (McPeek *et al.*, *Biometrics* 2004) permet de minimiser les divergences entre FEstim et fg.

Mots-clés : coefficient de consanguinité, information génomique, population isolée.

■P273 / 1080. ABSENCE D'ASSOCIATION ET DE LIAISON DES MUTATIONS CAUSALES DU TRAPS DU GÈNE TNFRSF1A AVEC LA POLYARTHRITE RHUMATOÏDE

Philippe Dieudé (1, 2), Dimitri Tchernitchko (3, 4), Laëtitia Michou (1, 2), Élodie Glikmans (1), Michel Goossens (3, 4), François Cornélis (1, 2)

(1) GenHotel, EA 3886, Évry-Genopole, France ; (2) Unité de Génétique Clinique Adulte, Fédération de Rhumatologie, Centre Viggo Petersen, Hôpital Lariboisière, Assistance Publique des Hôpitaux de Paris, Paris, France ; (3) Service de Biochimie et de Génétique Moléculaire, Hôpital Henri-Mondor, Assistance Publique des Hôpitaux de Paris, Créteil, France ; (4) INSERM U654 Génétique Moléculaire et Physiopathologie, Créteil, France

Rationnel. Le gène *TNFRSF1A* a récemment été suggéré comme possible facteur génétique de la polyarthrite rhumatoïde (PR), cette association étant restreinte à la forme familiale de la maladie [1]. Par ailleurs, plusieurs mutations de *TNFRSF1A*, situées en majorité dans les exons 2, 3 et 4, codant pour la portion extracellulaire du récepteur, ont été trouvées associées à la fièvre périodique Hibernienne [OMIM#142680], conduisant à la dénomination de ce syndrome périodique sous l'acronyme TRAPS (*TNFRSF1A* Associated Periodic Syndrome) [OMIM*191190]. Une récente étude a suggéré une fréquence augmentée de la mutation R92Q de *TNFRSF1A* chez les patients atteints de polyarthrite chronique [2], et de la maladie de Behçet [3].

Objectif. Recherche d'une association entre les mutations du gène *TNFRSF1A* causales du TRAPS et la PR.

Patients et Méthodes. Une recherche systématique par dHPLC (denatured high-performance liquid chromatography), de mutations dans les exons 2, 3 et 4 du gène *TNFRSF1A* a été réalisée sur 100 familles trio (1 patient

atteint de PR et ses deux parents) et 86 cas index de familles ASP (Affected Sib Pair), soit 386 ADN de la population française caucasienne. Les mutations détectées ont été étudiées par liaison dans les familles concernées.

Résultats. Seule la mutation R92Q a été détectée. Cette mutation a été observée chez 2 % des cas index trio et dans 6 % des contrôles virtuels (chromosomes parentaux non transmis). L'allèle muté était transmis une fois et non transmis 6 fois, un des cas index des familles trio avaient une mutation de novo. La mutation R92Q a été observée chez 6 % des 86 cas index ASP. Les apparentés du premier degré de chaque cas index ASP porteurs de la mutation ont été génotypés pour la mutation TNFRSF1A*R92Q, montrant l'absence de liaison entre l'allèle 92Q et le phénotype PR dans les familles étudiées.

Conclusion. Nous avons observé l'absence d'association et de liaison entre l'allèle TNFRSF1A*92Q et la PR. La fréquence relativement élevée et similaire de R92Q chez les patients et les contrôles suggère qu'il pourrait s'agir d'un polymorphisme, plus que d'une mutation délétère de faible pénétrance.

Mots-clés : *TNFRSF1A,* polyarthrite rhumatoïde, TRAPS.

Références

1. Dieude P, Osorio J, Petit-Teixeira E, Moreno S, Garnier S, Cailleau-Moindrault S *et al.* A TNFR1 genotype with a protective role in familial rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2004 ; 50 (2) : 413-9.
2. Aksentijevich I, Galon J, Soares M, Mansfield E, Hull K, Oh HH *et al.* The tumor-necrosis-factor receptor-associated periodic syndrome : new mutations in TNFRSF1A, ancestral origins, genotype-phenotype studies, and evidence for further genetic heterogeneity of periodic fevers. *Am J Hum Genet* 2001 ; 69 (2) : 301-14.
3. Amoura Z, Dode C, Hue S, Caillat-Zucman S, Bahram S, Delpech M *et al.* Association of the R92Q TNFRSF1A mutation and extracranial deep vein thrombosis in patients with Behcet's disease. *Arthritis Rheum* 2005 ; 52 (2) : 608-11.

■P274 / 1083. ABSENCE D'EFFET DU NOMBRE DE COPIES DES GÈNES *SMN1* ET *SMN2* SUR LA DURÉE D'ÉVOLUTION DANS LA SCLÉROSE LATÉRALE AMYOTROPHIQUE

P. Corcia (1, 2), W. Camu (3), J.M. Halimi (4), P. Vourc'h (1), C. Antar (1), S. Vedrine (1), B. Giraudeau (4), B. de Toffol (2), C. Andres (1) et le Groupe Français d'Étude des Maladies du Motoneurone

(1) INSERM U619, Faculté de Médecine, Université François-Rabelais, Tours ; (2) Centre SLA, Service de Neurologie, Hôpital Bretonneau, CHRU, Tours ; (3) INSERM CIC 202, Centre d'Investigation Clinique, CHRU, Tours ; (4) Service de Neurologie, Hôpital Guy de Chauliac, CHU de Montpellier, Montpellier

Introduction : La sclérose latérale amyotrophique (SLA) est la plus fréquente des maladies du motoneurone. Elle se caractérise cliniquement par une atteinte du neurone moteur et du neurone périphérique dans le territoire bulbaire et spinal. Le décès des patients survient entre 3 à 5 ans après l'installation des premiers symptômes. Actuellement la physiopathologie de la SLA reste méconnue mais de nombreux arguments plaident en faveur d'une origine multifactorielle et vraisemblablement génétique. L'un des gènes candidats dans la SLA est le gène *SMN* du fait de la relation causale entre ce gène et l'amyotrophie spinale infantile (ASI). Le locus SMN se caractérise par une duplication d'une région de 500 kb, qui porte le gène *SMN1* dans la copie télomérique et le gène *SMN2* en centromérique. L'ASI est une affection autosomique récessive caractérisée cliniquement par une atteinte du neurone moteur périphérique dans le territoire bulbaire et spinal. La plupart des malades portent une délétion homozygote comprenant l'exon 7 du gène *SMN1*. *SMN2* joue un rôle en modulant le phénotype de l'ASI : les formes les moins sévères sont celles associées au plus grand nombre de copies de SMN2. Dans la mesure où l'ASI et la SLA sont deux pathologies du motoneurone, nous avions étudié chez 167 patients et 167 témoins, le nombre de copies de *SMN1* et *SMN2* et avons mis en évidence une augmentation de la fréquence d'un nombre anormal de copies du gène *SMN1* (1 ou 3 copies) dans la SLA (test de Fisher, $p = 0,0005$). L'objectif de notre travail était de chercher s'il existait une corrélation entre le nombre de copies des gènes SMN et la durée d'évolution dans la SLA.

Matériel et Méthodes : Nous avons déterminé par une méthode semi-quantitative de PCR, le nombre de copies *SMN1* et *SMN2* chez 325 nouveaux patients atteints d'une forme certaine ou probable de SLA selon les critères de l'El Escorial. Nous avons stratifié notre population en fonction du nombre de copies de *SMN1* puis en fonction du nombre de copies de *SMN2*. Le log rank test était utilisé pour évaluer la relation entre le nombre de copies des gènes SMN et la durée d'évolution. Une analyse par régression logistique a recherché s'il existait une interaction entre *SMN1* et *SMN2*.

Résultats : La durée moyenne d'évolution était respectivement de 21 mois pour les patients ayant 0 copie *SMN2*, 27 mois pour 1 *SMN2* et 27 mois pour 2 *SMN2*. La durée moyenne d'évolution était de 29,8 mois pour 1 copie *SMN1*, 26 mois pour 2 *SMN1* et 22,5 mois pour 3 copies *SMN1*. Cependant, ces différences ne sont pas significatives, la valeur p du log rank test était de 0,249 pour *SMN1* et de 0,416 pour *SMN2*. De plus, il n'existe pas d'interaction entre *SMN1* et *SMN2* en ce qui concerne le risque de SLA.

Conclusion : Le gène *SMN1* est un facteur génétique de susceptibilité dans la SLA avec un risque relatif élevé (odds ratio estimé à 2,8 ; intervalle de confiance 1,8-4,4)), *SMN2* ne semble pas avoir d'effet modulateur du risque comme cela a été montré dans l'ASI. Le nombre de copies des gènes SMN n'a pas d'effet significatif sur la durée de survie des patients atteints de SLA.

Mots-clés : sclérose latérale amyotrophique, gènes *SMN*, facteurs de susceptibilité.

Références

1. Corcia P, Mayeux-Portas V, Khoris J *et al.* Abnormal SMN1 gene copy number is a susceptibility factor for amyotrophic lateral sclerosis. *Ann Neurol* 2002 ; 51 : 243-246.
2. Brooks BR, Miller RG, Swash M, Munsat TL. El Escorial revisited : revised criteria for the diagnostic of amyotrophic lateral sclerosis. *Amyotroph Lateral Scler Other Motor Neuron Disord* 2000 ; 1 : 293-299.

■P275 / 1096. NOUVELLE APPROCHE DE RECHERCHE GÉNÉTIQUE POUR LES MALADIES MULTIFACTORIELLES : PREMIERS RÉSULTATS DE L'ÉTUDE PILOTE SUR 20 GÈNES CANDIDATS POUR LA POLYARTHRITE RHUMATOÏDE

S. Garnier (1), J. Wei ?fu ? (2), G. Gyapay (3), L. Michou (1, 4), C. Pierlot (1), E. Petit-Teixeira (1), A. Decelier (1), E. Glickmans (1), C. Cruaud (3), E. Pateau (3), I. Lemaire (1, 5), R. Manuel (1, 6), B. Cossoux (1, 6), S. Lasbleiz (1, 4), T. Bardin (1, 4), J. Weissenbach (3), B. Prum (8), P. Anhert (2), F. Cornélis (1, 4, 7) for ECRAF

(1) GenHotel-EA3886 Laboratoire de Recherche Européen pour la Polyarthrite Rhumatoïde, Université d'Évry-Val d'Essonne, Université Paris VII, 2, rue Gaston-Crémieux 91057 Évry-Genopole Cedex, France ; (2) Biocity Leipzig-Center for biotechnology and Biomedicine Universitaet Leipzig Institute for clinical Immunology and transfusion Medicine, Johannisallee 30 04103 Leipzig, Germany ; (3) Genoscope, Centre National de Séquençage, 2, rue Gaston Crémieux 91057 Évry, France ; (4) Unité de Génétique Clinique Adulte, Hôpital Lariboisière-AP-HP, Paris, France ; (5) Service de Biologie, Centre Hospitalier Sud Francilien, Corbeil-Essonnes, France ; (6) CERMA Centre d'étude et de recherche en mécanique et automatisme Évry, 40 rue du Pelvoux 91020 Évry, France ; (7) Consultation de Génétique Adulte, Centre Hospitalier Sud Francilien, Corbeil Essonnes, France ; (8) Laboratoire Statistique et Génome, Genopole, tour Évry 2, Évry, France

Objectif : La génétique de la plus fréquente des maladies multifactorielle auto-immune, la polyarthrite rhumatoïde (PR), n'est que partiellement expliquée par l'implication du gène HLA-DRB1. Dans notre criblage fin du génome, 19 régions ont été suggérées comme potentiellement liées à la maladie. Notre but est de rechercher de nouveaux facteurs génétiques de susceptibilité par l'étude d'une sélection de gènes, candidats par leur fonction et par leur localisation au sein de ces 19 régions, avec une nouvelle approche de recherche des variants allélique de ces gènes.

Matériel et Méthodes : Les gènes candidats sont pré-sélectionnés suivant leur fonction et leur position par un logiciel original, GenScore, et validés manuellement. Pour chaque gène les SNPs sont recherchés par séquençage de 24 index d'un set de 88 familles avec paires de germains atteints (ASP) de la population étudiée (index français avec 4 grands parents caucasiens européens) identiques par descendance (IBD2) à leur germain atteint au locus du gène étudié. Le séquençage (ABI 3700) est effectué sur les exons, les régions UTR, le promoteur et les régions régulatrices, connues ou suspectées par homologie entre la séquence humaine et la séquence murine des gènes étudiés. L'identification des polymorphismes SNP (Single Nucleotide Polymorphism) est faite avec un logiciel original couplé au logiciel Polyphred. Une sélection des SNPs, notamment fonction des déséquilibre de liaison au sein de chaque gène, est alors génotypée par PCR-RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism), discrimination allélique (ABI 7500 real time PCR) ou spectrométrie de masse dans 100 familles trios (un patient et ses deux parents) de la même population. Trois sets supplémentaires de familles trios sont disponibles pour réplication et confirmation. Après vérification de l'équilibre de Hardy-Weinberg, les analyses statistiques effectuées sont le Transmission Disequilibrium Test (TDT, GenHunter), le Genotype Relative Risk (GRR), la comparaison des fréquences alléliques (AFBAC) et des études d'association haplotypique (GenHunter, Arlequin). Tout résultat suggestif ($p < 0,05$), implique une réplication sur un deuxième set de famille trio avant éventuelle confirmation sur 2 autres sets de familles.

Résultats : Au sein des 19 loci suggérés par notre criblage, 1 577 gènes de fonctions connues ont été répertoriés dont 200 ont été retenus avec l'aide de Genscore (gènes de l'immunité, gènes de l'inflammation, gènes de prolifération cellulaire). Les 20 premiers gènes ont été séquencés chez 24 patients « IBD2 ». Nous avons répertorié 151 SNPs (fréquence de l'allèle mineur ? 0,05), dont 45 sont nouveaux et parmi les 106 connus, 33 sont de fréquence allélique inconnue, apportant ainsi une nouvelle information pour 52 % des SNPs. Pour l'étude d'association de ces 20 gènes, 78 SNPs ont été sélectionnés.
Conclusion : Cette nouvelle approche d'études familiales d'association de gènes candidats est fondée, avec l'aide de logiciels originaux, sur une préselection automatique de gènes candidats et l'analyse de SNPs identifiés chez des individus malades ayant au moins un germain malade génétiquement identique pour le gène étudié. Cette approche apporte une nouvelle information pour 52 % des SNPs et permet d'améliorer la pertinence du choix des SNPs à étudier. L'application de cette approche à des gènes doublement candidats, par leur fonction et par leur position, augmente les chances de découvrir de nouveaux facteurs génétiques dans cette maladie multifactorielle.

Mots-clés : génétique multifactorielle, polyarthrite rhumatoïde, SNP.

Référence

Osorio Y *et al. Arthritis and Rheumatism* 2004 ; 50 (9) : 2757-2765.

■P276 / 1135. HÉMOCHROMATOSE HÉRÉDITAIRE : RÔLE PRÉPONDÉRANT DES FACTEURS ENVIRONNEMENTAUX DANS L'APPARITION DES SIGNES BIOLOGIQUES CHEZ LES PATIENTS C282Y/H63D

V. Scotet (1), G. Le Gac (2), M.C. Mérour (2), A.Y. Mercier (2), B. Chanu (2), C. Ka (2, 3), C. Mura (3), J.B. Nousbaum (4), C. Férec (1, 2)
(1) INSERM U613 « Génétique moléculaire et génétique épidémiologique », Brest ; (2) Établissement Français du Sang, Site de Brest ; (3) Université de Bretagne Occidentale, Brest ; (4) Service d'Hépato-Gastroentérologie, CHU La Cavale Blanche, Brest

Introduction : Caractérisée par une surcharge en fer, l'hémochromatose héréditaire est une maladie génétique complexe qui est fréquente dans les populations d'Europe du Nord. Sa forme principale (type I) est essentiellement associée à des mutations faux-sens dans le gène HFE, le génotype majoritaire C282Y/C282Y étant présent chez 80 % des patients. La pénétrance de ce génotype est incomplète et influencée par des facteurs génétiques et environnementaux. Ainsi, nous avons déjà pu confirmer l'influence néfaste d'une consommation excessive d'alcool. Bien que son expression phénotypique soit très hétérogène, ce génotype est associé aux surcharges en fer les plus sévères. La majorité des patients non C282Y homozygotes présente le génotype C282Y/H63D. L'anomalie H63D, qui est fréquente dans la population générale, est davantage considérée comme un facteur de susceptibilité. En effet, le génotype C282Y/H63D a une pénétrance faible et conduit à des formes de surcharge en fer modérées. Il est alors probable que, dans ce groupe génotypique, les facteurs environnementaux jouent un rôle prépondérant dans l'apparition des premiers signes de la maladie.
L'objectif de cette étude était de déterminer et de comparer le rôle de deux facteurs environnementaux (surpoids et consommation excessive d'alcool) sur l'expression phénotypique des génotypes C282Y/C282Y et C282Y/H63D.
Méthode : Cette étude inclut tous les patients C282Y/C282Y et C282Y/H63D intégrés dans un protocole de saignées au sein de l'établissement de transfusion sanguine de Brest (coefficient de saturation supérieur ou égal à 45 %). Un questionnaire clinique, complété au moment du diagnostic, renseigne sur l'âge au diagnostic, les paramètres biologiques, les signes cliniques, le mode de traitement ainsi que la consommation d'alcool et l'indice de masse corporelle (IMC = poids/(taille)

Mots-clés : hémochromatose héréditaire, facteurs environnementaux, indice de masse corporelle.

■P277 / 1152. IDENTIFICATION DE SITES DE SUSCEPTIBILITÉ À DES MALADIES EN UTILISANT DES PHYLOGÉNIES D'HAPLOTYPES ET UN INDICE DE CO-ÉVOLUTION

C. Bardel, P. Darlu, E. Génin
Inserm U535, Villejuif, France

Avec le développement des techniques de biologie moléculaire, des cartes de marqueurs denses sont à présent disponibles sur le génome. Le développement de méthodes capables d'utiliser efficacement toute cette information pour identifier des sites de susceptibilité à des maladies génétique est donc un des enjeux majeurs en génétique épidémiologique. Afin de prendre en compte l'information conjointe de plusieurs marqueurs situés sur un même chromosome, des méthodes haplotypiques ont été développées. Lorsque de nombreux marqueurs sont considérés, le nombre d'haplotype peut être très grand, ce qui diminue la puissance des tests d'association. Afin de palier ce problème, on peut regrouper les haplotypes en fonction de leur histoire évolutive, représentée sous la forme d'un arbre. De plus, cet arbre permet de visualiser des groupes constitués d'une majorité d'haplotypes portés par des malades et d'identifier les polymorphismes qui les définissent.
Dans ce travail, nous avons développé une nouvelle méthode utilisant l'histoire évolutive des haplotypes. Elle consiste à reconstruire une phylogénie des haplotype, à définir un nouveau caractère, nommé, \S\ « correspondant au statut maladie de chaque haplotype et à rechercher le ou les marqueurs dont l'évolution est la plus corrélée avec celle du caractère S. Nous avons évalué l'efficacité de cette méthode pour différents modèles de la maladie en réalisant des simulations. Nous avons montré que la méthode est globalement plus efficace lorsque les allèles à risque sont plutôt fréquents (entre 0,2 et 0,8), ce qui correspond au cas des maladies multifactorielles. Nous avons aussi appliqué cette méthode à un jeu de données concernant le gène DRD2 et la schizophrénie. Nous avons identifié comme locus à risque le variant TaqI A1/A2, dont l'implication dans le déterminisme de la schizophrénie a déjà été mise en évidence par d'autres études ».

Mots-clés : phylogénies d'haplotypes, localisation de sites de susceptibilité, schizophrénie.

■P278 / 1166. ATRÉSIE INTESTINALE MULTIPLE AVEC DÉFICIT IMMUNITAIRE : À PROPOS D'UN CAS DE RÉVÉLATION ANTÉNATALE

Gilles Morin (1, 3), Céline Thillet (2), Michèle Mathieu (1, 3), Philippe Naepels (3), Jean Gondry (3), André Leke (2)
(1) Unité de Génétique Clinique, Département de Pédiatrie, CHU Amiens ; (2) Unité de Réanimation pédiatrique et Médecine néonatale, Département de Pédiatrie, CHU Amiens ; (3) Centre de Diagnostic Prénatal, CHU Amiens

Les atrésies digestives sont souvent classées en fonction du niveau de l'obstacle. Elles sont généralement isolées et souvent diagnostiquées après la naissance. En anténatal, leur diagnostic repose sur la mise en évidence d'une ou de plusieurs images abdominales anéchogènes, mais souvent, lorsqu'elles sont haut situées, elles ne sont que suspectées à la suite de la mise en évidence d'un hydramnios. Le syndrome des atrésies gastro-intestinales multiples a été rapporté pour la première fois en 1973 et associe une atrésie haute, pylorique ou duodénale, à des atrésies étagées de l'intestin grêle et du colon. Peu de cas ont été rapportés dans la littérature, malheureusement presque toujours avec une évolution léthale. La transmission génétique de cette pathologie semble autosomique récessive. Rarement, il s'y associe un déficit immunitaire combiné sévère, compromettant encore davantage le pronostic. Les bases moléculaires de cette pathologie restent totalement inconnues et aucune localisation génétique n'a pour l'instant été proposée. Nous rapportons un patient de sexe masculin, premier enfant de parents non apparentés chez lequel ce diagnostic a été porté. La grossesse avait été marquée par l'apparition dès 29 SA d'une dilatation digestive associée à des calcifications intra-abdominales. Le liquide amniotique était en quantité normale. Le caryotype sur liquide amniotique montrait une formule 46, XY sans anomalie décelée et la recherche des mutations du gène CFTR était non contributive chez les deux parents. À la naissance à 39 SA, le poids était de 3 160 g, la taille de 51 cm, le PC de 35 cm. L'ASP à H3 et H24 de vie montrait une distension de la poche à air gastrique et l'absence d'aération du tube digestif sous-jacent. L'échographie abdominale retrouvait 3 masses liquidiennes ne communiquant pas entre elles. Lors de la laparotomie à J2, il était observé une atrésie pylorique intéressant les 3 premiers centimètres du grêle, un deuxième et un troisième duodénum remplis de bile, puis un intestin grêle cordonal, de petit calibre. Le lavement aux hydrosolubles montrait un arrêt du produit de contraste en « queue de radis », évoquant une sténose rectale. Le bilan biologique révélait l'existence d'une lymphopénie chronique, associée à un déficit des lignées T et B, avec notamment une hypogammaglobulinémie. L'évolution du patient était marquée par la survenue d'une cholestase sous alimentation parentérale exclusive. La reprise chirurgicale à 2 mois de vie ne montrait pas de récupération concernant le calibre du grêle. Du fait de son déficit immunitaire, il était récusé pour une greffe intestinale et devait mourir à 5 mois de vie.

Mots-clés : atrésie intestinale multiple, déficit immunitaire, prénatal.

■P279 / 1510. MISE AU POINT D'UNE MICROMÉTHODE DE DOSAGE DE L'ALPHA-GALACTOSIDASE A : APPLICATION AU DÉPISTAGE PROSPECTIF DE LA MALADIE DE FABRY DANS UNE LARGE COHORTE DE PATIENTS PRÉSENTANT UN ACCIDENT VASCULAIRE CÉRÉBRAL ISCHÉMIQUE (AVCI)

E. Caudron (1, 8), F.-A. Allaert (2), J.-Y. Artigou (3), K. Benistan (1), G. Besson (4), P. Clavelou (5), M. Hermier (6), J.-M. Pinard (7), P. Prognon (8), D.P. Germain (1)

(1) Unité de génétique clinique, Hôpital Européen Georges-Pompidou, Paris ; (2) Cenbiotech, Dijon ; (3) Service de cardiologie, Hôpital Avicenne-Bobigny ; (4) Service de neurologie, Hôpital Nord Grenoble ; (5) Service de neurologie, Hôpital Gabriel-Montpied, Clermont-Ferrand ; (6) Service de radiologie, Hôpital Wertheimer, Lyon ; (7) Service de neuropédiatrie, Hôpital Raymond-Poincaré, Garches ; (8) Laboratoire de chimie analytique, EA3343, Faculté de Pharmacie, Châtenay-Malabry

La maladie de Fabry (MF) est une erreur innée du métabolisme de transmission liée au chromosome X, secondaire à un déficit enzymatique en alpha-galactosidase A lysosomale. Alors que les premiers signes apparaissent dans l'enfance, elle est diagnostiquée à un âge moyen de 29 ans. Du fait de l'existence d'un traitement spécifique (thérapie enzymatique), tout retard dans la prise en charge apparaît préjudiciable pour le patient. Les accidents vasculaires cérébraux ischémiques (AVCI) sont un problème de santé publique en raison de leurs conséquences cliniques et de leurs coûts. Ils surviennent précocement au cours de la MF avec une prévalence estimée à 25 %. Tout AVC du sujet jeune devrait faire considérer le diagnostic de MF. Poser le diagnostic chez ces patients permettrait de leur faire bénéficier d'un traitement spécifique, afin de prévenir une récidive et/ou la survenue de complications cardiovasculaires et rénales. Nous avons développé une méthode miniaturisée de dosage de l'alpha-galactosidase à partir du recueil de quelques gouttes de sang sur un papier buvard. Une étude pilote portant sur 27 patients et 24 contrôles a montré une sensibilité de 100 % chez l'homme hémizygote (n = 15) et de 75 % chez la femme hétérozygote (9/12). Une innovation technique a permis de limiter le risque d'interférences liées à la matrice biologique (quenching de la fluorescence). Utilisant cette méthodologie, une étude multicentrique, prospective sera réalisée dans 20 services de neurologie. Cette recherche permettra d'étudier l'incidence de la MF dans une population d'hommes et de femmes de moins de 55 ans victimes d'un AVCI.

■P280 / 1517. VERS L'IDENTIFICATION D'UN CINQUIÈME GÈNE DE L'HYPERCHOLESTÉROLÉMIE FAMILIALE

M. Varret (1), M. Trillard (1), M. Abifadel (1, 2), D. Allard (1), J. Bonneau (1), D. Erlish (1), M. Devillers (1), J.-P. Rabès (1, 3) et C. Boileau (1, 3)
(1) Inserm U383, Hôpital Necker, Paris ; (2) Faculté de Pharmacie, Université Saint-Joseph, Beirut, Liban ; (3) Laboratoire de Biochimie, d'Hormonologie et de Génétique Moléculaire, CHU Ambroise Paré, Boulogne

L'hypercholestérolémie autosomique dominante (ADH) est un facteur de risque majeur d'athérosclérose et de ses complications cardio-vasculaires. Le poids socio-économique de cette altération biologique est énorme puisque ses complications représentent l'une des causes principales de morbidité et de mortalité dans les pays développés et en voie de développement. Elle est caractérisée par une élévation isolée des taux plasmatiques de cholestérol due à une accumulation de lipoprotéines LDL (low density lipoprotein). Elle a été associée pendant de longues années à deux gènes : le gène *LDLR* (récepteur des LDL) et le gène *APOB* (apolipoprotéine B). Notre équipe a été la première à mettre en évidence un niveau d'hétérogénéité génétique bien plus important. En 1999, nous avons montré que cette maladie est aussi due à des défauts dans au moins deux autres gènes : *HCHOLA3* et *HCHOLA4*. Et en 2003, nous avons identifié *HCHOLA3* comme étant le gène *PCSK9* (proprotein convertase subtilisin/kexin type 9) localisé en 1p32. Parallèlement, nous avons localisé le gène *HCHOLA4* en 16q22 dans un intervalle de 3,8 cM contenant 79 gènes qui sont en cours d'étude.

Grâce au Réseau National de Recherches sur les Hypercholestérolémies dont nous coordonnons l'organisation, nous avons recruté une grande famille de 25 sujets qui exclue l'implication des 4 premiers gènes de l'ADH. Cette famille compte, sur deux générations, 11 individus considérés comme atteints d'après leurs bilans lipidiques, c'est-à-dire, présentant un taux plasmatique de cholestérol-LDL supérieur à 1,9 g/L chez l'adulte ou à 1,6 g/L chez l'enfant avec un taux de triglycérides normal (inférieur à 2 g/L chez l'adulte et à 1,5 g/L chez l'enfant). Quatre individus ont été étiquetés avec un statut « douteux » puisqu'ils ne présent pas de critères cliniques et biologiques clairs. Les dix autres sont considérés comme sains.

Les gènes *LDLR, APOB* et *PCSK9* ont été exclus par analyse de liaison, avec des marqueurs flanquants et intragèniques, et par séquençage des régions 3' et 5' non codantes, de chaque exon et des sites d'épissage des gènes *LDLR* et *PCSK9*, et de deux régions (exons 26 et 29) codant pour le domaine de liaison au récepteur dans le gène *APOB*. L'étude de 6 marqueurs microsatellites couvrant la région HCHOLA4 a permis d'exclure la liaison génétique avec ce locus. Afin d'évaluer la puissance de cette famille en terme d'analyse de liaison, 500 simulations ont été faites avec le programme SLINK du pack LINKAGE. Le Lod score moyen attendu s'élève à 2,08 et le Lod score maximum à 3,96, indiquant que le seuil statistique significatif de 3 peut être atteint par l'étude de cette seule famille. Nous collaborons avec le Centre National de Génotypage qui va effectuer un tour du génome avec 465 microsatellites pour cette famille de 25 sujets, dont 15 malades.

Ensuite, nous effectuerons une cartographie fine de la région d'intérêt et nous ferons l'inventaire des gènes présents dans la région. Nous classerons ces gènes selon leur fonction et leur profil d'expression. Et, nous étudierons les candidats, selon l'ordre prioritaire établi, par séquençage afin d'identifier le gène en cause. De plus, nous testerons la liaison génétique avec la région d'intérêt dans d'autres familles excluant les 4 premiers gènes afin de réduire éventuellement l'intervalle à étudier et d'identifier d'autres sujets à étudier pour augmenter les possibilité d'identifier le gène causal. L'identification de ce nouveau gène, nommé *HCHOLA5*, pourra mettre en évidence un nouveau mécanisme de régulation de la cholestérolémie et ouvrir la voie au développement de nouvelles thérapeutiques.

Mots-clés : hypercholestérolémie, autosomique dominant, linkage.

■P281 / 1534. LES INDICATIONS DU DÉPISTAGE GÉNÉTIQUE DU PHÉOCHROMOCYTOME [1]

Laurence Amar (1), Jérôme Bertherat (2), Éric Baudin (3), Christiane Ajzenberg (4), Brigitte Bressac-de Paillerets (5), Olivier Chabre (6), Bernard Chamontin (7), Brigitte Delemer (8), Sophie Giraud (9), Arnaud Murat (10), Patricia Niccoli-Sire (11), Stéphane Richard (12), Vincent Rohmer (13), Jean-Louis Sadoul (14), Laurence Strompf (1), Martin Schlumberger (3), Xavier Bertagna (2), Pierre-François Plouin (15), Xavier Jeunemaitre (1), Anne-Paule Gimenez-Roqueplo (1)
(1) Département de Génétique et (15) Unité d'Hypertension Artérielle, Hôpital Européen Georges Pompidou, Paris ; (2) service d'Endocrinologie et des Maladies Métaboliques, Hôpital Cochin, Paris ; (3) Service de Cancérologie Endocrinienne et (5) de Génétique Institut Gustave-Roussy, Villejuif ; (4) Service de Médecine Interne et d'Endocrinologie, Hôpital Henri-Mondor, Créteil ; (6) Service d'Endocrinologie, CHU de Grenoble ; (7) Service de Médecine Interne et de Néphrologie, CHU Rangueil, Toulouse ; (8) Service d'Endocrinologie, CHU de Reims ; (9) Laboratoire de Génétique, Hôpital Édouard-Herriot, Lyon ; (10) Service d'Endocrinologie, Hôpital de l'Hôtel-Dieu, Nantes ; (11) Service d'Endocrinologie, CHU de Marseille ; (12) Consultation d'Oncogénétique spécialisée, Hôpital Necker, Paris et Hôpital de Bicêtre, Le Kremlinè-Bicêtre ; (13) Service d'Endocrinologie, Hôpital de l'Hôtel-Dieu, Nantes ; (14) Service d'Endocrinologie, Hôpital de l'Archet, Nice

Objectifs : Établir les indications du test génétique chez les patients porteurs de phéochromocytome et/ou de paragangliome fonctionnel extra-surrénale.

Patients and méthodes : Nous avons étudié 314 patients porteurs d'un phéochromocytome et/ou d'un paragangliome fonctionnel recrutés dans différents services français collaborant avec les réseaux de recherche clinique COMETE, PGL.NET et/ou le GTE. Les données cliniques, l'histoire familiale et l'ADN lymphocytaire de ces patients ont été collectés. 56 patients avaient une histoire familiale et/ou une atteinte syndromique et 258 avaient une présentation d'apparence sporadique. Les cinq gènes majeurs de susceptibilité au phéochromocytome/ paragangliome *(RET, VHL, SDHB, SDHD* et *SDHC)* ont été analysés. Le diagnostic de neurofibromatose de type 1 a été posé sur des critères phénotypiques.

Résultats : Nous avons identifié 86 patients (27,4 %) porteurs d'une forme génétiquement déterminée de phéochromocytome. Parmi les 56 patients avec une présentation familiale ou syndromique, 13 avait une neurofibromatose de type 1, 16 avaient une mutation sur le gène *VHL*, 15 sur *RET*, 9 sur *SDHD* et 3 sur *SDHB*. Parmi les 258 cas de présentation sporadique, 30 (11,6 %) étaient porteurs d'une mutation constitutionnelle (18 sur *SDHB*, 9 sur *VHL*, 2 sur *SDHD* et 1 sur *RET*). Les sujets avec mutations comparés aux sujets sans mutation étaient plus jeunes et avaient plus fréquemment des tumeurs bilatérales ou extra-surrénales. Les patients porteurs d'une mutation sur *SDHB* comparés aux sujets ayant une forme familiale non liée à *SDHB* avaient des tumeurs de taille plus importante au moment du diagnostic, plus fréquemment extra-surrénales et malignes.

Conclusion : Un test génétique doit être proposé à tout patient porteur de phéochromocytome ou de paragangliome fonctionnel. Ce test doit être ciblé en fonction des critères cliniques et/ou la présence de cas familiaux. Tout patient porteur d'un phéochromocytome d'apparence sporadique doit bénéficier au moins d'une analyse des gènes *SDHB* et *VHL*. Enfin, cette étude sur une grande série de patients confirme que l'identification d'une mutation sur le gène *SDHB* est un facteur pronostic de malignité.

Mots-clés : phéochromocytome, paragangliome, *SDHB*, *VHL*, *SDHD*.

Référence

1. Amar *et al. J Clin Oncol* 2005 ; 23 : 8812-8.

■P282 / 1548. LES VARIATIONS ALLÉLIQUES DE LA MÉLANOPHILLINE INFLUENCENT LA COULEUR DE LA PEAU ET DES YEUX

Nadem Soufir (1), Jacqueline Millet (2), Agnes Bourillon (1), Roubila Meziani (1), Bénédicte Gérard (1), Vincent Descamps (3), Béatrice Crickx (3), Laurence Ollivaud (4), Alain Archimbaud (4), Nicolas Dupin (5), Isabelle Gorin (5), Pierre Wolkenstein (6), Dominique Vitoux (7), Céleste Lebbe (4), Philippe Saiag (8), Nicole Basset-SeguinBernard (4) Grandchamp (1), Françoise Clerget-Darpoux (2) et MelanCohort

(1) Laboratoire de Biochimie Hormonale et Génétique, Hôpital Bichat-Claude Bernard ; (2) Unité INSERM d'Épidémiologie Génétique, Hôpital Paul-Brousse, Villejuif, France ; (3) Service de Dermatologie, Hôpital Bichat, Paris, France ; (4) Service de Dermatologie, Hôpital Saint-Louis, Paris, France ; (5) Service de Dermatologie, Hôpital Tarnier, Paris, France ; (6) Service de Dermatologie, Hôpital Henri-Mondor, Créteil, France ; (7) Service de Biochimie Hôpital Saint-Louis, Paris, France ; (8) Service de Dermatologie, Hôpital Ambroise-Paré, Boulogne, France

Introduction : La mélanophilline (MLPH) est une protéine appartenant à la famille des effecteurs de type Rab, jouant un rôle majeur dans la protection de l'épiderme contre les UV, via sa fonction dans la migration des mélanosomes le long des dendrites mélanocytaires et leur distribution aux kératinocytes. Le gène est situé sur le chromosome 2q37 et comprend 13 exons codant pour une protéine de 600 acides aminés. Des mutations de la MLPH ont été décrites dans une forme rare d'albinisme humain, chez la souris mutante LEIDEN. Le but de ce travail était d'étudier l'effet du polymorphisme de ce gène sur le risque de mélanome et sur les caractéristiques pigmentaires humaines.

Matériels et méthodes. Dans le cadre d'une étude cas-témoins, nous avons séquencé les exons 2, 4, 6, 8 et 9 de la mélanophilline chez 154 malades atteints de mélanomes et 121 témoins, tous caucasiens, sans antécédents personnels ou familial de mélanome, appariés sur l'âge, le sexe, et le lieu de résidence (région IDF). L'effet des variants de la MLPH sur le risque de mélanome et les caractéristiques pigmentaires (individus à peau et yeux foncés versus individus à peau et yeux clairs) a été évalué par étude haplotypique étudiant l'effet des différentes combinaisons de SNPs (Combination test) : les SNPs sont étudiés par différents sous groupes, les haplotypes sont reconstruits et l'association est testée sur un nombre variable de SNPs. La signification du test est estimée par permutation.

Résultats : Sept variants non synonymes (E98K, L153P, G172D, T289I, H347R, V374A, A408S) ont été identifiés. Par ailleurs, 4 variants synonymes (K44K, L277L, D379D, E407E) et 3 variants introniques étaient détectés (IVS2-21 A>G, IVS2-10 A>G, IVS5-68 C>T).

Nous n'avons pas détecté d'effet des variants sur le risque de mélanome par le combination test ($p = 0,42$). En revanche, l'étude haplotypique retrouvait une combinaison de 4 SNPs (IVS2-2A>G, L277L, V374A, A408S) fortement associée à la couleur de la peau et des yeux (P value corrigée 0,0056). L'haplotype constitué par les allèles majeurs des SNPs IVS2-2A>G, L277L, V374A, A408S est plus fréquent chez les individus à caractéristiques pigmentaires claires que chez les individus à caractéristiques pigmentaire foncés. L'haplotype comportant l'allèle mineur de V374A et les allèles majeurs des 3 autres SNPs est par contre très fortement associé aux caractéristiques pigmentaires foncées.

Discussion et conclusion Nos résultats suggèrent fortement un rôle important des variations alléliques de la MLPH sur la pigmentation cutanée et oculaire humaine, qui pourrait s'exercer par le biais d'une modulation de la distribution des mélanosomes aux kératinocytes. Son absence de rôle sur le risque de mélanome s'explique peut être par le fe fait que la mélanophilline n'influe pas sur la qualité de la mélanine (eumélanine ou phaéomélanine). Une étude fonctionnelle des variants, ainsi qu'une étude de réplication, permettrait de conforter ces données.

Mots-clés : pigmentation, mélanome, mélanophilline.

6. Génétique Moléculaire

■P283 / 22. MICRO-DÉLÉTION INTERSTITIELLE 9q22.3 : ANALYSE CLINIQUE ET MOLÉCULAIRE D'UN NOUVEAU SYNDROME D'AVANCE STATURALE

R. Redon (1), G. Baujat (2), D. Sanlaville (2), M. Le Merrer (2), M. Vekemans (2), A. Munnich (2), N.P. Carter (1), V. Cormier-Daire (2), L. Colleaux (2)

(1) The Wellcome Trust Sanger Institute, Wellcome Trust Genome Campus, Hinxton, Cambridge, UK ; (2) INSERM U393 and Département de Génétique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France

Le groupe des avances staturales syndromiques est défini sur des critères cliniques reposant sur l'association de signes spécifiques à l'avance staturale. Ces syndromes constituent un groupe d'affections extrêmement hétérogènes tant du point de vue clinique que du point de vue génétique. Ces dernières années ont cependant vu émerger deux causes majeures d'avance staturale syndromique, d'une part les anomalies du gène NSD1 en 5q35 à l'origine de la grande majorité des syndromes de Sotos et de quelques cas de syndromes de Weaver et, d'autre part, des anomalies de l'expression de gènes soumis à empreinte dans la région 11p15 responsables de la majorité des cas de syndrome de Beckwith-Wiedemann. Diverses anomalies chromosomiques, délétions ou duplications, peuvent également être à l'origine d'anomalies de croissance. C'est ainsi le cas des syndromes dup(4)(16.3) et del(22)(q13.1-q13.2) suggérant que d'autres syndromes d'avance staturale pourraient être dû à des anomalies chromosomiques cryptiques. La réalisation systématique d'un caryotype haute résolution au même titre que l'analyse du gène NSD1 et de la région 11p15 font donc maintenant partie de la démarche diagnostique habituelle d'une avance staturale syndromique. À ce jour, un grand nombre d'avance staturale syndromique reste cependant sans anomalie identifiée, soulignant l'hétérogénéité génétique de ces pathologies. Nous avons donc entrepris l'analyse par hybridation génomique comparative sur puce à ADN (CGH-array) d'une cohorte de patients présentant une avance staturale syndromique sans étiologie connue. Ce travail nous a permis d'identifier 2 patients porteurs d'une délétion très semblable de la région 9q22.32-q22.33 et présentant un phénotype très similaire. Ce phénotype clinique comporte une macrocéphalie, une avance staturale et une trigonocéphalie. De plus les deux patients présentent également un retard psychomoteur, des troubles du comportement et une dysmorphie faciale caractéristique. L'utilisation de puces à ADN très résolutives, dédiées à l'étude de la région 9q22.32-q22.33 nous a ensuite permis de cartographier dans un intervalle de 100 kb les bornes de ces 2 délétions. De manière très intéressante, la région délétée contient, entre autre, le gène TGFBR1, dont des mutations sont responsables d'anomalies cranio-faciales, neurocognitives et squelettiques. Ces données suggèrent que la micro-délétion 9q22.32-q22.33 est responsable d'un nouveau syndrome de croissance excessive avec retard mental. Son association à une dysmorphie caractéristique devrait aider à la reconnaissance de ce nouveau syndrome. Outre l'intérêt clinique de cette observation, nos résultats apportent également un nouvel argument en faveur du rôle joué par le gène TGFBR1 dans la régulation de la croissance.

Mots-clés : avance staturale syndromique, anomalie chromosomique, *TGFBR1*.

■P284 / 23. UNE FORME SÉVÈRE D'ÉPILEPSIE MYOCLONIQUE PRÉCOCE ASSOCIÉE À L'INACTIVATION DU TRANSPORTEUR DE GLUTAMATE MITOCHONDRIAL *SLC25A22*

Molinari F. (1), Raas-Rothschild A. (2), Rio M. (1), Kaminska A. (3), Fiermonte G. (4), Encha-Razavi F. (1), Palmieri L. (4, 5), Palmieri F. (4, 5), Ben-Neriah Z. (2), Kadhom N. (1), Vekemans M. (1), Attié-Bittach T. (1), Munnich A. (1), Rustin P. (1), Colleaux L. (1)

(1) INSERM U393, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France ; (2) Department of Human Genetics, Hadassah Hebrew University Medical Center, Jerusalem ; (5) Service de Neuropédiatrie, Hôpital Saint-Vincent-de-Paul, Paris, France ; (4) Department of Pharmaco-Biology, Laboratory of Biochemistry and Molecular Biology, University of Bari ; (5) Consiglio Nazionale delle Richerche (CNR) Institute of Biomembranes, Bari, Italy

L'épilepsie concerne, en France, près de 500 000 personnes dont la moitié sont des jeunes de moins de 20 ans. Les causes de ces affections sont extrêmement hétérogènes : (i) Dans 40 % des cas, il s'agit d'épilepsies symptomatiques conséquences de lésions cérébrales, (ii) dans 5 à 10 % des cas, il s'agit d'épilepsies d'origine génétique connue, bénignes ou sévères, (iii) enfin, la cause de la maladie reste inconnue dans près de la moitié des cas, on parle alors d'épilepsies cryptogéniques.

Au cours de nos recherches, nous avons eu l'opportunité d'étudier une famille consanguine israélienne de 8 enfants dont 4 présentent l'association d'un RM sévère, d'une épilepsie myoclonique précoce avec un tracé à l'électroencéphalogramme (EEG) dit de « suppression-bursts » (SB), d'une microcéphalie progressive et d'un électrorétinogramme (ERG) anormal. Une cartographie par homozygotie réalisée chez cette famille nous a permis de localiser le gène en cause dans un intervalle de 3Mb situé en 11p15.5. L'étude de la séquence du gène SLC25A22 (ou GC1), qui code une protéine située dans la membrane interne mitochondriale et impliquée dans le transport du glutamate mitochondrial, a mis en évidence une substitution homozygote c.617C>T qui co-ségrège avec la maladie dans la famille et entraîne un changement d'un acide aminé très conservé, p.Pro206Leu. L'investigation de 30 enfants sélectionnés sur la base de leur examen clinique nous a permis de mettre en évidence une seconde mutation du gène

GC1 chez un garçon né de parents consanguins originaires d'Algérie. Cette substitution c.706G>T entraîne également le changement d'un acide aminé très conservé, p.Gly236Trp. Ces résultats suggèrent donc que des mutations du gène GC1 pourraient être responsables d'un nombre significatif de cas d'épilepsies sévères avec SB associées à une microcéphalie progressive et des anomalies visuelles.
L'étude par polarographie de la respiration mitochondriale dans les fibroblastes de ces patients montre clairement un défaut de transport du glutamate cytoplasmique vers la mitochondrie. De plus, l'analyse in vitro de la protéine GC1 démontre que ces deux mutations entraînent une inactivation complète de ce transporteur. Enfin, pour mieux comprendre le rôle de GC1, nous avons étudié son profil d'expression spatio-temporelle chez l'homme par northern blot et hybridation in situ. Nos résultats montrent que GC1 s'exprime principalement au niveau du cerveau et en particulier dans des structures soupçonnées d'être impliquées dans des syndromes épileptiques. Ces données mettent donc pour la première fois en évidence un lien direct entre une anomalie de transport du glutamate mitochondrial et une forme particulièrement sévère d'épilepsie. Outre leur intérêt clinique majeur, ces résultats ouvrent également de nouvelles pistes quant aux bases physiopathologiques des épilepsies.

Mots-clés : épilepsie myoclonique néonatale, *SLC25A22*, transporteur de glutamate mitochondrial.

■P285 / 28. MALADIE DE HUNTINGTON : OPTIMISATION DU DIAGNOSTIC MOLÉCULAIRE ET MISE EN ÉVIDENCE D'UN ALLÈLE RARE ASSOCIANT UNE INTERRUPTION DES TRIPLETS CAG ET TROIS TRIPLETS CCT EN AVAL DE LA SÉQUENCE POLYCCG ADJACENTE

O. Russaouen (1), C. San (1), G. Stevanin (2), A. Dürr (1, 2), A. Brice (1, 2), E. Le Guern (1, 2), C. Cazeneuve (1)
(1) Unité Fonctionnelle de Neurogénétique Moléculaire et Cellulaire, Département de Génétique Cytogénétique et Embryologie, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Assitance Publique-Hôpitaux de Paris ; (2) Unité Inserm U679, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris

La maladie de Huntington est une affection neurodégénérative touchant 1/5000 à 10000 personnes en France. Elle est liée dans 99 % des cas à une amplification pathologique de triplets CAG dans l'exon 1 du gène HD-IT15. Le diagnostic moléculaire dans le cadre d'une confirmation de diagnostic ou d'un diagnostic présymptomatique est utilisé en pratique clinique depuis 1993. Il consiste à évaluer le nombre de triplets CAG par PCR suivie d'une analyse de taille de fragments. En fonction du nombre de CAG (n), quatre types d'allèles ont été rapportés : allèles normaux (n = 26 ; pas d'instabilité méiotique), allèles « normaux instables » (27 = n = 35 ; non associés à un phénotype, mais potentiellement instables s'ils sont transmis par le père), allèles de pénétrance incomplète (36 = n = 39), allèle de pénétrance complète (n = 40). Par ailleurs, comme pour d'autres « maladies à triplets », il existe une corrélation entre le nombre de répétitions et l'âge d'apparition des premiers signes cliniques. La précision de l'évaluation du nombre de triplets est donc cruciale pour le conseil génétique, en particulier pour les valeurs limites (26-27 ; 35-36 ; 39-40). D'autre part, en cas de détection d'un allèle unique chez un patient se pose la question du risque de non détection d'amplification de grande taille par les techniques habituelles.
Nous décrivons ici deux nouveaux couples d'amorces (l'un spécifique des répétitions CAG, le second encadrant les triplets CAG et les triplets CCG polymorphes adjacents) et une technique alternative au Southern blot de mise en évidence des très grandes expansions basée sur l'utilisation en PCR d'une amorce polyCAG.
Comparés aux résultats obtenus avec les amorces décrites dans la littérature, il s'avère que : 1) les profils de migration des PCR obtenues avec les nouveaux couples d'amorces sont plus facilement interprétables ; 2) le nombre de répétitions amplifiées est supérieur à celui obtenu avec les amorces de la littérature pour un même ADN, en particulier pour les grands allèles, ce qui témoigne probablement d'une diminution des erreurs de « dérapage » de la Taq-Polymérase et fiabilise le résultat obtenu ; 3) les conditions d'amplification (« two-steps PCR ») sont identiques pour les deux nouveaux couples d'amorces, ce qui permet d'envisager une PCR multiplex.
Parmi les patients étudiés, nous avons identifié 6 individus, a priori non apparentés, porteurs d'un même allèle rare de taille « normale » : l'avant-dernier triplet CAG est remplacé par un triplet CAA et la séquence immédiatement en aval du site polymorphe polyCCG comporte 3 triplets CCT. Ces deux variations de séquence, décrites séparément dans la littérature, ne changent pas la séquence protéique déduite. L'allèle identifié, associant en cis ces deux variations de séquence, est rare (6/486 allèles, en cours de vérification). Sa présence se traduit par une amplification très faible car la variation de séquence CAG>CAA touche la 5e base de l'extrémité 3' de l'amorce utilisée pour amplifier les CAG. Une amorce complémentaire de la séquence CAA permet au contraire d'amplifier spécifiquement les allèles porteurs de cette variation de séquence. Nous recherchons actuellement un éventuel effet fondateur pour cet allèle.
Les techniques classiques d'évaluation du nombre de triplets ne permettent pas de détecter les allèles portant un très grand nombre de triplets. Il est donc parfois nécessaire de recourir à d'autres techniques pour confirmer le diagnostic. Chez un patient porteur d'un allèle de grande taille, la technique basée sur l'utilisation d'une amorce polyCAG, simple et rapide à mettre en œuvre, montre la présence de deux allèles dont l'un porte une amplification pathologique de triplets, sans toutefois que l'évaluation du nombre de triplets CAG soit possible. Nous disposons donc ainsi d'une technique simple qui permet d'affirmer le diagnostic en cas d'échec de la technique classique et qui peut être utilisée pour le conseil génétique.

Mots-clés : Huntington, diagnostic moléculaire, grandes expansions.

■P286 / 36. ÉTUDE MOLÉCULAIRE APPROFONDIE DES GÈNES ENG ET ALK1 ET CRIBLAGE DE SIX GÈNES CANDIDATS DANS LA MALADIE DE RENDU-OSLER

G. Lesca (1, 2), N. Burnichon (1), G. Raux (3), M. Tosi (3), S. Pinson (1), G. Plessis (4), B. Gilbert (5), S. Rivière (6), C. Goizet (7), L. Faivre (8), H. Plauchu (2, 9), T. Frébourg (3), A. Calender (1, 2), S. Giraud (1), et le réseau national Rendu-Osler
(1) Service de Génétique Moléculaire et Médicale, Hôpital Édouard-Herriot, Lyon ; (2) Université Claude-Bernard, Lyon ; (3) Inserm U614, IFRMP, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Rouen ; (4) Service de Génétique, CHU Clémenceau, Caen ; (5) Service de Génétique Médicale, Hôpital Jean-Bernard, Poitiers ; (6) Service de Médecine Interne, Hôpital Saint-Éloi, Montpellier ; (7) Service de Génétique Médicale, CHU Pellegrin-Enfants, Bordeaux ; (8) Centre de Génétique, Hôpital d'Enfants, Dijon ; (9) Service de Génétique, Hôpital de l'Hôtel-Dieu, Lyon

La maladie de Rendu-Osler est une maladie héréditaire autosomique dominante caractérisée par des malformations artérioveineuses et causée par les mutations germinales de deux gènes : ENG et ALK1, codant pour des récepteurs du TGF-beta. Au cours de travaux antérieurs, nous avons effectué un criblage de ces deux gènes chez 160 patients par la technique des hétéroduplexes qui nous a permis de mettre en évidence une mutation germinale dans 68 % des cas. Nous présentons maintenant les résultats d'études complémentaires effectuées sur un groupe de 48 cas index avec un diagnostic clinique certain selon les critères de consensus international et pour lesquels aucune mutation n'avait été détectée précédemment. Ces études comprenaient : 1) le séquençage de l'ensemble des exons du gène ALK1 et de l'ADNc du gène ENG ; 2) la recherche de grands réarrangements des deux gènes par la technique QMPSF et, 3) le criblage des régions en 5', ayant un rôle potentiel dans la régulation de l'expression, par séquençage ou hétéroduplexes. Une mutation a été identifiée chez 32 patients. Les 24 mutations du gène ALK1 comprenaient 15 faux-sens, 3 non-sens, 4 mutations d'épissage et 2 délétions/duplications de petite taille. Les 8 mutations du gène ENG comprenaient 1 faux-sens, 1 délétion de petite taille, 3 mutations d'épissage et 3 grands réarrangements (une duplication des exons 4 à 8 et deux délétions des exons 1 à 3 et 9 à 14). Aucune mutation à caractère pathogène n'a été identifiée dans les régions régulatrices. Ces résultats nous permettent de réévaluer notre taux de mutation à 88 % chez les patients ayant une diagnostic clinique certain de maladie de Rendu-Osler. Ils confirment également la nette prédominance des mutations faux-sens pour le gène ALK1, que nous avions suggéré auparavant ainsi que la fréquence non négligeable des grand-réarrangements du gène ENG (7,5 %, 3/40). Nous avons également effectué un criblage par séquençage de l'ADNc des gènes SMAD4, SMAD1, SMAD5, SMAD7, BMPR1A et BMPR2, chez les 18 patients sans mutation des gènes ENG et ALK1. Des mutations du gène SMAD4 ont récemment été identifiées dans quelques familles dont le phénotype associait une maladie de Rendu-Osler et une polypose juvénile. Chez nos patients, seule une substitution non conservatrice a été identifiée dans le gène SMAD1 chez un patient (c.738G>C). Elle correspondait, au niveau protéique, au remplacement d'une méthionine, peu conservée au cours de l'évolution, en isoleucine. Ces résultats ne sont pas en faveur d'un rôle majeur de ces six gènes dans la forme courante de maladie de Rendu-Osler.

Mots-clés : Rendu-Osler, mutation, gène candidat.

■P287 / 39. NOUVELLE MUTATION DU GÈNE *FOXP3* CHEZ UN PATIENT ATTEINT DU SYNDROME IPEX

V. Valaeys (1), U. Halac (1, 5), A. Ferster (2), C. Dangoisse (3), M. Scaillon (4), C. Fonteyne (5), Ph Lepage (6), M. I.Parodi (7), L. Perroni (7) and Y. Sznajer (1)

(1) Département de Génétique Clinique ; (2) Hématologie ; (3) Dermatologie ; (4) Gastroentérologie ; (5) Unité de soins Intensifs ; (6) Maladies Infectieuses, Hôpital Universitaire des Enfants Reine Fabiola, Université Libre de Bruxelles, Belgique ; (7) Département de Biologie Moléculaire Raffaelle, Italy

Nous rapportons le cas d'un nourrisson de 2 mois admis en unité de soins intensifs pour la prise en charge d'une diarrhée profuse (> 500 ml/jour) d'installation brutale. Une éruption exfoliative, eczématiforme, prédominant à la face d'extension des membres et sur le visage accompagnait le tableau clinique. Les investigations révélaient une anémie hémolytique avec test de Coombs positif, une thrombopénie persistante, une inflammation modérée sans étiologie virale, bactérienne, parasitaire ou mycosique (leucocytose : 20 000/ml et la Protéine C-Réactive à 9 mg/dl) Le taux d'IgE était mesuré à 6,900 UI/ml. Le typage lymphocytaire était normal pour l'age. Le pedigree est africain sans consanguinité et sans antécédent analogue. L'association d'une diarrhée profuse, d'anomalies immunologiques et des lésions eczématiformes constituent le trépied du syndrome IPEX (Immunodysregulation, Polyendrocrinopathy, Enteropathy, X-linked syndrome). L'histoire naturelle de cette entité se caractérise par l'apparition de troubles endocriniens (diabète insulino-dépendant, hypothyroïdie), d'une anémie hémolytique et de dérégulation immunitaire (auto-immunité) responsable de décès précoce. Le syndrome IPEX est causé par l'apparition d'une mutation du gène FOXP3 situé en Xp11.23-q13.3. Une homogénéité génétique existe (13 familles investiguées, un seul patient sans mutation identifiée). Chez notre patient, le séquençage direct a mis en évidence une substitution de l'exon 10 T>G(1121) – codon 374 Phénylalanine / Cystéine au sein du gène (portion codante de la protéine). Cette mutation n'a pas encore été rapportée. Au moment de la soumission, le génotype maternel est en cours d'investigation.

Mots-clés : IPEX, *FOX P3*, nouvelle mutation.

■P288 / 40. SURDITÉ NON SYNDROMIQUE ET ATTEINTE VESTIBULAIRE

M. Louha (1), I. Roullion (2), L. Jonard (1), E.-N. Garabédian (2, 3), R. Couderc (1, 3), D. Feldmann (1, 3), F. Denoyelle (2, 3), S. Marlin (3, 4)
(1) Laboratoire de Biochimie et de Biologie Moléculaire, CHU Trousseau, AP-HP, Paris, France ; (2) Service d'ORL et de Chirurgie Cervico-Faciale, CHU Trousseau, AP-HP, Paris, France ; (3) INSERM U587, Institut Pasteur, Paris, France ; (4) Unité de Génétique Clinique, CHU Trousseau, AP-HP, Paris, France

Dans les surdités neurosensorielles non syndromiques une atteinte vestibulaire associée est rare chez l'homme. À ce jour, deux gènes sont connus pour être responsables de cette association. Des mutations dans le gène COCH sont responsables d'une surdité NS de l'adulte associée à une atteinte vestibulaire se transmettant de façon dominante DFNA9. La surdité est bilatérale, évolutive, débutant entre 20 et 40 ans avec une atteinte prédominant d'abord dans les hautes fréquences puis se généralisant à toutes les fréquences. L'atteinte vestibulaire a une pénétrance variable suivant les mutations. Seulement 7 mutations du gène COCH sont décrites et elles sont toutes localisées dans le domaine LCCL de la protéine. Le deuxième gène impliqué est celui qui code pour l'Espine, ESPN. Des mutations de ce gène ont été décrites dans 2 familles atteintes de surdité NS profonde avec atteinte vestibulaire se transmettant de façon récessive DFNB36. Nous avons recherché la prévalence des atteintes de ces deux gènes dans une grande cohorte de patients. L'analyse du gène COCH a été effectuée chez 220 patients (195 familles) atteints de surdité NS apparue après l'âge de 20 ans et transmise de façon dominante. Les exons 4 et 5 de COCH codant le domaine LCCL ont été étudiés par séquençage.
Le gène ESPN a été étudié chez 11 patients sélectionnés présentant une surdité prélinguale sans malformation de l'oreille interne avec une aréflexie vestibulaire bilatérale objectivée par des épreuves caloriques et sans atteinte ophtalmologique (ERG). Les 13 exons du gène ont été étudiés par séquençage. Les conditions d'amplification et le choix des amorces ont été mis au point afin d'éliminer toute contamination par le pseudogène ESPNP.
L'analyse de COCH a mis en évidence une mutation dans 2 familles/195 (3,9 %). Une nouvelle mutation p.Phe121Ser (c.418T>C) a été observée chez une patiente âgée de 49 ans atteinte de surdité bilatérale, profonde ayant été diagnostiquée à l'age de 18 ans associée à des sensations vertigineuses sans vertige rotatoire et des acouphènes n'ayant débuté qu'à l'âge de 40 ans. Les deux enfants de cette patiente, également porteurs de la mutation, présentent une surdité légère à 17 et 21 ans sans vertige Enfin, la mutation p.Gly88Glu a été observée chez une patiente âgée de 65 ans atteinte d'une surdité bilatérale, moyenne diagnostiquée à 55 ans, stable, associée seulement à des acouphènes bilatéraux, pour laquelle les épreuves vestibulaires caloriques sont normales.
Parmi les 11 patients chez qui ESPN a été séquencé, aucune mutation n'a été observée, laissant supposer que ce gène n'est pas fréquemment responsable de ce type de phénotype associant surdité et aréflexie vestibulaire. En conclusion, ce travail a permis de décrire une nouvelle mutation du gène COCH associée à une surdité débutant chez l'adulte jeune et évoluant vers une surdité profonde avec atteinte vestibulaire tardive. La prévalence des mutations de COCH est de 3,9 % des surdités dominantes NS de l'adulte. Du fait de la prévalence variable de l'atteinte vestibulaire associée, celle-ci ne peut servir à sélectionner les patients à analyser. Enfin, chez les patients atteints de surdité récessive NS congénitale avec aréflexie vestibulaire, l'atteinte de ESPN paraît rare.

Mots-clés : surdité, atteinte vestibulaire, cochline, espine.

■P289 / 53. RECHERCHE DE DÉLÉTIONS DU GÈNE ALPL PAR QMPSF CHEZ DES PATIENTS ATTEINTS D'HYPOPHOSPHATASIE

M. Spentchian (1), I. Brun-Heath (2), A. Taillandier (1), J.L. Serre (2), B. Simon-Bouy (1), F. Carvalho (3), H.P. Krohn (4), E. Mornet (1, 2)
(1) Laboratoire SESEP, Université de Versailles, Saint-Quentin-en-Yvelines, Versailles, France ; (2) Équipe Structure-Fonction et Génétique, EA 2493, CHU Paris, Ile-de-France Ouest, Université de Versailles-Saint-Quentin-en-Yvelines, France ; (3) Department of Genetics, University of Porto, Porto, Portugal ; (4) Reinhardt-Nieter-Krankenhaus, Wilhelmshaven, Germany

L'hypophosphatasie est une maladie héréditaire rare due au déficit ou à l'absence d'activité de la phosphatase alcaline non tissu-spécifique (TNSALP). Elle affecte la minéralisation osseuse et dentaire et présente une variabilité clinique très importante, de la forme létale détectable avant la naissance jusqu'à la forme odontologique qui se traduit par une chute prématurée des dents. Les formes sévères de la maladie sont transmises sur le mode récessif autosomique.
Le diagnostic moléculaire de la maladie consiste à séquencer l'ensemble de la séquence codante du gène, ainsi que les bordures intron-exon et les exons non traduits. Malgré ce séquençage exhaustif, on ne retrouve qu'une mutation hétérozygote chez environ 5 % des patients atteints d'hypophosphatasie sévère, ce qui suggère l'existence possible de délétions non détectables par séquençage. Afin d'améliorer le diagnostic moléculaire de l'hypophosphatasie nous avons développé la recherche de délétions par la méthode QMPSF (Quantitative Multiplex PCR of Short Fragments). La QMPSF est une méthode semi-quantitative basée sur une PCR multiplexe de courts fragments fluorescents. Elle permet la détection exhaustive de délétions à l'état hétérozygote et homozygote.
Deux délétions ont été ainsi détectées. La première est une délétion hétérozygote de l'exon 12 chez une patiente atteinte d'une forme infantile d'hypophosphatasie. La seconde est une délétion homozygote des exons 3, 4 et 5 du gène retrouvée chez un patient nouveau-né décédé d'une forme néonatale d'hypophosphatasie.
Combinée au séquençage exhaustif de la séquence codante, la recherche de délétions par QMPSF réduit la proportion de mutations non détectées, facilite le conseil génétique et rend possible le diagnostic prénatal moléculaire dans les familles porteuses de délétions. Cependant, la recherche systématique de délétions chez les autres patients porteurs d'une seule mutation à l'état hétérozygote s'est avérée négative, indiquant que d'autres mutations demeurent non détectées (mutations introniques ou mutations de la séquence régulatrice).

Mots-clés : hypophosphatasie, QMPSF, mutations.

■P290 / 63. UNE NOUVELLE DÉLÉTION DE *TITF-1* EST ASSOCIÉE À UN TABLEAU DE CHORÉE HÉRÉDITAIRE BÉNIGNE AVEC ATTEINTE MULTISYSTÉMIQUE (SYNDROME BRAIN THYROID LUNG)

A. De Becdelievre (1), I. Vuillaume (1), D. Devos (2), C.M Dhaenens (1), L. Vallée (3), M.P. Lemaitre (3), B. De Martinville (4), H. Bourteel (2), E. Hachulla (5), A. Destée (2), L. Defebvre (2), B. Sablonnière (1)
(1) Institut de Biochimie et de Biologie moléculaire, UF de Neurobiologie, Hôpital R. Salengro ; (2) Service de Neurologie et pathologie du mouvement, EA2683, IFR 114, Hôpital R. Salengro ; (3) Service de Neuropédiatrie, Hôpital R. Salengro ; (4) Laboratoire de génétique médicale, Hôpital J. de Flandre ; (5) Service de Médecine interne, Hôpital C. Huriez, Centre Hospitalier Régional et Universitaire, Université de Lille 2 France

La chorée héréditaire bénigne est une maladie autosomale dominante caractérisée par une chorée débutant dans l'enfance, se démarquant de la maladie de Huntington par sa faible évolutivité, et par l'absence de troubles cognitifs. Une liaison avec le chromosome 14 a été identifiée dans certaines familles, en relation avec des mutations du gène TITF-1 (Thyroid

Transcription Factor-1). Chez la plupart des patients présentant une mutation du gène TITF-1, des signes systémiques ont été décrits, essentiellement une hypothyroïdie et une atteinte respiratoire, ce qui a motivé le rattachement de ces cas à la nouvelle forme syndromique BTL (Brain Thyroid Lung syndrome) [1]. Nous présentons une famille avec un tableau de chorée héréditaire bénigne associée à une atteinte multisystémique atteignant les ganglions de la base, la thyroïde, les poumons, les glandes salivaires et l'intestin. L'analyse génétique a mis en évidence une délétion de 1,2 Mb sur le chromosome 14 emportant le gène TITF-1. Un probable mosaïcisme germinal apparaît responsable de l'absence de délétion détectable chez le grand-père au phénotype plus discret.

Mots-clés : *chorée, TITF-1*, délétion.

Référence

1. Willemsen MA, Breedveld GJ, Wouda S, Otten BJ, Yntema JL, Lammens M, de Vries BB. Brain-Thyroid-Lung syndrome : a patient with a severe multisystem disorder due to a de novo mutation in the thyroid transcription factor 1 gene. *Eur J Pediatr* 2005 ; 164 : 28-30.

■P291 / 67. L'INACTIVATION BI-ALLÉLIQUE DE *PTEN* EN MOSAÏQUE EST RESPONSABLE D'UNE FORME ATYPIQUE DE MALADIE DE COWDEN À DISTINGUER DU SYNDROME DE PROTÉE

Frédéric Caux (1), Henri Plauchu (2), Frédéric Chibon (3), Laurence Faivre (4), Olivier Fain (5), Pierre Vabres (6), Françoise Bonnet (3), Liliane Laroche (1), Marion Gérard (7), Michel Longy (3)

(1) Service de Dermatologie, Hôpital Avicenne & EA 3408, Université Paris 13, Bobigny ; (2) Service de Génétique Clinique, Hôpital Hôtel-Dieu, Lyon ; (3) Laboratoire de Génétique Moléculaire, Institut Bergonié & EA 3669, Université Victor Ségalen, Bordeaux 2, Bordeaux ; (4) Centre de Génétique, Hôpital d'Enfants, Dijon ; (5) Service de Médecine Interne, Hôpital Jean-Verdier, Bondy ; (6) Service de Dermatologie, Hôpital du Bocage, Dijon ; (7) Génétique Médicale, Centre Intercommunal de Créteil, Créteil

L'observation de deux patientes présentant un phénotype évocateur d'un syndrome de Protée est rapportée. Il s'agit dans un cas d'une patiente âgée de 29 ans présentant un tableau complexe de dysmorphie congénitale avec lipomatose et angiomatose segmentaire, hypertrophie d'un membre inférieur et malformation du pied, macro-crânie, cystadénome muqueux de l'ovaire opéré, nævus épidermique à distribution blaschkoïde. Dans l'autre cas, il s'agit d'une patiente âgée de 37 ans présentant une scoliose marquée, une lipomatose, et une angiomatose segmentaire, une hypertrophie d'un membre inférieur, une main déformée avec macrodactylie, et peau épaisse d'aspect capitonné, une macrocéphalie et un nævus en plaque. Ces deux patientes s'inscrivent chacune dans le cadre familial d'une maladie de Cowden comportant dans les 2 cas plusieurs membres atteints sur 3 générations. La maladie de Cowden a pu être rapportée à une mutation constitutionnelle du gène PTEN, nomenclaturée c.403A>G ; I135V pour la première famille et c.487delA ; fs166X pour la deuxième. Les patientes au phénotype atypique sont toutes les deux porteuses de la mutation familiale mais il a pu être mis en évidence pour la première un 2e événement sous forme d'une perte d'hétérozygotie au locus PTEN, touchant l'allèle sauvage et retrouvé sous forme de mosaïque au niveau de 3 lésions distinctes (lésion fibromateuse du gros orteil, nævus épidermique, angiolipome du mollet). Ces données donnent un nouvel éclairage à la controverse récente sur le rôle des mutations de PTEN dans le syndrome de Protée qui doit être considéré comme un diagnostic différentiel de ces formes très particulières de maladie de Cowden. D'autre part, ces observations constituent un nouvel argument en faveur de la validité de l'hypothèse de Happle qui explique les exacerbations segmentaires des pathologies autosomiques dominantes par la survenue d'un second « hit » en mosaïque selon le modèle de Knudson. Ce phénomène survenant pour le gène PTEN, et s'accompagnant de troubles du développement et non de transformation tumoral maligne, pose par ailleurs le problème des limites de la fonction tumeur suppressive de PTEN.

Mots-clés : *PTEN*, maladie de Cowden, syndrome de Protée.

■P292 / 69. LA FRÉQUENCE ÉLEVÉE DE L'ALLÈLE P46L DU GÈNE *TNFRSF1A* DANS LA POPULATION DE L'AFRIQUE SUB-SAHARIENNE MET EN DOUTE L'APPLICATION DE CET ALLÈLE DANS LE SYNDROME TRAPS

Dimitri Tchernitchko (1), Mihelaiti Chiminqgi (1), Frédéric Galactéros (2), Claude Préhu (1), Yvon Segbena (2), Hamidou Coulibaly (2), Nadia Rebaya (1) et Sylvain Loric (1)

(1) Service de Biochimie et Génétique Moléculaire ; (2) Unité de Génétique Médicale, Hôpital Henri-Mondor, Créteil, France

Le Syndrome TRAPS (TNF receptor-associated periodic syndrome) est une maladie autosomique récessive, qui se caractérise par des crises récurrentes fébriles accompagnées de douleurs abdominales, articulaires et/ou thoraciques. Plus de 40 mutations du gène TNFRSF1A, responsable de la maladie sont aujourd'hui connues. La variation P46L (c.224C>T) a été initialement décrite comme mutation avec faible pénétrance, puisque sa fréquence était similaire aussi bien chez les patients que chez des contrôles sains.

La fréquence allélique de P46L est de 0,6 % chez les caucasiens, de 1,5 % chez les Arabes et de 1,9 % chez les Afro-Américains. Bien que le spectre de mutation de TNFRSF1A ait été bien établi dans les populations caucasiennes et méditerranéennes, il reste pourtant inconnu dans les populations africaines noires. Nous avons étudié la fréquence de P46L dans la population africaine sub-saharienne (Congo, Togo, Côte d'Ivoire). Parmi 494 individus étudiés n'ayant aucune manifestation clinique compatible avec TRAPS, nous avons trouvé 87 hétérozygotes et 5 homozygotes P46L (la fréquence allélique observée est ici de 9,8 %). Ce résultat met donc en doute l'implication de P46L dans le syndrome TRAPS.

Pour expliquer la fréquence très élevée de cet allèle chez des Africains de l'Ouest, nous proposons l'hypothèse de l'existence possible d'un avantage biologique des porteurs P46L vivant dans cette région du monde. Puisque les liens entre TNF alpha, les récepteurs de ce ligand et l'apparition d'épisodes infectieux commencent à être mieux connus, nous proposons que la variation P46L pourrait conférer une protection contres certaines infections.

Mots-clés : P46L, *TNFRSF1A*, TRAPS.

■P293 / 81. UNE NOUVELLE MUTATION DANS LE GÈNE *AQUAPORINE-2* EST RESPONSABLE DU DIABÈTE INSIPIDE NÉPHROGÉNIQUE CONGÉNITAL DANS UNE FAMILLE CONSANGUINE D'ORIGINE LIBYENNE

Noura Bougacha-Elleuch (1), Mohamed Ben Lassoued (2), Hammadi Ayadi (1)

(1) Unité de Cibles de Diagnostic et de Thérapeutique en Pathologies Humaines, Centre de Biotechnologie de Sfax, Tunisie ; (2) Cabinet d'Endocrinologie, Sfax, Tunisie

Le diabète insipide néphrogénique congénital (DINC) est une maladie rare caractérisée par une diminution de la capacité de concentration urinaire résultant d'une résistance rénale à l'action de l'hormone antidiurétique (ADH). Le mode de transmission lié au chromosome X constitue la grande majorité (plus de 90 %) des cas de DINC. Les formes autosomiques récessives et dominantes sont les plus rares (10 %). Le gène responsable de la forme récessive est celui codant pour l'aquaporine-2 (AQP2) localisé sur le chromosome 12q13. Ce gène contient 4 exons et code une protéine de 271 acides aminés avec 6 domaines transmembranaires. Une trentaine de mutations a été déjà décrite dans ce gène.

Dans la présente étude, nous rapportons le cas d'une famille consanguine d'origine libyenne constituée de 5 membres dont 2 enfants (une fille de 13 ans et un garçon de 11 ans) sont atteints. Les deux parents, ainsi que leur fille âgée de 7 ans sont sains. Les deux enfants malades présentent depuis la naissance un syndrome polyuro-polydipsique. Les explorations cliniques, biologiques et hormonales sont en faveur d'un DINC. L'étude généalogique de cette famille a suggéré le mode de transmission autosomique récessif. L'analyse moléculaire du gène AQP2 (par séquençage automatique) a montré que les 2 enfants atteints sont homozygotes pour une mutation faux sens au niveau de l'exon1 du gène. Il s'agit d'une transition G61614A (V71M). Les 2 parents ainsi que leur fille normale sont hétérozygotes G/A pour la mutation, ce qui confirme pathogénicité et la récessivité de la mutation décrite.

Mots-clés : diabète insipide nephrogénique congénital, *aquaporine-2*, mutation récessive.

■P294 / 85. GÉNÉTIQUE DES VALVULOPATHIES MYXOÏDES LIÉES AU GÈNE CODANT POUR LA FILAMINE A

Philippe Jaafar (1), Florence Kyndt (1), Jean-Pierre Gueffet (2), Vincent Probst (2), Jean-Noel Trochu (2), Hervé Le Marec (2) et Jean-Jacques Schott (1)

(1) l'institut du thorax, Inserm U533, Nantes ; (2) l'institut du thorax, Service de Cardiologie, CHU de Nantes

Les dystrophies valvulaires par dégénérescence myxoïde sont des pathologies cardiaques fréquentes et potentiellement graves. Des formes familiales ont été décrites et suggèrent une grande hétérogénéité génétique pour les formes autosomiques dominantes. Nous avons identifié en 2004, à partir d'une grande famille (famille V.) le 1er gène responsable de dystrophie plurivalvulaire à dégénérescence myxoïde sur le chromosome X ; le gène

FLNA (filamine A) codant pour une protéine du cytosquelette. L'étude de trois autres petites familles atteintes a permis d'identifier trois autres mutations dans ce gène. Afin de préciser les relations phénotype-génotype au sein de la famille V. et de rechercher de nouvelles mutations dans le gène FLNA, deux approches cliniques et moléculaires ont été entreprises. Les patients de la famille V. porteurs de la mutation FLNA P637Q ont été revus en échocardiographie et le séquençage de la région du gène FLNA où sont localisées les 4 mutations décrites a été réalisé chez 79 propositus compatibles avec une transmission liée à l'X. Le séquençage des exons 5 à 19 du gène FLNA a mis en évidence un variant A/C en position 2 228 entraînant le remplacement d'une histidine en proline (H743P). Cette patiente a été opérée à l'âge de 20 ans d'une homogreffe aortique et d'une plastie mitrale pour une dystrophie valvulaire myxoïde. L'examen clinique des parents du propositus n'a pas retrouvé de dystrophie valvulaire ni la mutation FLNA H743P. Cette mutation de novo n'a pas été retrouvée chez 150 individus contrôles. Un premier suivi de l'expression phénotypique de la mutation FLNA P637Q sur une période de 5 à 10 ans confirme une expressivité hétérogène de la mutation au sein de la famille V. Bien que les hommes soient constamment atteints, on note une atteinte progressive avec une forte variabilité d'expression selon l'âge, la localisation valvulaire et la sévérité des lésions. Cette évolution semble tendre vers un épaississement progressif de l'épaisseur valvulaire sans aggravation des fuites valvulaires. Les femmes hétérozygotes présentent également divers degrés d'atteinte, allant d'un phénotype sain à des anomalies modérées probablement en rapport avec différentes formes d'inactivation du chromosome X. L'identification d'une mutation de novo chez une femme sévèrement atteinte semble confirmer l'importance de ces mécanismes d'inactivation du chromosome X.
La connaissance précise des bases moléculaires pourrait fournir des nouveaux moyens de traitement médical pour une pathologie relevant essentiellement de la chirurgie.

Mots-clés : dystrophies valvulaires, cytosquelette, pathologies dégénératives.

■P295 / 118. GRANDES DÉLÉTIONS DU GÈNE *PCDH15* CHEZ 3 PATIENTS ATTEINTS DU SYNDROME DE USHER DE TYPE I

S. Le Guédard (1), V. Faugere (1), N. Pallares-Ruiz (1), B. Gilbert (2), S. Marlin (3), S. Manouvrier (4), M. Claustres (1), A.-F. Roux (1)
(1) Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHU Montpellier ; (2) Service de Génétique Médicale, CHU Poitiers ; (3) Unité de Génétique Médicale, AP-Paris Armand Trousseau ; (4) Service de Génétique Clinique, CHU Lille

Le syndrome de Usher de type I (USHI), forme la plus sévère, est caractérisé par une surdité neurosensorielle congénitale profonde associée à des dysfonctionnements vestibulaires et à une rétinite pigmentaire. Sept loci, USH1A à G, ont été localisés pour USHI sur différentes régions chromosomiques 14q32, 11q13.5, 11p15, 10q21-q22, 21q21, 10q21-q22 et 17q24-25 ; seuls 5 gènes ont été identifiés : MYO7A, USH1C, CDH23, PCDH15 et SANS aux loci USH1B, USH1C, USH1D, USH1F et USH1G, respectivement.
À ce jour, seulement 11 mutations et quelques polymorphismes du gène PCDH15, ont été rapportés dans la littérature. La plupart des mutations décrites sont des mutations ponctuelles entraînant la prédiction d'un codon stop prématuré dans ce gène. Il a par ailleurs été décrit que les mutations non sens étaient associées à un phénotype USH1 tandis que les mutations faux sens étaient impliquées dans les cas de surdité non syndromique. Dans le cadre de la mise en place du diagnostic moléculaire et du séquençage systématique des gènes USH1, 5 familles ont été identifiées avec des mutations dans le gène PCDH15. Deux d'entre elles présentent des mutations pathogènes troncatives à l'état hétérozygote composite. Dans les 3 autres familles, de grandes délétions entraînant la perte d'un ou plusieurs exons et couvrant plusieurs centaines de kilobases ont été mises en évidence. Pour l'une de ces familles, consanguine, les 2 enfants atteints présentent une délétion de la région 5' du gène à l'état homozygote. Les 2 autres, présentent des délétions différentes en trans d'une mutation délétère. La délimitation précise des points de cassure de ces délétions est en cours de caractérisation.
L'existence de ces grandes délétions nouvellement identifiées suggèrent que le gène PCDH15 est sujet à des réarrangements et remet en question l'efficacité des méthodes de criblage de ce gène par séquençage seulement dans le cadre du diagnostic du syndrome de USHER de type 1. De plus, jusqu'à présent, les gènes MYO7A et CDH23 étaient considérés comme les plus fréquemment impliqués dans le syndrome de USHER de type 1. Néanmoins, un criblage adapté des mutations du gène PCDH15 pourrait amener à réévaluer son implication dans le syndrome de Usher.

Mots-clés : surdités, rétinite pigmentaire, *PCDH15*.

■P296 / 131. PARAPLÉGIE SPASTIQUE LIÉE À L'X AVEC RETARD MENTAL ET DUPLICATION DU GÈNE *PLP1*

F. Niel (1), P. Cintas (2), C. Taillandier (1), I. Crevaux (1), P. Calvas (3), O. Boespflug-Tanguy (4), E. Bieth (3)
(1) Service de Biochimie et de Biologie Moléculaire, CHU de Clermont-Ferrand, BP38, 63001 Clermont-Ferrand ; (2) Service de Neurologie, Hôpital de Rangueil, TSA 30030, 31059 Toulouse Cedex 9 ; (3) Service de Génétique Médicale, Hôpital Purpan, TSA 40031, 31059 Toulouse Cedex 9 ; (4) Génétique Médicale et UMR INSERM 384, CHU, 63058 Clermont-Ferrand

Nous rapportons l'observation d'un patient de 44 ans vu dans le cadre d'un conseil génétique pour sa sœur, du fait d'une pathologie neuromusculaire familiale transmise par l'X et affectant au moins 7 sujets masculins. La notion de troubles moteurs précoces, lentement progressifs avec hypotrophie des membres inférieurs et spasticité sévère a permis d'orienter vers une atteinte associée des voies corticospinales. Ce contexte clinique et familial a conduit à poser la question d'une atteinte du gène PLP1 (Xq22) qui code un constituant majeur de la myéline (protéolipoprotéine) et qui est surtout connu pour son implication dans la maladie de Pelizaeus-Merzbacher (PMD), une leucodystrophie démyélinisante de transmission récessive liée à l'X.
Grâce à une méthodologie utilisant une PCR multiplex fluorescente semi-quantitative (QFM-PCR), une quantification du gène PLP1 a été réalisée révélant la présence d'une duplication chez les sujets atteints. Ces duplications responsables d'une hyperexpression du gène PLP1, sont retrouvés chez 50 % des enfants présentant un tableau classique de PMD associant un trouble du développement neuromoteur dès les premiers mois de vie, un nystagmus, une ataxie et des mouvements choréoathétosiques dont l'intensité va diminuer parallèlement au développement d'une spasticité sévère. Dans les phénotypes plus modérés ce sont des mutations conduisant à une absence de PLP1 (délétions ou mutations tronquantes) qui sont généralement retrouvées tandis que certaines mutations faux-sens de PLP1 ont été associées à des tableaux de paraplégie spastique héréditaire liée à l'X (SPG2). Notre observation confirme ainsi l'existence d'un continuum clinique entre les formes modérées de PMD et les formes sévères de SPG d'une part et souligne l'intérêt de l'exploration par PCR quantitative du gène PLP1 dans les tableaux de paraplégie spastique avec retard mental modéré liés à l'X d'autre part.

Mots-clés : paraplégie spastique héréditaire, Pelizaeus-Merzbacher, *PLP1*.

■P297 / 143. MISE EN PLACE DU DIAGNOSTIC CYTOGÉNÉTIQUE ET MOLÉCULAIRE DU SYNDROME DE BLOOM

Anthony Laugé (1), Jérôme Couturier (1), Catherine Dubois-d'Enghien (1), Rosine Onclercq-Delic (2), Mounira Amor-Guéret (2), et Dominique Stoppa-Lyonnet (1)
(1) Service de Génétique, Institut Curie Hôpital, Paris ; (2) UMR 2027 CNRS, Institut Curie, Centre de Recherche, Centre Universitaire, Bâtiment 110, Orsay

Le syndrome de Bloom (BS) est une maladie génétique autosomique récessive rare dont les principales caractéristiques cliniques sont un retard staturo-pondéral, un déficit immunitaire, une photosensibilité, et une prédisposition au développement d'un large spectre de cancers. Néanmoins, l'ensemble des signes cliniques ne permet pas de réaliser un diagnostic définitif de la maladie, celui-ci ne pouvant être établi que sur un critère cytogénétique. En effet, les cellules de patients BS présentent une instabilité génétique généralisée se manifestant spécifiquement par une augmentation de 10 fois du taux d'échanges entre chromatides sœurs (SCEs) (Amor-Guéret, Orphanet Encyclopedia, 2004). Le syndrome de Bloom résulte de mutations du gène BLM, localisé en position 15q26.1. La protéine BLM appartient à la sous-famille des hélicases RecQ et possède une activité 3'-5' ADN-hélicase dépendante de l'ATP ; cependant, son rôle physiologique est encore mal connu. Plusieurs études sont en faveur d'un rôle de BLM dans le redémarrage de fourches de réplication bloquées, ainsi que dans la recombinaison homologue (Amor-Guéret, Cancer Letters, sous presse). Une vingtaine de mutations différentes de BLM ont été identifiées à ce jour ; ces mutations sont de tous types (faux sens, stop, insertion ou délétion, épissage). Une seule grande délétion a été rapportée (German and Ellis, 1998). Une mutation correspondant à une insertion de 6 pb associée à une délétion de 7 pb est retrouvée chez les patients d'origine Ashkénaze, du fait d'un effet fondateur : cette mutation blmAsh est retrouvée à l'état hétérozygote dans environ 1 % de cette population.
La fréquence des patients BS en France n'est pas connue, et cela résulte probablement de la difficulté d'une part à identifier les patients potentiels, et d'autre part à les orienter vers un centre de diagnostic. Pour pallier ces difficultés, nous avons rédigé un questionnaire destiné aux médecins demandeurs d'un diagnostic ou d'un génotypage, et destiné à orienter le diagnostic sur la base de l'examen clinique. Parallèlement, nous avons mis

en place dans le Service de Génétique Oncologique de l'Institut Curie, le diagnostic cytogénétique (analyse des SCEs) ainsi que la recherche de mutations du gène BLM par séquençage direct en cas de détection d'un taux élevé de SCEs ou devant un tableau clinique particulièrement évocateur. Le gène BLM comprend 21 exons codants : leur analyse est effectuée à partir d'ADN génomique dans des conditions identiques de PCR grâce à un programme touchdown. Après purification (Multiscreen PCR, Millipore), et réaction de séquence sur un seul brin (ABI PRISM BigDye Terminator v1.1, Applied Biosystems), les échantillons sont analysés sur un séquenceur capillaire 3130 XL (Applied Biosystems). Les 21 séquences obtenues sont analysées automatiquement et en un temps à l'aide du logiciel SeqScape (Applied Biosystems). Cette approche a été validée par l'analyse en aveugle de 5 ADN extraits de 2 lignées cellulaires témoins et de 3 lignées dérivées de patients BS. Pour l'une des lignées BS, seule la mutation de l'allèle BLM maternel avait été identifiée par une analyse SSCP de l'ADN complémentaire (Foucault *et al. Hum Mol Genet* 6 : 1427-34). Nous avons pu identifier la mutation paternelle : il s'agit d'un codon stop en position 941 (Gln941Stop). L'absence de détection initiale de cette mutation était probablement liée à la dégradation du messager correspondant par la voie du NMD (Nonsense Mediated mRNA Decay). La mise en place de ces études cytogénétiques et moléculaires devrait être précieuse pour le diagnostic et le conseil génétique du syndrome de Bloom. Enfin, l'identification de nouvelles mutations nous permettra d'aborder les relations structure-fonction de la protéine BLM, ce qui contribuera à la caractèrisation de sa fonction.

Mots-clés : Bloom, séquençage, échanges entre chromatides sœurs (SCE).

■P298 / 144. INTERACTIONS ENTRE LES TROIS GÈNES IMPLIQUÉS DANS LE SYNDROME DE WAARDENBURG-HIRSCHSPRUNG AU COURS DU DÉVELOPPEMENT DU SYSTÈME NERVEUX ENTÉRIQUE ET DES MÉLANOCYTES

L. Stanchina (1), V. Baral (1), F. Robert (2), V. Pingault (2), N. Lemort (1), M. Goossens (1), N. Bondurand (1)
(1) Bases moléculaires et cellulaires des maladies génétiques, INSERM U654, Hôpital Henri-Mondor, Créteil ; (2) Équipe Avenir, INSERM U654, Hôpital Henri-Mondor, Créteil

Les neurocristopathies sont des maladies caractérisées par des anomalies du développement d'un ou plusieurs tissus dérivés d'une structure embryologique transitoire essentielle, la crête neurale. Deux d'entre elles, la maladie de Hirschsprung (mégacôlon congénital), et le syndrome de Waardenburg (anomalies de pigmentation et surdité, dues à une anomalie de développement des mélanocytes) sont très étudiées, et plusieurs gènes responsables ont été identifiés. Des mutations du gène SOX10, codant un facteur de transcription à domaine HMG (High-mobility group), de l'endothéline-3 (EDN3), et de son récepteur à sept domaines transmembranaires (EDNRB) ont notamment été identifiées chez des patients présentant une maladie de Hirschsprung-Waardenburg (aussi appelé syndrome de Shah-Waardenburg, ou WS4), qui associe les signes cliniques de la maladie de Hirschsprung et du syndrome de Waardenburg. L'implication de ces trois gènes dans le même syndrome, leur profil d'expression similaire, et leur fonction respective au cours du développement de la crête neurale, et de certains de ses dérivés en particulier, nous ont conduit à tester l'existence d'une interrelation entre ces trois molécules. À travers l'analyse phénotypique des doubles mutants Sox10(Dom); Edn3(ls) d'une part, et Sox10(Dom);Ednrb(s) d'autre part, nous avons démontré qu'une interaction entre ces trois molécules est nécessaire au développement normal du système nerveux entérique et des mélanocytes dérivés de la crête neurale. En effet, par rapport aux simples mutants, les doubles mutants montrent une très forte augmentation de la dépigmentation, une absence des mélanocytes dans l'oreille interne, et surtout dans la strie vasculaire, et une forte aggravation du phénotype entérique. Afin de déterminer l'origine du défaut entérique, nous avons suivi le devenir des cellules composant le système nerveux entérique sur intestins complets, en coupe ou en culture au cours du développement. Nous avons ainsi montré que l'aggravation du phénotype entérique, visible dès E11.5, est due à une absence des progéniteurs entériques le long de l'intestin. Néanmoins, ce défaut n'est pas dû à une réduction par apoptose du pool de cellules précurseurs capables de coloniser l'intestin, ou a une différenciation neuronale ou gliale prématurée empêchant la migration. Ces résultats, qui montrent l'existence d'une interrelation entre ces trois gènes impliqués dans le Waardenburg-Hirschsprung, permettront à l'avenir de mieux comprendre les mécanismes cellulaires et moléculaires de cette pathologie, et l'origine des anomalies entériques, de pigmentation, et de surdité observées chez les patients portant une mutation dans l'un de ces trois gènes

Mots-clés : *SOX10*, Hirschsprung, endothéline.

■P299 / 149. LA MUTATION 35DELG DU GÈNE DE LA *CONNEXINE 26*, UNE CAUSE FRÉQUENTE DE SURDITÉS NON SYNDROMIQUES AUTOSOMIQUES RÉCESSIVES AU MAROC

I. Ratbi (1), N. Aboussair (1), S. Hajji (1), K. Ouldim (1), A. Sefiani (1)
(1) Département de génétique médicale, Institut National d'Hygiène, Rabat, Maroc

La surdité est le déficit sensoriel le plus fréquent chez l'homme. 1/1 000 à 1/2 000 enfants naissent avec des problèmes d'audition, dont la moitié serait d'origine génétique. Près des 2/3 des surdités génétiques sont non syndromiques, et se caractérisent par une hétérogénéité dans leur mode de transmission. À ce jour, plus de 55 gènes ont été identifiés, dont presque la moitié sont responsables de surdités autosomiques récessives. Le gène de la connexine 26 a été rapporté comme fréquemment impliqué dans ces formes de surdité, avec une prévalence élevée de la mutation 35delG, de 30 % à 60 %, dans les populations euro-méditerranéennes.

Nous avons recherché la mutation 35delG du gène de la connexine 26, chez 25 familles marocaines, vues en consultation de génétique médicale, chez lesquelles la surdité se transmet selon un mode autosomique récessif. La mutation 35delG a été retrouvée chez 12 d'entre elles. Nous confirmons ainsi, comme ce qui est décrit chez d'autres populations méditerranéennes, l'implication de la mutation 35delG du gène de la connexine 26 dans les étiologies des surdités génétiques autosomiques récessives au Maroc. En terme de santé publique, la recherche de cette mutation permettra d'améliorer le conseil génétique, le dépistage des personnes à risque, et la prise en charge des patients, pour un diagnostic précoce.

Mots-clés : mutation 35delG, *connexine 26*, surdité non syndromique autosomique récessive.

■P300 / 170. HÉTÉROGÉNÉITE GÉNÉTIQUE ET HOMOGÉNÉITE CLINIQUE DU SYNDROME DE WEILL-MARCHESANI

N. Dagoneau (1), C. Le Goff (1), C. Baumann (2), W. Kutz (4), D. Judge (4), E. Traboulsi (4), C. Huber (1), Y. Watanabe (1), L. Zylberberg (3), L. Legeai-Mallet (1), A. Munnich (1), S.S. Apte (4), V. Cormier-Daire (1)*
(1) Département de Génétique Médicale, INSERM U393, Hôpital Necker, Paris ; (2) Unité de Génétique Clinique, Hôpital Robert Debré, Paris ; (3) CNRS UMR 8570, Université Denis Diderot, Paris ; (4) Department of Biomedical Engineering and Orthopaedic Research Center, Lerner Research Institute, Cleveland Clinic Foundation, Cleveland, USA

Le syndrome de Weill-Marchesani (WMS-MIM277600) est caractérisé par une petite taille, une brachydactylie, avec enraidissement progressif des articulations et une ectopie du cristallin avec microsphérophakie. Deux modes d'hérédité, autosomique récessif et autosomique dominant, ont été rapportés. Dans une famille présentant une forme dominante sur 3 générations, nous avons identifié une mutation dans le gène de la fibrilline-1 (FBN1) (délétion de 24 nucléotides dans l'exon 41). Par ailleurs, utilisant une stratégie de cartographie par homozygotie dans deux grandes familles consanguines, nous avons localisé le gène responsable de la forme récessive en 19p13.3-p13.2 puis nous avons identifié des mutations présentes à l'état homozygote dans le gène ADAMTS10. Nous rapportons ici l'analyse moléculaire de 4 nouveaux cas de WMS, une forme dominante et 3 cas sporadiques. Dans la forme dominante (transmission mère-fils), nous avons identifié une mutation faux sens dans l'exon 6 de la fibrilline-1 responsable du changement d'une glycine en sérine (G214S) dans un domaine EGF-like. Par ailleurs, dans les 3 cas sporadiques, nous avons identifié 6 nouvelles mutations dans ADAMTS10 présentes à l'état hétérozygote composite (A25T, R233G, Q318X, R488S, R907H, R996S). Ces mutations sont localisées dans différents domaines de ADAMTS10 (peptide signal, disintegrine-like, catalytique et thrombospondine type 1). Aucune différence clinique n'est observée au sein de cet échantillon confirmant l'homogénéité clinique du WMS.

L'analyse en microscopie électronique des fibroblastes de patients avec une mutation dans FBN-1 ou dans ADAMTS10 montre les mêmes anomalies caractérisées par une désorganisation de la matrice extracellulaire et du cytosquelette. Le rôle d'ADAMTS10 est inconnu à ce jour mais cette étude suggère une interaction directe entre ADAMTS10 et FBN1. Les études fonctionnelles en cours devraient nous permettre de comprendre le lien entre ADAMTS10 et FBN1.

Mots-clés : hétérogénéité génétique, homogénéité clinique, *ADAMTS10*.

■P301 / 172. GRANDE DÉLÉTION ASSOCIÉE À L'INTÉGRATION DE LA TOTALITÉ DU RÉTROTRANSPOSON LINE1 DANS LE GÈNE *PDHX*, CHEZ UN PATIENT ATTEINT DE DÉFICIT EN PYRUVATE DÉSHYDROGÉNASE

Manuèle Miné (1), Michèle Brivet (2), Isabelle Desguerre (3), Pascale De Lonlay (3), Cécile Marsac (1)

(1) Laboratoire CERTO, Faculté Necker, 75015 Paris ; (2) Laboratoire de Biochimie 1, Hôpital de Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre 94275 ; (3) Service de neuro-métabolisme, Hôpital Necker, 75015 Paris

Nous rapportons un premier cas d'association d'une insertion LINE1 dans son intégralité et d'une grande délétion, au niveau du gène PDHX (chromosome 11) qui code pour la sous unité E3 Binding Protein (E3BP) du complexe pyruvate déshydrogénase (PDH). Ce patient est né de parents non consanguins. À 3 ans, il présente un retard psychomoteur et une microcéphalie. À 7 ans, une hyperlactacidémie avec rapport lactate/pyruvate normal fait suspecter un déficit en PDH. L'activité enzymatique du complexe PDH est diminuée (25 % du contrôle sur fibroblastes et 16 % sur lymphocytes). La séquence du gène PDHA1 (chromosome X) codant pour la sous-unité E1alpha du complexe est normale. L'IRM montre une nécrose des noyaux gris centraux. Il a hérité de plus, de ses 2 parents d'une hémochromatose et de sa mère d'une spondylarthrite ankylosante (liées au chromosome 6). À 17 ans, il présente des trépidations épileptoïdes. Une nouvelle investigation du déficit en PDH est entreprise. Le western blot montre une absence de la sous unité E3BP alors que les autres sous unités du complexe sont présentes. Le gène PDHX est séquencé et permet d'identifier une mutation apparemment homozygote 742C>T (Q248X) dans l'exon 6, héritée de son père. L'absence de mutation retrouvée dans le gène PDHX de la mère fait suspecter une délétion hétérozygote chez la mère et l'enfant. À partir des fibroblastes de l'enfant, l'analyse par RT-PCR de la totalité de l'ADNc (1517bp) met en évidence 2 produits : un de taille attendue (bande de faible intensité) et l'autre de taille diminuée (689bp) et d'intensité plus forte. La séquence de cet ADNc comporte les exons 1-2 normaux puis l'insertion en sens de 17 pb appartenant au milieu de l'intron 2, suivie de l'intégration de 115 pb issues d'une séquence LINE1 extragénique, puis les exons 10-11 normaux. Une longue PCR (exons 2 à 10) réalisée sur l'ADN génomique de l'enfant et de la mère permet d'amplifier un produit d'environ 15 kb, alors que la séquence normale (60 kb) n'est pas amplifiable. Le séquençage de ce produit montre une grande délétion au niveau du gène PDHX (points de cassure dans l'intron 2 et dans l'intron 9), associée à l'insertion sens du rétrotransposon LINE-1 dans son intégralité. Il s'agit d'un nouveau type de délétion/insertion jusque là non encore décrit en pathologie humaine.

Mots-clés : pyruvate déshydrogénase, délétion, Line-1 rétrotransposon.

■P302 / 174. DIAGNOSTIC MOLÉCULAIRE DU SYNDROME MYOCLONUS-DYSTONIE (DYT11) : CRIBLAGE DU GÈNE DE L'EPSILON-SARCOGLYCANE DANS 41 FAMILLES

L. Guyant-Maréchal (1, 2, 3), D. Hannequin (1, 2, 3), D. Maltête (2), M. Vidailhet (4), A. Roubertie (5), A. Toutain (6), S. Férenbach (1), T. Frébourg (1, 3), P. Saugier-Veber (1, 3)
(1) Service de Génétique, CHU de Rouen ; (2) Département de Neurologie, CHU de Rouen ; (3) Inserm U614, Faculté de Médecine de Rouen ; (4) Réseau de Recherche Français sur les Dystonies, Service de Neurologie, Hôpital Saint-Antoine, Paris ; (5) Service de Neuropédiatrie, Hôpital Guide-Chauliac, CHU de Montpellier ; (6) Service de Génétique Clinique, CHU de Tours

Le syndrome de Myoclonus-Dystonie héréditaire (DYT11, MIM#159900) est un syndrome rare associant des myoclonies et une dystonie. Les myoclonies concernent principalement les muscles proximaux. Une dystonie modérée est fréquente mais elle constitue rarement le seul symptôme de la maladie. Les symptômes peuvent être améliorés par l'ingestion d'alcool. Les patients peuvent également souffrir de troubles psychiatriques, associant attaques de panique, anxiété, dépression et troubles obsessivo-compulsifs. L'âge de début se situe dans la première ou seconde décade. L'évolution est souvent bénigne et compatible avec une vie normale. DYT11 est transmis selon un mode autosomique dominant à pénétrance réduite et résulte de mutations du gène de l'epsilon-sarcoglycane (SGCE), gène localisé en 7q21 et soumis à empreinte maternelle. Un deuxième locus a été localisé en 18p11 dans une unique famille d'origine canadienne en 2002. Les prélèvements sanguins de 53 patients provenant de 41 familles différentes ont été adressés au laboratoire depuis 2003. Le criblage du gène SGCE, réalisé par séquençage direct des 11 exons, a permis d'identifier 14 mutations dont 7 nouvelles. La majorité de ces mutations étaient des mutations tronquantes et étaient localisées dans les premiers exons du gène SGCE. Parmi les cas avec mutations identifiées, 11 étaient familiaux et 3 étaient sporadiques. Cependant, il s'agissait de données issues de l'interrogatoire qui doivent être interprétées en tenant compte du phénomène d'empreinte maternelle et de la possibilité de formes paucisymptomatiques. La présentation clinique des 21 patients porteurs d'une mutation SGCE a été reprise. L'âge de début était toujours inférieur à 20 ans. Les myoclonies, constamment retrouvées, étaient sévères dans 2 cas et concernaient les 4 membres, le tronc et le cou. Dans 5 cas (10 %), elles étaient sensibles à l'alcool. La dystonie, rapportée dans 10 cas (50 %), était toujours modérée (torticolis ou dystonie d'un membre).

Parmi les signes associés, un individu avait une dépendance à l'alcool, deux individus avaient des troubles obsessivo-compulsifs et un individu avait un tremblement d'attitude. Le criblage du gène SGCE dans notre cohorte de 41 familles avec phénotype de myoclonie-dystonie a permis d'identifier une mutation dans 34 % des cas. Les investigations moléculaires dans les familles sans mutation et répondant aux critères diagnostiques seront complétées par la recherche de délétion du gène SGCE et, dans les formes familiales, par la recherche d'une liaison génétique au locus en 18p11. L'étude de cette cohorte permet de préciser les critères cliniques de myoclonie-dystonie de Gasser *et al.* (1998) avec prédominance des myoclonies par rapport à la dystonie, dystonie toujours modérée, absence de signes associés en dehors du tremblement d'attitude et des signes psychiatriques.

Mots-clés : myoclonus-dystonie, SGCE, mutation.

■P303 / 175. LA MALADIE OSSEUSE DE PAGET EN FRANCE : NOUVELLES MUTATIONS DU GÈNE SQSTM1, ANALYSE FONCTIONNELLE ET CORRELATION GÉNOTYPE – PHÉNOTYPE

Corinne Collet (1), Laëtitia Michou (2), Régis Levasseur (3), Maurice Audran (3), Martine Lenne (1), Jean-Marie Launay (1), François Cornélis (2), Philippe Orcel (2), Jean-Louis Laplanche (1)
(1) Service de Biochimie et Biologie Moléculaire, Hôpital Lariboisière, Paris, France ; (2) Fédération de rhumatologie, Hôpital Lariboisière, Paris, France ; (3) Service de rhumatologie, INSERM, EMI 0335, CHU d'Angers, France. Pour le réseau national de la maladie osseuse de Paget, Hôpital Lariboisière, 2, rue Ambroise-Paré, 75475 Paris Cedex 10, France

La maladie osseuse de Paget, seconde pathologie affectant l'os après l'ostéoporose, touche près de 3 % de la population caucasienne après 55 ans. C'est une maladie chronique caractérisée par un remodelage osseux excessif, localisé de façon anarchique, dû à une activation immodérée des ostéoclastes. La cause de cette désorganisation osseuse aboutissant à une fragilisation de l'os n'est pas clairement définie, mais cette maladie se transmet souvent selon un mode autosomique dominant avec pénétrance incomplète. Des liaisons génétiques avec 8 loci ont été décrites ; dans le locus PDB3, des mutations causales ont été observées dans le gène sequestosome 1, SQSTM1 (5q35).

Actuellement, dix mutations hétérozygotes ont été décrites du côté 3' de SQSTM1 (exon 7 et 8) ; elles sont toutes localisées dans ou à proximité du domaine associé à l'ubiquitine (UBA). Toutes ces mutations aboutissent à une perte ou à une modification structurale du domaine UBA. D'après les études publiées en Europe et au Canada, P392L est la mutation la plus fréquemment retrouvée, présente dans 20 à 50 % des formes familiales et 10-20 % des formes sporadiques. L'analyse de l'exon 7 et 8 de SQSTM1 chez 94 patients atteints non apparentés français, confirme la fréquence plus élevée de la mutation P392L (13 %), et a permis également d'identifier des mutations plus rares mais déjà connues (A390X, M404V). De nouvelles mutations ont été caractérisées (A381V, L413F) ainsi que des associations de deux mutations chez un même patient. La présence d'une mutation dans le gène SQSTM1 aggrave le tableau clinique de la maladie et la précocité de l'apparition des premiers symptômes. L'association des mutations A390X et P392L amplifie nettement ce phénomène.

L'étude de l'expression des protéines SQSTM1 mutées est actuellement en cours. Il semblerait qu'il y ait un lien entre l'expression de la protéine SQSTM1/p62 et l'hyperactivation de la voie NF-kappaB observée dans les lésions pagétiques. L'activation excessive de la voie NF-kappa B pourrait s'expliquer par un gain de fonction de la protéine mutée dont le mécanisme reste à élucider.

Mots-clés : maladie de Paget, sequestosome 1/P62, mutation.

■P304 / 180. *CALPAÏNE 10* ET DÉVELOPPEMENT DU DIABÈTE DANS LA MUCOVISCIDOSE

S. Derbel (1), C. Doumaguet (2), D. Hubert (3), H. Mosnier-Pudar (2), S. Grabar (4), J. Chelly (1), T. Bienvenu (1)
(1) Laboratoire de Biochimie et Génétique Moléculaire et Université René-Descartes Paris 5, Institut Cochin, INSERM U567, GDPM, Paris ; (2) Service d'Endocrinologie ; (3) Service de Pneumologie ; (4) Laboratoire de Biostatistiques et d'Informatique Médicale, Hôpital Cochin, Paris, France

Le diabète de la mucoviscidose (appelé par les anglo-saxons Cystic Fibrosis-Related Diabetes Mellitus, CFRD) est une complication grave et fréquente de la mucoviscidose. La destruction progressive des cellules béta des ilôts de Langerhans consécutive à la fibrose kystique du

pancréas est à l'origine de cette complication. De nombreux travaux ont toutefois suggéré que l'apparition du diabète au cours de la maladie est le résultat d'effets cumulatifs de mécanismes différents. Des facteurs génétiques de prédisposition à la survenue d'une intolérance au glucose ou d'un diabète pourraient ainsi contribuer au développement du diabète. Notre travail avait pour objectif de mettre en évidence une association entre un ou des marqueurs génétiques localisés dans six gènes candidats et le diabète dans la mucoviscidose. 163 patients mucoviscidosiques adultes insuffisants pancréatiques ont été inclus et subdivisés en 3 groupes selon le résultat des épreuves d'hyperglycémie provoquée par voie orale : 54 NGT (tolérance normale au glucose), 33 IGT (intolérance au glucose) et 76 CFRD. Aucune différence significative dans la distribution des marqueurs polymorphes localisés dans les gènes TNF-alpha, Kir6.2, IL-18, IL-6, PPAR-gamma n'a été observée. Toutefois, la fréquence des homozygotes 11 « 2 répétitions de 32pb » pour le SNP-19 du gène CAPN10 était significativement plus élevée chez les sujets CF normoglycémiques que chez les sujets CF IGT et CFRD ($p = 0,05$). Le risque de diabète chez les sujets CF présentant le génotype 22 est 3,4 fois plus élevé que chez les sujets CF présentant le génotype 11 ($p = 0,02$). La récente implication de CAPN10 dans la voie de signalisation impliquée dans la sécrétion de l'insuline renforce les résultats de notre travail suggérant que le gène CAPN10 est un gène de prédisposition au diabète dans la mucoviscidose.

Mots-clés : mucoviscidose, diabète, *calpaïne 10*.

■P305 / 183. SYNDROMES EEC (ECTRODACTYLY, ECTODERMAL DYSPLASIA AND CLEFT LIP WITH OR WITHOUT CLEFT PALATE) ET EEC-LIKE : DU DIAGNOSTIC MOLÉCULAIRE À LA PHYSIOPATHOLOGIE

G. Bougeard (1, 2), S. Vasseur (1), S. Hadj-Rabia (3, 4), V. Cormier-Daire (3), J. Amiel (3), L. Olivier-Faivre (5), F. Morice (6), D. Lacombe (7), S. Julia (8), P. Calvas (8), A. Hovnanian (8), T. Frebourg (1, 2)
(1) Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHU de Rouen ; (2) Inserm U614, Faculté de Médecine de Rouen ; (3) Département de Génétique, Necker ; (4) Service de Dermatologie, Necker ; (5) Centre de Génétique, CHU de Dijon ; (6) Unité de Dermatologie Pédiatrique, CHU de Bordeaux ; (7) Service de Génétique Médicale, CHU de Bordeaux ; (8) Service de Génétique Médicale, CHU de Toulouse

Les résultats phénotypiques de l'invalidation chez la souris de TP63, homologue du gène suppresseur de tumeur TP53, ont conduit à identifier en 1999 des mutations constitutionnelles hétérozygotes de TP63 (3q27) dans le syndrome EEC (Ectrodactyly, Ectodermal dysplasia and Cleft lip with or without cleft palate syndrome, MIM 604292), un syndrome autosomique dominant à expressivité variable et pénétrance réduite. Le gène TP63 code pour de nombreuses isoformes, alpha, beta, gamma, avec domaine de transactivation de la transcription (TA) ou sans ce domaine (DeltaN). Nous avons contribué à montrer que les mutations constitutionnelles de TP63, contrairement à celles de TP53, sont impliquées dans un large spectre de malformations touchant les dérivés ectodermiques, et définissant des syndromes EEC-like. Ainsi, des altérations de TP63 ont été détectées dans les syndromes ADULT (Acro-Dermato-Ungual-Lacrimal-Tooth, MIM 103285), AEC (Ankyloblepharon-Ectodermal defects-Cleft lip/palate, ou syndrome de Hay-Wells, MIM106260), RHS (Rapp-Hodgkin Syndrome, MIM 129400), LADD (Lacrimo-Auriculo-Dento-Digital, MIM 149730) et LMS (Limb-Mammary Syndrome, MIM 603543), ainsi que dans l'ectrodactylie non syndromique (SHFM4, Split-Hand/Foot Malformation, MIM 605289). Nous avons analysé par séquençage les 16 exons de TP63 dans 24 familles suspectes de syndrome EEC/EEC like. Nous avons détecté 8 mutations différentes de TP63 chez 9 d'entre elles. Nous avons identifié 2 mutations dans l'exon 3' (p.N6H et p.M1?), une mutation dans l'exon 5 (p.R204Q), une mutation dans l'exon 7 (p.R279H), 3 mutations dans l'exon 13 (p.F513V et p.I537T) et 2 mutations dans l'exon 14 (p.L545P et c.1706delA). La détection dans cette série de 2 mutations localisées dans l'exon 3', spécifique des formes DeltaN, et de mutations dans l'exon 13, spécifique des formes p63alpha confirme définitivement que le syndrome EEC/EEC like résulte de l'atteinte de l'isoforme DeltaNp63alpha. Cette isoforme DeltaNp63alpha est capable in vitro d'inactiver la fonction transcriptionnelle de p53 et nous avons montré par un test fonctionnel que plusieurs mutations de TP63 abolissent cet effet transdominant négatif. Ainsi, ces données suggèrent que le syndrome EEC/EEC like résulte, au moins en partie, d'une dérégulation, au cours de l'embryogenèse, de l'activité de p53, protéine clef du cycle et de l'apoptose. Ce syndrome est un exemple de relation entre anomalies du développement et oncogenèse.

Mots-clés : EEC, *TP63*, dysplasie ectodermique.

■P306 / 190. VALEUR PATHOLOGIQUE DES MUTATIONS DE L'EXON 5 DU GÈNE *SMN1* ET CORRÉLATION GÉNOTYPE-PHÉNOTYPE

V. Roth (1), O. Clermont (2), G. Lesca (3), C. Vial (4), C. Saint-Ruf (5), F. Giuliano (6), P. Jonveaux (1), V. Cusin (1)
(1) Laboratoire de génétique médicale, Hôpital de Brabois, CHU de Nancy ; (2) INSERM U722, Faculté de Médecine X, Bichat, Paris ; (3) Service de génétique moléculaire et médicale, Hôpital Édouard-Herriot, CHRU de LYON ; (4) Service EMG et pathologies neuromusculaires, Hôpital Neurologique et Neurochirurgical Pierre Wertheimer, Bron ; (5) INSERM U571, Faculté de Médecine, Necker-Enfants Malades, Paris ; (6) Service de génétique médicale, Hôpital l'Archet, CHU de Nice

L'amyotrophie spinale infantile est la maladie à transmission autosomique récessive la plus fréquente après la mucoviscidose. Le gène responsable est lié au locus 5q11 dans plus de 90 % des cas et une délétion homozygote du gène SMN1 est retrouvée dans 98 % de ceux-ci. Les patients hétérozygotes composites associant une mutation ponctuelle et une délétion ne sont pas détectés par le test diagnostique classique. L'étude des mutations est fastidieuse de par la présence du gène SMN2, très homologue, en position centromérique, si bien que seul un petit nombre de familles, environ 80, sont rapportées dans la littérature. Nous avons récemment publié une nouvelle méthode qui permet un screening rapide et spécifique des mutations du gène SMN1 (Clermont, 2004). Jusqu'à maintenant les mutations du gène SMN1 avaient été mises en évidence dans tous les exons excepté l'exon 5 et environ 70 % des familles présentent une mutation au niveau des exons 3 ou 6 ou de leurs séquences flanquantes, avec des mutations typiques de certaines populations. Nous présentons ici pour la première fois une mutation ponctuelle de l'exon 5, c683dupACTT, entraînant un décalage du cadre de lecture avec apparition d'un codon STOP au niveau de l'exon 6. Le cas index, âgé de 59 ans, présente une amyotrophie spinale infantile de type III évoluant depuis l'âge de 10 ans. Nous présentons les résultats de l'étude familiale. Une isoforme de l'ARNm du gène SMN1 délété de l'exon 5 (Delta5) a été mise en évidence dans le muscle (Gennarelli, 1995). Néanmoins il n'y a pas de preuve dans la littérature de la présence de ces isoformes de SMN1 au niveau protéique en quantité significativement importante (Young, 2000). L'activité d'auto-oligomérisation in vitro de l'isoforme Delta5 est comparable à l'activité de l'isoforme délétée de l'exon 7 (Delta7), produit du gène SMN2 (Lorson, 1998). De plus, l'isoforme Delta5 ne rentre pas dans la composition des gems (gemini of coiled bodies), sites de stockage des protéines snRNP. En conclusion, les mutations de l'exon 5 ont une valeur pathologique et la recherche de mutations doit donc inclure le screening de cet exon. Les mutations de l'exon 5 sont probablement sous estimées de par la description de l'isoforme Delta5. La meilleure accessibilité du gène grâce à la nouvelle technique de screening devrait permettre une étude plus complète.

Mots-clés : amyotrophie spinale infantile, *SMN1*, mutation.

■P307 / 192. MUTATIONS GERMINALES DE HESX1 ASSOCIÉES À UN RISQUE DE DÉCÈS NÉONATAL CHEZ DES PATIENTS PRÉSENTANT UNE FORME SYNDROMIQUE D'APLASIE DE L'ANTÉHYPOPHYSE EN L'ABSENCE D'ANOMALIE DES NERFS OPTIQUES

Sobrier M.-L (1), Maghnie M. (2), Vié-Luton M.-P. (1), Secco A. (2), di Iorgi N. (2), Amselem S. (1)
(1) INSERM U654, 94000 Créteil, France ; (2) Department of Pediatrics, IRCCS Policlinico San Matteo, Pavia, Italie

Hesx1 est un des facteurs de transcription à homéodomaine les plus précocement exprimés lors du développement pituitaire. À ce jour, quelques très rares mutations de ce facteur ont été identifiées chez des patients présentant un déficit hormonal antéhypophysaire. Bien que le phénotype de ces patients soit extrêmement variable, il comprend en règle générale une posthypophyse ectopique et des anomalies de développement des voies optiques pouvant rentrer dans le cadre d'une dysplasie septo-optique. Nous avons étudié, chez deux familles italiennes indépendantes, deux patientes qui ont présenté à la naissance des accidents hypoglycémiques et une détresse respiratoire. Dans les antécédents familiaux, on note la survenue, dans les deux familles, de fausses couches spontanées et de décès en période néonatale (un garçon mort-né et une fille décédée à J26 présentaient une aplasie de l'antéhypophyse). Le phénotype endocrinien des deux patientes suggère un panhypopituitarisme. L'analyse des IRM cérébrales montre, dans une selle turcique plate, une aplasie de l'antéhypophyse et une posthypophyse en place.
Des anomalies extra pituitaires sont présentes chez les deux patientes, qui par ailleurs, n'ont pas d'anomalie des voies optiques. L'analyse du gène HESX1 identifie deux nouvelles mutations. Même si aucune notion de consanguinité n'est connue dans les deux familles ces mutations sont

présentes à l'état homozygote. Il s'agit d'une part d'un défaut d'épissage (confirmé par l'analyse des transcrits HESX1) et d'autre part d'une délétion de 2 paires de base entraînant un décalage du cadre de lecture générant dans les deux cas une protéine tronquée de tout ou partie de son homéodomaine. En conclusion, ces observations révèlent l'implication de HESX1 dans un syndrome sévère associé à un risque élevé de décès néonatal et caractérisé essentiellement par une aplasie antéhypophysaire, en l'absence d'une part d'anomalie des nerfs optiques, et d'autre part d'une posthypophyse ectopique, deux caractéristiques classiquement associées aux mutations de HESX1.

Mots-clés : aplasie antéhypophysaire, *HESX1*, mutations.

■P308 / 194. CTNND2, GÈNE DE LA DELTA CATÉNINE : UN CANDIDAT POUR UNE FORME DE DÉFICIENCE MENTALE AUTOSOMIQUE DOMINANTE ?

A. Bensalem (1), P. Vour'ch (1, 2), C. Andres (1, 2), C. Moraine (1)
(1) INSERM U619, équipe 2 génétique de l'autisme et des déficiences mentales ; (2) Laboratoire de Biochimie, Hôpital Bretonneau, CHRU de Tours

En dépit de la découverte de près de vingt gènes impliqués dans les retards mentaux liés à l'X et des résultats des récentes études de régions subtélomériques, plus de 50 % des cas de déficience mentale (DM) demeurent inexpliqués. Le caractère sporadique de ces situations conduit à envisager que certaines d'entre elles pourraient être la conséquence de mutations autosomiques dominantes survenues de novo dans des gènes impliqués dans le développement et/ou le fonctionnement cérébral, une hypothèse mendélienne qui s'appuie sur le grand nombre des gènes qui s'expriment dans le cerveau.

Nous avons étudié une translocation réciproque équilibrée 46, XY, t (2; 5) (q32.3; p15.2), de novo observée chez un garçon présentant une déficience mentale modérée. L'examen clinique et l'imagerie cérébrale par IRM n'ont révélé aucune anomalie. Avec l'hypothèse qu'un gène avait été rompu en l'un, au moins, des 2 points de cassure de la translocation, et que la rupture de ce gène pourrait expliquer la DM observée chez le patient, nous avons analysé cette translocation en clonage positionnel par FISH. Ceci nous a permis de montrer (i) qu'aucun gène n'est présent dans la région du point de cassure du chromosome 2, et (ii) que le point de cassure du chromosome 5 passe dans le deuxième intron du gène de la delta caténine CTNND2. Le séquençage des régions codantes de CTNND2 du patient ayant montré que le second allèle de ce gène est normal, la DM de ce garçon traduit donc un phénomène de dominance. Le gène de la delta caténine est exprimé exclusivement dans l'encéphale ; elle est notamment fortement impliquée dans la morphogenèse dendritique (Lu *et al.*, 1999). Dans le syndrome du Cri du chat (del 5p), il a été montré que la DM est plus sévère quand le territoire de la délétion inclut le gène de la delta-caténine (Medina *et al.*, 2000). À côté de ces situations d'hémizygotie, on sait que la souris KO homozygote –/– pour la delta caténine manifeste un dysfonctionnement cognitif et une altération de la plasticité synaptique hippocampique (Israely *et al.*, 2004).

Nous cherchons actuellement à valider nos hypothèses. (i) Afin de vérifier que le gène de la delta-caténine est effectivement impliqué dans une forme de DM mendélienne autosomique dominante, nous cherchons actuellement des mutations par dHPLC au sein d'une cohorte de patients non apparentés, présentant une DM non familiale, cliniquement non spécifique, sans FRAXA ni anomalie du caryotype. (ii) Nous projetons par ailleurs de chercher, dans cette même cohorte, des mutations dans les gènes des partenaires fonctionnels de la delta caténine. (iii) En parallèle, nous avons commencé à mettre en place une méthodologie de siRNA sur des cellules-souches neurales de rat afin de chercher d'éventuelles modifications de la dendritogenèse

Mots-clés : déficience mentale autosomique, gène *CTNND2*, dendritogenèse.

■P309 / 196. UNE MUTATION SILENCIEUSE HOMOZYGOTE DANS CHRNE CONDUIT À UN ÉPISSAGE ABERRANT DE L'ARN MESSAGER ET UN SYNDROME MYASTHÉNIQUE CONGÉNITAL

Pascale Richard (1, 7), Karen Gaudon (1, 7), Hafedh Haddad (2, 3), Emmanuel Fournier (4), Stéphanie Bauché (3), Jeannine Koenig (3), Bernard Echenne (5), Bruno Eymard (2, 7), Daniel Hantai (3)
(1) Unité Fonctionnelle de Cardiogénétique et Myogénétique, Hôpital de la Salpêtrière, Paris ; (2) Consultation de Myologie, Hôpital de la Salpêtrière, Paris ; (3) INSERM U582, Hôpital de la Salpêtrière, Paris ; (4) Fédération de Neurologie, Hôpital Pitié-Salpetrière, Paris ; (5) Service de Neuropédiatrie, CHU Montpellier, France

Introduction : Les syndromes Myasthéniques Congénitaux (SMC) sont des maladies rares d'origine génétique transmises le plus souvent selon un mode autosomique récessif ou dominant et dus à des mutations dans les gènes codant les protéines de la jonction neuro-musculaire (JNM). Ils sont classés en trois groupes en fonction de l'origine du déficit moléculaire ; présynaptiques, synaptiques ou postsynaptiques. Les déficits postsynaptiques sont les plus fréquents et le plus souvent dus à une mutation dans CHRNE, l'une des sous unités du récepteur de l'acétylcholine (AChR) ou du gène RAPSN codant la rapsyne. Plus de 60 mutations sont décrites dans le gène CHRNE, ces mutations étant le plus souvent des mutations nulles bien que des mutations faux sens soient également décrites.
Patient et Méthodes : Un examen clinique, un électromyogramme (EMG), une biopsie musculaire du deltoïde ont été réalisés pour confirmer le diagnostic puis l'analyse génétique a consisté a séquencer l'ensemble du gène CHRNE après amplification des exons et régions introniques adjacentes par la technique des BigDyeTerminatorTM sur un séquenceur 3100 ABI Prism® Genetic Analyzer (Applied Biosystems, Foster City, CA).
Résultats : Le patient est une jeune fille de 13 ans originaire du Portugal et présentant une forme modérée de syndrome myasthénique congénital avec ptôsis et faiblesse musculaire. Le décrément à l'EMG est modéré et l'analyse des plaques motrices sur la biopsie montre des anomalies très nettes des JNM avec les anticorps anti-récepteur de l'acétylcholine. L'analyse de CHRNE a montré une transition g. 855C>T du troisième nucléotide du codon 285 conduisant à la mutation silencieuse G285G à l'état homozygote. De par la localisation de cette transition proche du site donneur d'épissage de l'exon 8, nous avons recherché des conséquences sur l'épissage des ARN messagers de CHRNE. L'analyse montre que cette mutation d'un nucléotide crée un nouveau site d'épissage localisé 4 nucléotides en amont du site normal et conduisant à une délétion de 4 nucléotides en fin d'exon 8 décalant le cadre de lecture de l'exon 9 et aboutissant à un codon stop prématuré.
Conclusion : Nous décrivons une famille consanguine d'origine Portugaise dans laquelle une mutation silencieuse affectant la troisième bases d'un codon crée un site cryptique donneur d'épissage aboutissant à une délétion de 4 nucléotides et décalant le cadre de lecture, se comportant alors comme une mutation nulle. Cette mutation silencieuse est donc la mutation pathogène dans cette forme modérée de syndrome myasthénique congénital.

Mots-clés : syndromes myasthéniques congénitaux, récepteur acétylcholine, épissage.

■P310 / 197. UNE NOUVELLE MUTATION DU GÈNE PRKAG2 CHEZ UN PATIENT AVEC UNE GLYCOGÉNOSE MUSCULAIRE ASSOCIÉE AVEC UNE CARDIOMYOPATHIE HYPERTROPHIQUE ET DES TROUBLES DE CONDUCTION CARDIAQUE

P. Laforêt (1), P. Richard (2), M Ait Said (3), N.B. Romero (1), J.P. Leroy (4), C. Baussan (5), J.-Y. Hogrel (1), T. Lavergne (3), K. Wahbi (6), B. Hainque (2), D. Duboc (6)
(1) Institut de Myologie, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France ; (2) UF Cardiogénétique et Myogénétique, Laboratoire de Biochimie B, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France ; (3) Service de Cardiologie 2, Hôpital Européen Georges-Pompidou, Paris, France ; (4) Laboratoire de Neuropathologie, CHU de Brest, Brest, France ; (5) Service de Biochimie, Hôpital de Bicêtre, Kremlin-Bicêtre, France ; (6) Service de Cardiologie, Hôpital Cochin, Paris, France

Introduction : Une pathologie de transmission autosomique dominante associant cardiomyopathie hypertrophique, pré-exitation ventriculaire (syndrome de Wolff-Parkinson-White) et bloc de conduction a été associée à l'existence de mutations dans la sous unité régulatrice g2 de la protéine kinase A (g2 AMP-K). Une accumulation de glycogène intracardiaque a également été montrée chez ces patients.
Nous décrivons l'observation d'un patient porteur d'une nouvelle mutation du gène PRKAG2 (Ser546Pro) et présentant une cardiomyopathie hypertrophique avec des anomalies de conduction associées à une glycogénose musculaire.
Méthodes : L'analyse du tissu musculaire a été réalisée sur biopsie deltoïdienne. L'analyse génétique a consisté à séquencer l'ensemble du gène PRKAG2 après amplification des exons et régions introniques adjacentes par la technique des BigDyeTerminatorTM sur un séquenceur 3100 ABI Prism® Genetic Analyzer (Applied Biosystems, Foster City, CA).
Résultats : Un patient âgé de 38 ans a été admis en soins intensifs de cardiologie après plusieurs malaises à l'effort. L'électrocardiogramme montrait un bloc auriculo-ventriculaire complet nécessitant l'implantation d'un pacemaker. L'échocardiographie a révélé une cardiomyopathie hypertrophique avec une épaisseur septale de 38 mm. L'analyse histo-enzymologique et ultrastructurale de la biopsie deltoïdienne, effectuée en raison d'une élévation du taux de CPK à 3 fois la normale, a révélé une

glycogénose musculaire avec une accumulation de glycogène non lysosomal. Le séquençage de PRKAG2 a montré l'existence d'une nouvelle mutation faux sens S546 P localisée dans le 4e domaine CBS de la protéine.
Conclusion : Les cardiomyopathies par stockage de glycogène dues à des mutations du gène PRKAG2 n'étaient pas considérées comme associées à une atteinte musculaire squelettique. Cette observation montre que les mutations de ce gène peuvent être une nouvelle cause de glycogénose musculaire, associée à une atteinte cardiaque prédominante (cardiopathie, troubles de conduction).

Mots-clés : cardiomyopathie hypertrophique, *PRKAG2*, glycogénose.

■P311 / 198. ASPECTS PHÉNOTYPIQUES D'UN PATIENT ADULTE PRÉSENTANT UN SYNDROME MYASTHÉNIQUE CONGÉNITAL DU A DES MUTATIONS DU GÈNE *COLQ*

Thierry Kuntzer (1), Pascale Richard (2), Karen Gaudon (2),Daniel Hanta (3), Bruno Eymard (4)
(1) Service de neurologie, CHU Vaudois, Lausanne, Suisse ; (2) UF Cardiogénétique et Myogénétique, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France ; (3) INSERM U582, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France ; (4) Consultation neuromusculaire, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France

Introduction : Les syndromes myasthéniques congénitaux (SMC) sont des pathologies de transmission récessive ou dominante dues à des anomalies de la transmission neuromusculaire. Des mutations dans des gènes codant pour des protéines de la jonction neuromusculaire sont décrites comme responsables de cette pathologie. Les syndromes myasthéniques synaptiques sont dus à des mutations du gène ColQ codant pour la queue collagénique de l'acétylcholinestérase. L'objectif de ce travail est de décrire le phénotype d'un patient adulte avec un SMC synaptique récessif causé par des mutations faux sens dans le gène ColQ.
Patient et Méthodes : Le patient est un homme de 42 ans d'origine indonésienne investigué pour l'aggravation d'une faiblesse du bras et de la jambe droite. Pour chaque gène analysé, les exons et jonctions intron- exon sont amplifiés par PCR à partir de l'ADN génomique des leucocytes du sang circulant. Chaque fragment est ensuite séquencé par la technique des BigDyeTerminatorTM sur un séquenceur 3100 ABI Prism® Genetic Analyzer (Applied Biosystems, Foster City, CA). Les résultats sont analysés par le logiciel d'analyse de séquences Seqscape (Applied Biosystems, Foster City, CA).
Résultats : Cliniquement, le patient se présente comme ayant des difficultés fluctuantes de la marche depuis l'enfance. Il a été traité pour un « pied bot congénital » et présente un syndrome du canal carpien. Il décrit une fatigabilité et a fait 2 fausses routes ayant nécessité une réanimation. L'examen neuromusculaire montre une parésie proximale très asymétrique dominant au niveau des bras avec une impossibilité à tenir les mains au-dessus de la tête plus de 5 sec. Il ne peut pas s'asseoir depuis le décubitus dorsal, mais peut s'accroupir. L'électromyogramme montre après 10 stimulations nerveuses répétées à 3Hz, un décrément anormal maximal de 16 % en amplitude (25 en surface) sur la 5e réponse avec un dédoublement de la réponse motrice sur les 3 nerfs moteurs stimulés ; la double réponse ayant un décrément plus important que la première (50 % en amplitude, 70 en surface). Un traitement par du Mestinon a aggravé les déficits et le 4 diaminopyridine n'a pas amélioré l'état clinique. L'analyse moléculaire a mis en évidence la présence de deux mutations hétéroallèliques de type faux sens dans le gène ColQ. La mutation, P59S, due à la transition (CCA>TCA) dans l'exon 2 est transmise par sa mère et la mutation C451S due à la transversion (TGC>TCC) dans l'exon 17 est une nouvelle mutation transmise par son père.
Conclusion : Les déficiences motrices aggravées à l'effort, sous traitement par Mestinon et accompagnées d'un dédoublement de la réponse motrice à l'EMG sont caractéristiques d'un SMC synaptique dont l'évolution est lentement progressive à partir d'un mode de sévérité moyen. Cette forme modérée peut s'expliquer par la nature des mutations causales du gène ColQ, les mutations faux sens étant d'une sévérité moindre que les mutations nulles responsables d'un phénotype beaucoup plus précoce et sévère.

Mots-clés : syndromes myasthéniques congénitaux, ColQ, mutations.

■P312 / 199. UNE VARIATION NUCLÉOTIDIQUE PONCTUELLE DANS LE DOMAINE 3' NON TRADUIT DE L'ARN MESSAGER DE LA SÉLÉNOPROTÉINE N RESPONSABLE D'UNE DYSTROPHIE MUSCULAIRE AVEC RIGIDITÉ DU RACHIS (RSMD1)

Pascale Richard (1), Valérie Allamand (2), Alain Lescure (3), Céline Ledeuil (1), Delphine Desjardin (1), Corine Gartioux (2), Ana Ferreiro (2), Alain Krol (3), Nadine Pellegrini (4), J. Andoni Urtizberea (4), Pascale Guicheney (2)
(1) UF Cardiogénétique et Myogénétique, GH Pitié-Salpêtrière, 47, bd de l'Hôpital, Paris, France ; (2) INSERM U582, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France ; (3) UPR 9002 du CNRS, Institut de Biologie Moléculaire et Cellulaire, Strasbourg, France ; (4) Hôpital Raymond-Poincaré, Garches, France

Introduction : Des mutations dans la séquence codante du gène SEPN1 codant la sélénoprotéine N (SelN) sont à l'origine de trois myopathies de transmission autosomique récessive : la dystrophie musculaire avec rigidité du rachis (RSMD1), la myopathie à multiminicores (MmD) et la myopathie avec inclusions de type Mallory body (MB-DRM).
La particularité des sélénoprotéines est de posséder dans la partie 3' non traduite du gène une séquence en tige-boucle dite SECIS (Selenocysteine Insertion Sequence), cruciale pour l'incorporation de la sélénocystéine au niveau du codon UGA par recrutement d'une protéine, la SECIS binding protein 2 (SBP2). Nous décrivons ici l'observation clinique d'une patiente présentant un phénotype modéré de RSMD1 et porteuse d'une mutation homozygote dans le domaine SECIS du gène SEPN1.
Méthodes : Les analyses génétiques réalisées sur ADN génomique ont consisté à amplifier et séquencer la séquence codante et le 3' UTR de SEPN1. Les fibroblastes ont été mis en culture et un immunoblot des protéines totales a été réalisé avec un anticorps polyclonal contre SelN. Les ARN totaux ont été extraits et une PCR quantitative des ARN messagers de SEPN1 a été réalisée avec la technologie LightCycler real-time PCR.
Résultats : La patiente est une femme d'origine Syrienne présentant une faiblesse musculaire du cou depuis l'enfance. Après sa seconde grossesse elle a développé un syndrome d'insuffisance respiratoire restrictive. À 44 ans, elle a une faiblesse musculaire de la ceinture pelvienne et une scoliose. Des rétractions sont présentes au niveau cervical et des tendons d'Achille. L'analyse moléculaire de SEPN1 a permis d'identifier une variation nucléotidique homozygote dans le domaine SECIS de la région 3' UTR (g. 17195 T>C). La quantification des ARNm sur culture de fibroblastes montre une réduction de 75 % comparée à un témoin et l'analyse des protéines en Western Blot montre une quasi-absence de SelN. Nous démontrons également que cette mutation ponctuelle abolit la liaison de SBP2 à SECIS.
Conclusion : Cette mutation pathogène est la première identifiée dans la région SECIS, une structure localisée dans la partie 3' non traduite de SelN et qui permet par le biais d'interactions avec des facteurs protéiques dont SBP2, l'incorporation cotraductionnelle de sélenocystéine au niveau du codon UGA/Sec. Cette mutation est localisée au niveau d'une séquence très conservée du SECIS, appelée le quartet « non-Watson-Crick » et conduit à une réduction drastique des niveaux de l'ARNm et de la protéine. Nous montrons également que cette mutation agit par l'intermédiaire d'une abolition complète de la fixation de SBP2 sur le quartet empêchant la synthèse de SelN et aboutissant au phénotype observé chez la patiente. Ces résultats concourent à une meilleure compréhension du mécanisme d'incorporation de la sélénocystéine dans les sélénoprotéines et décrivent par ce biais un mécanisme nouveau conduisant aux myopathies par déficit en SelN.

Mots-clés : sélénoproteine N, dystrophie musculaire, SEPN1.

■P313 / 210. SÉQUENCES ALU ET DÉLÉTION HOMOZYGOTE DU GÈNE RLBP1 RESPONSABLE DE RÉTINITE PONCTUÉE ALBESCENTE

Ghyslaine Humbert (1), Cécile Delettre (1), Audrey Sénéchal (1), Dominique Hillaire (1), Cécile Bazalgette (2), Christian Bazalgette (2), Bernard Arnaud (2), Guy Lenaers (1), et Christian P. Hamel (1, 2)
(1) INSERM U583, Institut des Neurosciences, Montpellier ; (2) Centre de référence maladies rares affections sensorielles génétiques, Hôpital Gui de Chauliac, Montpellier

La rétinite ponctuée albescente (RPA) est une forme rare de dystrophie rétinienne récessive autosomique caractérisée par une cécité nocturne précoce et sévère et l'existence de petits dépôts blanchâtres fins et réguliers au fond d'œil. Bien que de sévérité variable, la maladie progresse en règle lentement et inexorablement vers une malvoyance ou une cécité survenant habituellement après l'âge de 50 ans. Dans la plupart des cas, elle est due à des mutations de RLBP1 qui code CRAlBP. Cette protéine est le transporteur du chromophore (rétinal 11-cis) des pigments visuels, qui joue un rôle essentiel dans leur régénérescence après stimulation lumineuse. Nous décrivons un patient de 24 ans, né de parents consanguins et atteint d'une RPA typique. Par une approche de PCR longue distance et de sous clonage, nous avons identifié une délétion homozygote de 7,36 kb qui emporte les 3 derniers exons de RLBP1 (7, 8 et 9) et une partie de la région intergénique entre RLBP1 et le gène en aval, ABHD2. Cette délétion, qui abolit le site de liaison de la protéine avec le rétinal 11-cis, est due à une

recombinaison entre séquences répétées Alu. La présence de ces séquences à haute densité dans la région suggère que des réarrangements dans la partie 3' de ce gène ont une probabilité non négligeable d'exister et implique de les rechercher systématiquement, par exemple dans les cas de RPA où un seul allèle apparaît muté en PCR.

Mots-clés : rétinopathie pigmentaire, ophtalmologie, séquences Alu.

■P314 / 213. CRIBLAGE DE GÈNES DU CYCLE VISUEL DANS LES RÉTINOPATHIES PIGMENTAIRES : UNE MUTATION DE LRAT RESPONSABLE D'AMAUROSE CONGÉNITALE DE LEBER

Audrey Sénéchal (1), Ghyslaine Humbert (1), Cécilia Maubaret (1), Marie-Odile Surget (1), Cécile Bazalgette (2), Christian Bazalgette (2), Bernard Arnaud (2), Philippe Brabet (1), et Christian P. Hamel (1)
(1) INSERM U583, INM, Montpellier ; (2) Centre de référence maladies rares sensorielles génétiques, hôpital Gui de Chauliac, Montpellier

Les gènes du cycle visuel (ABCA4, RDH12, LRAT, RPE65, RLBP1, RDH5, RGR) constituent dans leur ensemble une source fréquente de mutations dans les rétinopathies pigmentaires non syndromiques récessives autosomiques. Nous avons entrepris d'évaluer la prévalence de certains d'entre eux, pour lesquels très peu (LRAT) ou aucune mutation (RDH10) n'ont été rapportées. Nous avons criblé par D-HPLC et séquençage un panel de 216 patients dont 134 étaient des cas simplex ou multiplex de rétinite pigmentaire, et 82 cas des dystrophies rétiniennes avec dépôts variés au fond d'œil. Pour RDH10, seuls des variants non pathogènes ont été trouvés, et le criblage est en cours pour 2 autres gènes (RRH, RGR). Pour LRAT, le criblage est aussi resté négatif sur notre série, mais nous avons été amenés à séquencer le gène d'un enfant de 1 an en raison d'un phénotype très particulier. En effet, cet enfant atteint d'une amaurose congénitale de Leber présentait une photo attractivité et une amélioration visuelle quelques mois après la naissance, très évocatrices d'une mutation dans RPE65. Néanmoins l'enfant s'est avéré non porteur de mutation dans ce gène et nous avons alors criblé LRAT, qui est fonctionnellement liée à RPE65. Nous avons trouvé une délétion homozygote (c.217_218delAT), entraînant un stop prématuré au codon 120. Ces résultats indiquent que le phénotype des patients mutés dans LRAT est tout à fait semblable à celui de ceux mutés dans RPE65 et qu'il convient de cribler systématiquement ces 2 gènes en cas de phénotype évocateur.

Mots-clés : rétinopathie pigmentaire, ophtalmologie, cycle visuel.

■P315 / 214. MALADIES LIÉES À DES MUTATIONS DU FACTEUR D'INITIATION DE LA TRADUCTION EIF2B, STRATÉGIES DU DIAGNOSTIC MOLÉCULAIRE

F. Niel (1), A. Fogli (2), M.-C. Cardoso-Ferreira (1), J. Domagalski (1), M. Petit (1), L. Horzinsky (2), F. Gauthier-Barichard (2), I. Creveaux (1), O. Boespflug-Tanguy (2)
(1) Service de Biochimie et Biologie Moléculaire, CHU de Clermont-Ferrand ; (2) UMR INSERM 384, Clermont-Ferrand

Des mutations du facteur d'initiation de la traduction eIF2B ont été initialement décrites dans une entité définie sur des critères clinico-radiologiques, le syndrome CACH (Childhood Ataxia with Central Hypomyelinisation). Il s'agit d'une leucodystrophie, maladie démyélinisante de la substance blanche du système nerveux. Cette affection de transmission autosomique récessive débute entre 2 et 5 ans. Elle est caractérisée par des épisodes de détérioration neurologique rapide à l'occasion d'infections ou de traumatisme crânien bénin associés à une atteinte démyélinisante, cavitaire, diffuse de la substance blanche cérébrale à l'IRM. L'analyse des gènes codant les sous-unités du facteur eIF2B chez des patients sélectionnés selon le critère radiologique (aspect particulier de l'IRM) a permis de mettre en évidence des mutations dans un vaste spectre clinique, allant de formes à début très précoce dans la première année de vie (type leucoencephalopathie des indiens Cree) voire congénitales avec décès en quelques mois ou au contraire plus tardives au début de l'adolescence voire à l'âge adulte parfois associée à une ménopause primaire ou secondaire (ovarioleucodystrophie). Les anomalies moléculaires affectent les cinq gènes EIF2B1, EIF2B2, EIF2B3, EIF2B4 et EIF2B5 codant chacun pour une des sous-unités d'eIF2B (eIF2B alpha-epsilon). L'analyse de 148 patients a révélé une grande diversité allélique (77 mutations) susceptible d'expliquer la variabilité phénotypique observée. Les mutations touchent dans 63 % des cas la sous-unité epsilon (EIF2B5), 19 % la beta (EIF2B2), 12 % la delta (EIF2B4), 4 % la gamma (EIF2B3) et 2 % l'alpha (EIF2B1). Aucun patient double hétérozygote pour des mutations situées sur deux gènes différents n'a été identifié. Deux mutations récurrentes, p.R113H (EIF2B5) et p.E213G (EIF2B2) sont retrouvées à l'état homozygote ou hétérozygote chez 51 % des patients et chez 90 % des patients présentant une forme juvénile ou adulte. Les formes sévères impliquent toujours le gène EIF2B5. À partir de ces données, nous avons mis en place une stratégie pour le diagnostic moléculaire de ces affections : recherche des deux mutations récurrentes puis analyse par d-HPLC des 16 exons du gène EIF2B5 puis des 8 exons du gène EIF2B2. Cette stratégie permet de détecter plus de 80 % des mutations chez les patients atteints de leucodystrophies liées à eIF2B. À ce jour, plus de 80 familles sont en cours d'analyse et plusieurs diagnostics prénataux ont été réalisés. Plusieurs questions ont été ainsi soulevées quant à l'utilité de réaliser un diagnostic présymptomatique ou de déterminer le statut d'hétérozygote chez les apparentés du cas index compte tenu de la faible fréquence de la maladie dans la population.

Mots-clés : leucodystrophie, syndrome CACH, *EIF2B.*

■P316 / 215. MUTATIONS DES GÈNES *R-GNRH* ET *GPR54* : ÉTUDE D'UNE COHORTE DE PATIENTS PRÉSENTANT UN HYPOGONADISME HYPOGONADOTROPE ISOLÉ

C. Leprince, N. Richard, H. Mittre, M. Lemaire, C. Gonfroy, M.L. Kottler
Département Génétique et Reproduction, Unité de Génétique Moléculaire, CHU de Caen, 14033 Caen

Introduction : L'hypogonadisme hypogonadotrope (HH) est une pathologie rare (1/10 000) due à une insuffisance de sécrétion des gonadotrophines hypophysaires LH et FSH responsable d'un dysfonctionnement ovarien ou testiculaire. Cliniquement les patients présentent un impubérisme et souvent une infécondité. Biologiquement, les concentrations des gonadotrophines et des stéroïdes sexuels sont basses. On distingue deux formes : une forme associée à une anosmie dans le cadre du syndrome de Kallmann de Morsier, et une forme isolée (HHI) idiopathique sans anosmie. Des mutations inactivatrices ont été identifiées à l'état homozygote ou hétérozygote composite dans deux gènes : le récepteur de la GnRH (R-GnRH) et AXOR12 (gpr54), nouveau gène découvert par clonage positionnel dont le rôle dans la fonction de reproduction reste largement inconnu.

Objectifs : Afin de préciser l'incidence des lésions génétiques dans l'HHI, nous avons étudié une cohorte multicentrique de patients HHI recrutés dans le cadre du réseau GIS Maladies Rares et recherché des lésions de ces deux gènes.

Patients : Parmi les 288 cas index, on distingue 105 femmes et 183 hommes ; 21 formes familiales et 267 formes sporadiques.

Méthodes : Après extraction de l'ADN des patients à partir du sang total, les trois exons du R-GnRH et les cinq exons d'AXOR12 ont été amplifiés par PCR, puis séquencés sur séquenceur automatique (Beckman).

Résultats : Formes familiales : L'analyse mutationnelle du R-GnRH montre 8 cas de mutations / 21 (38,1 %). On dénombre 2 mutations homozygotes (9,5 %) ; 3 hétérozygotes composites (14,3 %) et 3 hétérozygotes (14,3 %). Pour AXOR12, on observe 2 cas de mutations / 11 (18,2 %), dont 1 homozygote (9,1 %) et 1 hétérozygote (9,1 %). Le total est de 10 cas / 21 (47,6 %) de mutations pour les deux gènes dans les formes familiales.

Formes sporadiques : L'étude du R-GnRH montre 20 cas mutés / 267 (7,5 %). On dénombre 2 homozygotes (0,75 %) ; 11 hétérozygotes composites (4,1 %) et 7 hétérozygotes (2,65 %). Pour AXOR12, on distingue 4 cas de mutations / 159 (2,5 %). Le nombre d'homozygote est de 2 (1,3 %) ; 1 hétérozygote composite (0,6 %) et 1 hétérozygote (0,6 %).

Corrélation génotype/phénotype pour le R-GnRH : Les mutations Q106R et R262Q associées à d'autres mutations du R-GnRH sont retrouvées chez des patients ayant des signes cliniques et biologiques variables, mais semblent engendrer un phénotype partiel d'hypogonadisme avec des dosages hormonaux abaissés mais non effondrés et une réponse partielle au test à la LHRH. La R139H, la A129D et la R139C sont responsables d'un phénotype complet d'hypogonadisme à l'état homozygote ou lorsqu'elles sont associées entre elles (R139H + A129D). En revanche, elles donnent un phénotype partiel quand elles sont associées à des mutations invalidant partiellement le R-GnRH comme la R262Q ou la Q106R.

Discussion et Conclusion : Dans les HHI, les mutations du R-GnRH sont fréquemment retrouvées (9,7 %) alors que les mutations d'AXOR12 restent rares (3,5 %). Nous avons identifié des mutations du R-GnRH ou d'AXOR12 chez 47,6 % des formes familiales. Dans 60 % des cas, ces mutations expliquent le phénotype. La corrélation génotype/phénotype réalisée pour les mutations du R-GnRH montre que le phénotype dépend de l'association des mutations invalidant soit partiellement, soit complètement le récepteur de la GnRH. Près de 70 % des formes familiales d'HHI restent cependant inexpliquées suggérant l'intervention d'autres gènes dans le déclenchement de la puberté. L'incidence de ces mutations sur la fertilité est en cours d'évaluation.

Mots-clés : hypogonadisme hypogonadotrope, *R-GnRH* et *AXOR12*, mutations inactivatrices.

■P317 / 217. ANALYSE MOLÉCULAIRE DU GÈNE SHOX DANS UNE SÉRIE DE 140 PATIENTS AVEC PETITE TAILLE : IDENTIFICATION DE DÉLÉTIONS DE LA RÉGION PAR1 EN AVAL DU GÈNE *SHOX*

C. Huber (1), M. Rosilio (2), S. Benito-Sanz (3), K.E. Heath (3), A. Munnich (1), V. Cormier-Daire (1)
(1) Département médical de génétique, INSERM U393, Hôpital Necker, Paris, France ; (2) Lilly France, Paris, France ; (3) Département de pédiatrie endocrinologie, Hôpital des enfants université Nino Jesus, Madrid, Espagne

La dyschondrostéose (DCS) est une dysplasie mésomélique, transmise selon un mode autosomique dominant, et caractérisée par l'association d'une insuffisance staturale (< -2DS), et d'une déformation de Madelung. Le gène SHOX, responsable de la DCS, est localisé dans la région pseudoautosomale PAR1, et des anomalies de SHOX ont été identifiées dans 70 % des DCS et 2,4 % de retards staturaux dit idiopathiques. Nous rapportons ici l'analyse moléculaire du gène SHOX chez 140 patients (86 filles et 54 garçons) inclus dans l'étude GeNeSIS, menée par la société Eli Lilly. Le seul critère d'inclusion de cette étude a été une petite taille entre – 3,5 et – 2 DS. La déformation de Madelung était cliniquement présente dans 60 familles formant ainsi le groupe DCS et les 80 familles sans DM ont été considérées comme petite taille idiopathique (ISS). L'étude moléculaire a compris une analyse de liaison PAR1 avec 2 marqueurs microsatellites extragéniques CASHOX et DXYS233, et 2 marqueurs intragéniques GASHOX et CTSHOX. Après exclusion d'une délétion au locus SHOX, le séquençage direct des 6 exons codants du gène a été réalisé. Nous avons ainsi mis en évidence 50 % d'anomalies du gène SHOX dans le groupe DM et 15 % dans le groupe ISS, incluant 11 mutations ponctuelles, 32 délétions complètes du gène, 1 délétion partielle du marqueur intragénique CTSHOX et 2 délétions du marqueur extragénique DXYS233 uniquement. L'absence d'anomalies du gène SHOX chez 27 patients du groupe DM et 68 du groupe ISS et l'identification de 2 délétions comprenant uniquement le marqueur DXYS233, nous a conduit à étudier de façon plus approfondie la région PAR1. Nous avons utilisé un panel supplémentaire de 20 microsatellites et de 49 SNPs compris entre les marqueurs CTSHOX et DXYS234. Cette seconde étude nous a permis d'identifier 5 délétions dans le groupe DM et 2 dans le groupe ISS. Ces délétions sont variables en taille et en localisation et une région minimale commune délétée de 10 kb a pu être identifiée en aval à < 200 kb du gène SHOX.
Au total, nous avons identifié 58,3 % d'anomalies du gène SHOX dans le groupe DM et 17,5 % dans le groupe ISS. L'identification de délétions de tailles variables et localisées en aval du gène SHOX, a permis de mettre en évidence une région critique de 10 kb et souligne l'importance d'une étude systématique de PAR1 par une analyse microsatellite approfondie dans le cadre d'une étude moléculaire des patients DCS.

Mots-clés : dyschondrostéose, région pseudoautosomale PAR1, *SHOX*.

■P318 / 218. RECHERCHE DE MUTATIONS DANS LE GÈNE CX26 ET DÉTERMINATION DE L'ORIGINE DE LA MUTATION 35DELG

Saber Masmoudi (1), Hanen Belguith (1), Sanae Hajji (2), Nabiha Salem (3), Aziz Tlili (1), Imen Ben Rebeh (1), Ilhem Charfeddine (4), Imed Lahmar (5), Karim Ouldim(2), Éliane Chouery (3), Nabil Driss (5), Mohamed Drira (4), André Mégarbané (3), Ahmed Rebai (6), Abdelaziz Sefiani (1), Hammadi Ayadi (1)
(1) Laboratoire de Génétique Moléculaire Humaine, Faculté de Médecine de Sfax, Tunisie ; (2) Département de Génétique Médicale, Institut National d'Hygiène de Rabat, Maroc ; (3) Laboratoire de Génétique Médicale, Université Saint-Joseph, Beyrouth, Liban ; (4) Service d'ORL, CHU H. Bourguiba de Sfax, Tunisie ; (5) Service d'ORL, CHU de Mahdia, Tunisie ; (6) Centre de Biotechnologie de Sfax, Tunisie

La surdité est l'handicap sensoriel le plus fréquent. Les causes génétiques des surdités représenteraient plus de 60 %. À nos jours, 22 gènes responsables de surdités isolées autosomiques récessives ont été identifiés. Le gène CX26 est responsable à lui seul de plus que 20 % des cas. Le plus souvent il s'agit de la mutation 35delG. Le criblage du gène CX26 chez 154 familles tunisiennes atteintes de surdité héréditaire isolée, utilisant différentes techniques : PCR avec création de site de restriction, électrophorèse sur gel en gradient de dénaturation, analyse des hétéroduplex et séquençage, a montré que 29 familles étaient homozygotes pour la mutation 35delG, une famille homozygote pour la mutation E47X et 2 familles hétérozygotes composites (35delG/E47X et 35delG/291InsA). L'analyse du gène CX26 chez 12 familles marocaines atteintes de surdité héréditaire isolée, a montré que 6 parmi les 12 familles portaient la mutation 35delG à l'état homozygote.
Afin d'expliquer la fréquence particulièrement élevée de la mutation 35delG, nous avons analysé les ADNs de 31 sourds homozygotes pour cette mutation (16 tunisiens, 6 marocains, et 9 libanais) et 116 individus normaux qui ne portent pas la mutation 35delG (45 tunisiens, 41 marocains, et 30 libanais). Deux marqueurs microsatellites (D13S175 et D13S115) et un marqueur de type SNP (Single Nucleotide Polymorphism) ont été analysés. Un déséquilibre de liaison significatif entre la mutation 35delG et le marqueur SNP a été détecté. Pour le marqueur D13S175, l'un des allèles était le seul partagé par les individus tunisiens et marocains homozygotes pour la mutation 35delG. Cet allèle a été trouvé chez 61,11 % d'individus libanais homozygotes pour la mutation 35delG. Pour le marqueur le plus éloigné, D13S115, l'un des allèles a été trouvé en déséquilibre avec la mutation 35delG. Cet allèle est aussi relativement fréquent parmi les chromosomes qui ne portent pas la mutation 35delG. Cette mutation a été associée avec un haplotype rarement trouvé chez les individus normaux qui ne portent pas la mutation 35delG. Nos données suggèrent que cette mutation provient d'un ancêtre commun qui porte l'allèle T du marqueur SNP. Cet allèle a été aussi trouvé associé avec la mutation 35delG chez des individus sourds de Belgique, Grande-Bretagne et Amérique. En utilisant cet échantillon, l'âge de la mutation 35delG a été estimé à environ 500 générations. En utilisant la même formule, nous avons estimé l'âge de la mutation 35delG approximativement à 216 générations chez la population libanaise et 111 générations dans les populations tunisienne et marocaine. La position géographique de l'Afrique du Nord et du Liban sur la Méditerranée a fait d'eux un carrefour historique entre l'Asie, l'Afrique et l'Europe. Les échanges génétiques et la migration d'individus autour de la Méditerranée pendant plus de 3 mille ans d'histoire pourraient expliquer le transfert de la mutation 35delG de l'Europe au Liban puis à l'Afrique du Nord par la mer. L'hypothèse d'une origine européenne apportée par l'Empire Romain de la mutation 35delG est très probable. Cette explication n'exclut pas que la mutation 35delG pourrait être apportée à l'Afrique du Nord à partir du Liban par les Phéniciens. En fait, l'âge de la mutation dans les populations tunisiennes et marocaines coïncide avec la conquête des Phéniciens de Maghreb, accomplie en 814 avant Jésus-Christ.

Mots-clés : surdité, *CX26*, 35delG.

■P319 / 219. APPROCHES GÉNÉTIQUES DU SYNDROME D'AICARDI

Saliha Yilmaz (1), Stéphane Bodelot (1), Sylvain Lambermont (1, 2), Hervé Fontaine (1), Antoine Rousselin (1), Christophe Philippe (1), Malika Smail-Tabbone (2), Marie-Dominique Devignes (2), Bruno Leheup (3), Karine Angoi-Duprez (4) John MacGregor (5), Philippe Jonveaux (1)
(1)Laboratoire de Génétique, EA 3441, CHU Nancy ; (2) LORIA Campus science, BP239F, 54506 Vandœuvre-les-Nancy ; (3) Service de médecine infantile 3 et génétique clinique, CHU Nancy ; (4) Service d'ophtalmologie, CHU Nancy ; (5) The Thrombosis Research Institute, Emmanuel Kaye Building, SW3 6LR, London, UK

Le syndrome d'Aicardi, affection rare (estimation avancée de 1/500 000), est une encéphalopathie sévère qui associe une épilepsie précoce souvent pharmacorésistante, des anomalies oculaires dont des lacunes chorio-rétiniennes, une agénésie du corps calleux associée parfois à d'autres anomalies cérébrales et un handicap cognitif et moteur souvent sévère. Ce syndrome ne s'observe essentiellement que chez les filles. De très rares cas de syndrome d'Aicardi ont été décrits chez des garçons ayant une formule chromosomique 47, XXY. Le mode d'hérédité est donc dominant lié à l'X. Les approches de clonage positionnel sur le chromosome X utilisant les études de liaison génétique ne sont donc pas possibles compte tenu du caractère sporadique de la maladie et de l'absence de remaniements chromosomiques associés. Notre stratégie d'identification de gènes candidats a utilisé deux approches différentes et complémentaires menées en parallèle : les biopuces d'expression et la recherche *in silico*. Par la technique des biopuces (Agilent), nous avons recherché une différence d'expression des gènes entre la mère indemne et la fille atteinte sur plusieurs couples mère-fille à partir d'ARN issus de prélèvements sanguins. La sélection des gènes candidats a tenu compte du positionnement sur l'X des gènes d'intérêt. Une validation des résultats issus de la puce d'expression a été réalisée pour chaque profil d'expression anormal par la technique de PCR quantitative. L'étape ultérieure a consisté à rechercher une mutation au niveau génomique (séquençage) chez le couple fille (présence de la mutation) – mère (absence de la mutation) et secondairement sur un panel de patientes Aicardi. L'approche in silico utilise, quant à elle, les connaissances génomiques sur les organismes modèles (souris, drosophile) à la recherche de gènes (termes GO) dont les mutations sont à l'origine de phénotypes proches du syndrome d'Aicardi. Nous présentons les résultats de ces deux approches avec des gènes déjà a priori exclus en tant que responsables de cette affection.

Ce projet a été soutenu par la Communauté Urbaine du Grand Nancy, le Conseil Régional de Lorraine, l'Association AAL – Syndrome d'Aicardi et du PRST Intelligence Logicielle – Bioinformatique et Applications à la Génomique.

Mots-clés : syndrome d'Aicardi, DNA micro array-gene expression, Q-PCR.

■P320 / 220. LE GÈNE *MEFV* N'EST PAS EN CAUSE DANS LES FIÈVRES RÉCURRENTES DES PATIENTS EUROPÉENS CAUCASIENS

D. Tchernitchko (1), S. Moutereau (1), M. Legendre (1), A. Delahaye (1), C. Cazeneuve (1), C. Lacombe (1), G. Grateau (2), S. Amselem (1)
(1) Service de Biochimie et de Génétique Moléculaire et INSERM U654, Hôpital Henri-Mondor, 51,avenue du Maréchal de Lattre-de-Tassigny, 94010 Créteil, France ; (2) Service de Médecine Interne, Hôpital Tenon, 75020 Paris, France

La Fièvre Méditerranéenne Familiale (FMF), maladie autosomique récessive, est caractérisée par des accès fébriles récurrents accompagnés de douleurs abdominales, thoraciques et/ou articulaires en rapport avec une inflammation des séreuses. Cette maladie, fréquente dans certaines populations méditerranéennes, notamment chez les Arméniens, les Arabes, les Juifs Sépharades et les Turcs, est plus rarement rencontrée dans d'autres populations. Bien qu'il n'existe aucun signe pathognomonique de la FMF, le diagnostic de cette affection repose sur l'association de critères cliniques (critères de Tel Hashomer et de Livneh *et al.*). En l'absence de test biologique spécifique, l'analyse moléculaire de MEFV, le gène responsable de la maladie, fournit le seul critère objectif pour confirmer le diagnostic de FMF. Le spectre des mutations du gène MEFV, bien établi dans les populations classiquement affectées, reste cependant insuffisamment étudié dans d'autres populations. Aussi, l'objectif de notre étude a été d'évaluer l'implication de MEFV chez les patients caucasiens présentant un diagnostic clinique de FMF. 208 patients consécutifs d'origine européenne caucasienne ont été étudiés. L'analyse moléculaire du gène MEFV s'est déroulée en deux étapes : 1 – la recherche systématique des mutations les plus fréquentes des exons 2, 3, 5, et 10 par DGGE ; 2 – une analyse complète par séquençage direct du gène MEFV, comprenant le promoteur et l'ensemble des exons codants et des séquences introniques flanquantes, chez 21 de ces patients pour lesquels les critères cliniques étaient les plus évocateurs d'une FMF. Cette analyse moléculaire a permis d'identifier 2 allèles mutés parmi les 416 allèles étudiés. Aucun patient n'était porteur de 2 allèles mutés.
Ces résultats suggèrent que les manifestations cliniques compatibles avec un diagnostic de FMF survenant chez des patients européens caucasiens ne sont pas en rapport avec des mutations du gène MEFV. Cette étude devrait permettre de faciliter l'interprétation des résultats négatifs des analyses moléculaires de MEFV, tout en cernant au mieux les indications du génotypage MEFV. De telles données soulèvent par ailleurs la question de l'étiologie des fièvres récurrentes mimant une FMF survenant chez ces patients.

Mots-clés : FMF, *MEFV*, diagnostic.

■P321 / 223. IDENTIFICATION ET CARACTÉRISATION DE 4 DÉLÉTIONS DE GRANDE TAILLE DU GÈNE *PTEN* DANS LA MALADIE DE COWDEN PAR MULTIPLE AMPLIFIABLE PROBE HYBRIDISATION (MAPH)

Frédéric Chibon, Charlotte Primois, Jean-Marie Bressieux, Didier Lacombe, Catherine Lok, Louis Mauriac et Michel Longy
Laboratoire de Génétique Moléculaire, Département de Pathologie, Institut Bergonié

La maladie de Cowden, de transmission autosomique dominante, est un syndrome de prédisposition héréditaire au cancer caractérisé par l'apparition au cours de l'existence de lésions hyperplasiques, hamartomateuses et tumorales touchant de multiples organes. L'affection est due aux mutations germinales du gène suppresseur de tumeurs PTEN impliqué notamment dans l'oncogénèse des glioblastomes et des adénocarcinomes de l'endomètre. Le diagnostic de la maladie repose à la fois sur des critères phénotypiques établis et sur l'identification d'une mutation ponctuelle germinale du gène PTEN. Une mutation ponctuelle n'est retrouvée que chez 70 % des patients répondant aux critères phénotypiques stricts. Les atteintes non élucidées sur le plan génotypique peuvent alors traduire soit un phénomène d'hétérogénéité génétique soit l'existence d'autres modes d'inactivation de PTEN non détectables par les techniques de recherche de mutation actuellement en vigueur (DGGE ou DHPLC). Nous avons mis en place au laboratoire la recherche de grands réarrangements du locus PTEN par MAPH, une technique développée par John L.A. Amour en 2000. Celle-ci repose sur la quantification de l'amplification simultanée de sondes préalablement hybridées à de l'ADN génomique immobilisé sur une membrane de nylon (Armour *et al.*, 2000).
Dans un premier temps nous avons étudié une série de 15 patients répondant à la totalité des critères phénotypiques et avons identifié 3 délétions hémizygotes de grande taille (300 à 600 kb) emportant la totalité du locus PTEN (3/15 = 20 %). Dans un second temps, des grands réarrangements de PTEN ont été recherchés dans une série de 70 patients ne présentant que un ou deux des critères les plus évocateurs de la maladie, macrocéphalie et/ou lipomes. Dans cette série une seule délétion impliquant le promoteur et l'exon 1 de PTEN a été identifiée (1/70 = 1,4 %).
Après validation et caractérisation de ces délétions par FISH, le clonage et le séquençage des points de cassure de ces 4 délétions ont permis de montrer que, dans chacun des cas, un point de cassure était contenu dans une séquence répétée type LINE/SINE et le second dans un motif nucléotidique particulier.
Cette étude montre donc, d'une part que chez les patients répondant aux critères phénotypiques stricts de maladie de Cowden, le taux de délétion de grande taille est de 20 %, et d'autre part que le diagnostic clinique initial est déterminant puisque chez les patients au phénotype incomplet ce taux n'est que de 1 à 2 %. Enfin, l'analyse systématique par MAPH de patients présentant une maladie de Cowden nous permettra d'augmenter notre échantillon et ainsi de conclure quant à l'existence d'un mécanisme de remaniement comparable aux recombinaisons entre séquences Alu fréquemment impliquées dans ces altérations.

Mots-clés : *PTEN*, délétion grande taille, MAPH.

■P322 / 227. LE VARIANT ALLÉLIQUE P.VAL754MET DU GÈNE *CFTR* : MUTATION DÉLÉTÈRE OU SIMPLE POLYMORPHISME ?

F. Niel (1), M. Legendre (1), T. Bienvenu (2), E. Bieth (3), G. Lalau (4), I. Sermet (5), D. Bondeux (6), R. Boukari (7), J. Derelle (8), P. Levy (9), P. Ruszniewski (9), J. Martin (1), C. Costa (1), M. Goossens (1), E. Girodon (1)
(1) Service de Biochimie-Génétique, Hôpital Henri-Mondor AP-HP, Créteil, France ; (2) Service de Biochimie-Génétique, Hôpital Cochin AP-HP, Paris, France ; (3) Laboratoire de Génétique Médicale, Hôpital Purpan, Toulouse, France ; (4) Laboratoire de Biochimie et Biologie Moléculaire, Hôpital Calmette, Lille, France ; (5) Service de Pédiatrie, Hôpital Necker-Enfants-Malades AP-HP, Paris, France ; (6) Département de Pédiatrie, Hôpital Porte Madeleine, Orléans, France ; (7) Service de Pédiatrie, Hôpital Noureddine El Atassi, Alger, Algérie ; (8) Médecine infantile, Hôpital d'Enfants, Vandœuvre-les Nancy, France ; (9) Service de Gastro-Enterologie, Hôpital Beaujon AP-HP, Clichy, France

Près de 1 400 variations de séquence du gène CFTR ont été décrites associées à des phénotypes variés, de la mucoviscidose à des formes monosymptomatiques de l'adulte (www.genet.sickkids.on.ca/cftr). Le variant p.Val754Met, décrit pour la première fois en 1996 chez un patient atteint de mucoviscidose, a ainsi été considéré comme une mutation responsable de la maladie. Néanmoins, plusieurs données vont à l'encontre d'un effet délétère sévère de ce variant : 1) la présence d'un résidu Méthionine à la place du résidu Valine de la protéine CFTR dans un certain nombre d'espèces et le caractère bénin de ce variant prédit par les programmes SIFT® et PolyPhen® ; 2) le résultat des analyses fonctionnelles suggérant que le résidu V754 n'appartient pas au domaine fonctionnel « R » de la protéine CFTR (Chen *et al. Mol Genet Metab* 2000) ; 3) l'identification en cis de p.Val754Met d'une délétion complexe emportant les exons 3 à 10 et 14b à 16 chez un patient atteint de mucoviscidose (Niel *et al. J Med Genet* 2004).
Objectifs : Tenter d'établir des corrélations génotype-phénotype afin de déterminer comment le variant p.Val754Met doit être pris en compte pour le diagnostic et le conseil génétique.
Méthodes : Le recensement auprès des laboratoires du réseau français « Mucoviscidose » a permis d'identifier treize sujets porteurs de la variation p.Val754Met : sept patients (quatre atteints de mucoviscidose et trois de pancréatite chronique) et six individus sains. Nous avons réalisé : 1) la recherche de la délétion complexe par PCR multiplex semi-quantitative, 2) l'analyse exhaustive des séquences codantes du gène CFTR et 3) la détermination des haplotypes associés à p.Val754Met.
Résultats : Seuls les quatre patients atteints de mucoviscidose sont porteurs de la délétion complexe en cis de p.Val754Met, en association avec un haplotype commun. L'analyse des phénotypes et des génotypes a fourni d'autres arguments en défaveur du caractère délétère de p.Val754Met.
Conclusion : L'ensemble des résultats conduit à proposer la recherche de la délétion CFTRdele3-10,14b-16 si p.Val754Met est identifié et à

considérer ce variant comme non associé à la mucoviscidose lorsqu'il est présent de façon isolée.

Mots-clés : CFTR, réarrangements, PCR quantitative.

■P323 / 228. PROGRÈS DANS L'IDENTIFICATION DES CONDUCTRICES D'HÉMOPHILIE

F. Niel (1, 2), J. Martin (1), A. Delahaye (1, 2), A. Frances (3), E. Girodon (1, 2), M. Goossens (1, 2), C. Costa (1, 2)
(1) Laboratoire de Biochimie et Génétique Moléculaire, AP-HP ; (2) INSERM U654, Créteil ; (3) Service de génétique, Hôpital Font-Pré, Toulon, France

L'hémophilie est une affection hémorragique héréditaire liée au chromosome X, due à des anomalies des gènes du facteur VIII de la coagulation (F8, hémophilie A) ou du facteur IX (F9, hémophilie B). L'identification des conductrices est l'une des missions majeures du conseil génétique dans la prise en charge des familles d'hémophiles. Elle consiste à caractériser la mutation délétère par l'analyse exhaustive de la séquence codante chez le cas index, puis à la rechercher chez les patientes à risque. Cependant les délétions d'un ou plusieurs exons, qui représentent 5 % des anomalies moléculaires responsables de l'hémophilie, ne peuvent être mises en évidence chez les conductrices potentielles par les méthodes de PCR conventionnelle. La PCR quantitative en temps réel permet de répondre efficacement, mais seulement une fois le siège de la délétion identifié, au contraire de la PCR fluorescente semi-quantitative multiplex. Nous avons développé un tel test pour le diagnostic de l'hémophilie B, explorant les 8 exons, le promoteur et la séquence 3' non traduite du gène F9. Cela nous a permis d'établir le statut de patientes dans 6 familles d'hémophilie B non apparentées, porteuses d'une délétion complète ou partielle du gène F9. Cette méthode a également été appliquée avec succès dans plusieurs situations délicates où aucun cas index n'était disponible : patient décédé ou non compliant, absence d'antécédent familial d'hémophilie et FIXc abaissé chez une femme mais étude complète du gène F9 négative. Par rapport à la PCR en temps réel, cette méthode présente l'avantage d'étudier plusieurs loci en même temps et d'être moins onéreuse. De plus elle est suffisamment sensible pour détecter les délétions ou insertions d'une base, ce qui en fait un puissant outil de détection. De telles anomalies représentent 24 % des mutations responsables de l'hémophilie A et ce test pourrait avantageusement être utilisé en première intention avant la laborieuse étude des 26 exons du gène F8.

Mots-clés : hémophilie, réarrangements, hétérozygotes.

■P324 / 232. ÉVALUATION DE L'IMPACT DES GRANDS RÉARRANGEMENTS DU GÈNE CFTR CHEZ LES PATIENTS PRÉSENTANT UNE ABSENCE CONGÉNITALE DES CANAUX DÉFÉRENTS

C. Guittard, C. Templin, J.P. Altiéri, M. Claustres, M. des Georges
Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHU de Montpellier

L'absence bilatérale des canaux déférents (ABCD) est une affection congénitale de transmission autosomique récessive retrouvée chez environ 1 homme sur 1 000. Elle représente 6 à 8 % des cas d'azoospermie obstructive et est considérée comme une forme incomplète de mucoviscidose. En Languedoc-Roussillon, l'analyse exhaustive des 27 exons du gène CFTR (Cystic Fibrosis Transmembrane conductance Regulator) et de leurs séquences flanquantes par PCR-DGGE (Denaturing Gradient Gel Electrophoresis) ou DHPLC (Denaturing High Performance Liquid Chromatography) de 185 patients porteurs de cette pathologie a permis d'identifier une mutation sur 85 % des allèles ABCD (78,5 % des patients sont hétérozygotes composites, 8 % portent un seul allèle muté et aucune altération responsable de cette pathologie n'a été détectée chez 13,5 % d'entre eux). Les grands réarrangements échappent aux techniques de balayage et sont longtemps restés sous-estimés. Ils représentent à l'heure actuelle environ 2 % des altérations décrites au CFGAC (www.genet.sickkids.on.ca/cftr). Nous avons donc développé puis appliqué à 28 patients ABCD incomplètement génotypés (soit 39 allèles inconnus) 3 PCR semi-quantitatives fluorescentes permettant la recherche de grandes délétions et/ou duplications sur les 27 exons du gène CFTR.

Un grand réarrangement a été mis en évidence chez 2/28 patients (7,14 %) :

– la mutation IVS1-5811_IVS2+2186ins186pb en trans d'un allèle TG12T5 ;

– la mutation IVS21-3890_Stop+3143del9454 insTAACT en trans de l'altération p.R170H.

Ces deux grandes délétions-insertions englobant respectivement un et trois exons (exon 2 et exons 22-23-24) représentent 5 % des allèles inconnus dans cette population soit 0,54 % des allèles ABCD. Ce pourcentage est comparable à celui que nous avons retrouvé dans la population des patients atteints de mucoviscidose. Parmi les 1 320 allèles CF analysés au laboratoire, 5 grands réarrangements (del2, del2-3, del17a-17b, del17a, del22-23) ont été ainsi mis en évidence sur 8 chromosomes ce qui représente 0,60 % des allèles responsables de mucoviscidose classique. De plus, ces mutations ont été identifiées chez des patients porteurs à l'état hétérozygote, d'une altération de séquence modérée impliquée dans les formes incomplètes de mucoviscidose. Il paraît donc justifié de poser à nouveau le problème de l'implication du gène CFTR chez les patients ABCD pour lesquels aucune altération n'a pu être mise en évidence après une analyse extensive.

Cette étude montre l'importance de réaliser une analyse complète du gène CFTR dans la population ABCD :

– D'une part, cette recherche est majeure lorsque la conjointe est hétérozygote pour une mutation sévère. L'identification de deux mutations parentales responsables de mucoviscidose classique permettra de proposer au couple un DPN (Diagnostic Pré-Natal) ou un DPI (Diagnostic Pré-Implantatoire).

– D'autre part, après information, les apparentés pourront bénéficier d'une consultation spécialisée de conseil génétique suivie d'une analyse moléculaire à la recherche d'anomalies sévères du gène CFTR qui permettra d'évaluer le risque de l'enfant à naître si le couple a un projet parental.

Mots-clés : *CFTR*, ABCD, grands réarrangements.

■P325 / 233. GÉNÉRÉTRIEVER : UN LOGICIEL PERMETTANT L'EXTRACTION AUTOMATIQUE DES DONNÉES CONCERNANT TOUS LES GÈNES ET TRANSCRITS LOCALISÉS ENTRE DEUX MARQUEURS GÉNÉTIQUES

M. Clément-Ziza (1), Y. Brody (2), A. Munnich (1), S. Lyonnet (1), et C. Besmond (1)
(1) INSERM U393, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France ; (2) Department of Biology, Bar Ilan University, Ramat Gan, Israel

GeneRetriever est un programme développé en Perl qui permet de récupérer automatiquement les informations concernant tous les gènes et les transcrits localisés entre deux marqueurs génétiques choisis par l'utilisateur. Les informations sont extraites à partir des bases de données Ensembl ou NCBI et les requêtes sont définies à partir d'une interface graphique simple. Peuvent être recherchés le nom du gène, son identifiant, le type de gène (connu ou prédit), son sens sur génome (brin plus ou brin moins), sa localisation chromosomique, un résumé des annotations fonctionnelles, un lien vers la page web du gène, ainsi que le nombre de transcrits de chaque gène. Les numéros d'accession Ensembl ou RefSeq peuvent être extraits pour chaque transcrit ainsi que des données structurales (nombre d'exons, taille du transcrit, taille du plus grand exon) et les séquences nucléotidiques. Des options de tri à la volée sont facilement paramétrables via l'interface du logiciel. GeneRetriever génère une table en texte brut séparée par des tabulations, qui peut être importée vers un tableur type Microsoft Excel, ou vers une base de donnée type Access ou FileMaker Pro. GeneRetriever a été développé pour récupérer les données nécessaires au développement d'une puce à ADN « à façon » contenant l'ensemble des transcrits localisés dans des intervalles génétiques candidats d'une maladie génétique, et testant ces transcrits candidats par la position, au crible de leur patron d'expression. GeneRetriever est un outil innovant, utilisable par tous les généticiens souhaitant identifier un gène par une stratégie de clonage positionnel. Il peut s'installer sous tous les systèmes d'exploitation. Il est simple à utiliser pour les novices en informatique. Il est rapide et ne requiert qu'une connexion internet pour fonctionner. Il est distribué gratuitement sous une Licence Public Générale (GNU GPL). Le programme, la documentation ainsi que son code source sont disponibles sur le web http://www.necker.fr/GeneRetriever

Mots-clés : bioinformatique, puce à ADN, clonage positionnel.

■P326 / 235. ANALYSE DU GÈNE NF1 PAR DHPLC : UNE EXPÉRIENCE FRANÇAISE

Pinson S. (1), Blachier C. (1), Lefebvre S. (1), Combemale P. (2), Giraud S. (1), Lesca G. (1), Wolkenstein P. (3), Calender A. (1)
(1) Service de Génétique Médicale et Moléculaire, Hôpital Édouard-Herriot, Lyon, France ; (2) Service de dermatologie, HIA Desgenettes, Lyon, France ; (3) Service de dermatologie, Hôpital Henri-Mondor, Créteil, France

L'identification des mutations du gène *NF1* responsable de la neurofibromatose de type 1 (NF1) reste un travail difficile qui est principalement expliqué par la grande taille du gène (350 kb – 60 exons) et le nombre restreint de mutations récurrentes. La prévalence importante de la NF1, qui touche un individu sur 3 500, a orienté notre laboratoire à choisir la dHPLC (Chromatographie liquide à haute pression en condition

dénaturante) comme méthode de criblage des mutations du gène *NF1*. L'analyse par dHPLC a été optimisée pour permettre un criblage rapide de l'ensemble des 60 exons codants et des régions introniques flanquantes comprenant les sites consensus d'épissage. La méthode a été validée par l'analyse, dans un second temps, de 61 mutations connues localisées dans les deux tiers des exons. La sensibilité a été évaluée lors de l'analyse de 53 patients *NF1* dont le diagnostic était certain (Présence d'au moins deux critères diagnostiques de Bethesda). L'absence d'une délétion complète du gène *NF1* a été écartée dans un premier temps grâce à l'analyse de microsatellites intragéniques. Des mutations ont été identifiées pour 51 patients avec un taux de détection de 96 %. Les mutations détectées correspondent à 11 délétions, 6 insertions, 16 mutations non sens, 5 mutations faux sens, 12 mutations introniques localisées au niveau des sites d'épissage et une anomalie complexe de type insertion-délétion. Nos résultats confirment l'intérêt de la dHPLC comme méthode de criblage sensible, rapide et automatisable pour l'analyse du gène *NF1*. Le taux de détection trouvé dans notre série montre une nouvelle fois la nécessité d'un recueil précis des informations cliniques pour poser le diagnostic.

Mots-clés : neurofibromatose, *NF1*, dHLC.

■P327 / 237. ANALYSE DU GÈNE *MUTYH* PAR DHPLC

Tremolet L. (1), Saurin J.C. (2), Lefebvre S. (1), Giraud S. (1), Lesca G. (1), Calender A. (1), Pinson S. (1)
(1) Service de Génétique Médicale et Moléculaire, Hôpital Édouard-Herriot, Lyon ; (2) Service d'hépato-gastroentérologie, Centre Hospitalier Lyon Sud, Lyon

La découverte d'un nouveau gène MUTYH responsable d'un tableau clinique digestif similaire à la polypose adénomateuse familiale (PAF) de type atténuée apporte une possibilité diagnostique nouvelle pour les patients dont aucune mutation APC a été détectée. Malgré l'existence de quelques mutations fréquentes dans nos populations, la nécessité de l'analyse de l'ensemble des régions codantes ne semble plus faire de doute. Dans cette optique, nous avons mis au point l'analyse du gène MUTYH par dHPLC (Chromatographie liquide à haute pression en condition dénaturante) associée à l'utilisation de la PCR Touch-Down afin d'augmenter la spécificité des amplifications et diminuer le temps de l'analyse. Le mélange des prélèvements des patients avec celui de témoins indemnes permet la détection au cours de la même injection, des mutations homozygotes et hétérozygotes. La mise au point a été validée dans un second temps par la détection de témoins positifs connus. Les premiers résultats confirment l'efficacité et la rapidité de la dHPLC dans l'analyse du gène MUTYH. L'automatisation de la méthode permettra de répondre à la demande croissante d'analyse de MUTYH chez les patients porteurs de polypes multiples.

Mots-clés : *MUTYH*, polypose digestive, dHPLC.

■P328 / 239. MISE EN PLACE DU DIAGNOSTIC MOLÉCULAIRE DES MUTATIONS DU GÈNE *LAMA2* À MONTPELLIER

C. Giannesini, B. Hashemi, C. Bareil, M. Claustres, C. Béroud
Laboratoire de Génétique Moléculaire, IURC, 641, avenue du doyen G. Giraud, 34093 Montpellier, France

Les Dystrophies Musculaires Congénitales (DMC) à déficience complète ou partielle en mérosine ont un mode de transmission autosomique récessif et représentent 50 % des DMC. Leur incidence varie de 7 à 12 cas pour 100 000 naissances. Le gène LAMA2 code pour la chaîne a-2 de la protéine Laminin-2, glycoprotéine hétérotrimérique localisée dans la matrice extracellulaire des fibres musculaires.
Moins de 100 mutations ont été décrites à ce jour. Ce sont majoritairement des substitutions nucléotidiques (68,3 %) réparties sur l'ensemble du gène. En l'absence de point chaud de mutations, l'ensemble du gène doit être criblé. Pour cela, nous avons adapté la technique SCAIP (Single Condition Amplification Internal Primers) afin de cribler les 65 exons sur ADN génomique. Après PCR simplex (66 amplimères) en plaque de 96 puits et purification à l'ExoSAP, le séquençage double brin est réalisé sur un séquenceur automatique (16 capillaires) ABI 3130xl et analysé grâce aux logiciels Sequencing Analysis® et Seqscape®. Les mutations identifiées sont contrôlées à l'aide d'une seconde méthode : la dHPLC sur WAVE®. Depuis la mise en place du diagnostic moléculaire LAMA2 au laboratoire, 8 familles ont bénéficié d'un criblage complet des 65 exons. Pour 6 d'entre elles, nous avons identifié les 2 mutations causales et pour 2 familles nous n'avons détecté aucune variation. Sept autres familles sont en cours d'étude. Aucune des mutations identifiées n'a été décrite auparavant. Elles se répartissent en 3 mutations introniques affectant un site d'épissage, dont une présente à l'état homozygote ; 1 mutation exonique affectant également un site d'épissage ; 2 mutations non-sens ; 5 délétions dont 4 conduisent à un codon stop prématuré et dont une est localisée dans le 3' UTR. Afin de démontrer le caractère pathogène des mutations introniques localisées dans un site d'épissage, nous avons étudié l'ARNm extrait des biopsies musculaires de 2 patients par RT-PCR et séquençage. Nous avons pu démontrer, dans tous les cas, l'existence d'ARNm avec une délétion de l'exon adjacent à la mutation. Des études parallèles sur des ARNm extraits de fibroblastes ont montré l'absence de transcrit alternatif spécifique de ce tissu. Des prélèvements cutanés pourraient être une alternative intéressante à la biopsie musculaire pour ce type d'étude. Parallèlement à ces mutations dont le caractère pathogène est démontré, nous avons identifié 17 variations faux-sens dont 13 correspondent à des polymorphismes décrits dans la dbSNP. Huit ont été retrouvées dans au moins 2 familles. Quatre variations n'ont été retrouvées que dans une famille et n'ont jamais été décrites auparavant. Deux sont localisées dans les introns à distance des sites d'épissage. Les 2 autres sont des mutations faux-sens provoquant un changement d'acide aminé. Puisqu'elles sont associées à 2 mutations causales, elles peuvent être considérées comme de probables polymorphismes.
Parallèlement, nous avons développé la banque de données des mutations du gène LAMA2 : UMD-LAMA2. Elle inclut l'ensemble des mutations et des polymorphismes publiés du gène LAMA2. Différents outils d'analyse permettent de rechercher les points de branchement et les sites ESE et ESS. Ces outils, couplés à l'analyse de la force des sites d'épissage, permettent d'orienter l'utilisateur afin d'évaluer le caractère pathogène des mutations. Le laboratoire de Génétique de Montpellier étant le seul laboratoire Français de diagnostic des mutations du gène LAMA2, à ce jour, nous avons obtenu les prélèvements de 51 familles (dont 11 couples consanguins) représentant 140 individus provenant de l'ensemble du territoire français mais aussi de l'étranger.

Mots-clés : *LAMA2*, mérosine, dystrophies musculaires congénitales.

■P329 / 240. NOUVELLE STRATÉGIE D'ANALYSE COMPLÈTE DU GÈNE CFTR

J. PAltiéri, C. Templin, C. Guittard, M. Claustres, M. des Georges
Laboratoire de Génétique Moléculaire CHU de Montpellier

La mucovicidose est l'une des maladies génétiques sévères les plus fréquentes en France. Elle peut se manifester dès le 2e ou le 3e trimestre de grossesse par la présence d'une hyperéchogénicité intestinale (HEI) chez le fœtus. Après avoir recherché les mutations les plus fréquentes du gène CFTR à l'aide d'un kit offrant un taux de couverture d'environ 80 %, le risque de mucoviscidose pour un fœtus porteur de l'une de ces mutations s'élève à 1/5. Ce risque extrêmement élevé implique la nécessité d'explorer complètement et rapidement l'ADN fœtal à la recherche d'une deuxième mutation.
L'augmentation du nombre d'HEI (la demande a été multipliée par 6 en Languedoc-Roussillon en 8 ans) ainsi que leur caractère tardif nous ont conduits à mettre en place une nouvelle stratégie d'analyse du gène CFTR. Basée sur la méthode SCAIP (Single Condition Amplification Internal Primer), l'amplification de tous les exons en une seule PCR, permet le séquençage direct de chaque exon et de ses séquences introniques flanquantes (Big Dye, Sequencing Analysis, ABI 3130xl). Les 27 exons du gène CFTR sont analysés en 30 amplicons (2 amplicons chevauchants de 528 et 497 pb pour l'exon 13 et, pour les exons 6b et 9, une seconde amplification plus interne éliminant les séquences répétées introniques pouvant gêner la lecture). Les séquences obtenues sont comparées à la séquence de référence au moyen du logiciel Seqscape2.5. L'automatisation de l'ensemble de ces étapes permet une excellente reproductibilité et un important gain de temps.
Cette technique a été validée chez des patients préalablement génotypés par les méthodes de criblage couramment utilisées au laboratoire : DGGE (Denaturing Gradient Gel Electrophoresis) ou DHPLC (Denaturing High Performance Liquid Chromatography) complétées par un séquençage pour identifier tout profil anormal. Nous avons pu identifier en moins de 3 jours (à partir d'ADN préalablement extrait) les mutations de tous nos patients et mettre en évidence en une seule étape les allèles complexes de 2 d'entre eux. Simultanément à cette méthode, nous réalisons 3 PCR multiplex semi-quantitatives fluorescentes à la recherche des grands réarrangements du gène CFTR.
Cette stratégie, mise en place pour obtenir une réponse rapide dans les cas de suspicion fœtale à risque élevé de mucoviscidose, est aussi utilisée chez les conjoint(e)s de patients atteints de mucoviscidose pour lesquels une recherche exhaustive des mutations du gène CFTR est recommandée. La rapidité et la fiabilité du séquençage associées à la recherche des grands réarrangements permettent d'obtenir en 3 à 5 jours un taux de couverture maximal, supérieur à 97 % dans la majorité des cas.

Mots-clés : *CFTR*, SCAIP, hyper échogénicité intestinale fœtale.

■P330 / 241. DIAGNOSTIC MOLÉCULAIRE DU SYNDROME DE USHER : MISE EN PLACE ET BILAN

V. Faugère (1), L. Larrieu (1), S. Le Guédard (1), N. Pallares-Ruiz (1), A. Vielle (1), M. Claustres (1), A.-F. Roux (1)
(1) Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHU de Montpellier

Le syndrome de USHER se caractérise par l'association d'une surdité de perception et d'une rétinopathie pigmentaire (RP). Transmis sur le mode autosomique récessif, sa prévalence est de 1/25 000 ; il représente 6 % des enfants sourds et 18 % des patients atteints de RP. Le syndrome de Usher est cliniquement et génétiquement hétérogène. On dénombre 3 types cliniques définis selon le degré de surdité et l'âge d'apparition de la RP : le type 1 (30 %) est la forme la plus sévère avec une surdité congénitale profonde, un dysfonctionnement vestibulaire et une RP d'apparition précoce ; le type 2 (60 %) est caractérisé par une surdité congénitale moins sévère, une fonction vestibulaire normale et une RP débutant à la puberté ; et on retrouve dans le type 3 (10 %) une surdité progressive, un début de rétinite pigmentaire à un âge variable et la présence éventuelle de dysfonctionnement vestibulaire. Actuellement, 8 gènes responsables ont été identifiés.

La mise en place du diagnostic moléculaire de ce syndrome et le recrutement des familles se fait dans le cadre d'un PHRC national avec la participation de 20 centres répartis dans toute la France où collaborent ophtalmologistes, ORLs et conseillers en génétique. Depuis 2 ans, cette collaboration a permis de recruter 152 familles atteintes du syndrome de Usher dont la répartition clinique est la suivante : 62 familles de type 1, 75 familles de type 2, 3 familles de type 3 et 7 familles présentant un Usher atypique. Pour les familles USH1, l'analyse moléculaire est précédée d'une étude de marqueurs microsatellites localisés aux différents loci USH1 afin de restreindre le nombre de gènes à analyser et/ou de mettre en évidence une homozygotie à un locus donné. Néanmoins, l'ordre de séquençage des gènes restant candidats après analyse indirecte, respecte la fréquence d'implication de ceux-ci soit MYO7A, CDH23, PCDH15, USH1C et SANS. Selon les cas, le séquençage peut être effectué sur les 5 gènes USH1. Pour le type 2, sur les deux gènes clonés, seul le gène USH2A est analysé. Ce gène est encore très mal connu puisque 51 des 72 exons ont été identifiés seulement en 2004. Seul le gène de la Clarin, est connu et étudié dans le type 3.

La recherche de mutations est réalisée par PCR-séquençage en plaque des exons et des régions introniques flanquantes. Dans tous les cas, l'analyse moléculaire est effectuée en parallèle d'une étude épidémiologique indispensable pour évaluer la fréquence des différents variants identifiés dans notre population.

Jusqu'à ce jour, 25 familles USH1 ont été génotypées mettant ainsi en évidence 37 mutations pathogènes dont 22 jamais décrites. Quinze familles USH2 ont été génotypées dans les 72 exons permettant l'identification de 6 nouvelles mutations troncatives et 8 faux-sens dont l'interprétation reste délicate. Aucune mutation du gène Clarin n'a pu être identifiée jusqu'ici. L'analyse exhaustive des gènes Usher permettra de définir des haplotypes complexes. Pour chaque gène, des points chauds mutationnels pourront être mis en évidence. Les amplicons correspondants, tout gène confondu, seront alors regroupés sur une seule plaque afin de permettre un premier criblage efficace et rapide.

Parallèlement, les données phénotypiques seront regroupées pour permettre entre autres d'établir des corrélations génotype/phénotype.

Mots-clés : diagnostic, Usher, mutations.

■P331 / 243. CALCINOSE TUMORALE DANS UNE FAMILLE ORIGINAIRE D'AFRIQUE NOIRE : ASPECTS CLINIQUES, BIOLOGIQUES ET MOLÉCULAIRES

A. Laleye (1), J. Alao (1,6), G. Gbessi (2), O. Biaou (3), M. Adjagba (1), M. Marche M(4), I. Coupry (4), Redonnet-Vernhet (5), B. Ayivi (6), R.B. Darboux (1), D. Lacombe (7), B. Arveiler (4)
(1) Unité de Biologie Humaine, Faculté des Sciences de la Santé, Cotonou, Bénin ; (2) Service de Chirurgie Viscérale, CHU Hubert K. Maga, Cotonou, Bénin ; (3) Service de Radiologie, CHU Hubert K. Maga, Cotonou, Bénin ; (4) Laboratoire de Génétique Humaine, Développement et Cancer, Université Bordeaux 2 ; (5) Laboratoire de Biochimie, Hôpital Pellegrin, CHU de Bordeaux ; (6) Service de Pédiatrie et Génétique Médicale, CHU Hubert K. Maga, Cotonou, Bénin ; (7) Service de Génétique Médicale, Hôpital Pellegrin, CHU de Bordeaux

La Calcinose Tumorale Familiale (CTF) est une maladie autosomique récessive rare du métabolisme phosphocalcique. Elle est caractérisée par des dépôts de calcium périarticulaire dans la peau et les tissus sous-cutanés. Une hyperphosphatémie secondaire à l'augmentation de la rétention rénale de phosphate est l'anomalie métabolique majeure associée à la CTF. Elle est accompagnée, de manière inappropriée, de niveaux normaux ou élevés de 1,25 (OH)2 Vit D3, d'un niveau normal de calcium sérique et d'hormone parathyroïde (PTH). Depuis la description originale de la CTF par Giard en 1898, la pathogénie de la maladie est restée largement incomprise jusqu'à la description récente de mutations dans les gènes FGF23 et GALNT3 codant respectivement pour une protéine à effet phosphaturique et une glycosyltransférase dans des familles avec CTF. Nous décrivons deux frères appartenant à une famille d'Afrique noire présentant une forme particulièrement sévère de la maladie avec des calcifications polyviscérales. Nous avons recherché des mutations dans les 10 exons et aux jonctions intron-exons du gène GALNT3. Nous avons trouvé chez les deux patients une mutation à l'état homozygote dans l'intron 1 (Intron 1 c.516-2A>T) qui abolit le score du site accepteur d'épissage de l'exon 2. La mutation a été trouvée à l'état hétérozygote chez les parents et chez trois frères et sœurs sains sur quatre. De façon à rechercher la conséquence de la mutation sur l'épissage de l'ARNm, nous avons réalisé une analyse par RT-PCR. Cette étude illustre les aspects cliniques et moléculaires de la CTF dans une famille originaire d'Afrique noire et l'hétérogénéité phénotypique de la maladie.

Mots-clés : calcinose tumorale familiale, *GALNT3*, analyse moléculaire.

■P332 / 249. SPLICING SÉQUENCES FINDER : UN OUTIL DE PRÉDICTION DES SÉQUENCES IMPLIQUÉES DANS L'ÉPISSAGE

C. Béroud, D. Hamroun, A. Disset, G. Collod-Béroud, S. Tuffery-Giraud, M. Claustres
Laboratoire de Génétique Moléculaire, Montpellier

Le développement du projet de séquençage du génome humain a changé notre vision des maladies génétiques. Il a ainsi permis d'accélérer le clonage de gènes impliqués dans des pathologies humaines et contribué à la mise en place de nombreux diagnostics moléculaires. Ainsi, d'une part, il est aujourd'hui possible de prédire la présence de gènes à partir d'une séquence génomique « brute » et, d'autre part, des milliers de mutations sont identifiées dans les laboratoires de recherche et de diagnostic chaque année avec une proportion sans cesse croissante de mutations introniques. Afin d'évaluer le caractère pathogène de ces mutations introniques, leur impact sur les sites donneurs et accepteurs d'épissage peut être évalué grâce à différents algorithmes qui les comparent avec des séquences consensus. Parallèlement à ces sites bien caractérisés, il est également intéressant d'identifier les points de branchements localisés en amont du site accepteur et dont le rôle clé dans l'épissage peut également expliquer le caractère pathogène de certaines mutations introniques. Parallèlement à ces sites permettant à la machinerie cellulaire de reconnaître un exon, il est récemment apparu que des séquences exoniques et introniques venaient renforcer ou inhiber ces signaux. Ces séquences sont nommées ESE (exonic splicing enhancer), ESS (exonic splicing silencer), ISE (intronic splicing enhancer) et ISS (intronic splicing silencer). Leur identification repose sur des analyses bioinformatiques et fonctionnelles. Il existe ainsi de nombreuses matrices permettant de prédire la présence de telles séquences et ainsi d'évaluer le caractère pathogène de mutations introniques mais également de mutations exoniques du type faux sens.

La diversité des ressources bioinformatiques nécessaires à une évaluation exhaustive de ces différents éléments ainsi que la nécessité d'optimisation de certains algorithmes nous a conduit à développer un nouvel outil informatique : Splicing Sequences Finder. Cet outil permet ainsi de rechercher à partir d'une séquence quelconque les sites donneurs et accepteurs potentiels d'épissage (à l'aide d'un algorithme nouvellement développé et d'une approche classique utilisant les matrices de Sénapathy), le site de branchement à l'aide d'un nouvel algorithme et la présence de signaux enhancer ou silencer d'épissage, tant introniques qu'exoniques, à l'aide des matrices de Cartegni et Krainer (ESE finder), de Fairbrother et Burge (hexamères de Rescue ESE) mais également celles de Zang et Chasing (octamères PESE et PESS), les motifs silencers de Sironi et Pozzoli ainsi que les décamères de Wang et Burge. Ces prédictions sont présentées sous une forme graphique afin de faciliter leur interprétation. Cet outil est librement accessible à l'URL : http://www.umd.be/SSF.

Mots-clés : épissage, bioinformatique, séquences régulatrices.

■P333 / 253. SYNDROME DE SCHWARTZ-JAMPEL : ANALYSE MOLÉCULAIRE ET CLINIQUE D'UNE LARGE SÉRIE DE PATIENTS

M. Stum, C.-S. Davoine, S. Vicart, L. Guillot-Noël, P.C. Quan, B. Fontaine, S. Nicole
Inserm, U546, Paris, France ; UPMC, Paris, France

Le syndrome de Schwartz-Jampel est une pathologie autosomique récessive pour laquelle une grande hétérogénéité clinique est rapportée. Des mutations dans le gène HSPG2 codant pour le perlecan, une protéine sécrétée ubiquitaire présente dans les matrices extracellulaires, ont

récemment été identifiées chez quelques patients. Afin de déterminer le spectre de mutations perlecan dans le syndrome de Schwartz-Jampel et le phénotype associé, nous avons étudié un tiers de la population décrite dans la littérature. Une recherche de mutations dans le gène perlecan a été effectuée dans 23 familles indépendantes (35 patients) répondant à 2 des trois critères de diagnostic proposés pour cette pathologie (âge de début situé dans la petite enfance, raideur musculaire, déformations ostéoarticulaires). L'expression du perlecan a été évaluée sur des cellules (lymphoblastes ou fibroblastes issus de biopsies cutanées) de patients pour déterminer l'effet des mutations identifiées. Une analyse clinique rétrospective a été menée. Nous avons identifié 25 mutations du gène perlecan dans notre cohorte, incluant des délétions et des insertions génomiques, des mutations d'excision-épissage, des mutations faux-sens et des mutations non-sens. Malgré la rareté de cette affection et l'origine ethnique commune de certaines familles, aucun effet fondateur n'a été observé. L'effet délétère de certaines de ces mutations a été confirmé par la réduction de la sécrétion de perlecan par des fibroblastes de 5 patients. Un pattern cellulaire spécifique a été observé entre les mutations tronquantes et les mutations faux sens, suggérant que deux mécanismes moléculaires distincts sont à l'origine du déficit en perlecan. En effet, une diminution du taux d'ARNm a été observée pour les premières, tandis que les secondes sont associées à une rétention cellulaire de la protéine. Malgré cette hétérogénéité moléculaire, une homogénéité clinique a été observée dans notre échantillon. L'âge de début des premiers symptômes (majoritairement une raideur musculaire) se situait entre la naissance et 4 ans. Une raideur musculaire permanente, marquée au visage, était un signe constant à l'examen, au contraire des déformations ostéoarticulaires qui étaient hétérogènes dans leur expression. Nos travaux permettent de redéfinir cliniquement, de proposer un test de diagnostic moléculaire, et d'envisager de nouvelles stratégies thérapeutiques pour le syndrome de Schwartz-Jampel.

Mots-clés : syndrome de Schwartz-Jampel, mutations, clinique.

■P334 / 256. MUTATIONS DU GÈNE CODANT POUR LA PROTÉINE KINASE C GAMMA (PRKCG) DANS L'ATAXIE SPINO-CÉBELLEUSE SCA14

S. Klebe (1), A. Durr (1, 2), V. Hahn-Barma (3), N. Bouslam (1), P. Jedinak (2, 3), E. Denis (1), S. Forlani (1), A. Brice (1, 2, 3), G. Stevanin (1, 2)

(1) INSERM U679, Hôpital de la Salpetrière, Paris ; (2) Département de Génétique Cytogénétique et Embryologie, APHP, Hôpital de la Salpetrière, Paris ; (3) Fédération de Neurologie, APHP, Hôpital de la Salpetrière, Paris

Les ataxies cérébelleuses autosomiques dominantes (ADCA) forment un groupe hétérogène de pathologies neurodégénératives aussi bien d'un point de vue clinique et neuropathologique que génétique avec environ 30 loci responsables. Plus de 50 % des cas sont causés par des expansions trinucléotidiques CAG dans les gènes SCA1, 2, 3, 6, 7 et 17. L'ataxie spinocérébelleuse SCA14 a été localisée sur le chromosome 19 et des mutations ponctuelles dans le gène codant pour la sous-unité gamma de la protéine kinase C (PRKCG), abondante dans le système nerveux, ont été identifiées dans plusieurs familles.

Nous avons séquencé les exons de PRKCG dans lesquels des mutations ont été retrouvées (1, 3, 4, 5, 10 et 18) dans une série de 240 cas index issus de familles avec ADCA non porteuses d'expansions trinucléotidiques CAG. Nous avons pu identifier 6 mutations différentes dans 7 familles françaises. Il s'agit de mutations faux-sens dont la ségrégation a pu être vérifiée dans les familles et qui sont absentes de 560 chromosomes témoins. Deux de ces mutations sont localisées dans le domaine catalytique de l'enzyme : exon 10 (G360S) et exon 18 (F643L). Trois autres mutations ont été trouvées dans l'exon 4 codant pour le domaine régulateur cys2 de l'enzyme (C114Y/G123R/G123E). Enfin, une mutation dans l'exon 18 (V692G) concerne le domaine variable V5.

Les patients présentent une ataxie cérébelleuse d'évolution lente et débutant en moyenne à 33,5 ± 14,2 ans (15 à 60 ans). Les signes cliniques associés sont des troubles cognitifs et des mouvements anormaux rythmiques tels que des myokymies. SCA14 représente donc une forme rare d'ataxie dominante en France (1,5 % ; 7/454).

Mots-clés : ataxie, protéine kinase, mutation.

■P335 / 260. ANALYSE PAR DHPLC DES GÈNES *POLG, ANT1* ET *TWINKLE* CHEZ 15 PATIENTS PRÉSENTANT DES DÉLÉTIONS MULTIPLES OU UNE DÉPLÉTION DE L'ADN MITOCHONDRIAL

S. Bannwarth (1), M. Naïmi (1), V. Procaccio (2), J. Pouget (3), C. Desnuelle (4), J.F. Pellissier (5), A. Rötig (6), A. Munnich (6), C. Richelme (7), P. Jonveaux (8), G. Castelnovo (9), P. Calvas (10), M. Simon (2), J.C. Lambert (1), V. Paquis-Flucklinger (1, 11)

(1) Service de Génétique Médicale, Hôpital Archet 2, CHU Nice ; (2) Center for Molecular and Mitochondrial Medicine and Genetics, University of California, Irvine, USA ; (3) Service de Neurologie, Hôpital Timone, CHU Marseille ; (4) Service de Rééducation Fonctionnelle, Hôpital Archet 1, CHU Nice ; (5) Service de Neuropathologie, Hôpital Timone, CHU Marseille ; (6) INSERM U393, CHU Necker, Paris ; (7) Service de Pédiatrie, Hôpital Archet 2, CHU Nice ; (8) Service de Génétique, Hôpital Brabois, CHU Nancy ; (9) Service de Neurologie, Hôpital Caremeau, CHU Nîmes ; (10) Service de Génétique, Hôpital Purpan, CHU Toulouse ; (11) FRE CNRS 2720, Faculté de Médecine, Université de Nice Sophia-Antipolis

Les gènes POLG (Polymerase Gamma), ANT1 (Adenine Nucleotide Translocator 1) et TWINKLE contrôlent la stabilité de l'ADN mitochondrial (ADNmt) et sont impliqués dans des ophtalmoplégies externes chroniques de transmission autosomique dominante (adPEO). Des mutations dans POLG sont également retrouvées dans des tableaux cliniques variés : PEO de transmission autosomique récessive (arPEO), neuropathie sensorielle ataxique, SANDO (Sensory Ataxic Neuropathy, Dysarthria and Ophtalmoparesis), SCAE (SpinoCerebellar Ataxia and Epilepsy) ou syndrome d'Alpers. Nous avons analysé une série de 15 patients, non apparentés, présentant des modes de transmission et des tableaux cliniques très différents qui illustrent la variabilité des phénotypes associés à une instabilité de l'ADNmt. Tous les patients sont porteurs de délétions multiples ou d'une déplétion de l'ADNmt. Nous avons mis au point l'analyse moléculaire de POLG (23 exons), ANT1 (4 exons) et TWINKLE (5 exons) par dHPLC. Nous avons identifié 7 mutations différentes chez 7 patients sur les 15 analysés (40 %).

Parmi les 6 mutations identifiées dans POLG, 3 n'avaient jamais été décrites (2 mutations faux sens et une « frameshift»). Une mutation dominante a été retrouvée dans TWINKLE et aucune mutation n'a été mise en évidence dans le gène ANT1. Nous décrivons également 17 polymorphismes (dont 4 non encore décrits) dans le gène POLG.

Cette étude démontre l'importance de l'analyse systématique de ces 3 gènes, et surtout de POLG, dans des phénotypes très variés liés à une instabilité de l'ADN mitochondrial. Le protocole que nous décrivons permet d'envisager un « screening » moléculaire rapide, facile à transférer dans un cadre diagnostique.

Mots-clés : stabilité ADN mitochondrial, *POL G*, DHPLC.

■P336 / 261. COMBIEN DE GÈNES DE DYSTONIES FOCALES RESTE-T-IL À IDENTIFIER ?

M.Y. Frederic (1), C.M. Monino (1), C., M. Dhaenens (2), X. Douay (3), M. Martinez (4), I. Vuillaume (2), M. Claustres (1), B. Sablonniere (2), S. Tuffery-Giraud (1), G. Collod-Beroud (1)

(1) Laboratoire de Génétique Moléculaire, IURC, Montpellier, France ; (2) Laboratoire de Biochimie et de Biologie Moléculaire, Hôpital R. Salengro, CHRU, Lille, France ; (3) Clinique Neurologique, Hôpital R. Salengro, CHRU, Lille, France ; (4) Inserm, EMI00-06, Évry, France

La dystonie est une maladie rare caractérisée par des contractions musculaires soutenues et involontaires entraînant des mouvements répétitifs, de torsion et des postures anormales. Les dystonies primaires ou idiopathiques constituent un groupe de pathologies cliniquement et génétiquement hétérogènes. Les formes familiales sont en général de transmission autosomique dominante avec une pénétrance réduite de 30-40 %. Le gène DYT1 sur le chromosome 9q34 est responsable de la plupart des formes précoces qui évoluent le plus souvent vers une forme généralisée. Il existe également des formes focales de début précoce ou tardif dont l'expression clinique est très variée. Les formes les plus communes de dystonies focales incluent les dystonies cervicales ou « torticolis spasmodique », le blépharospasme, les dystonies oromandibulaires, les dystonies du larynx ou « dysphonies spasmodiques » et les dystonies impliquant un membre en particulier « les dystonies de fonction », comme la crampe de l'écrivain. Actuellement 3 loci impliqués dans les dystonies focales ont été mis en évidence DYT6, DYT7 et DYT13, mais aucun gène n'a été identifié. En collaboration avec le CHRU de Lille, nous avons étudié 2 familles françaises avec des signes de dystonies focales apparaissant à l'âge adulte. La première famille DYST143 est composée de 20 sujets dont 5 atteints, la moyenne d'âge d'apparition des signes étant de 43 ± 20 ans. La deuxième famille DYST154 comprend 19 sujets dont 5 atteints, la moyenne d'âge d'apparition des signes étant de 32 ± 16 ans. Dans un premier temps, nous avons recherché pour ces deux familles une implication éventuelle des trois loci connus en étudiant 27 marqueurs polymorphes répartis sur les régions d'intérêt. Cette étude nous a permis, par construction des haplotypes et obtention de valeur de Lod score inférieures à - 2, d'exclure l'implication de ces trois loci dans l'apparition de la maladie (ESHG 2005 P1023, ASHG

2005 P1468). Dans un deuxième temps, nous avons effectué une analyse de l'ensemble du génome dans la famille DYST143 par l'analyse de 380 marqueurs polymorphes en prenant en compte une pénétrance variable en fonction de l'âge. Une nouvelle localisation très probable pour cette pathologie que nous appellerons « DYTL » a été obtenue avec plusieurs lod score supérieurs à + 2 pour des marqueurs contigus et un lod score maximum de + 2,37. L'étude de ce locus dans la deuxième famille, la famille DYST154, montre qu'il n'est pas en cause dans l'apparition de la maladie et donc qu'il existe très certainement un cinquième locus impliqué dans cette pathologie. Le lod score à + 2,37 obtenu dans la famille DYST143 doit maintenant être validé par l'obtention de valeurs statistiquement significatives grâce au recrutement de nouveaux individus dans cette famille ou bien d'autres familles pour lesquelles on pourrait démontrer la ségrégation de cette région avec la maladie. Une dizaine de familles sont actuellement en cours d'analyse pour les 4 loci décrits. Ces résultats démontrent la forte hétérogénéité génétique des dystonies idiopathiques et mettent en évidence la nouvelle localisation d'un gène qui reste à identifier.

Mots-clés : dystonies focales, hétérogénéité génétique, analyses de liaison.

■P337 / 263. SCREENING DU DÉFICIT EN ALPHA-ANTITRYPSINE PAR DISCRIMINATION ALLÉLIQUE

Calvez M. (1), Pedronno S. (1), Cuvellier I. (1), Bazin A. (1), Geromel V. (1)
Laboratoire Pasteur-Cerba, Unité de Biologie Moléculaire, Cergy-Pontoise 95066

Le déficit en alpha-antitrypsin (AAT) est l'anomalie la plus largement identifiée d'un inhibiteur de protéinase causant une affection pulmonaire. Il s'agit d'une maladie autosomique récessive due à des mutations dans le gène AAT situé sur le chromosome 14q31-32.1.

Dans la grande majorité de cas, le déficit en AAT est provoqué par une mutation à l'état homozygote pour l'allèle de PIZ (Glu342Lys, nucléotide 11940G>A, exon 5) ou par la présence de deux mutations à l'état hétérozygote, dans l'allèle PIZ et PIS (Glu342Lys, nucléotide 11940G>A et Glu264Val, nucléotide 9628A>T, exon 3). Les individus présentant un génotype SS ne sont pas atteints, ceux présentant un génotype SZ peuvent être symptomatiques, et ceux présentant le génotype ZZ montrent les symptômes cliniques les plus graves.

Les études de population indiquent que le déficit en AAT est sous-estimé et que de longs délais pour le diagnostic sont courants. Les recommandations récentes de l'Organisation Mondiale de la Santé préconisent des programmes de screening pour les patients présentant une broncho-pneumopathie chronique obstructive ainsi que pour les adolescents asthmatiques. Nous avons mis au point une méthode de screening pour le déficit en AAT par discrimination allélique (méthode TaqMan), méthode rapide et peu coûteuse. L'ADN genomique est extrait à partir de sang total, suivie de deux PCR, l'une pour l'exon 3 et la seconde pour l'exon 5, PCR réalisées en même temps sur l'ABI 7000. L'analyse de 44 patients demande environ une heure pour l'extraction de l'ADN et trois heures pour le génotypage. Les résultats ont montré 100 % de concordance entre le séquençage automatique et la technique Dot Blot.

Nous avons démontré que non seulement la méthode de discrimination allélique est une technique simple, robuste et rapide, mais aussi que par son automatisation elle permet des applications à haut débit évitant ainsi des étapes longues et difficiles de post-PCR.

Mots-clés : AAT, allelic discrimination, TaqMan method.

■P338 / 264. CORRÉLATION GÉNOTYPE-PHÉNOTYPE À PARTIR D'UNE SÉRIE FRANÇAISE DE 30 PATIENTS ATTEINTS DE SYNDROME DE WOLFRAM ET DE 36 APPARENTÉS

C. Rouzier (1), A. Cano (2), S. Monnot (1), J.C. Lambert (1), B. Vialettes (2), V. Paquis-Flucklinger (1, 3) et le Groupe Français d'Étude du Syndrome de Wolfram (4)
(1) Service de Génétique Médical, Hôpital de l'Archet 2, CHU de Nice ; (2) Service d'Endocrinologie, CHU Timone, Marseille ; (3) FRE CNRS 2720, Faculté de Médecine, Université de Nice-Sophia Antipolis ; (4) V. Procaccio, H. Bihan, J.F. Blickle, D. Bonneau, P. Bougneres, D. Chabas, P. Chanson, R. Coutant, L. Dufaitre, P. Lecomte, A. Linglart, S. Odent, S. Sigaudy, P. Sarda, P. Vague, B. Mignot, K. Huber, H. Journel, H. Dollfus, M. de Kerdanet, V. Mesnage, A. Kitzis, K. N'Guyen, J.P. Azoulay, J.L. Sadoul, L. Chaillous

Le syndrome de Wolfram (WS) ou DIDMOAD (Diabetes Insipidus, Diabetes Mellitus, Optic Atrophy and Deafness) (MIM#222300) est une affection rare, de transmission autosomique récessive. Le diagnostic repose sur l'association d'un diabète juvénile et d'une atrophie optique. Les patients peuvent également développer un diabète insipide, une surdité neurosensorielle, des troubles urinaires, une atteinte neurologique et des désordres psychiatriques. La plupart des patients sont porteurs de mutations dans le gène WFS1 qui code pour la wolframine, protéine dont le rôle reste à déterminer. Nous avons récemment publié la première série française incluant 19 patients et 36 apparentés (Giuliano *et al.*, Human Mutation, 2005). Nous décrivons ici 11 nouveaux patients, issus de 10 familles différentes. Des mutations dans WFS1 ont été mises en évidence dans 10 cas sur 11. Parmi les 13 différentes mutations qui ont été identifiées, six n'avaient jamais été décrites. L'analyse des 30 patients montre que les mutations dites « inactivatrices » (non sens ou avec décalage du cadre de lecture) sont associées à un âge de survenue du diabète et de l'atrophie optique plus précoce que les mutations faux sens. En revanche, l'âge d'apparition des autres symptômes ne semble pas influencé par le type de mutation. Nous avons confirmé ces résultats en réalisant une méta-analyse regroupant notre série et 5 autres publiées dans la littérature (95 patients au total). Nous montrons également que les sujets hétérozygotes peuvent présenter une expression partielle de la maladie dans laquelle les polymorphismes de WFS1 pourraient jouer un rôle. Outre son intérêt pour le diagnostic du syndrome de Wolfram, l'analyse moléculaire de WFS1 peut s'avérer utile dans la surveillance des apparentés.

Mots-clés : corrélation génotype-phénotype, *WFS1*, mutations inactivatrices.

■P339 / 267. PLUS D'ARGUMENTS POUR ÉVALUER LA CAUSALITÉ DES MUTATIONS DU GÈNE *FBN1*

M. Frederic (1), C. Monino (1), C. Beroud (1), D. Hamroun (1), L. Faivre (2), G. Jondeau (3, 4), P. Khau van kien (1), M. Claustres (1), C. Boileau (3, 5, 6), G. Collod-Beroud (1)
(1) Laboratoire de Génétique Moléculaire, IURC, Montpellier, France ; (2) Centre de Génétique, Hôpital d'Enfants, Dijon, France ; (3) Consultation pluridisciplinaire Marfan, Hôpital Ambroise-Paré, Boulogne, France ; (4) Service de Cardiologie, Hôpital Ambroise-Paré, Boulogne, France ; (5) Laboratoire central de Biochimie, d'Hormonologie et de Génétique moléculaire, Hôpital Ambroise-Paré, Boulogne, France ; (6) INSERM U383, Hôpital Necker, Paris, France

La fibrilline-1 est le constituant majeur du réseau de microfibrilles de la matrice extracellulaire. Des altérations dans le gène FBN1 qui code pour cette protéine sont associées tant au syndrome de Marfan (MFS) qu'à un large éventail de maladies du tissus conjonctif présentant, soit de façon isolée certains symptômes du MFS (ectopies du cristallin, signes squelettiques ou formes familiales d'anévrysmes), soit des symptômes n'appartenant pas au spectre de ce syndrome (formes néonatales de MFS, syndromes de Shprintzen-Goldberg et Weil-Marchesani). Le MFS est une maladie autosomique dominante avec une expressivité intrafamiliale et interfamiliale très variable qui atteint dans sa forme classique les systèmes oculaire, squelettique et cardiovasculaire. L'ensemble des mutations du gène FBN1 est réparti sur toute la longueur du gène, sans aucune corrélation spécifique apparente avec un signe clinique donné, ni entre structure et fonction. Seul le regroupement des mutations responsables de formes néonatales de MFS a été démontré dans la région correspondant aux exons 24 à 32.

Pour faciliter l'analyse des mutations du gène FBN1 et l'identification de corrélations structure/fonction ou génotype/phénotype, une base de données des mutations de ce gène (UMD-FBN1) a été crée en 1995. Pour chaque mutation, l'ensemble des informations disponibles au niveau du gène, de la protéine ainsi que la description des signes cliniques associés sont fournis. La dernière mise à jour de la base présente plus de 600 mutations de ce gène et est disponible sur internet à l'adresse http://www.umd.be. La grande difficulté du diagnostic du MFS, mis à part la taille du gène (65 exons), réside dans le fait que ces mutations sont en majorité privées et généralement de type faux sens. Puisque la validation in vitro de ces variations de nucléotides n'est pas toujours possible dans le cadre d'un diagnostic, des arguments indirects doivent être accumulés pour évaluer le caractère pathogène de ces mutations faux-sens. Pour cela, nous avons annoté la séquence du gène FBN1 en mettant en évidence les domaines fortement conservés ou HCD (Highly Conserved Domains) qui identifient les acides aminés clés de la protéine. Ces HCD comprennent certaines cystéines impliquées dans les ponts disulfures, des acides aminés dans la liaison au calcium, des asparagines dans la N glycosylation, des glycines dans les repliements entre domaines, des sites de coupure furine/pace ou de métalloprotéases, des acides aminés impliqués dans des sites d'interaction cellulaire type RGD ou des acides aminés très conservés n'ayant pas de fonction connue dans les modules cb EGF-like, TGFBP, EGF-like ainsi que dans les modules fibulin-like (Cterm) et LTPB-like (Nterm) nouvellement décrits. Cette nouvelle annotation des domaines fortement conservés de FBN1 montre que 83 % des mutations faux-sens sont localisées dans l'un de ces domaines même si la fonction de nombreuses parties de la protéine reste à définir.

Ce nouvel outil sera ainsi d'une aide précieuse pour aider le biologiste moléculaire à évaluer le caractère pathogène des mutations faux-sens du gène FBN1.

Mots-clés : syndrome de Marfan, base de données, mutation.

■P340 / 268. HÉTÉROGÉNÉITE GÉNÉTIQUE DU SYNDROME DE BARDET-BIEDL : ÉTUDE DES GÈNES BBS DANS UNE COHORTE DE 64 FAMILLES

M. Cossée (1, 2), V. Laurier (1), C. Stoetzel (1), D. Bonneau (3), A. Verloes (4), P. Bitoun (5), C. Hamel (6), D. Lacombe (7), B. Leheup (8), D. Martin-Coignard (9), G. Morin (10), Mégarbané A (11), F. Perrin-Schmitt (2), J.L. Mandel (2), H. Dollfus (1, 12)

(1) Laboratoire de génétique médicale, Faculté de Médecine, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg ; (2) Laboratoire de Diagnostic Génétique, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg ; (3) Service de Génétique Médicale, CHU, Angers ; (4) Unité de Génétique Clinique, Hôpital Robert-Debré, Paris ; (5) Service de Pédiatrie, Hôpital Jean-Verdier, Bondy ; (6) INSERM U583, Montpellier ; (7) Service de Génétique Médicale, CHU, Bordeaux ; (8) Service de Médecine Infantile III et Génétique Clinique, CHU, Nancy ; (9) Service de Pédiatrie, Centre Hospitalier, Le Mans ; (10) Département de Pédiatrie, CHU, Amiens ; (11) Université St-Joseph, Beyrouth, Liban ; (12) Service de génétique médicale, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg

Introduction : Le syndrome de Bardet-Biedl (BBS) associe rétinopathie pigmentaire, obésité, polydactylie, malformations rénales et génitales et troubles cognitifs. Ce syndrome est génétiquement hétérogène, 9 gènes ont été identifiés (BBS1, BBS2, BBS3, BBS4, BBS5, BBS6, BBS7, BBS8 et très récemment BBS9), et une hérédité triallélique a été démontrée dans certaines familles.
Familles et méthodes : Depuis janvier 2003, une étude des gènes BBS a été entreprise dans une cohorte qui dénombre actuellement 170 familles BBS.
Résultats : Une étude exhaustive des gènes BBS1 à 8 a été réalisée pour 64 familles. Des mutations ont été mises en évidence dans 30 familles. Dans 11 d'entre elles, un seul allèle muté a été identifié. À l'inverse, dans 2 familles, 3 mutations impliquant 2 gènes BBS ont été retrouvées. Nous présentons les 26 mutations identifiées dans les gènes BBS1 à 8 (Hichri *et al.*, 2005 ; Stoetzel *et al.*, 2005), dont 12 mutations non rapportées.
Discussion : Les données de la littérature, et nos résultats sur 64 familles montrent que les mutations récurrentes des gènes BBS sont rares, à l'exception de la mutation M390R de BBS1. Par ailleurs, l'excès de familles hétérozygotes suggère la possibilité d'une hérédité triallélique pour ces familles. Dans environ 60 % des famillles, aucune mutation n'a été identifiée dans les gènes BBS connus, suggérant l'existence d'autres gènes non identifiés. Ces résultats soulignent également les difficultés actuelles pour le conseil génétique et le diagnostic prénatal moléculaire de cette affection.

Mots-clés : syndrome de Bardet-Biedl, gènes *BBS*, hétérogénéité génétique.

■P341 / 282. SECOND CAS D'ALBINISME OCULO-CUTANÉ AVEC DES MUTATIONS DANS LE GÈNE *TYRP1* CHEZ UN PATIENT CAUCASIEN

Caroline Rooryck (1, 2) Christel Roudaut (1), Eulalie Robine (1), Jörg Müsebeck (3) Benoît Arveiler (1, 2)

(1) Service de Génétique Médicale, CHU de Bordeaux ; (2) Laboratoire de Génétique Humaine, Développement et Cancer, Université Victor-Segalen, Bordeaux 2 ; (3) for Human Genetics, Brème, Allemagne

L'albinisme oculo-cutané non syndromique (AOC) est une maladie autosomique récessive hétérogène tant au niveau clinique que génétique avec des mutations identifiées dans différents gènes : AOC1 (TYR), AOC2 (OCA2), AOC3 (TYRP1), et AOC4 (MATP). L'AOC3 semblait restreint aux populations noires, où il était cliniquement décrit comme l'albinisme roux ou brun, jusqu'à une récente observation d'une mutation homozygote de TYRP1 chez des patients caucasiens provenant d'une famille consanguine pakistanaise. Ici, nous décrivons un patient allemand d'origine caucasienne, avec une peau jaune claire, des cheveux jaunes dorés avec des reflets oranges, des sourcils blonds, plusieurs naevi pigmentés et aucune tendance à bronzer, seulement à brûler. Ses yeux sont bleu-gris avec une perte de substance au niveau de l'iris. Les analyses moléculaires n'ont pas identifié de mutation dans les gènes TYR et OCA2. Deux mutations ont été détectées dans le gène TYRP1 : une mutation faux-sens (c.1066G>A/p.Arg356Glu) héritée de sa mère, et une délétion d'une base (c.106delT/p.Leu36X) de novo. Ces données suggèrent que l'étude moléculaire devrait être étendue au gène TYRP1 chez les patients de toutes les origines ethniques, du moins dans les cas où aucune mutation n'a été identifiée dans les autres gènes d'AOC. Le phénotype particulier des cheveux jaunes dorés avec reflets oranges pourrait aussi être indicateur de mutations dans TYRP1 chez des patients avec un phototype clair.

Mots-clés : albinisme oculocutané, *TYRP1*, mutation.

■P342 / 284. ANALYSE MUTATIONNELLE EXHAUSTIVE DU GÈNE *NF1* : ÉTUDE DE 270 MALADES NON APPARENTÉS

C. Bellanné-Chantelot (1), B. Parfait (2), S. Pinson (3), G. Leroy (1), P. Goussard (2), C. Blachier (3), S. Gobrecht (1), M.J. Hamel (2), C. de Toma (4) D. Rodriguez (5), S. Barbarot (6), P. Combemale (7), B. Guillot (8), D. Vidaud (2), P. Wolkenstein (9)

(1) Service de Cytogénétique, AP-HP, Hôpital Saint-Antoine, Paris ; Service de Biochimie, AP-HP, Hôpital Beaujon, Clichy ; (3) Unité de Génétique Moléculaire, Hôpital E.-Herriot, Lyon ; (4) Fondation Jean Dausset-CEPH (5) Service de Neurologie Pédiatrique, AP-HP, Hôpital A. Trousseau, Paris ; (6) Clinique dermatologique, CHU Nantes, Nantes ; (7) Service de Dermatologie, HIA Desgenettes, Lyon ; (8) Service de Dermatologie, Hôpital Saint-Éloi, Montpellier ; (9) Service de Dermatologie, AP-HP, Hôpital H. Mondor, Créteil

Introduction : L'analyse du gène NF1 est rendue difficile par sa taille (350 kb, 60 exons), et par le caractère quasi-privé des mutations. Dans le cadre d'une vaste étude de corrélation phénotype/génotype de la neurofibromatose de type 1 en France, nous avons défini une stratégie de détection des altérations moléculaires du gène NF1. Le premier objectif de l'étude était d'évaluer les résultats de notre stratégie de criblage et de la valider. Malades : Les prélèvements de 270 malades non apparentés ont servi d'échantillons de validation. Ces 270 malades remplissaient les critères diagnostiques de la neurofibromatose 1 défini par le NIH. Leur recrutement a été multicentrique et national. Approche moléculaire : La détection des mutations a été conduite selon une approche en deux temps : 1) Recherche de large délétions génomiques utilisant une approche de génotypage par microsatellites combinée à une PCR quantitative ; 2) Criblage de tous les exons et des régions flanquantes par séquençage direct au niveau ADN génomique et ARN, si aucune délétion n'était détectée. Résultats : Une anomalie moléculaire du gène NF1 a été identifiée chez 228 malades sur 270 conduisant à un taux de détection de 84 %. Des délétions génomiques ont été trouvées chez 16 malades (16/228, 7 %) ; la majorité d'entre elles allant de l'exon 2 à l'exon 48. Une mutation a été identifiée chez 212 malades (212/228, 93 %). La plupart de ces mutations sont privées (84 %) et parmi elles, 109 n'ont jamais été décrites. Le spectre mutationnel est le suivant : 83 mutations avec décalage du cadre de lecture (39 %), 60 mutations non-sens (28 %), 48 mutations affectant le site d'épissage (23 %), et 21 mutations faux-sens (9,9 %). Uniquement deux discordances ont été mises en évidence entre les approches génomique et ARN. Une variation de séquence localisée dans l'intron 6 à +10312 pb du site d'épissage et ayant pour conséquence l'insertion d'un exon supplémentaire ne pouvait pas être détectée par séquençage sur ADN génomique. À l'inverse, une mutation non-sens n'a pas été détectée par l'approche ARN du fait de la dégradation de l'ARNm non-sens. Discussion : Le taux de détection de mutations dans notre série atteint celui des deux grandes séries de la littérature basées sur une stratégie diagnostique beaucoup plus lourde [1, 2]. Les approches sur ADN génomique et ARN ont montré une efficacité similaire. Des discordances étant possibles, les deux approches sont donc complémentaires L'étude de l'ARN présente l'avantage de déterminer les conséquences fonctionnelles de la mutation. L'analyse du spectre mutationnel montre que les mutations s'échelonnent de manière aléatoire tout au long du gène NF1 de l'exon 1 à l'exon 46 sans région de points chauds mutationnels. Contrairement aux données antérieures de la littérature, les mutations identifiées dans cette série ne sont pas particulièrement localisées dans le domaine fonctionnel GAP. En conclusion, notre stratégie d'analyse moléculaire est fondée sur une approche simple en deux temps, très performante. Ces résultats soulignent la faisabilité de la recherche des mutations NF1 à large échelle, un pré-requis à l'étude de la variabilité de l'expression phénotypique de la neurofibromatose 1.

Mots-clés : *NF1*, mutation, délétion.

Références

1. Fahsold *et al. Am J Hum Genet* 2000 ; 66 : 790-818.
2. Messiaen *et al. Hum Mutat* 2000 ; 15 : 541-55.

■P343 / 286. RECOMBINAISON ENTRE CHROMOSOMES NON-DISJOINTS DANS LA TRISOMIE 21 ET CORRÉLATIONS GÉNOTYPE/PHÉNOTYPE DANS LE SYNDROME DE DOWN

E. Haquet, A.-M. Laurent, J. Buard

Institut de Génétique Humaine, UPR CNRS 1142, Montpellier

La variabilité de certains traits phénotypiques du syndrome de Down (DS) résulte-t-elle, au moins en partie, de polymorphismes de gènes du

chromosome 21 ? Quelle est la nature des perturbations de la recombinaison associées à la non-disjonction des chromosomes 21 ? Pour aborder ces questions, nous déterminons les génotypes de variations nucléotidiques ponctuelles (SNP) des chromosomes 21 de 300 trisomiques 21 et leurs parents. Les chromosomes 21 non-disjoints ayant subi un événement de recombinaison dans les 8 Mb terminaux de 21q, échange sous-télomérique en excès dans la trisomie 21, ont été typés à haute résolution, avec un marqueur SNP tous les 200 kb. Nous présenterons la distribution des événements de recombinaison dans cette région. La région critique minimale du syndrome de Down, en 21q22.13, contient probablement des gènes fortement impliqués dans les anomalies cardiaques observées chez 40 % des patients DS et dans le retard mental respectivement. Le typage de 50 SNPs répartis le long de cette région de 2 Mb en 21q22.13 est en cours. Nous présenterons l'analyse de corrélations entre génotypes et phénotypes de groupes de patients DS présentant des sévérités différentes pour ces traits phénotypiques majeurs de DS.

Mots-clés : aneuploidie, génome humain, SNP.

■P344 / 288. MISE AU POINT DE MÉTHODES DE QUANTIFICATION DES TRANSCRITS ET DES PROTÉINES ISSUS DES GÈNES *SMN1* ET *SMN2* POUR LE SUIVI DES ESSAIS CLINIQUES DANS LES AMYOTROPHIES SPINALES INFANTILES

M. Vezain (1), J. Vitte (2), A. Toutain (3), E. Bieth (4), M. Husson (5), J.M. Pedespan (5), I. Penisson (6), S. Ferenbach (7), J. Bou (7), M. Tosi (1), T. Frébourg (1, 7), J. Melki (2), P. Saugier-Veber (1, 7)
(1) Inserm U614, Faculté de Médecine, IFRMP, Université de Rouen ; (2) Laboratoire de Neurogénétique Moléculaire Inserm, Université d'Évry, E.0223, Génopole ; (3) Service de Génétique Médicale, CHU de Tours ; (4) Service de Génétique Médicale, CHU de Toulouse ; (5) Unité de Neurologie de l'enfant et de l'adolescent, Hôpital Pellegrin Enfants, CHU de Bordeaux ; (6) Département de Neurologie, CHU d'Angers ; (7) Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHU de Rouen

Les amyotrophies spinales infantiles (SMA) constituent un groupe d'affections du motoneurone de transmission récessive autosomique. Elles résultent de mutations dans le gène SMN1, essentiellement par délétion homozygote. Tous les patients possèdent au moins une copie du gène SMN2, extrêmement homologue à SMN1. Les deux gènes codent pour la protéine SMN mais le taux de protéine généré par le gène SMN2 est insuffisant pour prévenir le développement de la maladie. Les gènes SMN1 et SMN2 diffèrent fonctionnellement par une variation nucléotidique dans une séquence activatrice d'épissage dans l'exon 7 qui affecte l'efficacité avec laquelle l'exon 7 est incorporé dans le transcrit. Ainsi, le gène SMN2 produit une proportion de transcrits sans exon 7 (ARNm delta7) à l'origine d'une protéine tronquée, instable. Le constat que la sévérité de la maladie est inversement corrélée au nombre de copies du gène SMN2 a conduit à proposer comme stratégies thérapeutiques la modulation de l'épissage du gène SMN2, de manière à favoriser la rétention de l'exon 7, et/ou l'augmentation de la transcription globale, pour obtenir des niveaux suffisants de transcrits pleine longueur. Plusieurs composés comme le valproate de sodium et l'hydroxyurée ont démontré leur efficacité en culture cellulaire. Le suivi des futurs essais cliniques nécessite le développement de méthodes biologiques sensibles pour la quantification des transcrits delta7 et pleine longueur (FL) et le dosage de la protéine SMN. Nous avons développé une RT-PCR fluorescente multiplex capable de mesurer dans le même temps le taux global des transcrits SMN ainsi que le taux des transcrits FL et delta7. Nous avons établi la bonne répétabilité et la bonne reproductibilité de la technique avec des coefficients de variation inférieurs à 10 %. Puis, nous avons étudié l'expression des gènes SMN à partir des leucocytes de 39 patients SMA (9 type I, 20 type II et 10 type III) et 75 sujets sains. Nous avons montré l'absence de variation nycthémérale et de variation nutritionnelle de l'expression. Nos résultats confirment que seul le gène SMN2 génère le transcrit delta7. Nous montrons que, dans les leucocytes, le gène SMN2 produit en proportion égale les transcrits FL et delta7 et que le niveau global d'expression des gènes SMN1 et SMN2 est équivalent. Nous décrivons la corrélation entre le nombre de copies du gène SMN2 et la quantité de transcrit FL, tant chez les patients que chez les sujets sains, et l'absence de corrélation entre le type de SMA et la quantité de transcrit FL due à la variabilité des génotypes au sein d'un même type de SMA. Des études sont en cours pour comparer les rapports des transcrits delta7 et FL dans le muscle et les leucocytes de patients et de sujets contrôles. Enfin, nous évaluerons la sensibilité de la méthode en cherchant à mettre en évidence l'effet du valproate de sodium et de l'hydroxyurée sur les transcrits delta7 et FL dans des lignées lymphoblastoïdes de patients. Parallèlement, le développement d'anticorps spécifiques des formes FL et delta7 de SMN devrait permettre, avec l'analyse des transcrits, une meilleure évaluation de l'effet de ces molécules chez les patients dans le cadre d'essais cliniques.

Mots-clés : amyotrophies spinales infantiles, épissage de l'ARN, expression des gènes *SMN1* et *SMN2*.

■P345 / 292. DÉTECTION RAPIDE DE MUTATIONS DANS LA MALADIE DE FABRY PAR TECHNIQUE D'HPLC EN CONDITIONS DÉNATURANTES (D-HPLC)

I. Redonnet-Vernhet, C. Hubert, A. Laleye, I. Burgelin, S. Dumas, E. Michel, D. Lacombe, C. Goizet, B. Arveiler
Laboratoire de Génétique, EA 3669, Université Victor-Ségalen, Bordeaux 2

La maladie de Fabry est une maladie de surcharge lysosomiale, de transmission liée au chromosome X, par défaut d'activité enzymatique de l'alpha-galactosidase A (alpha-Gal A). Les patients hémizygotes sont facilement diagnostiqués par la mesure de l'activité alpha-Gal A. Chez les femmes hétérozygotes le phénotype clinique est extrêmement variable. Du fait de l'inactivation au hasard du chromosome X, seul le diagnostic moléculaire avec identification de la mutation délétère du gène GLA permet d'affirmer avec certitude le diagnostic d'hétérozygotie pour la maladie de Fabry. La plupart des mutations de la maladie de Fabry sont des mutations privées. Nous présentons ici une méthode rapide de criblage des mutations du gène GLA. À partir d'ADN génomique de patients Fabry et de sujets témoins, les sept exons du gène GLA sont amplifiés puis analysés par D-HPLC. Les produits d'amplification ayant des profils anormaux d'hétéroduplex sont séquencés. Cette technique récemment mise au point pour cette application nous a permis de détecter des mutations et des polymorphismes déjà décrits dans la littérature. De plus, à ce jour nous avons identifié une nouvelle mutation c.551A-G (p.Y184C) dans l'exon 4 chez un patient avec un phénotype classique, et un nouveau polymorphisme c.1276T-C (p.L425L) dans l'exon 7. La D-HPLC semble être une méthode rapide et efficace pour le diagnostic des femmes hétérozygotes et pour l'identification des mutations des hommes hémizygotes pour la maladie de Fabry.

Mots-clés : Fabry, D-HPLC, diagnostic moléculaire.

■P346 / 294. ÉTUDES À HAUTE RÉSOLUTION DE DÉLÉTIONS 16p13.3 PAR ARRAY-CGH CHEZ DES PATIENTS ATTEINTS DE SYNDROME DE RUBINSTEIN-TAYBI ET OPTIMISATIONS TECHNIQUES

M. Stef (1), B. Mardirossian (1), M.Delrue (1, 3), I. Burgelin (1), F. Bonnet (1, 2), C. Hubert (1, 2), P. Gorry (1, 2, 3), M. Longy (1, 2), D. Lacombe (1, 3), I. Coupry (1), B. Arveiler (1, 3)
(1) Laboratoire de Génétique Humaine, Développement et Cancer (EA 3669), Université Victor-Segalen Bordeaux 2, Bordeaux ; (2) Institut Bergonié, Bordeaux ; (3) Service de Génétique Médicale, CHU de Bordeaux, Bordeaux

Le Syndrome de Rubinstein-Taybi (SRT) est un syndrome dysmorphique autosomique dominant rare associé dans 10 à 15 % des cas à des microdélétions de tout ou partie du gène CREB-Binding Protein (CREBBP) localisé dans la région 16p13.3. La recherche de délétions est classiquement effectuée par FISH, analyse de marqueurs microsatellites et PCR quantitative. En raison de la grande hétérogénéité des délétions, à la fois en terme de taille et de localisation dans le gène, aucune de ces trois techniques ne permet de caractériser finement non seulement l'étendue des délétions mais encore leurs points de cassure. C'est pourquoi, dans un souci d'efficacité, nous avons choisi de nous tourner vers une approche nouvelle : l'hybridation comparative sur réseaux d'ADN (ou « puces »), encore connue sous le nom de « array-CGH ». Nous avons construit une puce à ADN contenant différents types de cibles, à la fois de haut poids moléculaire (BACs et cosmides), et de faible poids moléculaire (de l'ordre du kb). Nous présentons ici l'intérêt de l'utilisation d'un contig chevauchant de cibles de haut poids moléculaire, couvrant 2Mb de part et d'autre du gène CREBBP, pour la caractérisation de délétions de grande taille qui pourraient emporter des gènes adjacents. Nous présentons également l'utilisation de cibles de faible poids moléculaire, centrées sur le gène CREBBP, pour la caractérisation de délétions. Une comparaison du comportement de ces cibles sur deux types de lames différant par le revêtement sur lequel l'ADN est fixé est aussi exposée.

Mots-clés : array-CGH, syndrome de Rubinstein-Taybi, délétions.

■P347 / 297. DÉFICIT DE LA PRODUCTION D'ATP DANS L'ATROPHIE OPTIQUE DOMINANTE ET SURDITÉ ASSOCIÉ À LA MUTATION R445H DU GÈNE *OPA1*

P. Amati-Bonneau (1), A. Chevrollier(1), A. Guichet (2), A. Olichon (3), F. Viala (4), C. Ayuso (5), S. Odent (6), C. Arrouet (7), C. Verny (8), P. Belenguer (3), J. Wang (9), J.-L. Puel (9), C. Hamel (9), Y. Malthièry (1), G. Lenaers (9), P. Reynier (1), D. Bonneau (2)

(1) Laboratoire de Biochimie et Biologie Moléculaire-CHU, INSERM U694, Angers ; (2) Service de Génétique Médicale, CHU, Angers ; (3) Laboratoire de Biologie Cellulaire et Moléculaire du Contrôle de la Prolifération UMR CNRS 5088, Université Paul-Sabatier, Toulouse ; (4) Service d'ORL et Oto-Neurologie, CHU Toulouse ; (5) Servicio de Genetica, Fundacion Jiménez Diaz, Madrid, Espagne ; (6) Service de Génétique Médicale, CHU Rennes ; (7) Service d'Otologie et d'Oto-Neurologie, CHU Lille ; (8) Département de Neurologie, CHU Angers ; (9) INSERM U583, Hôpital Saint-Éloi, Montpellier

L'Atrophie Optique Autosomique Dominante (Autosomal Dominant Optic Atrophy, ADOA, MIM 165500) se caractérise cliniquement par une baisse progressive de l'acuité visuelle, un scotome centro-cæcal, une dyschromatopsie dans l'axe bleu-jaune et une atrophie du nerf optique au fond d'œil. L'ADOA, souvent diagnostiquée dans l'enfance, a une pénétrance incomplète et une expressivité intra et inter-familiale variable. Sur le plan histopathologique, l'ADOA se caractérise par une dégénérescence de cellules ganglionnaires de la rétine, une perte de la myéline et du tissu nerveux au niveau du nerf optique, comme celle qui est observée dans la neuropathie optique héréditaire de Leber (LHON). Cette dernière affection constitue le principal diagnostic différentiel de l'ADOA. Le gène OPA1, responsable d'environ 40 % des ADOA, code pour une dynamine/GTPase impliquée dans la dynamique du réseau mitochondrial et dans la structuration des crêtes mitochondriales. Notre équipe, ainsi que plusieurs autres, ont récemment rapporté l'existence d'un nouveau syndrome en relation avec une mutation unique du gène OPA1 associant atrophie optique et surdité progressive (Autosomal Dominant Optic Atrophy and Deafness, ADOAD). Nous avons retrouvé cette mutation R445H, affectant le domaine GTPase très conservé de la protéine OPA1, chez 5 patients non apparentés atteints de ce syndrome. Les tests audiométriques réalisés chez ces patients sont en faveur de l'origine neurogène de cette surdité. L'hypothèse de la neuropathie auditive est supportée par une forte expression d'OPA1 dans les cellules sensorielles et neuronales de cochlées de cochon d'Inde. L'analyse des fibroblastes cutanés de 3 patients comparés à ceux de 3 témoins sains révèle pour la première fois l'existence d'une fragmentation du réseau mitochondrial concernant plus de 90 % des cellules en culture. L'activité de la chaîne respiratoire est normale dans ces fibroblastes, tandis que le potentiel de membrane, le taux d'ATP et le taux de production d'ATP sont significativement diminués. L'augmentation parallèle de la consommation d'oxygène est évocatrice d'un phénomène de découplage qui pourrait être expliqué par la déstructuration des crêtes mitochondriales observée dans les modèles expérimentaux inhibant l'expression d'OPA1. Ces résultats suggèrent que le déficit de production d'ATP pourrait être un mécanisme commun partagé par les neuropathies optiques héréditaires les plus fréquentes (LHON et ADOA). L'étude des conséquences énergétiques des autres mutations du gène OPA1 est cependant nécessaire pour étayer cette hypothèse. En conclusion, les cellules neurosensorielles sont particulièrement sensibles aux anomalies de la dynamique du réseau mitochondrial qui tendent à s'imposer comme responsables d'un nombre croissant d'affections neurodégénératives.

Mots-clés : atrophie optique dominante, surdité, mitochondrie.

■P348 / 303. PROFIL D'EXPRESSION ET PHOSPHORYLATION DES PROTÉINES DE LA VOIE DES MAP KINASES DANS LA DYSTROPHIE MUSCULAIRE DE DUCHENNE : APPROCHE PROTÉOMIQUE

Feron M., Guevel L., Arnaud M.-C., Sakanyan V.
CNRS UMR 6204, Biotechnologie, Biocatalyse et Biorégulation

La dystrophie musculaire de Duchenne (DMD) est une pathologie musculaire héréditaire létale touchant chaque année à la naissance un garçon sur 3 500 à travers le monde. Elle est caractérisée par l'absence d'une protéine, la dystrophine, et se traduit par une perte progressive et irréversible à la fois de la masse et de la fonction musculaires. La dystrophine, protéine fibrillaire de 427 kDa, est localisée à la face interne du sarcolemme et fait partie d'un complexe multi-protéique appelé dystrophin-glycoprotein complex (DGC). Par l'intermédiaire de ce complexe, la dystrophine établit un lien physique entre les filaments fins d'actine du cytosquelette sous-sarcolemmal et les laminines de la matrice extra-cellulaire (MEC). En son absence, le DGC n'est pas retrouvé à la membrane et il en résulte une instabilité du sarcolemme, une entrée de calcium et l'activation des protéases calcium-dépendantes. Cependant, les mécanismes par lesquels l'absence de dystrophine conduit à la nécrose des fibres musculaires demeure à ce jour partiellement incompris. Il a été montré que la &#946 ;-dystroglycane du DGC interagissait avec FAK et Grb2, protéines appartenant à la voie de signalisation cellulaire des MAP kinases. Par ailleurs, une étude réalisée précédemment au laboratoire grâce à la technologie à haut-débit des puces à anticorps avait permis de révéler une diminution du niveau de phosphorylation de FAK, PYK et c-Raf, kinases situées en amont de ERK, dans les muscles de patients DMD. Les MAP kinases sont des enzymes clés de la signalisation cellulaire et jouent un rôle majeur dans de nombreux processus : régulation du cycle cellulaire, apoptose, prolifération, différenciation... Afin de déterminer leur contribution à la dégénérescence du muscle dystrophique, leur niveau d'expression et de phosphorylation a été étudié dans plusieurs modèles : chez l'homme (biopsies de muscle paravertébral de témoins et de patients atteints de DMD) et chez la souris (cultures primaires de cellules satellites et muscles de souris sauvages et mdx). Cette étude a été réalisée en utilisant des techniques classiques de protéomique et grâce à la technologie à haut-débit des puces à protéines, avec deux approches complémentaires : les puces à anticorps et la technique de « Reverse phase ». Les premiers résultats obtenus indiquent une forte augmentation du niveau d'expression des kinases ERK1/2 en cas de dystrophie, et ce dans tous les modèles étudiés. Cependant, chez la souris, un défaut de phosphorylation (non visible sur les cultures de cellules satellites) est présent dès 4 semaines dans les muscles mdx. Ce défaut de phosphorylation des kinases ERK1/2 présente en outre une évolution importante dans le diaphragme, muscle nécrosé. Dans le Tibialis anterior, le défaut est au contraire plus marqué à 1 mois, âge correspondant au pic nécrotique, et tend à diminuer par la suite, lorsque les cycles de nécrose/régénération permettent de compenser la dégénérescence des myofibres. Cette diminution du niveau des protéines ERK1/2 actives semble donc être liée au phénotype dystrophique du muscle et non à l'absence primaire de dystrophine et pourrait avoir un rôle dans le développement de la pathologie. Enfin, une activation des voies JNK et FAK est observée dans les muscles mdx. Ces résultats confirment donc l'implication des protéines de la voie des MAP kinases dans le développement des dystrophies musculaires.

Mots-clés : myopathie du Duchenne, puces à protéines, MAP kinases.

■P349 / 310. DES SOURIS ET DES HOMMES : SIMPLICITÉ DU MODÈLE MURIN, COMPLEXITÉ DE LA RÉALITE HUMAINE DU PROFIL DE MÉTHYLATION DE LA DMR DE *H19*

J.-M. Dupont (1, 3), J. Tost (2), Hélène Jammes (1), Daniel Vaiman (1), Ivo G. Gut (2)
(1) Université Paris Descartes, INSERM U709, Hôpital Cochin, Paris ; (2) Centre National de Génotypage, Évry ; (3) Université Paris Descartes, APHP, Histologie Embryologie Cytogénétique, Hôpital Cochin, Paris

Les gènes soumis à l'empreinte parentale représentent moins de 0,5 % de l'ensemble des gènes du génome mammalien. Leur caractéristique prinicipale est une expression restreinte à un seul allèle, soit l'allèle porté par le chromosome paternel, soit l'allèle porté par le chromosome maternel. Dans plusieurs cas, il a été montré que ces gènes présentent un profil de méthylation différent entre les deux allèles parentaux au niveau de loci particuliers, appelés DMR (Differentially Methylated Regions). La méthode de choix pour analyser cette méthylation allèle-spécifique consiste à modifier l'ADN par le Bisulfite de Sodium transformant ainsi les cytosines non méthylées en uracile, tandis que les cytosines méthylées sont conservées. Une des régions les plus étudiées et qui sert de modèle au phénomène d'empreinte parentale est la région contenant les gènes IGF2 et H19. Pour cette région, la grande majorité des résultats expérimentaux dont nous disposons proviennent d'études réalisées chez la souris, par une technique impliquant le clonage puis le séquençage de produits PCR après transformation de l'ADN par le Bisulfite. Cette technique ne permet d'analyser qu'un nombre restreint de molécules d'ADN laissant probablement la place à des biais de significativité des résultats obtenus. Nous avons utilisé une nouvelle technologie de séquençage en temps réel, le Pyroséquençage®, pour analyser le profil de méthylation de deux DMR de la région IGF2-H19 sur des échantillons de placenta et de lymphocytes humains. Cette approche nous a permis de confirmer chez l'homme certains des résultats obtenus chez la souris, mais a aussi mis en évidence des résultats inattendus. Pour IGF2, on retrouve comme prévu une hémiméthylation globale de la DMR étudiée, compatible avec le modèle de l'empreinte, c'est-à-dire qu'un allèle est méthylé et l'autre déméthylé. En revanche, la précision de la méthodologie que nous avons utilisée montre que le degré de méthylation de chaque doublet CpG successif est très variable, donnant un profil de méthylation spécifique de la séquence et reproductible chez tous les individus testés quelque soit le type d'échantillon analysé. Les résultats pour la DMR localisée en amont du gène H19 sont encore plus inattendus, puisqu'on ne retrouve pas systématiquement le profil hémiméthylé théoriquement présent dans les régions soumises à empreinte. On observe en fait la présence de trois profils de méthylation possibles, hypo, hémi ou hyper méthylé, aussi bien dans le sang que dans le placenta. Ces profils, qui ont été confirmés par deux autres techniques d'analyse de la méthylation, sont pourtant tous associés à une expression

monoallélique de H19. Ceci sous-entend une absence de corrélation entre la méthylation de cette DMR de H19 et l'expression allèle spécifique du gène chez l'homme, contrairement à ce qui été rapporté chez la souris. De plus, nous avons démontré l'existence d'une corrélation très forte entre le niveau d'expression d'IGF2 et d'H19 dans le placenta. L'étude de la méthylation d'H19 dans des familles est compatible avec une transmission mendelienne du profil de méthylation faisant intervenir un gène à trois allèles, premier exemple de transmission d'un caractère régulateur physiologique de la méthylation. Ces résultats montrent combien nos connaissances sont encore parcellaires en ce qui concerne la cartographie précise de la méthylation dans le génome et doivent faire interpréter avec toute la prudence nécessaire les résultats obtenus sur les modèles animaux, en raison des adaptations de l'empreinte au cours de l'évolution.

Mots-clés : méthylation, H19, pyrosequencing.

■P350 / 331. SÉQUENÇAGE DES 67 EXONS DU GÈNE *PKHD1* DANS LA POLYKYSTOSE HÉPATORÉNALE AUTOSOMIQUE RÉCESSIVE : MISE EN ÉVIDENCE DE 47 MUTATIONS

L. Michel-Calemard (1), P. Cochat (2), B. Ranchin (2), E. Ollagnon (3), M. P. Cordier (3), M. Till (3), F. Prieur (4), M. P. Lavocat (5), J. C. Lambert (6), F. Nobili (7), B. Doray (8), B. Gilbert (9), M. Vercherat (10), F. Tinsa (11), D. Bonneau (12), P. Calvas (13), P. de Mas (14), H. Gaspar (15), Y. Morel (1)

(1) Laboratoire de Biochimie Endocrinienne et Moléculaire, Hôpital Debrousse, HCL, Lyon ; (2) Service de Néphrologie Pédiatrique, HEH, HCL, Lyon ; (3) Services de Génétique, HCL, Lyon ; (4) Service de Génétique, Hôpital Nord, Saint-Étienne ; (5) Service de Pédiatrie, Hôpital Nord, Saint-Étienne ; (6) Service de Génétique Médicale, Hôpital de l'Archet, Nice ; (7) Service de Néphrologie Pédiatrique, CHU de Besançon ; (8) Fédération de Génétique, Hôpital de Hautepierre, Strasbourg ; (9) Service de Génétique Médicale, CHU de Poitiers ; (10) Fédération de Pédiatrie, Chambéry ; (11) Service de Pédiatrie, Hôpital d'Enfants de Tunis, Tunisie ; (12) Service de Génétique, CHU d'Angers ; (13) Service de Génétique Médicale, Hôpital Purpan, Toulouse ; (14) Clinique St-Jean du Languedoc, Toulouse ; (15) Institut fur Mediziniche Genetik, Universitat Zurich, Suissse

La polykystose hépatorénale autosomique récessive (PKR) survient avec une incidence d'environ 1/20 000. La mortalité périnatale élevée (20 à 50 % selon les estimations) est principalement causée par une insuffisance respiratoire. Plus tard peuvent se développer une hypertension artérielle, une insuffisance rénale ainsi qu'une fibrose hépatique responsables de la morbidité. De plus en plus souvent, le diagnostic est fait in utero, devant la présence de gros reins hyper-échogènes et/ou d'un oligo-hydramnios. À la fin de l'année 1999, nous avons pris en charge à Lyon le diagnostic moléculaire de la PKR. À cette époque, seul le diagnostic indirect, à l'aide de microsatellites encadrant la région d'intérêt sur le chromosome 6p12, était envisageable. Malheureusement, dès notre premier diagnostic prénatal (dpn), nous avons été confrontés à un problème de recombinaison, rendant le résultat moléculaire difficilement interprétable.

Le gène PKHD1, responsable de la PKR a été découvert en 2002. En raison de la très grande taille de ce gène (67 exons) ainsi que l'absence de point chaud pour la localisation des mutations, nous avons décidé, dans un premier temps, de séquencer quelques exons, essentiellement dans le but de disposer de polymorphismes intragéniques en vue de dpn fiables. Progressivement, nous avons augmenté le nombre d'exons testés pour proposer finalement le séquençage complet du gène, c'est-à-dire des 67 exons contenus dans le transcrit principal ainsi que de leurs bordures introniques. Notre approche diffère de celle de la plupart des équipes qui proposent un dépistage des mutations par DHPLC. Le séquençage direct a été choisi en raison de la présence de nombreux polymorphismes exoniques et introniques décrits dans la littérature (nous en avons détecté 136 différents) qui peuvent d'une part gêner l'interprétation des profils en DHPLC et d'autre part se révéler très utiles en séquençage pour l'analyse des familles.

Notre stratégie d'exploration est la suivante : 1) séquençage des exons 3, 32 et 36 dans lesquelles se trouvent 41 % des mutations détectées dans notre population, 2) séquençage des autres exons sans ordre particulier. Le résultat est rendu rapidement : 1 à 2 mois en général si un séquençage total est nécessaire, plus rapide en cas d'urgence (grossesse) ou si les mutations sont détectées dès le début du séquençage. Nous avons étudié 33 familles ayant présenté au moins un cas de PKR. Parmi ceux-ci, 6 ont présenté un décès en période néonatale (18 %) et 11 un diagnostic échographique in utero (33 %) avec ITG pour 7 d'entre eux (21 %). L'exploration des 33 familles a permis de détecter 47 mutations différentes (61 mutations en tout) parmi lesquelles 26 n'avaient jamais été rapportées. 59 % des mutations sont des faux-sens, 28 % des mutations troncatives (non-sens ou frameshift), 13 % des anomalies d'épissage. Pour 85 % des patients, 2 mutations ont été identifiées (homozygotes ou hétérozygotes composites). Seuls 5 patients persistent avec un génotype incomplet. Deux d'entre eux portent une mutation certaine et présentent une forme grave de la maladie, les 3 autres portent des mutations faux-sens et présentent une forme plus modérée. Ce travail a permis plusieurs avancées indispensables dans la prise en charge de cette pathologie : 1) proposer un dpn fiable dans chaque famille avec un cas index identifié, 2) confirmer le diagnostic dans certains cas pour lesquels l'étude anatomopathologique n'avait pas été pratiquée, 3) proposer une recherche de mutations chez les parents de cas index décédés sans analyse moléculaire et à terme un dpn, 4) rapporter toutes les variations identifiées sur le site internet http://www.humgen.rwth-aachen.de afin d'améliorer la caractérisation des mutations délétères. La confrontation de nos mutations et polymorphismes avec ce site nous a permis rapidement de trancher entre mutation délétère et variant polymorphe dans la plupart des cas.

Mots-clés : polykystose hépatorénale autosomique récessive PKR, séquençage, mutations ponctuelles.

■P351 / 332. CARACTÉRISATION DU GÈNE *KIAA2022*, FORTEMENT EXPRIMÉ DURANT LE DÉVELOPPEMENT DU SYSTÈME NERVEUX CENTRAL ET INTERROMPU CHEZ DES PATIENTS ATTEINTS DE RETARD MENTAL

Vincent Cantagrel (1), Anne-Marie Lossi (1), David Andrieu (2), Laurent Villard (1)

(1) Inserm U491, Faculté de médecine de la Timone, 27, bd Jean-Moulin, 13385 Marseille Cedex 5, France ; (2) CNRS UMR 6156, Institut de Biologie du Développement de Marseille, campus de Luminy, 13288 Marseille Cedex 9, France

Nous avons identifié récemment une inversion péricentrique du chromosome X, inv(X)(p22.3;q13.2), ségrégeant dans une famille où les 2 garçons porteurs de l'inversion sont atteints de retard mental profond. La caractérisation moléculaire de cette inversion nous a amené à identifier un nouveau gène interrompu en Xq13, le gène KIAA2022. Ce gène qui n'est plus exprimé par les garçons atteints code pour une protéine qui n'a pas d'homologie avec d'autres protéines connues. L'expression importante de ce gène dans le cerveau fœtal humain (détectée par Northern-Blot) nous a amené à étudier le pattern d'expression de son homologue murin au cours du développement. Aux stades précoces du développement embryonnaire, Kiaa2022 est exprimé dans la partie ventrale, de la couche externe du tube neural où apparaissent les premiers neurones post-mitotiques. Cette expression s'étend ensuite à l'ensemble du système nerveux central en étant particulièrement élevée au niveau du diencéphale. Ce gène montre un pic d'expression périnatal au niveau de l'hippocampe et de l'hypothalamus. L'étude de la co-expression au niveau cérébral de Kiaa2022 avec des marqueurs cellulaires et la réalisation de protéine-fusions étiquettées sont en cours et devraient permettre, entre autre, de déterminer le(les) type(s) cellulaire(s) exprimant ce gène et la localisation subcellulaire de la protéine pour laquelle il code. Ce travail a pour objectif la caractérisation d'un nouveau gène, spécifique du système nerveux central, qui pourrait jouer un rôle important dans le développement normal des fonctions cognitives.

Mots-clés : retard mental, système nerveux central, patron d'expression.

■P352 / 333. IDENTIFICATION D'UNE PREMIÈRE GRANDE DÉLÉTION DANS LE GÈNE *SPINK1* ASSOCIÉE À LA PANCRÉATITE CHRONIQUE HÉRÉDITAIRE

Emmanuelle Masson (1, 3), Cédric Le Maréchal (1, 2, 3), Marie-Pierre Audrezet (1, 2, 3), Odile Raguenès (2), Claude Férec (1, 2, 3, 4)

(1) INSERM U613, Brest, France ; (2) Centre Hospitalier Universitaire, Bretagne, Brest, France ; (3) Université de Bretagne Occidentale, Bretagne, Brest, France ; (4) Établissement Français du Sang, Bretagne, Brest, France

Introduction : La pancréatite chronique héréditaire (PCH) est une maladie rare autosomique dominante caractérisée par une inflammation continue et irréversible du pancréas. Elle évolue vers une insuffisance pancréatique exocrine et endocrine et favorise le développement d'un cancer du pancréas. Elle touche plusieurs membres d'une même famille et se manifeste souvent dès l'enfance par des poussées aiguës de douleurs abdominales. Les données récentes ont permis de confirmer le rôle central du trypsinogène dans cette pathologie. Celui-ci est synthétisé dans le pancréas et sécrété sous forme inactive : il est ensuite activé en trypsine par des entéropeptidases intestinales. Cependant, une partie du trypsinogène est active dans le pancréas. L'inhibiteur pancréatique de la trypsine (PSTI) va permettre de contrôler une partie (20 %) de cette trypsine. En cas de PC, l'équilibre trypsine/inhibiteur est rompu, la trypsine en excès entraîne une autodigestion du pancréas. La mutation p.R122H du gène PRSS1 qui code

le Trypsinogène cationique, est la plus fréquente anomalie moléculaire retrouvée dans la PCH. Cette mutation modifie les résidus d'un site de clivage trypsique ce qui induit un défaut d'auto-inactivation d'où un « gain de fonction » de la trypsine. D'autre part, une « perte de fonction » de PSTI pourrait entraîner la dérégulation du taux de trypsine. Des mutations ponctuelles ont déjà été décrites dans le gène SPINK1 codant PSTI, la plus fréquemment rencontrée étant la mutation p.N34S. Cette mutation pourrait affecter le processing de la protéine entrainant sa dégradation prématurée dans le réticulum endoplasmique. L'association entre la p.N34S et la pancréatite chronique idiopathique sporadique est démontrée, toutefois sa fréquence élevée (1 à 3 %) dans la population générale suggère qu'un cofacteur serait nécessaire pour l'apparition de PC. Objectif : La recherche de mutations ponctuelles dans les gènes PRSS1 et SPINK1 chez les malades PCH est positive chez seulement 45 % des cas. Nous avons émis l'hypothèse que les cas de PCH sans mutation pourraient s'expliquer par d'autres mécanismes moléculaires. Afin d'éprouver cette hypothèse, cette étude a pour objectif de rechercher, dans le gène SPINK1, de grands réarrangements génomiques qui entraîneraient un défaut de synthèse de PSTI. Matériels et méthodes : Après 9 ans d'analyse des gènes de PCH au laboratoire de génétique du CHU de Brest, quarante-huit patients non-apparentés ont été sélectionnés pour cette étude, tous issus de familles présentant plusieurs sujets atteints de PC et pour lesquels aucune mutation ponctuelle n'a pu être identifiée dans les gènes candidats (PRSS1 et SPINK1). La mise en évidence de réarrangements dans le gène SPINK1 est réalisée par PCR semi-quantitative des 4 exons de SPINK1 et détection par chromatographie liquide haute performance. Les délétions sont ensuite bornées par une PCR dite « grands fragments » et le point de cassure sur le gène est identifié par séquençage. Résultats : Pour la première fois, un remaniement génomique a été identifié dans cette pathologie. Il s'agit d'une délétion de 1336pb emportant une partie du promoteur de SPINK1 et la totalité de l'exon 1 empêchant ainsi la synthèse de PSTI. Cette délétion a été identifiée dans une seule famille. Elle est présente chez les trois malades de cette famille dont nous disposions des ADNs. Ils font partie d'une grande fratrie composée de 16 enfants, dont 8 atteints de PC. La prochaine étape de ce travail consistera à étudier en détail la transmission intra-familiale de cette anomalie afin d'établir des corrélations génotype-phénotype et ainsi évaluer sa pénétrance. Conclusion : À côté des mutations ponctuelles, nous avons mis en évidence pour la première fois un réarrangement de grande taille, délétion de 1,3 kb emportant une partie du promoteur et l'exon 1 du gène SPINK. Ce mécanisme semble rare puisqu'il est présent chez une seule famille parmi les 48 testées.

Mots-clés : pancréatite chronique héréditaire, réarrangements génomiques, gène *SPINK1*.

■P353 / 335. MUTATION GERMINALE DU *GHSR* ET RETARD DE CROISSANCE

Jacques Pantel (1), Marie Legendre (1), Sylvie Cabrol (2), Latifa Hilal (3), Yassir Hajaji (3), Séverine Morisset (4), Sylvie Nivot (5), Marie-Pierre Vie-Luton (1), Dominique Grouselle (6), Marc de Kerdanet (5), Abdelkrim Kadiri (7), Jacques Epelbaum (6), Yves Le Bouc (2) and Serge Amselem (1)

(1) INSERM, U654, Créteil, F-94010 France ; (2) AP-HP, Hôpital Armand-Trousseau, Service d'Explorations Fonctionnelles Endocriniennes, Paris, F-75771 France ; (3) UFR de Génétique et Biologie Moléculaire, Laboratoire de Génétique et Biologie Moléculaire de la Faculté des Sciences, Kenitra, Morocco ; (4) INSERM, U573, Paris, F-75014 France ; (5) CHR Rennes, Service d'Endocrinologie Pédiatrique, F-35056 France ; (6) INSERM, U549, Paris, F-75014 France ; (7) CHU Ibn Sina, Service d'Endocrinologie, Rabat, Morocco

Le récepteur secretagogue de l'hormone de croissance (GHSR) a été cloné comme la cible d'une famille de molécules synthétiques dotées de propriétés sécrétoires d'hormone de croissance (GH). Comme cela a été démontré récemment dans une étude in vitro, ce récepteur présente une forte activité constitutive (signalisation indépendante du ligand) dont la pertinence physiologique demeure inconnue. Le premier ligand endogène de ce récepteur a avoir été identifié est une nouvelle hormone produite par l'estomac : la ghréline. Bien que des études pharmacologiques aient démontré que la ghréline induisait via le GHSR, une sécrétion de GH et une prise alimentaire, l'importance physiologique des voies de signalisation du GHSR reste controversée. Par ailleurs, à ce jour, aucun variant du GHSR n'a été impliqué en pathologie. Nous rapportons l'identification d'une mutation faux-sens du GHSR qui ségrège avec le phénotype de petite taille dans deux familles non apparentées. Cette mutation, qui conduit à une diminution de l'expression de ce récepteur à la surface membranaire, altère sélectivement l'activité constitutive du GHSR, tout en conservant sa propriété de répondre à la ghréline. Cette première description d'une mutation significative au plan fonctionnel du GHSR, souligne l'importance critique de l'activité constitutive de ce récepteur en physiologie, et révèle un nouveau mécanisme responsable d'un retard de croissance chez l'homme.

Mots-clés : ghreline, *GHSR*, croissance post-natale.

■P354 / 336. IDENTIFICATION D'UN NOUVEAU RÉGULATEUR DE CFTR : CSN5/JAB1

G. Tanguy, L. Drévillon, N. Arous, M. Goossens, P. Fanen
INSERM U654, Hôpital Henri-Mondor, Créteil

La mucoviscidose est la maladie autosomique récessive la plus fréquente chez les populations d'origine caucasienne. Cette maladie monogénique est due à des mutations du gène CFTR (Cystic Fibrosis Transmembrane conductance Regulator) qui sont associées à des symptômes cliniques variés dominés par l'atteinte pulmonaire et une réponse inflammatoire inadaptée. Actuellement, plus de 1 300 mutations sont répertoriées et la plus fréquente d'entre elles, une délétion de 3 nucléotides en position 508 (delF508) représente 70 % des allèles CF. In vivo, la protéine CFTR-delF508 néosynthétisée n'arrive pas à la membrane plasmique et est rapidement dégradée. Il a été montré que des patients porteurs de la même mutation au sein d'une même famille peuvent présenter des phénotypes différents. Ceci peut être dû à des facteurs environnementaux et/ou à des gènes modificateurs dont l'effet n'est révélé que chez les patients atteints de mucoviscidose. Afin d'identifier de tels gènes, capables d'influer sur la maturation de la protéine mutée, nous avons choisi d'utiliser la technique du double-hybride de levure. Nous avons utilisé la troisième boucle cytoplasmique de CFTR (CL3) comme appât. En effet, les 4 boucles cytoplasmiques participent au maintien de la structure de la protéine et sont le site d'interactions avec de nombreuses protéines cytoplasmiques nécessaires à la maturation de CFTR. Lors de ce crible, nous avons identifié 14 partenaires potentiels de CFTR, dont CSN5/Jab1. Cette protéine est la cinquième sous-unité d'un complexe protéique nommé COP9 signalosome. Des expériences dans les cellules HeLa ont montré que CSN5/Jab1 et CFTR pouvaient être coimmunoprecipités et que l'interaction directe entre CFTR et CSN5/Jab1 est plus forte avec CFTR delF508 qu'avec le CFTR sauvage (wt). Nous avons également étudié la localisation de CSN5/Jab1 en présence de CFTR wt ou delF508 dans différentes lignées cellulaires par immunofluorescence et observé que sa répartition nucléo-cytoplasmique est différente dans les cellules exprimant CFTR-delF508 ou CFTR-wt. CSN5/Jab1 interagit avec une grande variété de protéines impliquées dans de nombreuses voies de signalisation et influe sur leur stabilité dans les cellules de mammifères. En modulant l'activité de protéines chaperones, il peut également diriger les cellules vers une voie de réponse au stress ou bien vers l'apoptose. De plus, il est connu que l'activité kinase associée à CSN5/Jab1 est inhibée par le curcumin et que cette drogue pourrait améliorer l'acheminement de CFTR delF508 vers la membrane plasmique. Nous avons donc étudié l'effet de la surexpression (par transfection) et l'extinction (par siRNA) de CSN5/Jab1, combinée ou non avec des traitements par le curcumin, sur la maturation de CFTR wt et delF508. L'extinction de la protéine CSN5/Jab1 permet d'augmenter drastiquement la quantité de CFTR, que ce soit la protéine sauvage ou mutée. Nous testons actuellement l'effet du siRNA sur la stabilité de CFTR et son accession à la membrane des cellules. Nous avons identifié CSN5/Jab1 en tant que partenaire de CFTR mais il est nécessaire de compléter ces résultats par l'étude du rôle fonctionnel de CSN5/Jab1 sur CFTR. Son génotypage au sein d'une cohorte de patients CF nous permettra de déterminer si CSN5/Jab1 peut être considéré comme un gène modificateur de la mucoviscidose et à plus long terme, si cette protéine pourrait devenir une cible thérapeutique.

Mots-clés : mucoviscidose, gène modificateur, CSN5/Jab1.

■P355 / 342. APPLICATION DE LA TECHNIQUE DE RECHERCHE DE REMANIEMENT TÉLOMÉRIQUE PAR MLPA A L'ÉTUDE D'UNE COHORTE DE PATIENTS PRÉSENTANT UN RETARD MENTAL INEXPLIQUÉ

V. Biancalana (1, 2), E. Flori (2, 3), Y. Alembik (2, 4), B. Doray (2, 4), B. Delobel (5), H. Dollfus (2, 4), A. Pujol (1), N. Dondaine (1), E. Ginglinger (6), S. Berg (7), J.L. Mandel (1)

(1) Service de Diagnostic Génétique, CHRU, Strasbourg ; (2) Laboratoire de Génétique Médicale, Université Louis Pasteur, Faculté de Médecine, Strasbourg ; (3) Service de Cytogénétique, CHRU. Strasbourg ; (4) Service de Génétique Médicale, CHRU, Strasbourg ; (5) Centre de Génétique Chromosomique. Hôpital St Vincent de Paul. Lille ; (6) Unité de Génétique. Centre Hospitalier. Mulhouse ; (7) Service Génétique. Centre Hospitalier Départemental. Bellepierre. Saint-Denis

Les réarrangements chromosomiques impliquant les régions télomériques rendraient compte de 5 à 10 % des retard mentaux idiopathiques. Ces

anomalies peuvent être détectées par différentes méthodes dont la multi-FISH, la CGH array mais également par une technique nommée MLPA (Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification) qui présente l'avantage d'être moins coûteuse et plus rapide. Cette technique repose sur une PCR multiplex ligation-dépendante et détection sur séquenceur. Les résultats sont interprétés graphiquement par comparaison à des électrophorégrammes de témoins normaux et par calcul normalisés sur des séries de patients. Nous avons testé une cohorte de plus de 120 patients par la technique MLPA avec différents kits commerciaux PO19, PO20, PO36, PO36B (MRC-Holland. Amsterdam. Netherlands). Les critères d'inclusion sont un retard mental inexpliqué, un caryotype normal et l'exclusion du diagnostic du syndrome X Fragile. Le protocole suivi prévoit une confirmation des réarrangements télomériques trouvés par FISH télomère ciblé et/ou CGH array et/ou étude familiale. Nous concluons qu'il s'agit d'une technique efficace, fiable et rapide qui permet un premier screening peu coûteux des remaniements télomériques. Nous détaillerons la méthode d'interprétation et les résultats obtenus avec les mutations et les polymorphismes identifiées.

Mots-clés : MLPA, retard mental, remaniement télomérique.

■P356 / 347. MALADIE DE MARFAN : MISE EN PLACE D'UN NOUVEAU DIAGNOSTIC MOLÉCULAIRE RAPIDE ET PERFORMANT PAR PCR-SÉQUENÇAGE EN CONDITION UNIQUE

N. Pallares-Ruiz (1), S. Chambert (1), G. Collod-Béroud (1), F. Fellmann (2), C. Boileau (3), M. Claustres (1), P. Khau Van Kien (1)
(1) Laboratoire de Génétique Moléculaire-IURC, CHU de Montpellier ; (2) Service de Génétique Histologie et Biologie de la Reproduction, CHU de Besançon ; (3) Laboratoire de biochimie, d'hormonologie et de génétique moléculaire, Hôpital Ambroise-Paré, AP-HP

La maladie de Marfan, cause majeure de dissection aortique du sujet jeune, est une des maladies mendéliennes les plus fréquentes (fréquence estimée entre 1/5 000 et 1/10 000 naissance). Son diagnostic, grandement facilité par la génétique repose sur l'évaluation pluridisciplinaire particulièrement complexe des critères de Gand. Lorsque tous les critères sont réunis, des mutations causales de FBN1 sont identifiées dans plus de 90 % des cas. Lorsque les critères sont incomplets, le diagnostic moléculaire peut permettre le diagnostic et l'enquête familiale dans certaines situations, notamment chez l'enfant. Le diagnostic moléculaire constitue cependant un réel défi. Les techniques de criblage classiquement utilisées jusqu'ici (détection d'hétéroduplex, séquençage), sont dépendantes de conditions de PCR et d'analyses définies pour chaque exon avec pour corollaire des études de séries d'échantillons particulièrement fastidieuses et longues. Afin de disposer d'un test individuel et rapide, nous avons développé une stratégie de « PCR-séquençage en condition unique » permettant une robotisation des étapes pré et post PCR et de traiter les échantillons sur plaque selon le principe 1 patient par plaque. La plaque préparée à l'avance à l'aide d'un robot, contient 67 couples d'amorces correspondant aux 65 exons du gène FBN1 et leurs séquences flanquantes (au moins 40 pb), à laquelle on peut rajouter 9 autres couples d'amorces correspondant aux 7 exons du gène TGFBR2. Toutes ces amorces ont été définies attentivement (1) pour une même température d'hybridation permettant une amplification en condition unique (2) en recoupant toutes les informations disponibles dans les banques de données pour éviter les zones polymorphes connues. Les 76 amplicons sont ensuite criblés par séquençage double brin (séquenceur ABI3130xl) et les séquences sont alignées grâce au logiciel Seqscape v2.5. Un contrôle qualité a permis de valider la technique en identifiant correctement toutes les mutations des ADN témoins. Nous avons également appliqué cette technique à l'étude des transcrits : la totalité de l'ADN complémentaire obtenu après reverse-transcription d'ARN totaux (cultures cellulaires ou tissus congelés) est amplifiée et séquençée en condition unique sous la forme de 22 fragments chevauchants pour la fibrilline de type 1. L'étude des transcrits s'est avérée utile en démontrant un défaut d'épissage d'une variation de séquence difficile d'interprétation au niveau génomique. Elle complète l'étude réalisée à partir de l'ADN génomique dans certaines situations. Le bénéfice attendu par la mise en place de cette nouvelle technique est de réduire considérablement les délais de réponse. Le diagnostic précoce facilité et fiabilisé par la génétique moléculaire chez un cas index et ses apparentés permet de mettre en place le plus tôt possible une prise en charge et une prévention adaptée dont l'impact sur la santé des patients est majeur, notamment en terme de survie.

Mots-clés : Marfan, diagnostic moléculaire, nouvelle technique.

■P357 / 349. DIAGNOSTIC MOLÉCULAIRE DES DYSTROPHINOPATHIES AU CENTRE DE RÉFÉRENCE DE MONTPELLIER

D. Thorel (1), CSaquet (1), PKhau Van Kien (1), STuffery-Giraud (1), MClaustres (1)
(1) Laboratoire de Génétique Moléculaire-IURC, CHU de Montpellier

Le diagnostic moléculaire des dystrophies musculaires de Duchenne et de Becker (DMD/B) est particulièrement complexe du fait de la grande taille du gène DMD, de la très grande diversité des lésions moléculaires et de leurs effets sur l'expression du gène. Le choix des stratégies diagnostiques mises en œuvre tient compte de différents paramètres : (1) la connaissance approfondie des différents types de mutations, de leurs fréquences et de leurs distributions dans le gène, (2) la présentation de la DMD/B : familiale ou d'allure « sporadique », (3) la demande associée au prélèvement : cas index ou apparenté avec éventuellement une demande pressante de DPN, (4) les résultats de l'analyse de la dystrophine dans le muscle (immunohistologie +/- Western blot), (5) les données cliniques (présence de symptômes extramusculaires, i.e. cardiaques, retard mental), (6) des données biologiques (dosage des enzymes musculaires des apparentées)... Les délétions d'un ou plusieurs exons sont rencontrées dans environ 60 % des cas et la méthode de PCR multiplex simple, peu coûteuse et réalisée par l'ensemble des laboratoires en première intention permet leur identification dans environ 98 % des cas. Lorsque aucune délétion n'est identifiée chez le cas index, l'analyse est alors orientée vers la recherche d'une duplication (5 %-8 % des cas), ou d'une mutation ponctuelle (35 % des cas). Dans notre laboratoire, la recherche des mutations ponctuelles est basée principalement sur l'étude des transcrits dystrophine musculaires. La technique de RT-PCR couplée au test de troncation de protéines (PTT) permet de détecter efficacement les mutations qui introduisent un codon stop prématuré (> 95 % des mutations DMD) et/ou entraînent des anomalies de l'épissage (anomalies de taille des fragments de RT-PCR). En absence de biopsie musculaire, nous avons mis en place la technique SCAIP : Single Condition Amplification Internal primer, permettant de réaliser le séquençage direct des 79 exons du gène DMD avec leurs bordures introniques à partir de l'ADN génomique du patient. Enfin les grands réarrangements du gène DMD non détectables par la PCR multiplex (les duplications et délétions rares) sont recherchés par une technique de dosage génique, le MLPA (Multiple Ligation Probe Amplification) qui analyse les 79 exons du gène et confirmés par une deuxième technique, la PCR multiplex semi-quantitative ou la PCR quantitative en temps réel (Light Cycler). La possibilité de combiner au moins deux techniques différentes de quantification permet d'établir et de valider le statut des conductrices potentielles. Par ailleurs, une recherche de mutation ponctuelle (SCAIP) et de grands réarrangements (MLPA) peut également être proposée aux femmes à risque dans les familles où aucun prélèvement du cas index n'est accessible. La réalisation de diagnostic moléculaire des myopathies de Duchenne et de Becker nécessite de disposer d'un arsenal de techniques tant pour détecter la mutation chez le cas index que pour déterminer le statut des femmes à risque. La stratégie diagnostique exhaustive mise en place dans notre laboratoire permet aujourd'hui de répondre a la quasi-totalité des demandes de diagnostic.

Mots-clés : dystrophinopathies, diagnostic moléculaire, centre de référence.

■P358 / 353. ANALYSE DE L'EXPRESSION DU GÈNE *PLP1* DANS LA MALADIE DE PELIZAEUS-MERZBACHER (PMD)

M. Bonnet-Dupeyron (1, 2), P. Combes (1), L. Ouchchane (3), P. Vago (2), O. Boespflug-Tanguy (1), C. Vaurs-Barriere (1)
(1) UMR INSERM U384, faculté de Médecine, Clermont-Ferrand ; (2) service de cytogénétique, CHU de Clermont-Ferrand ; (3) Service de biostatistiques, CHU de Clermont-Ferrand

La maladie de Pelizaeus-Merzbacher est une leucodystrophie appartenant au groupe très hétérogène des troubles héréditaires de formation de la myéline du système nerveux central (SNC) ou leucodystrophies dysmyélinisantes. Elle est caractérisée essentiellement par des troubles moteurs dont la sévérité et la précocité sont liées à l'importance de l'hypomyélinisation. La synthèse de la myéline est hautement régulée et est réalisée dans le SNC par les oligodendrocytes. Le gène PLP1 porté par le chromosome X code pour les principales protéines structurales de la myéline du SNC. Il est exprimé majoritairement dans les oligodendrocytes et plus modérément dans les cellules de Schwann dans le système nerveux périphérique. Son expression a également été retrouvée à un plus faible niveau dans d'autres tissus tels que le thymus, le cœur et la peau. Le gène PLP1 est impliqué dans un tiers des cas de PMD (291 sur 443 cas dans notre laboratoire). L'anomalie du gène est dans la majorité des cas une duplication de l'ensemble du gène et dans ce cas plutôt associée à un phénotype sévère. L'analyse de modèles murins et cellulaires de la maladie a montré une toxicité de la surexpression des protéines PLP sur les oligodendrocytes. Notre objectif est d'étudier l'expression de PLP1 dans les différents tissus exprimant PLP1, cerveau, nerf périphérique et peau, chez des patients souffrant de PMD et porteurs d'une duplication du gène PLP1 en comparaison à des patients contrôles à la recherche d'une surexpression du gène. Nous

avons collecté des biopsies de cerveaux (C), de nerfs périphériques (N) et de peau (P) de patients avec duplication (C : n = 2, N : n = 3, F : n = 14) et de patients contrôles (C : n = 5, N : n = 4, F : n = 10). Nous avons utilisé pour ce travail, la RT-PCR quantitative en temps réel sur Light-Cycler avec la technologie du Sybr-Green. Le cerveau étant un tissu hétérogène, nous avons utilisé comme gène de référence un gène exprimé spécifiquement dans les oligodendrocytes (CNPase). En revanche, les nerfs périphériques étant majoritairement composés de cellules de Schwann et la peau de fibroblastes, nous avons utilisé comme gène de référence pour ces deux tissus le gène codant la beta2microglobuline. Dans les trois types cellulaires étudiés, nous avons pu mettre en évidence une différence significative de la quantité de transcrits du gène PLP1 entre patients avec duplication et contrôles. Nous avons pu montrer une surexpression du gène PLP1 chez les patients présentant une duplication du gène. En conclusion la quantification des transcrits du gène PLP1 est réalisable à partir de prélèvements de cerveau, de nerf et de peau et montre une surexpression de PLP1 chez les patients souffrant de PMD avec une duplication du gène. L'établissement d'une valeur seuil pathologique à partir de ces résultats nous permettra par la suite d'analyser les patients souffrant de PMD ne présentant pas d'anomalie du gène PLP1 à la recherche d'une surexpression du gène PLP1.

Mots-clés : leucodystrophie, duplication *PLP1*, quantification.

■P359 / 372. TRANSMISSION ET ASSOCIATION DE NOUVELLES MUTATIONS DANS LES GÈNES *LMNA* ET *ZMPSTE24* DANS DES CAS FAMILIAUX DE SYNDROMES PROGÉROÏDES SEGMENTAIRES

A. De Sandre-Giovannoli (1), C. Navarro (2), A. Boyer (1), I. Boccaccio (2), P. S. Jouk (3), A. Hadjian (4), J. L. Alessandri (5), S. Hadj-Rabia (6), R. Bernard (1), N. Lévy (1, 2)
(1) Laboratoire de Génétique Moléculaire, Département de Génétique Médicale, Hôpital d'Enfants la Timone, Marseille, France ; (2) INSERM U491, Génétique Médicale et Développement, Faculté de Médecine la Timone, Marseille, France ; (3) Service de Génétique, CHU Grenoble, Grenoble, France ; (4) Enzymologie/DBPC, CHU Grenoble, Grenoble, France ; (5) Service de Néonatologie, Centre Hospitalier Départemental Félix Guyon, Saint-Denis, Reunion ; (6) Service de Dermatologie, Groupe Hospitalier Necker-Enfants Malades, Paris, France

Différents syndromes progéroïdes segmentaires, comprenant notamment la Progeria de Hutchinson-Gilford et la Dermopathie Restrictive, sont dus à des mutations d'au moins deux gènes, LMNA et ZMPSTE24, codant respectivement : les Lamines A/C, des protéines nucléaires ubiquitaires et multifonctionnelles appartenant à la famille des filaments intermédiaires, et une metalloprotéase impliquée dans la modification post-traductionnelle d'un précurseur, la Prélamine A, à partir duquel la Lamine A mature est produite en conditions physiologiques.

En l'absence de Lamine A mature avec accumulation de Prélamine A dans les nucléoplasmes, ou en présence de Prélamine A tronquée, différents syndromes progéroïdes segmentaires se développent.

Nous rapportons trois cas familiaux de syndromes progéroïdes segmentaires dans lesquels ségrègent des mutations pathogènes selon un mode de transmission mono-, di- ou tri-allélique. Dans une famille consanguine, deux frères étaient atteints de Progeria avec des signes néonataux. Seulement une étude rétrospective a pu être réalisée, puisque aucun matériel biologique des deux frères décédés n'était disponible. Les parents étaient tous les deux porteurs d'une délétion hétérozygote de trois nucléotides (c.1053_1055del) dans le gène ZMPSTE24, prédite pour causer la délétion de l'acide aminé Serine 352 (p.Ser352del), localisé en proximité du site catalytique de la metalloprotéase, et pouvant par conséquent exercer un effet délétère sur l'activité enzymatique de la protéine ; de plus, la mère était porteuse d'une variation de séquence hétérozygote dans le gène LMNA (c.1643G>A) prédite pour substituer l'acide aminé Arginine 545, commune aux Lamines A et C, avec une Histidine (p.Arg545His). Nous extrapolons que les deux frères atteints étaient porteurs de la délétion dans le gène ZMPSTE24 à l'état homozygote, en association avec la substitution hétérozygote dans le gène LMNA.

Dans une autre famille consanguine, le cas index, atteint de Progeria néonatale, avait hérité respectivement du père et de la mère, deux variations de séquence au niveau du gène LMNA : une variation intronique hétérozygote (c.1059+6T>G, ou IVS8+6T>G) et une insertion mononucléotidique, prédite pour causer une élongation du cadre de lecture de 38 acides aminés, au niveau de l'exon 11, codant spécifiquement la Lamine A (c.1961_1962insG).

L'étude en Western Blot des profils d'expression des Lamines A/C a en effet mis en évidence chez la patiente la présence d'une isoforme Prélamine A de taille supérieure à celle attendue, avec une réduction des niveaux d'expression de Lamine A sauvage.

Un troisième patient, atteint comme son père d'une forme localisée d'acrogeria, est porteur d'une nouvelle variation de séquence hétérozygote au niveau de l'exon 11 du gène LMNA, intéressant donc également l'isoforme Lamine A de façon spécifique : c.1771T>A (p.C591S).

Ces résultats confirment un rôle majeur des Lamines A/C et des protéines qui leur sont associées dans la détermination d'une série de désordres progéroïdes segmentaires, prédisant l'existence d'un ensemble phénotypiquement encore plus large de syndromes progéroïdes alléliques et soulignant la nécessité d'élargir les explorations moléculaires et fonctionnelles chez les patients afin d'améliorer nos connaissances sur les corrélations génotype-phénotype et les mécanismes physiopathologiques impliqués dans ce groupe de maladies génétiques.

Mots-clés : *LMNA / lamines A/C*, *ZMPSTE24 / FACE1*, progeria.

■P360 / 375. ÉTUDE MOLÉCULAIRE DU GÈNE *GNE* DANS UNE SÉRIE DE PATIENTS SUSPECTS DE MYOPATHIE HÉRÉDITAIRE À INCLUSIONS OU DE MALADIE DE NONAKA

Christophe Pêcheux (1), Rafaëlle Bernard (1, 2), Jean Pouget (3), Marie-Christine Arne-Bes (4), Bruno Eymard (5), Pascal Laforêt (5), Odile Dubourg (6), François Cartault (7), Françoise Darcel (8), El Hadi Hammouda (9), Andoni Urtizberea (9), Nicolas Lévy (1, 2)
(1) Département de Génétique médicale, Hôpital d'enfants de la Timone, Marseille ; (2) Inserm U491, Faculté de Médecine de la Timone, Marseille ; (3) Service des Maladies Neuromusculaires, Hôpital d'adultes de la Timone, Marseille ; (4) Service des Maladies Neuromusculaires, CHU Toulouse Rangueil, Toulouse ; (5) Institut de Myologie, Hôpital la Pitié Salpêtrière, Paris ; (6) Fédération de Neurologie, Hôpital la Pitié Salpêtrière ; (7) Service de génétique, CHD Félix Guyon, Saint-Denis, La Réunion ; (8) Service de Neurologie, Groupe Hospitalier Sud Réunion, Saint-Pierre, La Réunion ; (9) AFM et Généthon, Évry

La myopathie héréditaire à inclusions (HIBM) est une pathologie transmise selon un mode autosomique récessif qui a été reliée en 2001 à des mutations du gène GNE. Cliniquement, il existe une faiblesse musculaire progressive débutant chez l'adulte avec atteinte distale et proximale des membres inférieurs et supérieurs, épargnant toutefois généralement le muscle quadriceps. L'examen anatomo-pathologique du fragment de biopsie musculaire montre des inclusions sous forme de vacuoles bordées caractéristiques. La myopathie autosomique récessive de type Nonaka (ou myopathie distale à vacuoles bordées) décrite initialement chez des patients japonais en serait une forme allèlique. Le gène UDP-N-acétylglucosamine 2-épimérase / N-acétyl-mannosamine kinase (GNE) localisé en 9p12-13 code une protéine ubiquitaire impliquée dans la synthèse de l'acide N-acétylneuraminique. Nous avons effectué l'exploration moléculaire de ce gène pour l'aide au diagnostic et le conseil génétique chez une première série de 22 patients sans lien de parenté, sélectionnés sur la base clinique et/ou sur critères histologiques. Les 11 exons codants du gène ont été criblés par dHPLC suivi du séquençage en cas de profil objectivant des hétéroduplexes. L'étude familiale des cas index positifs a été poursuivie sur les échantillons disponibles. 14 variations de séquences ont ainsi été identifiées, toutes correspondant à des mutations faux-sens, et parmi lesquelles seulement 4 ont été précédemment rapportées dans la littérature ou les bases de données. Tous les patients mutés (8 sur 22) sont homozygotes ou hétérozygotes composites ; nous n'avons identifié aucun patient atteint avec une mutation sur un seul allèle. L'analyse de ségrégation des mutations concorde avec la transmission récessive. Dans une famille 3 variations de séquence ont été retrouvées chez les 6 patients atteints, 2 mutations faux-sens non décrites et un changement de nucléotide neutre au niveau protéique. Un autre cas chez lequel nous avons identifié deux mutations non décrites à ce jour, dont la p.Gly364Arg dans l'exon 7, présente une forme particulièrement sévère de la maladie. Les données phénotypiques des patients inclus sont à réévaluer à la lumière des résultats moléculaires obtenus.

Mots-clés : *GNE*, myopathie héréditaire à inclusions / HIBM, Nonaka.

■P361 / 376. ESSAIS DE THÉRAPIE GÉNIQUE EX VIVO DE LA DYSKINÉSIE CILIAIRE PRIMITIVE

B. Chhin (1), D. Nègre (2), O. Merrot (3), F.-L. Cosset (2), P. Bouvagnet (1)
(1) INSERM EMIU0226, Université Claude Bernard Lyon 1 ; (2) INSERM U412, École Normale Supérieure de Lyon ; (3) Service ORL du Pr Pignat, Hôpital de la Croix-Rousse, Lyon

Introduction : La Dyskinésie Ciliaire Primitive (DCP) est une maladie génétique hétérogène usuellement à transmission autosomique récessive. Le phénotype est caractérisé par des anomalies axonémales des cils

respiratoires conduisant à des bronchites et sinusites chroniques qui sont quelquefois associées à un situs inversus (syndrome de Kartagener) et parfois à une stérilité masculine (due à des anomalies au niveau du flagelle des spermatozoïdes). Des mutations récessives dans le gène de chaîne intermédiaire de dynéine axonémale de type 1 (DNAI-1) ont été décrites chez des patients atteints de DCP et/ou du syndrome de Kartagener.
L'objectif de notre travail est de proposer une thérapie génique à ces patients atteints de DCP, le seul moyen de guérir cette maladie génétique respiratoire. Pour cela, nous procéderons tout d'abord à une étape préliminaire de thérapie génique ex vivo, en transduisant des cellules nasales humaines de malades atteints de DCP mutés dans le gène DNAI-1 afin de corriger leur dysfonctionnement ciliaire. Auparavant, nous avons réalisé les mises au point nécessaires sur des cellules saines.
Matériel et méthodes : Des cellules épithéliales respiratoires normales issues de cornets nasaux humains ont été infectées avec des particules virales contenant des vecteurs lentiviraux basés sur le Virus d'Immunodéficience Simien (SIV) pseudotypés avec la glycoprotéine G du Virus de la Stomatite Vésiculaire (VSV-G), du fait de son large tropisme. Dans un premier temps, nous avons évalué le vecteur de transgenèse avec un gène rapporteur EGFP (Enhanced Green Fluorescent Protein). Nous avons ensuite modifié ces vecteurs afin d'insérer l'ADNc de DNAI-1 suivi d'une étiquette poly-Histidine (6His) ou Hémagglutinine (HA) qui permet la détection différentielle des protéines du gène transduit par rapport au produit de l'endogène. La transcription de DNAI-1 a été appréciée par RT-PCR. La traduction a été évaluée en Western Blot, d'une part, par des anticorps polyclonaux dirigés contre deux régions de la protéine DNAI1 (produits à façon par Eurogentec), et d'autre part, par des anticorps anti-6His et anti-HA (Sigma).
Résultats :
1) Transduction : Nous avons montré qu'en présence d'un polycation, le Polybrene, et d'une MOI (Multiplicity Of Infection, nombre de particules infectantes/cellule) de 50 à 100, l'efficacité de transduction des cellules respiratoires humaines en suspension est augmentée par rapport à l'infection de cellules adhérentes.
2) Transcription : Après infection des cellules épithéliales respiratoires humaines avec les vecteurs de transgenèse contenant DNAI-1 étiqueté avec 6His et HA, nous avons vérifié la transcription avec les amorces spécifiques des étiquettes.
3) Expression : La spécificité des deux anticorps anti-DNAI1 native a été confirmée en Western Blot. Des cellules épithéliales respiratoires humaines infectées ont été mises en culture jusqu'à re-différenciation, c'est-à-dire re-ciliation, et les protéines totales ont été extraites. L'expression des protéines DNAI1 étiquetées est en cours d'évaluation par Western Blot.
Conclusion : Après vérification de la transcription, de la traduction et de la bonne localisation cellulaire des protéines étiquetées, l'efficacité de la thérapie génique ex vivo sera confirmée par le rétablissement d'un battement ciliaire normal de cellules de malades infectées, ceci à l'aide d'une caméra numérique haute vitesse (disponible au Centre Commun de Quantimétrie sur le domaine Rockefeller, Lyon) et qui permettra de mesurer la fréquence des battements ciliaires des cellules avant et après infection.

Mots-clés : dyskinésie ciliaire primitive, thérapie génique, lentivirus.

■P362 / 379. OPTIMISATION DU DIAGNOSTIC MOLÉCULAIRE DE LA NEUROPATHIE HÉRÉDITAIRE AVEC HYPERSENSIBILITÉ À LA PRESSION (HNPP) PAR L'UTILISATION EN ROUTINE DE LA PCR EN TEMPS RÉEL

R. Bernard (1, 2), N. Martini (1), C. Pécheux (1), K. Pédeillier (1), N. Lévy (1, 2)
(1) Département de Génétique médicale, Hôpital d'enfants de la Timone, Marseille ; (2) Inserm U491, Faculté de Médecine de la Timone, Marseille

La Neuropathie Héréditaire avec Hypersensibilité à la Pression Nerveuse (HNPP) est une pathologie apparentée au groupe des Maladies de Charcot-Marie-Tooth (CMT), ou Neuropathies Sensitives et Motrices Héréditaires (HMSN). Sur le plan clinique, elle est caractérisée par la survenue récurrente d'épisodes de paralysie ou de paresthésies le plus souvent spontanément régressifs dans le territoire d'un nerf périphérique. Les nerfs les plus fréquemment en cause sont les nerfs qui empruntent des zones d'étroitesse anatomique (médian, cubital, Sciatique Poplité Externe). Des signes cliniques le plus souvent discrets de neuropathie diffuse peuvent être retrouvés (anomalies des réflexes ostéo-tendineux, déficit musculaire et amyotrophie distale). L'exploration électromyographique objective des anomalies diffuses (signes de démyélinisation diffuse, blocs de conduction), et la biopsie nerveuse permet lorsqu'elle est pratiquée d'observer des lésions caractéristiques de la gaine de myéline, les « tomaculae ».
Sur le plan génétique, l'HNPP est une affection autosomique dominante à pénétrance incomplète. Les cas sporadiques sont fréquents. La maladie résulte de l'haploinsuffisance du gène PMP22, localisé en 17p11.2. 90 % des cas sont dus à une délétion d'environ 1,5 Mb de la région 17p11.2. Cette délétion résulte d'un événement de recombinaison méiotique inégale et le même mécanisme est à l'origine de la duplication de la région, dont l'expression clinique est la forme de type 1A de la maladie de Charcot-Marie-Tooth (CMT1A). Les cas d'HNPP non liés à une délétion résultent de mutations ponctuelles perte de fonction dans PMP22. L'HNPP représente une demande fréquente de diagnostic moléculaire (environ 50 demandes par an dans notre laboratoire), dans un but de confirmation diagnostique. Le diagnostic moléculaire de la délétion reposait jusqu'à présent sur l'utilisation de marqueurs microsatellites localisés dans la zone de délétion, le plus souvent combinée au Southern Blot. En effet, si dans certains cas l'étude familiale est réalisable et permet de se baser uniquement sur les microsatellites en mettant en évidence une perte d'hétérozygotie, dans la plupart des situations, l'analyse nous est demandée pour un cas isolé, et le recours au Southern Blot pour confirmer la délétion chez un patient présentant un allèle unique pour les 4 marqueurs analysés restait indispensable. La mise au point dans notre laboratoire d'une stratégie uniquement basée sur la PCR quantitative de PMP22, représente maintenant une alternative fiable et rapide pour le diagnostic moléculaire en comparaison des techniques précédentes. Nous rapportons la validation de cette stratégie, à partir d'une série de 30 patients HNPP porteurs de la délétion, de 50 témoins normaux, et de 40 patients CMT1A porteurs d'une duplication de la région. Chez les 120 individus testés, la PCR en temps réel a confirmé sans ambiguïté le diagnostic de duplication, délétion ou normalité de la région contenant PMP22, et ce test constitue désormais l'outil incontournable du diagnostic moléculaire de routine de l'HNPP.

Mots-clés : HNPP, *PMP22*, CMT.

■P363 / 381. SYNDROME ICF : HYPOMÉTHYLATION DES ILOTS CPG ET ACTIVATION DE LA TRANSCRIPTION DANS LES RÉGIONS JUXTACENTROMÉRIQUES

Marie-Élisabeth Brun (1), André Mégarbané (2), Gérard Lefranc (3), Caroline Freissinet (1), Pierre Sarda (4), Albertina De Sario (1)
(1) Plasticité Génomique, Chromatine et Cancer, IGH, CNRS UPR 1142, Montpellier ; (2) Unité de Génétique Médicale, Université Saint-Joseph, Beyrouth, Liban ; (3) Immunogénétique Moléculaire, Univ. Montpellier II et IGH, CNRS UPR 1142, Montpellier ; (4) Service de Génétique Médicale, CHU A. de Villeneuve, Montpellier

Plusieurs syndromes caractérisés par un défaut dans le remodelage de la chromatine ont été décrits au cours des dernières années, notamment l'ICF (Immunodeficiency, Centromeric instability, Facial abnormalities). La plupart des patients atteints d'ICF présentent des mutations hétérozygotes du gène DNA méthyltransférase 3B (DNMT3B) avec un allèle nul et l'autre allèle ayant une activité résiduelle fortement diminuée. Les patients atteints d'ICF présentent des infections pulmonaires et digestives récurrentes, une dysmorphie faciale, un retard du développement et un retard mental. De plus, ils présentent des anomalies chromosomiques essentiellement dues à la décondensation des blocs hétérochromatiques des chromosomes 1, 9, 16 et Y : cassures chromosomiques, élongation des chromosomes, configurations multiradiales. Chez les patients atteints d'ICF, l'ADN satellite centromérique et juxtacentromérique est fortement déméthylé. Afin de comprendre l'étiologie du syndrome ICF, il est important d'identifier les gènes concernés par un changement de la méthylation et par une modification de l'activité transcriptionnelle, suite à la mutation du gène DNMT3B. Dans ce travail, nous montrons que, chez les patients atteints d'ICF, les gènes localisés près du centromère sont hypométhylés et que cette perte de la méthylation se traduit par l'activation transcriptionnelle. Ces mêmes gènes sont hyperméthylés et non transcrits chez des individus contrôles.

Mots-clés : ICF, méthylation ADN, expression des gènes.

■P364 / 382. ANALYSE MOLÉCULAIRE DU GÈNE *GTP CYCLOHYDROLASE 1* CHEZ DES PATIENTS CAUCASIENS ATTEINTS DE DYSTONIE DOPA-SENSIBLE

F. Clot (1), A. Camuzat (1), S. Tezenas du Montcel (2), M. Vidailhet (1, 3), A. Durr (1, 4), A. Brice (1, 4) et Réseau des Dystonies Françaises
(1) INSERM U679, Hôpital Pitié-Salpêtrière et Université Pierre et Marie Curie, Paris ; (2) Service de Biostatistique et Information Médicale, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, AP-HP, Paris ; (3) Service de Neurologie, Hôpital Saint-Antoine, AP-HP, Paris ; (4) Fédération de Neurologie et Département de Génétique Cytogénétique et Embryologie, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, AP-HP, Paris

Introduction. Les dystonies sont des contractions musculaires prolongées involontaires, entraînant des mouvements répétitifs, des torsions ou des

postures anormales. La dystonie dopa-sensible (DRD), souvent accompagnée de fluctuations diurnes, est améliorée de façon spectaculaire après traitement par la L-Dopa. La dystonie apparaît généralement pendant l'enfance aux membres inférieurs avec des troubles de la marche et s'étend progressivement. Chez l'adolescent et le jeune adulte, une dystonie de type torticolis spasmodique et crampe des écrivains peut être la seule manifestation. Plus tard dans la vie, un syndrome parkinsonien peut être observé. Dans la pluspart des cas, la maladie est héréditaire de transmission autosomique dominante, à pénétrance réduite, due à des mutations du gène GTP cyclo-hydrolase 1 (GCH1). Le gène, localisé en 14q22, code pour une enzyme limitante de la biosynthèse de la tétrahydrobioptérine, elle-même cofacteur important de la tyrosine-hydroxylase responsable de la conversion de la phénylalanine en dopamine.

Patients et méthodes. Nous avons analysé le gène GCH1, par séquençage des 6 exons et des jonctions introns-exons du gène, chez 53 cas index (27 femmes et 26 hommes) présentant une DRD.

Résultats. Nous avons identifié 11 mutations différentes chez 12 cas index : 2 non sens (E65X, Q188X), 4 faux sens (F104L, I154S, R178S, Q188H), 3 délétions (c.137-138delGC, c.261-266delGCGGCA, c.631-632delAT), 1 mutation du site d'épissage (c.716 +1 G>T) et une substitution d'un nucléotide dans le promoteur du gène (-22 C>T du codon initiateur AUG). Parmi les 12 patients porteurs d'une mutation, 8 sont des cas « sporadiques » et 4 ont une histoire familiale. Parmi les formes sporadiques, 3 ont des mutations de novo. Les dystonies observées des 12 patients sont segmentaires, généralisées ou hémi-corporelles. L'âge de début de la maladie varie de la petite enfance au jeune adulte et est similaire à celui des non porteurs d'une mutation.

Conclusion. Seulement 22,6 % des patients DRD sont porteurs d'une mutation du gène GCH1. Néanmoins, le séquençage du gène ne permettant pas de mettre en évidence des grandes délétions, il n'est pas exclu que d'autres patients soient délétés pour le gène GCH1.

Mots-clés : dystonie dopa-sensible, *GCH1*, mutations.

■P365 / 389. MUTATION DU GÈNE *COQ2* DANS UN CAS DE DÉFICIT DE SYNTHÈSE DE L'UBIQUINONE

Julie Mollet, Dimitri Schlemmer, Dominique Chretien, Arnold Munnich, Agnès Rötig
INSERM U393

Le CoQ10 ou ubiquinone a un rôle clé dans le fonctionnement de la chaîne respiratoire en permettant de transférer les électrons des différentes déshydrogénases au complexe III. Nous avons identifié un déficit de synthèse de l'ubiquinone chez deux patients présentant une insuffisance hépatique et rénale néonatale associée à une détresse neurologique, une hyperlactacidémie et des hypogycémies conduisant au décès avant un mois. L'étude de la chaîne respiratoire a mis en évidence, dans le foie, le muscle et les fibroblastes un déficit des activités dépendantes du CoQ10 (complexe I+III, complexe II+III, glycerol-3-P cytochrome c réductase) alors que les complexes mesurés isolément étaient parfaitement normaux. Le dosage du CoQ10 dans les fibroblastes en culture par spectrométrie de masse (LC/MS/MS) a montré un déficit profond de ce lipide. La voie de synthèse du CoQ10 fait intervenir de nombreuses étapes qui ont été décrites chez la levure Saccharomyces cerevisiae mais qui sont mal connues chez l'homme. Nous avons dans un premier temps identifié les homologues humains des différentes enzymes de synthèse du CoQ10 connues chez la levure puis nous avons étudié les gènes correspondants. Une mutation homozygote dans le gène COQ2 codant l'hydroxybenzoate-décaprényl transférase a été identifiée chez les deux patients. Cette mutation a été retrouvée à l'état hétérozygote chez les deux patients originaires du même village de l'ouest de la France et est absente d'une série de 100 individus contrôles. Il s'agit d'une délétion d'un nucléotide dans le dernier exon du gène qui conduit à un décalage du cadre de lecture et à l'apparition d'un codon stop prématuré. L'ARN messager du gène muté est présent en quantité normale chez le patient. La protéine résultante est raccourcie de 7 acides aminés et 20 sont modifiés. La charge globale de cette partie C-proximale est plus basique que celle de la protéine sauvage ce qui pourrait modifier ses propriétés de solvatation et ses propriétés de surface si l'extrémité C terminale se trouve être à une interface d'interaction avec d'autres protéines.

Mots-clés : mitochondrie, ubiquinone, *COQ2*.

■P366 / 390. LES DÉPLÉTIONS DE L'ADN MITOCHONDRIAL SONT UNE DES CAUSES MAJEURES DE DÉFICIT MULTIPLE DE LA CHAINE RESPIRATOIRE

Emmanuelle Sarzi, Alice Bourdon, Dominique Chrétien, Valérie Cormier, Pascale de Lonlay, Arnold Munnich, Agnès Rötig
INSERM U393

Les déficits multiples de la chaîne respiratoire représentent une entité extrêmement floue des maladies mitochondriales. Il s'agit de déficits combinés de différents complexes pouvant résulter de mécanismes très différents tels que des délétions de l'ADN mitochondrial (ADNmt), des problèmes de traduction ou d'import des protéines mitochondriales ou de maturation de cofacteurs... Certains de ces déficits sont dus à des déplétions majeures de l'ADNmt. Actuellement on connaît quatre gènes nucléaires conduisant à l'apparition de ces déplétions, il s'agit des gènes codant pour la thymidine kinase (TK2) et de la déoxyguanosine kinase (DGUOK) mitochondriale, la succinyl CoA synthase (SCS) et l'ADN polymérase gamma ; (POLG). Nous avons cherché à estimer l'incidence des déplétions de l'ADNmt dans notre cohorte de patients présentant un déficit multiple de la chaîne respiratoire identifié dans le muscle et/ou le foie. L'ADNmt a été quantifié par PCR quantitative en temps réel (Light Cycler) et rapporté à un gène nucléaire. Cette quantification a été réalisée chez chaque patient à partir de l'ADN extrait du tissu exprimant le déficit enzymatique. Sur un ensemble de 91 patients testés, 35 (38 %) présentent une déplétion de l'ADNmt. Cette déplétion a été mise en évidence dans le foie pour 28 patients et dans le muscle pour 7 patients. Chez 2 patients, la déplétion a été retrouvée dans le foie et le muscle. La sévérité de la déplétion est très variable, variant de 2 à 45 % du contenu normal en ADNmt. La présentation clinique des déplétions de l'ADNmt est très hétérogène. Un premier groupe de patients présentent une insuffisance hépatique dans les premiers mois de vie et développent ensuite une atteinte neurologique. Certains d'entre eux présentent des mutations du gène DGUOK (26 %) mais pour 74 % ce gène a été exclu. Un deuxième groupe de patients ont un syndrome d'Alpers et des mutations du gène POLG sont parfois retrouvées (20 %). Enfin, d'autres malades ont une atteinte pluriviscérale associant divers signes tels qu'une atteinte cardiaque ou rénale, un retard de croissance ou un retard psychomoteur. L'exclusion des gènes connus de déplétion dans la plupart de ces patients démontre l'existence d'autres gènes responsables de ces anomalies de l'ADNmt. Ainsi, il apparaît que les déplétions de l'ADNmt représentent une des causes fréquentes de déficit multiple de la chaîne respiratoire.

Mots-clés : ADN mitochondrial, déplétion, mitochondrie.

■P367 / 391. EXCLUSION DES GÈNES CODANT POUR LES SOUS-UNITÉS ET LES PROTÉINES D'ASSEMBLAGE DU COMPLEXE IV MITOCHONDRIAL DANS LES DÉFICITS DE CE COMPLEXE

Alice Bourdon, Céline Le Chatelier, Elena Zinovieva, Sophie Lebon, Céline Bouchet, Roselyne Gesny, Jean-Paul Bonnefont, Arnold Munich, Agnès Rötig
INSERM U393

Les déficits en cytochrome c oxydase (COX) représentent une des causes les plus fréquentes de maladies mitochondriales puisqu'ils regroupent environ un quart des déficits de la chaîne respiratoire. Ce complexe est composé de treize sous-unités dont trois sont codées par l'ADN mitochondrial. Tous les gènes nucléaires et mitochondriaux codant ces différentes sous-unités sont connus. D'autre part, plusieurs gènes nucléaires impliqués dans l'assemblage de ce complexe ont été identifiés. Tous ces gènes sont des gènes candidats majeurs de ces déficits mais des mutations dans seulement quelques uns d'entre eux ont pu être mises en évidence chez des patients. Les déficits en COX regroupent une très grande hétérogénéité clinique suggérant une hétérogénéité génétique. Nous disposons d'une série de 80 patients présentant un déficit isolé en COX mais pour 5 d'entre eux seulement une mutation dans un de ces gènes a pu être rapportée. Il s'agit dans tous les cas d'une mutation dans un des gènes d'assemblage du complexe IV. Parmi nos patients, treize sont issus de parents consanguins. Les trois gènes mitochondriaux COXI, COXII et COXIII ont été exclus par séquençage direct. Nous avons ensuite utilisé une étude indirecte basée sur la consanguinité de ces patients pour tester l'implication éventuelle des gènes nucléaires codant soit pour les sous-unités de la COX soit pour ses protéines d'assemblage. Pour chacun des 30 gènes candidats, deux marqueurs microsatellites flanquants et distants de 4 Mb au maximum du gène ont été testés. L'hétérozygotie des deux marqueurs flanquant un gène candidat permet d'exclure ce gène comme responsable du déficit. En cas d'homozygotie, le gène étudié devient candidat et est séquençé. L'étude indirecte par marqueurs microsatellites a permis d'exclure 79,6 % des loci testés et le séquençage des gènes dont les marqueurs étaient homozygotes a permis par la suite d'exclure 16,3 % de loci supplémentaires. Au total, cette étude a permis d'exclure 96 % des gènes candidats à un déficit de la cytochrome c oxydase. Il apparaît donc que les gènes codant soit pour les sous-unités du complexe IV, soit pour ses protéines d'assemblage ne rendent compte que rarement de ces déficits.

Mots-clés : mitochondrie, cytochrome oxydase, COX.

■P368 / 393. VERS L'IDENTIFICATION DES BASES MOLÉCULAIRES D'UN DÉFICIT DE LA MACHINERIE TRADUCTIONNELLE MITOCHONDRIALE

Valérie Serre, Julie Chebath, Dominique Chrétien, Noman Kadhom, Isabelle Valnot, Arnold Munnich, Agnès Rötig
INSERM U393

Les déficits multiples de la chaîne respiratoire mitochondriale représentent une entité extrêmement floue des maladies mitochondriales. Il s'agit de déficits combinés de différents complexes pouvant résulter de mécanismes très différents.
Nous présentons ici le cas d'un patient présentant un déficit de traduction mitochondriale. Il s'agit d'un enfant issu de parents consanguins qui présentait un retard staturo-pondéral pré et post natal. Le bilan métabolique révélait une hyperlactacidémie et une hypercétonémie permanentes. Le taux d'hormone de croissance circulant était normal alors qu'on notait un taux effondré d'IGF1. Un retard psychomoteur est apparu à l'âge de deux ans. À trois ans son état neurologique et intellectuel s'est aggravé et il décède la même année dans un tableau de grande détresse neurologique et métabolique. L'étude enzymatique de la chaîne respiratoire a mis en évidence un déficit prononcé des complexes I et IV dans le muscle, le foie, les fibroblastes, et un déficit partiel en complexe IV dans les lymphocytes. Deux ans plus tard, un diagnostic prénatal enzymatique réalisé sur trophoblastes, puis sur liquide amniotique, a révélé pour deux jumeaux dizygotes un déficit en complexe IV de la chaîne respiratoire. La grossesse a été interrompue à 11 semaines de développement. Un troisième diagnostique prénatal enzymatique eut lieu 2 ans après et n'a révélé aucun déficit de la chaîne respiratoire. Une cartographie par homozygotie a été réalisée. Quatre marqueurs se sont révélés être homozygotes pour les trois enfants atteints, et génodifférents pour l'enfant sain. Aucune autre région d'homozygotie spécifique aux trois enfants atteints n'a pu être identifiée, suggérant que le locus de la maladie est localisé en 17q25.1-qter, dans un intervalle maximum de 8,3 Mb. Cette région comprend 171 gènes, dont 3 gènes codant pour des protéines ribosomales mitochondriales. Une analyse biochimique par SDS-PAGE 1D et Western Blot à l'aide d'un cocktail d'anticorps permettant d'apprécier l'abondance relative des différents composants de la chaîne respiratoire nous a permis de constater que le profil protéique de ce patient pourrait correspondre à un déficit de la machinerie traductionnelle mitochondriale. Le séquençage des exons de l'un des 3 gènes candidats a permis d'identifier chez les enfants atteints une substitution homozygote qui change une alanine en valine dans une région conservée de la protéine MRPL12. Afin de pouvoir comprendre les modifications structurales éventuellement induites par cette substitution, une prévision de la structure tridimentionnelle des protéines sauvages et mutées a été entreprise. Les deux autres gènes candidats sont en cours de séquençage.

Mots-clés : mitochondrie, traduction, cartographie.

■P369 / 399. ANGIOMES CAVERNEUX. MANIFESTATIONS CLINIQUES ET NEURORADIOLOGIQUES ASSOCIÉES AUX MUTATIONS DE *CCM1/KRIT1, CCM2/MGC4607* ET *CCM3/PDCD10*

C. Denier (1), P. Labauge (1, 2), F. Bergametti (1) F. Riant (3) M. Arnoult (1), L. Brunereau (4), E. Vicaut (5), E. Tournier-Lasserve (1, 3) et la Société Française de Neurochirurgie
(1) INSERM U740 ; (2) CHU de Montpellier ; (3) Laboratoire de génétique Hôpital Lariboisière ; (4) CHU de Tours ; (5) URC Lariboisière

Introduction : Les angiomes caverneux ou cavernomes (CCM / Cerebral Cavernous Malformations) sont des malformations vasculaires très évolutives, le plus souvent localisées dans le système nerveux central mais aussi dans la rétine ou la peau. Ils sont histologiquement définis par la juxtaposition de cavités sanguines bordées d'un endothélium, sans interposition de parenchyme cérébral. Il en existe une forme sporadique (80 % des cas) et une forme familiale, caractérisée par la présence de lésions multiples (20 % des cas / FCCM). Le début des troubles cliniques se situe le plus souvent entre 20 et 30 ans mais peut aussi survenir dans la petite enfance comme à un âge très avancé. Les symptômes les plus fréquents sont des crises d'épilepsie et/ou des déficits neurologiques liés à des hémorragies cérébrales de sévérité très variable. Trois gènes CCM ont été identifiés par notre équipe, CCM1/KRIT1, CCM2/MGC4607 et CCM3/PDCD10. Les mutations observées dans ces 3 gènes sont quasi exclusivement des mutations de type perte de fonction (Laberge *et al. Nature Genet* 1999 ; Denier *et al. Am J Hum Genet* 2004 ; Denier *et al. Ann Neurol* 2004, Bergametti *et al. Am J Hum Genet* 2005).
Objectifs : Analyser les caractéristiques cliniques et neuroradiologiques des angiomes caverneux en fonction de la nature du gène muté
Patients, Matériel et Méthodes : Analyse clinique et neuroradiologique détaillée (IRM séquences T1/T2 et T2*) de 173 familles atteintes de FCCM recrutées consécutivement. Criblage des 3 gènes par séquençage de l'ADN génomique et criblage du cDNA
Résultats :
– Mutation identifiée dans 129 familles sur 173 (75 %).
– CCM1 : 86 Familles (67 %) ; CCM2 : 26 F (20 %) ; CCM3 : 17 F (13 %).
– Identification de 338 porteurs de la mutation au sein de ces 129 familles, incluant 209 sujets symptomatiques et 129 sujets asymptomatiques, établissant le caractère incomplet de la pénétrance clinique dans les 3 groupes.
– 82 % sujets mutés avaient des lésions multiples sur les séquences T1/T2 sur l'IRM cérébrale.
– 6 sujets mutés adultes ne présentaient aucune lésion détectable ni sur les séquences T1/T2 ni sur les séquences très sensibles T2* (echo de gradient), établissant le caractère incomplet de la pénétrance radiologique.
– la nature des symptômes inauguraux, l'âge de début, l'association à des lésions rétiniennes et/ou cutanées, le nombre de lésions à l'IRM et la pénétrance ont été précisés pour chacun des 3 groupes et leur analyse comparative sera présentée lors du colloque.

Mots-clés : cavernome, angiome, *KRIT1 PDCD10 MGC4607*.

■P370 / 400. DYSTROPHIE MYOTONIQUE DE STEINERT : INSTABILITÉ DES TRIPLETS RÉPÉTÉS CTG ET MÉTABOLISME DE L'ADN

Laurent Foiry (1), Aline Huguet (1), Li Dong (1), Cédric Savouret(2), Claudine Junien (1) et Geneviève Gourdon (1)
(1) Inserm U383, Hôpital Necker, Paris ; (2) Stratagene Europe, Amsterdam, The Netherlands

On dénombre plus d'une vingtaine de pathologies dues à des séquences répétées du type CNG, telles que le syndrome de l'X fragile, la chorée de Huntington, la dystrophie myotonique de Steinert (DM1) et plusieurs types d'ataxie spinocérébelleuse. Ces répétitions ont la particularité d'être instables chez les patients, généralement, leur nombre augmentant au cours des générations (instabilité intergénérationnelle) et dans les tissus (instabilité somatique). Afin d'identifier les mécanismes responsables de cette instabilité, le laboratoire a créé un modèle murin de la DM1 possédant une grande répétition CTG dans son environnement chromatinien humain. Ces souris reproduisent une forte instabilité intergénérationnelle et somatique biaisée dans plus de 90 % des cas vers les expansions de trinucléotides, comme observé chez les patients. En croisant ces souris possédant plus de 300 répétitions avec des souris invalidées pour différents gènes de la réparation de l'ADN, le laboratoire a montré l'implication de la protéine Msh2 dans la formation d'expansions de triplets au cours des générations et dans les tissus.
Afin de préciser le mode d'action de Msh2, nous avons étudié le rôle de ses partenaires, Msh3 et Msh6, sur l'instabilité des triplets dans notre modèle murin. Nous avons ainsi mis en évidence que Msh3, mais pas Msh6, est directement impliqué dans la formation d'expansions au cours des générations et dans les tissus. La comparaison de ces résultats avec ceux obtenus en absence de Msh2 suggère que Msh3 serait le facteur limitant du complexe Msh2-Msh3 responsable de la formation des expansions de triplets CTG.
Nous avons également étudié le rôle de la à la Ligase I, protéine impliquée notamment dans le processing des fragments d'Okazaki lors de la réplication de l'ADN. Nos résultats préliminaires mettent en évidence l'implication de la Ligase I dans la formation d'expansions intergénérationnelles, uniquement lorsque les répétitions sont transmises par des femelles, ceci mettant en évidence l'implication de facteurs sexe-specifiques dans ces mécanismes d'instabilité.
La compréhension de ces mécanismes devrait aider au développement de thérapies visant à bloquer l'instabilité de ces triplets répétés probablement liée à la progression des symptômes.

Mots-clés : dystrophie myotonique, instabilité, réparation ADN.

■P371 / 401. IDENTIFICATION DE MUTATIONS DU GÈNE *SCN1A* CHEZ DES PATIENTS ATTEINTS DE SYNDROME DE DRAVET OU D'ÉPILEPSIE FAMILIALE AVEC CONVULSIONS FÉBRILES

C. Depienne (1), O. Trouillard (1), R. Nabbout (2), I. Gourfinkel-An (1, 3), M. Baulac (3), A. Arzimanoglou (4), O. Dulac (2), E. Leguern (1)
(1) INSERM U679 et Département de Génétique, Cytogénétique et Embryologie, Hôpital de la Salpêtrière, Paris ; (2) Département de Neuropédiatrie, Hôpital St-Vincent-de-Paul, Paris ; (3) Pôle d'Épileptologie, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris ; (4) Hôpital R. Debré, Paris

Des mutations du gène SCN1A, codant pour la sous-unité alpha1 du canal sodium neuronal voltage-dépendant Nav1.1 ont été identifiées dans des

épilepsies familiales associant plusieurs types de crises fébriles et afébriles (GEFS+). D'autres mutations du même gène ont été également identifiées comme responsables d'un syndrome épileptique plus sévère, l'épilepsie myoclonique sévère du nourrisson (SMEI) ou syndrome de Dravet. Celui-ci est une épilepsie pharmacoresistante caractérisée par début dans la première année de la vie de crises fébriles prolongées, généralisées ou unilatérales, puis par le développement ultérieur de crises afébriles. Après l'âge de deux ans, les enfants présentent généralement un retard du développement psychomoteur et une ataxie. Le syndrome de Dravet est habituellement une maladie sporadique due à des mutations de novo dans SCN1A. Toutefois, il peut occasionnellement affecter des frères et sœurs ou se produire dans un contexte familial d'épilepsie familiale de type GEFS+.
Afin d'établir des corrélations génotype-phénotype et d'étudier les mécanismes physiopathologiques responsables de SMEI, nous avons analysé un grand groupe de patients comportant 91 patients avec un syndrome de Dravet isolé, 5 paires de germains avec syndrome de Dravet, et 14 patients présentant une épilepsie familiale de type GEFS+. Le gène SCN1A a été analysé par DHPLC et les exons présentant un profil anormal ont été systématiquement séquencés. Nous avons identifié 42 mutations de SCN1A, dont 35 sont nouvelles. Quarante mutations sont responsables de syndrome de Dravet : 15 sont des mutations faux-sens, une provoque la délétion en phase d'un acide-aminé, six sont des mutations non-sens, dix sont des petites délétions ou insertions entraînant un décalage du cadre de lecture, sept sont des mutations affectant les sites d'épissage et une affecte le codon d'initiation de la traduction. La plupart des mutations de SCN1A responsables de SMEI sont des événements de novo, mais pour trois patients, elles ont été héritées d'un parent asymptomatique ou modérément atteint. Les deux mutations restantes sont des mutations faux-sens ségrégeant avec le trait épileptique dans les familles GEFS+. Une de ces familles comporte un patient avec syndrome de Dravet.
Ces résultats suggèrent fortement qu'un mécanisme d'haploinsuffisance est responsable du syndrome de Dravet. L'un des enjeux du travail est de comprendre comment certaines mutations faux-sens peuvent engendrer des épilepsies familiales répondant bien aux traitements anti-épileptiques tandis que d'autres provoquent un syndrome épileptique très sévère pharmacorésistant.

Mots-clés : épilepsie, canaux sodium voltage-dépendant, mutation.

■P372 / 402. IDENTIFICATION D'UNE NOUVELLE MUTATION DU GÈNE *CHRNA4* DANS UNE FAMILLE AVEC ÉPILEPSIE FRONTALE NOCTURNE AUTOSOMIQUE DOMINANTE

E. Fédirko (1), C. Depienne (1), I. An (1, 2), S. Baulac (1), M. Baulac (2), E. Leguern (1)
(1) INSERM U679 et Département de Génétique, Cytogénétique et Embryologie, Hôpital de la Salpêtrière, Paris ; (2) Pôle d'Épileptologie, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris

Introduction. Les épilepsies sont des affections neurologiques fréquentes, caractérisées par des décharges paroxystiques, spontanées et synchrones d'un ensemble de neurones. Les Épilepsies Frontales Nocturnes Autosomiques Dominantes (ADNFLE) sont des épilepsies partielles familiales idiopathiques dont les crises brèves surviennent avec prédilection au cours du sommeil. Des mutations dans les gènes CHRNA4 et CHRNB2, codant respectivement pour les sous-unités a4 et b2 des récepteurs nicotiniques à l'acétylcholine, ont été identifiées dans des familles présentant des ADNFLE. Les mutations identifiées à ce jour demeurent toutefois rares et sont localisées dans le deuxième domaine trans-membranaire (M2) des canaux.
Objectifs et méthodes. Le travail a consisté à rechercher des mutations dans les gènes CHRNA4 et CHRNB2 dans un ensemble de 30 familles avec épilepsie partielle dont la transmission était compatible avec un mode autosomique dominant. Les 6 exons codant de chacun des 2 gènes ont été amplifiés respectivement en 8 et 7 amplicons avant d'être directement séquencés.
Résultats. Nous avons identifié chez une mère et sa fille ayant toutes deux un phénotype compatible avec une ADNFLE, une substitution dans l'exon 5 de CHRNA4 absente d'une population contrôle Caucasienne de 550 chromosomes. Cette mutation entraîne le changement de la leucine 290, hautement conservée, en valine et est située dans le segment M2 où ont été décrites l'ensemble des mutations CHRNA4. Nous avons également identifié une substitution G>A silencieuse dans l'exon 5 CHRNB2, également absente de notre population contrôle, mais dont l'effet reste pour le moment indéterminé chez un patient ayant une épilepsie frontale sans contexte familial connu d'épilepsie mais dont plusieurs membres de la famille ont des manifestations de parasomnies.
Conclusion. L'analyse des gènes CHRNA4 et CHRNB2 a permis d'identifier une nouvelle mutation dans le gène CHRNA4 responsable d'ADNFLE. Elle a confirmé que les mutations dans les gènes CHRNA4 et CHRNB2 sont rares et localisées dans le domaine M2, et n'expliquent qu'une faible partie des épilepsies partielles familiales

Mots-clés : épilepsie nocturne du lobe frontal, récepteur nicotinique, mutation.

■P373 / 407. INTÉRÊT DU CRIBLAGE DU GÈNE *ATP1A2* DANS LA MIGRAINE HÉMIPLÉGIQUE FAMILIALE

Florence Riant (1, 2), Anne Ducros (2, 3), Claire Ploton (1), Jacqueline Maciazek (2), Marie Germaine Bousser (2, 3), Élisabeth Tournier-Lasserve (1,2)
(1) Laboratoire de Génétique Moléculaire, Hôpital Lariboisière AP-HP, Paris, (2) INSERM U740, Paris ; (3) Service de Neurologie, Hôpital Lariboisière AP-HP, Paris

Introduction : La migraine touche environ 15 % de la population. La migraine hémiplégique familiale (MHF) est une forme rare de migraine avec aura, caractérisée par la survenue d'une hémiplégie au cours des crises, et dont la transmission est autosomique dominante. Les crises peuvent être atypiques de par leur durée prolongée ou l'importance de la symptomatologie. Un tableau d'encéphalopathie diffuse, réversible, n'est pas rare, associant fièvre, crises comitiales et troubles de la conscience. Une ataxie ou un nystagmus en dehors des crises sont présents dans 20 % des cas. La MHF est hétérogène génétiquement. Trois gènes impliqués dans cette affection ont été identifiés : CACNA1A (19p13), code pour un canal calcique, ATP1A2 (1q23), code pour un pompe Na+/K+, et SCN1A (2q24), code pour un canal sodium. Des études préalables réalisées dans notre laboratoire ainsi que dans d'autres équipes de recherche, ont permis de mettre en évidence une vingtaine de mutations différentes dans le gène ATP1A2, largement réparties sur l'ensemble de celui-ci.
Objectifs : Déterminer l'intérêt du criblage du gène ATP1A2 dans le diagnostic primaire de la MHF. Chez qui et dans quels cas ce test est-il indiqué ? De la même façon qu'il a été montré que la quasi-totalité des cas de MH avec ataxie sont lié à une mutation du gène CACNA1A, y a-t-il des manifestations cliniques plus spécifiques quand le gène muté est ATP1A2 ?
Matériel et méthodes : 106 patients consécutifs, adressés dans notre laboratoire pour diagnostic moléculaire de migraine hémiplégique entre janvier 2003 et juin 2005, 38 % d'hommes et 62 % de femmes ont été analysés. L'âge des patients au moment de la demande était compris entre 2 et 80 ans avec une moyenne à 27,6 ans (28,5 chez les hommes et 27,1 chez les femmes). Le criblage des 23 exons du gène a été effectué par séquençage.
Résultats : 15 mutations différentes ont été identifiées chez 16 patients (15,1 %), 14 femmes et 2 hommes. L'âge de ces patients au moment de la demande diagnostique était compris entre 6 et 41 ans avec une moyenne à 15,3 ans. L'âge moyen de début des signes cliniques était de 8,4 ans avec un âge minimal à 3 ans et maximal à 12 ans. Cinq cas se présentaient comme sporadiques et le caractère de novo de la mutation a été vérifié pour 4 d'entre eux. Sur le plan clinique, 4 des 16 patients mutés avaient présenté des signes d'épilepsie ou des convulsions fébriles, pour 2 autres, il y avait une notion d'épilepsie dans leur famille. Aucun patient ne présentait d'ataxie.
Conclusion – discussion : L'analyse moléculaire du gène ATP1A2 a permis de mettre en évidence une mutation dans 15 % des demandes diagnostiques. Ce test est coûteux et lourd à mettre en œuvre du fait de la taille importante du gène. Il doit donc être réalisé dans les cas qui posent un réel problème de diagnostic du fait de manifestations cliniques graves, ou atypiques (coma, convulsions fébriles, épilepsie), en particulier chez les enfants. L'absence d'antécédents familiaux ne doit pas exclure le diagnostic (31 % de néomutations). Les données obtenues suggèrent une différence de pénétrance selon le sexe.

Mots-clés : migraine hémiplégique familiale, *ATP1A2*, diagnostic.

■P374 / 412. RECHERCHE DE GÈNES SPÉCIFIQUES DE LA CILIOGENÈSE

J.T. Pham-Nguyen (1), L. El Zein (2), O. Merrot (3), B. Chhin (1), P. Bouvagnet (1)
(1) INSERM EMIU0226, Université Claude-Bernard Lyon 1 (France) ; (2) CNRS-UMR 5534, Centre Génétique Moléculaire et Cellulaire (Villeurbanne, France) ; (3) Service ORL du Pr Pignat, Hôpital de la Croix-Rousse (Lyon, France)

Introduction. La Dyskinésie Ciliaire Primitive (DCP) est une maladie génétique le plus souvent à transmission autosomique récessive. Le phénotype est caractérisé par des anomalies axonémales des cils respiratoires et parfois des flagelles des spermatozoïdes conduisant à des bronchites et sinusites chroniques qui sont quelquefois associées à un situs inversus

(syndrome de Kartagener) et à une stérilité masculine. Les cils épithéliaux jouent un rôle protecteur essentiel dans les voies respiratoires en permettant le transport muco-ciliaire. Mais les composants structurels des cils humains sont mal connus. Pour mieux connaître les composants ciliaires humains, l'objectif de notre travail était d'identifier les gènes spécifiquement transcrits dans les cellules ciliées à partir de l'étude du transcriptome de cellules respiratoires épithéliales humaines en culture et en utilisant la technique RDA (Representation Difference Analysis). Matériel et méthodes. Les cellules épithéliales sont obtenues à partir de fragments de muqueuse nasale (issus des cornets) qui sont prélevés par des chirurgiens ORL. Les cellules sont mises en culture sur une couche de collagène où elles se fixent et se dédifférencient. Cette dédifférenciation se caractérise par la perte des cils et une prolifération exponentielle jusqu'à confluence, au bout d'une semaine. Nous obtenons des cellules non ciliées. Ensuite, une partie des cellules est traitée par la collagénase IV et remise en suspension dans un milieu qui contient des facteurs de croissance favorisant la redifférenciation des cellules. Les cellules cessent alors de proliférer et se redifférencient : après 3 semaines, les cils réapparaissent et nous obtenons des cellules ciliées. Nous avons réalisé une comparaison du transcriptome de ces deux populations de cellules par la méthode RDA qui consiste en une réitération d'étapes d'hybridation soustractive et d'enrichissement cinétique en transcrits d'intérêt. Elle permet d'éliminer les fragments communs entre deux populations d'ADNc et d'amplifier les fragments spécifiques du tissu cible, ici, les cellules épithéliales ciliées, par rapport aux cellules non ciliées, afin d'obtenir un DP3 (different product 3) ayant un rapport de soustraction de 1 : 250 000. Enfin, ces produits DP3 ont été clonés et séquencés. Résultats. Nous avons choisi de séquencer des clones dans chaque zone de taille (200, 300, 400 et 600 pb) de DP3. Parmi, les 300 sélectionnés 68 d'entre eux avaient un insert. Chaque zone de taille contient des transcrits de plusieurs gènes. Nous avons identifié des gènes qui interviennent dans le métabolisme énergétique, la transcription, la traduction et un gène de structure des cils. D'autre part, nous avons identifié deux transcrits déjà connus pour être impliqués dans la ciliogénèse : la bêta tubuline et l'annexine. Nous avons aussi identifié un gène qui se trouve dans la région candidate de la Dyskinésie Ciliaire Primitive liée à l'X. D'autres clones sont en cours de séquençage. Conclusion. À ce jour, nous avons ainsi identifié des transcrits de gènes, impliqués dans le métabolisme énergétique, la transcription et la traduction ainsi que celui d'un gène de structure. L'identification de ces gènes permet de mieux comprendre le fonctionnement de ce type cellulaire et constitue une cartographie de gènes potentiellement impliqués dans la DCP, une maladie très hétérogène.

Mots-clés : la dyskinésie ciliaire primitive (DCP), les cellules épithéliales ciliées, RDA (Respresentation Difference Analysis).

■P375 / 417. UMD-FBN2 : UNE NOUVELLE BASE DE DONNÉES LOCUS SPÉCIFIQUE POUR LE GÈNE *FBN2* IMPLIQUÉ DANS L'ARACHNODACTYLIE CONTRACTURANTE CONGÉNITALE (CCA)

C. Monino (1), M. Frederic (1), C. Beroud (1), D. Hamroun (1), L. Faivre (2), G. Jondeau (3,4), C. Boileau (3, 5, 6), M. Claustres (1), G. Collod-Beroud (1)

(1) Laboratoire de Génétique Moléculaire, IURC, Montpellier, France ; (2) Centre de Génétique, Hôpital d'Enfants, Dijon, France ; (3) Consultation pluridisciplinaire Marfan, Hôpital Ambroise Paré, Boulogne, France ; (4) Service de Cardiologie, Hôpital Ambroise Paré, Boulogne, France ; (5) Laboratoire central de Biochimie, d'Hormonologie et de Génétique Moléculaire, Hôpital Ambroise-Paré, Boulogne, France ; (6) INSERM U383, Hôpital Necker, Paris, France

L'arachnodactylie contracturante congénitale (CCA) ou syndrome de Beals-Hecht est une maladie génétique héréditaire du tissu conjonctif causée par des mutations au sein du gène FBN2. Elle présente des signes cliniques proches de ceux du Syndrome de Marfan (MFS), qui lui est dû à des altérations du gène FBN1. Les principaux symptômes du CCA sont des anomalies squelettiques telles que l'arachnodactylie, la dolichosténomélie, les déformations du thorax et la cyphoscoliose. La faible occurrence dans le CCA des manifestations cardio-vasculaires responsables de la forte mortalité dans le MFS, telles que la dilation ou dissection de l'aorte et le prolapsus valvulaire mitral, donne pour cette maladie un meilleur pronostic. L'incidence de cette pathologie est inconnue, mais elle est plus faible que pour le MFS qui se situe à environ 1/5 000. La faible fréquence de cette pathologie ainsi que la lourdeur de son diagnostic (65 exons) expliquent à ce jour le faible nombre de mutations décrites. Le gène FBN2 (long de 127,6 Mb) est localisé sur le chromosome 5 en 5q23-31. Il code pour la fibrilline-2. Ce gène partage avec FBN1 une structure particulière de modules répétés en tandem. Le gène FBN1 est largement étudié depuis 1991 et plus de 600 mutations sont actuellement décrites. L'existence de cette très grande similitude entre les deux gènes nous a donc incité à comparer leurs mutations. Dans cet objectif, nous avons mis en place, comme pour FBN1 en 1995, une base de données locus spécifique avec le logiciel UMD. Cette base de données UMD-FBN2 contient à ce jour 25 mutations du gène FBN2, dont 23 sont regroupées dans les exons 24-33. Parmi ces mutations, on dénombre 13 mutations faux sens, 1 insertion en phase, une mutation nonsense et 10 mutations d'épissage. Ces dernières entraînent la délétion d'un exon en phase dans 7 cas. Dans les trois autres cas, bien que non démontré, il est très probable que la délétion résultante de l'exon soit également en phase. La situation est donc très similaire avec celle du gène FBN1 pour lequel les mutations sont en majorité privées et généralement de type faux sens. De la même façon, puisque la validation in vitro de ces variations de nucléotides n'est pas toujours possible dans le cadre d'un diagnostic, des arguments indirects doivent être accumulés pour évaluer le caractère pathogène de ces mutations faux-sens. Nous avons annoté la séquence du gène FBN2 en mettant en évidence les domaines fortement conservés ou HCD (Highly Conserved Domains) qui identifient les acides aminés clés de la protéine. Ces HCD comprennent certaines cystéines impliquées dans les ponts disulfures, des acides aminés dans la liaison au calcium, des asparagines dans la N glycosylation, des glycines dans les repliements entre domaines, des sites de coupure furine/pace ou de métalloprotéases, des acides aminés impliqués dans des sites d'interaction cellulaire du type RGD ou d'acides aminés très conservés n'ayant pas de fonction connue dans les modules cb EGF-like, TGFBP, EGF-like ainsi que dans les modules fibulin-like (Cterm) et LTPB-like (Nterm) nouvellement décrits. Ces données nous permettent de classer ainsi les 13 mutations faux-sens de la façon suivante : 8 modifient des cystéines impliquées dans des ponts disulfures, 2 mutations sont au niveau d'acides aminés impliqués dans la liaison au calcium, et 1 est localisée dans un acide aminé conservé du module TGFBP. Pour les deux mutations restantes qui ne sont pas localisées dans la région des exons 24 à 32, aucun argument n'est actuellement disponible.

Mots-clés : base de données, arachnodactylie contracturante congénitale, mutations.

■P376 / 420. MUTATIONS DU GÈNE *POR* CHEZ DES PATIENTS AVEC UN DIAGNOSTIC DE DÉFICIT EN 17,20-LYASE OU DE DÉFICIT EN 21-HYDROXYLASE, ASSOCIÉS OU NON À UN SYNDROME D'ANTLEY-BIXLER ET DU GÈNE *FGFR2* CHEZ UN FŒTUS PRÉSENTANT UN SYNDROME D'ANTLEY-BIXLER ISOLÉ

D. Mallet (1), V. Tardy (1), M.G. Forest (2), D. Samara-Boustani (3), M. Polak (3), M. David (4), F. Kurtz (5), P. Jonveaux (6), Y. Morel (1)

(1) Laboratoire de Biochimie Endocrinienne et Moléculaire, EA3739, Hôpital Debrousse-Lyon ; (2) EA3739, Hôpital Debrousse, Lyon ; (3) Service d'Endocrinologie Pédiatrique, Hôpital Robert-Debré, Paris ; (4) Service d'Endocrinologie Pédiatrique, Hôpital Debrousse, Lyon ; (5) Service de Pédiatrie, Hôpital de Freyming, Merlebach ; (6) Service de Génétique, CHU de Nancy

L'enzyme NADPH P450 oxydoréductase est l'un des partenaires d'oxydoréduction des cytochromes P450 cytosoliques : P450c17, P450c21 et P450aromatase. En conséquence, les mutations du gène POR diminuent l'activité de ces enzymes, sans l'abolir complètement. Nous avons étudié le gène POR dans notre cohorte de patients suspects d'un déficit génétique de ces enzymes sans mutations des gènes correspondants, et identifié des mutations chez 6 patients issus de 5 familles non apparentées. Le patient 1 était un garçon de 8 ans avec micropénis et hypospade, suspect de déficit isolé en 17,20-lyase mais sans mutation du gène CYP17. Les patients 2a et 2b ont été décrits comme cas de déficits isolés en 17,20-lyase (J. Steroid. *Biochem* 1984 ; 20 : 455-58), mais paradoxalement le patient 2a était une fille virilisée in utero, et aucune mutation du gène CYP17 n'a été identifiée. Les patientes 3 et 4 étaient des filles virilisées à la naissance, aux stades V et III de Prader, respectivement, suspectes de déficit en 21-hydroxylase bien qu'elles n'aient pas connu d'épisode de perte de sel. Dans les deux cas, les taux de 17OH-Pro pendant le test ACTH étaient dans la zone des formes non classiques, contrastant avec l'importance de la virilisation à la naissance. Aucune mutation du gène CYP21 n'a été identifiée. Le patient 5 était un garçon avec un micropénis, un syndrome d'Antley-Bixler (craniosynostose et synostose radio-humérale), et un test ACTH évocateur de déficit combiné en 17,20-lyase et 21-hydroxylase. Le patient 1 est hétérozygote composite pour la mutation p.Y607C dans l'exon 14 et une duplication de 4pb dans l'exon 13 (c.1685-1689dupAGAC). Les patients 2a et 2b sont homozygotes pour la mutation p.A287P décrite dans la littérature. La patiente 3 est homozygote pour une délétion de 9pb dans l'exon 10 (c.1196_1204delCCTCGGAGC). La patiente 4 et le patient 5 sont

homozygotes pour la mutation p.A287P. Un autre cas de syndrome d'Antley-Bixler a été étudié, un fœtus de caryotype 46, XX, chez qui d'importantes anomalies squelettiques avaient été détectées pendant la grossesse. Les organes génitaux externes étaient féminins normaux. Le gène FGFR2 a été étudié et une mutation hétérozygote de novo a été identifiée dans l'exon 3c, la mutation p.Y340C. Cette mutation a déjà été décrite dans le syndrome de Pfeiffer (craniosténose, hypoplasie du massif facial, brachycéphalie, anomalies des extrémités). Les résultats de cette étude confirment les données de la littérature : le déficit en P450 oxydoréductase, de transmission autosomique récessive, peut causer chez les garçons une hypomasculinisation, chez les filles une virilisation des organes génitaux externes, et dans les deux sexes un syndrome d'Antley-Bixler associé à des anomalies de la stéroïdogenèse. Quand le syndrome d'Antley-Bixler est isolé, sans ambiguïté sexuelle et sans anomalie de la stéroïdogenèse, il est dû à des mutations autosomiques dominantes du gène FGFR2.

Mots-clés : P450 oxydoréductase, déficit en 17,20-lyase, déficit en 21-hydroxylase.

■P377 / 423. MISE EN PLACE DE LA PREMIÈRE BASE DE DONNÉES NATIONALE DES MUTATIONS DU GÈNE *DMD* (UMD-DMD) PAR LE RÉSEAU FRANÇAIS DES LABORATOIRES DE DIAGNOSTIC

S. Tuffery-Giraud (1), R. Ben Yaou (2), C. Peccate (2), L. Michel-Calemard (3), P. Khau van Kien (1), M.P. Moizard (4), M.A. Voelckel (5), M. Blayau (6), N. Monnier (7), C. Philippe (8), P. Boisseau (9), M. Cossee (10), A. Guiochon-Mantel (11), I. Creveaux (12), E. Bieth (13), B. de Martinville (14), V. Humbertclaude (1), J. Lunardi (7), P. Jonveau (8), S. Bezieau (9), J.L. Mandel (10), V. David (6), N. Lévy (5), C. Moraine (4), F. Leturcq (2), Y. Morel (3), J.C. Kaplan (2), J. Chelly (2), M. Claustres (1), C. Béroud (1)

(1) Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHU de Montpellier ; (2) Laboratoire de Biochimie et Génétique Moléculaire, Hôpital Cochin, Paris ; (3) Laboratoire de Biochimie Endocrinienne et Moléculaire, CHU de Lyon ; (4) Service de Génétique, CHU de Tours ; (5) Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHU de Marseille ; (6) Laboratoire de Génétique Moléculaire et Hormonologie, CHU de Rennes ; (7) Laboratoire de Biochimie de l'ADN, CHU de Grenoble ; (8) Laboratoire de Génétique Médicale, CHU de Nancy ; (9) Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHU de Nantes ; (10) Laboratoire de Diagnostic Génétique, CHU de Strabourg ; (11) Laboratoire d'Hormonologie et Biologie Moléculaire, Le Kremlin-Bicetre ; (12) Laboratoire de Biochimie Médicale et Biologie Moléculaire, Hôpital de Clermont-Ferrand ; (13) Laboratoire de Génétique Médicale, CHU de Toulouse ; (14) Laboratoire de Génétique Médicale, CHU de Lille

Les dystrophies musculaires de Duchenne et de Becker (DMD/BMD) sont les plus fréquentes des dystrophies musculaires progressives de l'enfant, dues à des mutations du gène DMD codant la dystrophine. Depuis la découverte du gène en 1987, des milliers de mutations ont été identifiées dans le monde, et probablement près de deux mille en France par les laboratoires chargés du diagnostic moléculaire de ces affections. Il n'existe pas cependant de répertoire exhaustif des mutations du gène DMD. La mise en place de la base UMD-DMD (base de données locus spécifique créée avec l'outil UMD, Universal Mutation Database) a pour objectif de collecter l'ensemble des données mutationnelles, publiées ou non, disponibles pour les patients français. Au cours de l'année écoulée, les laboratoires du réseau de diagnostic ont réalisé un bilan des patients pour lesquels une mutation (délétion, duplication, mutation ponctuelle) avait été identifiée. Ce travail de collecte a permis de faire le point sur les données moléculaires disponibles et de les compléter, principalement en définissant les bornes des délétions génomiques détectées par la technique de PCR multiplex. Seules les mutations parfaitement caractérisées sur le plan moléculaire sont saisies dans la base UMD-DMD afin de pouvoir réaliser des études de corrélations génotype-phénotype pertinentes. À ce stade un nombre limité de paramètres ont été remplis pour chaque patient comprenant (1) le nom de la mutation, (2) l'effet sur les transcrits quand il est disponible (3) le phénotype (DMD, BMD, autres dystrophinopathies), (3) l'expression de la dystrophine en immunofluorescence et en Western blot (4) la transmission (familiale, cas isolé, ou de novo dans le cas où la biologie moléculaire a permis d'établir que la mère du patient n'est pas porteuse de la mutation). Les données ainsi collectées ajoutées à celles déjà saisies dans UMD-DMD par le laboratoire de Cochin, devront être complétées à terme par des informations cliniques et biologiques. À ce jour, nous avons déjà colligé les données moléculaires de 1 600 patients. Ce travail permet de dresser pour la première fois le bilan du nombre de mutations identifiées en France chez les patients DMD ou BMD, d'en préciser la nature (fréquence des délétions, duplications, et mutations ponctuelles) et la distribution, et d'estimer le nombre de mutations de novo dans la population française. La base UMD-DMD en cours de constitution est le premier exemple d'une banque de données nationale pour la DMD. Elle devrait fournir tant aux cliniciens qu'aux biologistes et chercheurs un précieux outil de travail.

Mots-clés : gène DMD, mutations, base de données.

■P378 / 424. EXCLUSION DES GÈNES *CNGA3, CNGB3* ET *GNAT2* POUR L'ACHROMATOPSIE COMPLÈTE CHEZ UNE FAMILLE TUNISIENNE

Farah Ouechtati (1), Ahlem Merdassi (2), Leila El Matri (2), Sonia Abdelhak (1)

(1) Unité de Recherche 26/04 « Exploration Moléculaire des Maladies Orphelines d'Origine Génétique », Institut Pasteur de Tunis, Tunisie. (2) Unité de Recherche d'Oculogénétique, Institut d'Ophtalmologie Hédi Rais, Tunis, Tunisie

L'achromatopsie complète ou monochromatisme des bâtonnets est une maladie congénitale rare (1/30 000 à 1/50 000) transmise selon un mode autosomique récessif. Cette rétinopathie stationnaire est caractérisée par une incapacité de voir les couleurs, une photophobie, un nystagmus et une faible acuité visuelle. L'achromatopsie présente une hétérogénéité génétique. En effet, trois gènes au moins seraient impliqués dans cette affection. Les gènes CNGA3 et CNGB3 codent respectivement pour les sous unités alpha et bêta d'un canal GMPc-dépendant situé à la surface membranaire des cônes. Le gène GNAT2 code pour une sous unité alpha d'une protéine G transducine dans les cônes. L'ensemble de ces protéines joue un rôle primordial dans la transmission du signal visuel. Un quatrième locus ACHM1 pour l'achromatopsie complète a été rapporté chez un cas présentant une isodisomie uniparentale et une translocation Robertsonienne du chromosome 14. Afin d'identifier le gène impliqué dans l'achromatopsie chez une grande famille comprenant 9 individus atteints, une analyse de liaison génétique a été réalisée. La liaison à ces trois gènes a été testé grâce aux marqueurs polymorphes de type microsatellite D8S273, D8S167 et D2S2175, D2S2311 et D1S2813, D1S418 couvrant les régions des gènes CNGB3, CNGA3 et GNAT2 respectivement. L'analyse de liaison génétique montre une exclusion de ces trois gènes pour l'achromatopsie complète dans cette famille. La région candidate du quatrième locus localisé sur le chromosome 14 est en cours d'exploration. S'il y a exclusion de ce locus, un tour du génome sera entrepris pour rechercher le locus responsable de l'achromatopsie complète dans cette famille.

Mots-clés : achromatopsie complète, analyse de liaison génétique, exclusion.

■P379 / 426. LES MUTATIONS DU GÈNE *SF1* REPRÉSENTENT-ELLES UNE CAUSE FRÉQUENTE DE DYSGÉNÉSIE GONADIQUE ?

D. Mallet (1), A.M. Bertrand (2), F. Dijoud (3), J. Léger (4), S. Cabrol (5), C. Bouvattier-Morel (6), M. Cartigny-Maciejewski (7), M. David (8), L. Michel-Calemard (1), Y. Morel (1)

(1) Laboratoire de Biochimie Endocrinienne et Moléculaire, EA3739, Hôpital Debrousse, Lyon ; (2) Service de Pédiatrie, CHU de Besançon ; (3) Laboratoire d'Anatomopathologie, Hôpital Debrousse, Lyon ; (4) Service d'Endocrinologie, Hôpital Robert-Debré, Paris ; (5) Service d'Endocrinologie Pédiatrique, Hôpital Armand-Trousseau, Paris ; (6) Service d'Endocrinologie Pédiatrique, Hôpital Saint-Vincent-de-Paul, Paris ; (7) Service d'Endocrinologie Pédiatrique, CRHU de Lille ; (8) Service d'Endocrinologie Pédiatrique, Hôpital Debrousse, Lyon

Les mutations du gène SRY sont responsables de seulement 15 % des cas de dysgénésie gonadique ; chez la plupart des patients, le gène impliqué n'a pas encore été identifié. Des mutations du gène codant le récepteur nucléaire SF1, impliqué dans le développement et la fonction des glandes surrénales et des gonades, ont été identifiées ces dernières années chez des patients avec une dysgénésie gonadique isolée. Nous avons étudié le gène SF1 dans une population de 36 patients présentant une dysgénésie gonadique isolée et identifié des mutations chez 6 d'entre eux. Quatre patients sont hétérozygotes pour des mutations non sens, p.C16X, p.C13X, p.W279X, p.Q339X, le patient 5 est hétérozygote pour une délétion de 27pb et le patient 6 pour une mutation d'épissage IVS3+1G>T. Toutes ces mutations sont des mutations de novo. Ces patients ont tous été élevés dans le sexe féminin, et présentent le même phénotype avec une ambiguïté sévère des organes génitaux externes et des taux faibles de testostérone et d'AMH. La fonction surrénalienne, évaluée à plusieurs reprises, était complètement normale. L'étude histologique après gonadectomie montrait des testicules hypoplasiques mais avec une architecture sub-normale, notamment de nombreux tubes séminifères. L'aspect des testicules chez ces patients diffère de ceux rapportés précédemment dans la littérature qui avaient des gonades très dysgénétiques avec peu de tubes séminifères.

Cette importante différence pourrait être liée à l'âge auquel la gonadectomie et l'étude histologique ont été réalisées, avant deux ans et demi chez nos patients, à 27 ans et 31 ans chez les patients de la littérature. Les mutations p.C13X et p.C16X doivent produire des protéines mutantes de 12 et 15 acides aminés respectivement, dépourvues de toutes les régions essentielles pour l'activité transcriptionnelle de SF1, donc probablement inactives. Ces deux cas d'haploinsuffisance pure montrent qu'une demi dose de SF1 suffit pour assurer le développement et la fonction surrénalienne mais pas pour le développement gonadique. Les mutations p.W279X, p.Q339X, IVS3+1G>T et la délétion de 27pb affectent la structure du domaine de liaison au ligand. Notre hypothèse est que le développement gonadique normal dépend de l'interaction de SF1 avec un cofacteur gonade-spécifique potentiel via le domaine de liaison au ligand, et que ces protéines mutantes sont incapables d'interagir avec ce facteur. Cette étude suggère également que les mutations de SF1 représentent une cause fréquente de dysgénésie gonadique isolée.

Mots-clés : dysgénésie gonadique, *SF1*, mutations.

■P380 / 429. INTÉRÊT DE L'ÉTUDE DES TRANSCRITS ET DE LA PROTÉINE ALS2 CHEZ DES PATIENTS PRÉSENTANT UN TABLEAU DE DÉGÉNÉRESCENCE DES MOTONEURONES PRIMAIRES, CENTRAUX (SLP, IAHSP, SLA2)

Éleonore Eymard-Pierre (1), Koji Yamanaka (2), Patricia Combes (1), Don W. Cleveland (2), Enrico Bertini (3), SPATAX consortium (4), Odile Boespflug-Tanguy (1)

(1) INSERM U384 et Fédération de génétique médicale, CHU, Clermont-Ferrand ; (2) Ludwig Institute for Cancer Research and Departments of Medicine and Neuroscience, University of California at San Diego, USA ; (3) Bambino Gesu Children's Hospital, Roma, 4 Pr DURR Alexandra, Hôpital de la Salpétrière, Paris, France

Des mutations du gène ALS2, codant une protéine originale possédant 3 domaines d'activité d'échange de guanine (GEF), ont été décrites dans des tableaux cliniques caractérisés par une dégénérescence rétrograde du motoneurone primaire, central : sclérose latérale amyotrophique juvénile (SLA2), sclérose latérale primaire (SLP) et paralysie spastique héréditaire progressive ascendante de début précoce (IAHSP). Dans ce groupe d'affections, l'étude des 34 régions codantes du gène ALS2 par séquençage direct dans une cohorte de 26 familles atteintes (17 formes sporadiques et 9 formes familiales) nous a permis d'identifier une anomalie dans seulement 23 % des cas. Les patients ALS2 mutés présentaient tous une forme de début infantile de type IAHSP, sans atteinte du motoneurone périphérique. Il s'agit dans tous les cas de mutations aboutissant à une absence de protéine ALS2. Afin de mieux évaluer l'implication de ce gène dans ces pathologies, nous avons mis au point la quantification des transcrits et de la protéine ALS2 dans des cellules aisément accessibles en pratique clinique comme les lymphoblastes et les fibroblastes de peau. Une analyse en western blot des protéines extraites à partir de culot de lymphoblastes et de fibroblastes de témoins avec un anticorps monoclonal spécifique du domaine RCC1 de ALS2, a permis de détecter la protéine ALS2 uniquement dans les fibroblastes. Treize sujets témoins et 11 patients (4 mutés et 7 non mutés) ont été analysés. Chez les 4 patients mutés la protéine ALS2 n'était pas détectée alors que chez les 7 patients sans mutation identifiée, 6 avaient une protéine présente et de taille normale et 1 une protéine non détectable. La quantification des transcrits ALS2 a été réalisée par RT-PCR quantitative en comparaison par rapport à un transcrit ubiquitaire témoin, l'actine (Sybergreen, Light cycler Roche), dans des cellules de sujets témoins (13), de nos patients ALS2 mutés (4) et de nos patients IAHSP sans mutation ALS2 identifiées (7). Dans tous les cas, la quantité de transcrits ALS2 est plus importante dans les fibroblastes que dans les lymphoblastes (4 à 8 fois plus). Comparativement aux témoins, 2 patients ALS2 mutés avaient un taux de transcrits ALS2 significativement plus bas, démontrant que certaines mutations affectent la stabilité des transcrits ALS2. Chez 2 patients non mutés, nous avons trouvé des variations d'expression significative des transcrits suggérant l'existence de mutations dans des régions régulatrices du gène ALS2 En conclusion, l'analyse quantitative et qualitative des transcrits et de la protéine ALS2 à partir des fibroblastes de peau, nous parait une approche intéressante pour détecter les patients devant bénéficier d'un séquençage des régions codantes du gène ALS2 mais également ceux ayant des mutations impliquant un trouble de la régulation de ce gène.

Mots-clés : quantification, dégénérescence des motoneurones primaires, ALS2.

■P381 / 432. HÉTÉROGÉNÉITE GÉNÉTIQUE DES PARAPLÉGIES SPASTIQUES PURES LIÉES À L'X

G. Giraud (1), F. Cambi (2), J. Garben (3), J. Nielsen (4), D. Cau (5), V. Cusin (6), H. Van Esch (7), O. Boespflug-Tanguy (8)

(1) INSERM UMR 384, Faculté de Médecine, Clermont-Ferrand France ; (2) Department of Neurology, University of Kentucky, Lexington, USA ; (3) Department of Neurology, Wayne State University, Detroit, USA ; (4) Section of Neurogenetics, University of Copenhagen, Denmark ; (5) Centre Hospitalier, Cherbourg, France ; (6) Hôpital d'Enfants, Centre de Génétique, CHU Dijon, France ; (7) Center for Human Genetics, University Hospital Leuven, Belgium ; (8) Fédération de Génétique Humaine, CHU de Clermont-Ferrand, France

Les paraplégies spastiques représentent un groupe très hétérogène d'affections caractérisées par une dégénérescence prédominante des faisceaux corticospinaux moteurs ou motoneurone primaire. Dans les formes de transmission liée au chromosome X (SPGX), deux locus ont été initialement définis : SPG1(Xq28) impliquant le gène L1CAM et SPG2 (Xq22) le gène PLP Dans les deux cas, il s'agit, chez les garçons atteints, de SPG de début infantile et de type compliqué ou impur c'est-à-dire associée à d'autres signes cliniques aisément reconnaissables (retard mental, éléments malformatifs, signes liés à des troubles de la myélinisation) mais des formes pures ont été rapportées. D'autres entités syndromiques liées à l'X avec paraplégie spastique prédominante ont été ensuite localisées, en particulier le syndrome d'Allan Herndon Dudley en Xq13.2, impliquant le gène MCT8 et une famille rapportée par Steinmuller (1997) en Xq11.2. La mise en évidence par Tamagaki (2000) de l'insertion d'une région organisatrice du noyau (NOR) en Xq11.2 dans une famille de SPG-X pure suggère l'existence d'un gène dans cette région. Afin de mieux évaluer l'hétérogénéité génétique des formes pures de SPG X, nous avons sélectionné 7 familles chez lesquelles les garçons présentaient une SPG pure débutant avant 10 ans contrastant avec l'absence de symptômes ou des signes modérés de SPG au-delà de la troisième décade chez les filles. Dans un premier temps, nous avons étudié 4 familles en balayant le chromosome X avec un panel de 18 marqueurs répartis environ tous les 10cMo (Applied Biosystems) et précisé la région comprise entre Xp11.21 et Xq23 avec 23 marqueurs supplémentaires. Dans un deuxième temps, avec l'arrivée de 3 familles supplémentaires, nous avons repris l'ensemble des familles avec un panel de 48 marqueurs (Applied Biosystems) situés tous les 5cMo environ. Enfin, dans les régions d'intérêt, certains gènes candidats ont été séquencés. Le locus SPG1 a été exclu pour les 7 familles. Le locus SPG2 n'ayant pas été exclu dans 3 familles, le gène PLP a été séquencé et 2 mutations ont été trouvées. L'une, Ile187Thr, a déjà été décrite dans une SPG par Kobayashi (1994) et correspond à la mutation rumpshaker de la souris ; l'autre mutation, Leu40Phe, n'a pas été décrite jusqu'à présent. Dans les 5 familles restantes, un intervalle commun à 3 d'entre elles a pu être défini entre DXS986 (Xq21.1) et DXS8077 (Xq21.33) avec un lod score maximum de 4. Il est à noter que dans l'une de ces familles(pour laquelle 7 gènes candidats ont été séquencés sans succès) les sujets atteints ont la particularité de présenter aussi une atteinte axonale du motoneurone secondaire. Au total, les résultats des analyses de liaison menées dans 7 familles de SPG-X pure démontrent, comme dans les formes AD ou AR, une grande hétérogénéité génétique et suggèrent l'existence, à coté de SPG1 et SPG2, d'au moins 2 locus supplémentaires différents.

Mots-clés : paraplégies spastiques, chromosome X, gène *PLP*.

■P382 / 433. CRIBLAGE MOLÉCULAIRE DU GÈNE *BUB1B* DANS DES FAMILLES ATTEINTES DE MVA ET DANS LES TUMEURS ANEUPLOÏDES DE L'ENFANT

E. Bohers (1), A. Moncla (2), N. Philip (2), P. Bitoun (3), F. Mugneret (4), L. Olivier-Faivre (4), O. Delattre (5), A. Ribeiro (5), I. Tournier (1), R. Sesboue (1), J.M. Flaman (1), T. Frebourg (1)

(1) Inserm U614, Faculté de Médecine de Rouen ; (2) Département de Génétique Médicale, CHU de Marseille ; (3) Service De Pédiatrie, Hôpital Jean-Verdier, Bondy ; (4) Centre de Génétique, CHU de Dijon ; (5) Inserm U509, Institut Curie, Paris

Le point de contrôle de fuseau mitotique est un mécanisme essentiel de surveillance de la mitose permettant de maintenir un nombre correct de chromosomes au cours du cycle cellulaire. La protéine BUBR1 (codée par le gène bub1b) en est un composant central et appartient à un complexe produisant un signal « d'attente d'anaphase » jusqu'à l'attachement de tous les kinétochores au fuseau. Récemment, des travaux ont permis d'identifier les premières mutations constitutionnelles du gène bub1b dans le cadre d'une maladie autosomique récessive rare caractérisée notamment par des aneuploïdies en mosaïque, la MVA (Mosaic Variegated Aneuploidy). Parmi 8 familles étudiées, 5 étaient porteuses de mutations hétérozygotes composites de ce gène. L'identification de mutations de bub1b dans ce syndrome de prédisposition aux cancers a établi pour la première fois une relation entre aneuploïdie et mutations constitutionnelles d'un gène impliqué dans le point de contrôle du fuseau mitotique. Nous avons analysé le gène bub1b dans 4 familles françaises atteintes de MVA et 20 tumeurs

précoces et aneuploïdes (10 rhabdomyosarcomes embryonnaires et 10 neuroblastomes). Nous avons séquencé systématiquement les 23 exons de ce gène et recherché des réarrangements exoniques par QMPSF (Quantitative Multiplex PCR of Short Fluorescent fragments). Dans une première famille de MVA, une mutation délétère hétérozygote touchant le site donneur d'épissage de l'exon 7 (c.968+1G>A) a été retrouvée chez les deux frères atteints, mais aucune mutation n'a pu être été détectée sur l'autre allèle. Dans une deuxième famille de MVA, 2 mutations ont été identifiées : une dans l'exon 4, silencieuse sur le plan traductionnel (c.951T>C, p.Tyr116Tyr) et une faux-sens dans l'exon 9 (c.1093A>G, p.Ile365Val). L'analyse de 100 chromosomes contrôles a confirmé qu'il ne s'agissait pas de polymorphismes. Par RT-PCR et clonage, nous avons pu montrer que ces 2 mutations sont en trans. Ces deux arguments sont donc en faveur d'un caractère délétère de ces deux mutations. Cependant, à ce jour, l'analyse de la mutation de l'exon 4 par RT-PCR et test d'épissage ex vivo n'a pas permis de mettre en évidence d'altération de l'épissage. L'analyse des 20 tumeurs aneuploïdes a permis de retrouver la mutation c.951T>C (p.Tyr116Tyr) de l'exon 4 dans un neuroblastome, mais aucune autre mutation n'a été identifiée. L'ensemble de ces résultats illustre l'hétérogénéité des bases moléculaires du syndrome MVA et suggère que les mutations du gène bub1b sont rarement impliquées dans les tumeurs aneuploïdes de l'enfant.

Mots-clés : aneuploïdie, MVA, *Bub1b.*

■P383 / 435. RECHERCHE D'UN GÈNE IMPLIQUÉ DANS UNE NOUVELLE LEUCODYSTROPHIE AVEC ATTEINTE HÉPATIQUE, SURDITÉ ET CARDIOMYOPATHIE

A. Loizzo (1), E. Eymard-Pierre (3), E. Bertini (2), F. Santorelli (2), V. Leuzzi (1), O. Boespflug-Tanguy (3)
(1) Departement de Neurologie infantile et psychiatrie, Université de Rome « La Sapienza » ; (2) Bambino Gesu Children's Hospital, Roma ; (3) INSERM U384 et fédération de génétique médicale, CHU, Clermont-Ferrand

Nous avons individualisé une nouvelle forme de leucodystrophie de transmission autosomique récessive grâce à l'étude d'une famille consanguine sur 4 générations, comportant 54 individus dont 3 sujets atteints. Les patients présentent un phénotype caractérisé par un âge de début précoce et une apparition séquentielle de signes (1) d'abord neurologiques (ataxie progressive), (2) puis sensoriels avec une hypoacousie aboutissant à une surdité permanente en quelques années et (3) enfin de défaillance viscérale avec une augmentation des enzymes hépatiques puis une cardiomyopathie dilatée responsable du décès des patients avant l'âge de 18 ans. Les capacités cognitives sont par contraste conservées. L'IRM montrent un hypersignal diffus de la substance blanche dans les séquences T2, un hyposignal bilatéral des globes pales et de la substance blanche du tronc cérébral. Le bilan métabolique, y compris de la chaîne respiratoire mitochondriale musculaire, était normale chez les 3 patients. Nous avons fait une analyse génome entier avec 384 microsatellites repartis sur l'ensemble des chromosomes à un intervalle d'environ 10cM (LMD10, Applera) en utilisant la technique de DNA pooling. Nous avons poolé l'ADN des 3 individus atteints et retenu les régions d'homozygotie. Nous avons ainsi pu identifier une région d'homozygotie liée à la maladie en 1p34.3-p33. Nous avons dénombré dans cette région de 9 cM, 176 gènes dont 108 sont connus et 68 sont des EST. Nous avons initié le séquençage d'une première série de 34 gènes, sélectionnés sur leur profil d'expression et leur fonction. L'identification du gène en cause permettra de mieux comprendre la physiopathologie de la maladie et de tester l'implication de ce gène dans le vaste groupe des leucodystrophies de cause indéterminée avec un aspect IRM proche.

Mots-clés : leucodystrophie, DNA pooling, cardiomyopathie.

■P384 / 440. QUEL ÉCHANTILLON BIOLOGIQUE POUR LE DIAGNOSTIC MOLÉCULAIRE D'UNE MALADIE MITOCHONDRIALE ?

Claude Jardel (1), Damien Sternberg (1), Pascal Laforêt (2), Karine Auré (3), Sandrine Filaut (1), Isabelle Lemiere (1), Bruno Eymard (2), Anne Lombès (3), Bernard Hainque (1)
(1) Unité de Cardiogénétique et Myogénétique Moléculaire et Cellulaire, Biochimie B ; (2) Fédération de Neurologie Mazarin et Institut de Myologie ; (3) Unité INSERM U582, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, 75013 Paris

Le diagnostic moléculaire des maladies génétiques est dans la grande majorité des cas demandé sur un prélèvement de sang, peu invasif et bien accepté par le patient. Cependant, si ce choix est adapté à la détection des anomalies du génome nucléaire, il est le plus souvent inadéquat dans l'étude de l'ADN mitochondrial caractérisé par la co-existence de molécules sauvages et mutées aux niveaux cellulaire et tissulaire (phénomène d'hétéroplasmie). L'apparition des signes cliniques et l'atteinte préférentielle d'un tissu ou organe sont liées à la quantité de mutation présente dans ces derniers. La mutation responsable de la pathologie peut être absente ou indétectable dans le sang ; elle devrait être recherchée dans le tissu atteint (biopsie musculaire ou hépatique par exemple) mais d'autres échantillons biologiques plus faciles d'accès peuvent également être analysés : cellules urinaires, cellules buccales, cheveux. Afin de choisir l'échantillon ayant la meilleure performance diagnostique, nous avons mesuré la répartition tissulaire de 9 différentes mutations de l'ADN mitochondrial diagnostiquées dans notre laboratoire. Au total, 148 échantillons provenant de 49 patients ont été analysés ; les mutations étudiées étaient récurrentes : MELAS 3243A>G dans l'ARNt Leu (35 cas), MERRF 8344A>G dans l'ARNt Lys (7 cas), NARP 8993 dans l'ATPase6, mais aussi des mutations plus rares : 5703G>A dans l'ARNt Asn, 10014G>A dans l'ARNt Gly,14459G>A dans ND6, 15150G>A dans CYTB, 15990C>T et 15992 A>T dans l'ARNt Pro. Nos résultats montrent des profils de répartition très variables selon les mutations : hétéroplasmie de répartition très hétérogène mais quasi ubiquitaire pour la mutation MELAS, hétéroplasmie majoritaire et/ou restreinte au muscle (15150G>A, 15990C>T), hétéroplasmie équivalente dans tous les tissus (mutation MERRF 8344A>G, NARP8993, 15992A>T), homoplasmie ubiquitaire (15992A>T), homoplasmie restreinte au muscle (5703G>A, 10014G>A). L'hétérogénéité des profils de répartition ne permet donc pas de définir l'échantillon idéal sensible et peu invasif. Une recherche de mutation de l'ADN mitochondrial négative dans le sang ne doit pas exclure son existence. Le risque de résultats faussement négatifs lié à la recherche de mutations mitochondriales dans le sang implique le choix d'un autre échantillon, au moins complémentaire, pour leur diagnostic : la biopsie musculaire, outre les arguments morphologiques et enzymatiques qu'elle apporte en faveur d'une cytopathie mitochondriale est l'échantillon le plus performant pour l'analyse moléculaire. Dans le cas particulier de la mutation MELAS, en l'absence de biopsie musculaire, la recherche sur les cellules urinaires est la plus performante mais les cellules buccales restent une bonne alternative. Par contre tous les échantillons sont équivalents pour le diagnostic des mutations MERRF, et NARP.

Mots-clés : mitochondrie, hétéroplasmie, repartition tissulaire.

■P385 / 442. ÉTUDE IN VIVO DE LA RÉGULATION DE L'EXPRESSION DU GÈNE *WNK1* : ANALYSE DU MÉCANISME MUTATIONNEL DE DÉLÉTIONS INTRONIQUES À L'ORIGINE D'UNE FORME MENDELIENNE D'HYPERTENSION ARTÉRIELLE

C. Delaloy, M. Clemessy, A. Houot, J. Hadchouel, X. Jeunemaitre
INSERM U36, Collège de France

Deux membres d'une nouvelle famille de sérine-thréonine kinases, WNK1 et WNK4, sont impliqués dans une forme rare autosomique dominante d'hypertension artérielle avec hyperkaliémie (HHF). Leur rôle essentiel semble passer par la modulation de la réabsorption/sécrétion rénale de sodium et de potassium. Cependant l'expression ubiquitaire de WNK1 suggère un rôle physiopathologique plus large. Trois promoteurs contrôlent l'expression d'isoformes avec ou sans domaine kinase. Deux promoteurs proximaux donnent naissance à des isoformes longues (IL), ubiquitaires, possédant l'intégralité du domaine kinase. Leur inactivation constitutive est létale embryonnaire à l'état homozygote et provoque une hypotension sans phénotype rénal chez les souris WNK1 IL+/-. Le troisième promoteur en amont de l'exon 4a contrôle l'expression d'une isoforme rénale (IR) dépourvue du domaine kinase et spécifique du tubule contourné distal. Bien qu'il ait été montré très récemment qu'elle exerce un effet dominant négatif sur l'activité des IL, la fonction de IR n'a pas encore été établie. Les 2 familles porteuses de mutations du gène WNK1 présentent des délétions chevauchantes de 22 et 41Kb localisées dans l'intron 1 à l'origine d'une augmentation de l'expression de WNK1 detectée dans les leucocytes des patients HHF. On ne connaît cependant pas les conséquences de ces délétions sur la régulation transcriptionnelle des différentes isoformes du gène. Pour élucider le rôle de l'expression de ces différentes isoformes dans la pathologie une stratégie alliant la technologie des BACs et la transgenèse chez la souris a été élaborée. À l'aide d'un BAC murin contenant en plus de la séquence génomique de WNK1, 45kb en amont de l'exon 1 et le gène rapporteur nlacZ inséré dans l'exon 2, nous avons dans un premier temps suivi le profil d'expression des IL au cours du développement et chez l'adulte. Les quatres lignées de souris générées expriment fortement le transgène dans le système cardiovasculaire dès le stade embryonnaire E8.5. Dans les tissus adultes une forte expression se poursuit dans les artères et les veines (cellules endothéliales et cellules musculaires lisses), dans le cœur, le cervelet, différents epithelia, reproduisant le profil

d'expression endogène contrôlé par hybridation in situ. La discordance entre la forte expression du transgène observée dans la partie distale du néphron et l'expression endogène des IL suggère l'existence d'un ou plusieurs éléments régulateurs situés au delà des séquences contenues dans le BAC. Dans un deuxième temps, les conséquences de la délétion de l'intron 1 sur l'expression des isoformes de WNK1 ont été analysées. Le profil d'expression du transgène BAC contenant l'intron 1 loxé à été comparé à celui du même transgène délété de l'intron 1 après action de la recombinase Cre in vivo. Deux gènes rapporteurs, luciférase et nlacZ, permettent de suivre l'expression des IL et de l'IR. La délétion de l'intron 1 perturbe à la fois l'expression des IL (×10 dans tous les tissus testés : cœur, vaisseaux, rein, muscle, cervelet) et l'expression de IR dans le rein (×4). L'expression de IR apparaît également dans certaines cellules du système vasculaire. En conclusion, l'analyse de ces modèles transgéniques montre que la délétion de l'intron 1 du gène WNK1 entraîne une surexpression des isoformes longues et rénales. Les délétions observées dans la HHF suppriment vraisemblablement un élément répresseur jouant un rôle critique dans la régulation de toutes les isoformes du gène WNK1. Dans le rein une modification de la balance IL/IR est observée, dans le système cardiovasculaire la surexpression des IL est combinée à l'apparition de l'expression de l'IR dans certaines cellules, isoforme sans activité kinase pouvant exercer un effet dominant négatif sur les IL. Ainsi les mutations humaines à l'origine de la HHF pourraient élever la pression artérielle à travers un mécanisme rénal mais aussi vasculaire.

Mots-clés : régulation de l'expression, transgène, délétion intronique.

■P386 / 446. RECHERCHE DE LA DEUXIÈME MUTATION DU GÈNE DE LA PARKINE CHEZ LES PORTEURS HÉTÉROZYGOTES ATTEINTS DE LA MALADIE DE PARKINSON

Janin S. (1), Lainé S. (1), Leclere L. (1), Débarges B. (1), Periquet M. (1), Lesage S. (1), Ibàñez P. (1), Lohmann E. (1, 3), Dürr A. (1, 2, 3), Brice A. (1, 2, 3) et le Groupe d'Étude Français de la Génétique de la Maladie de Parkinson

(1) l'Unité 679 INSERM, Neurologie et Thérapeutique Expérimentale, Hôpital de la Pitié-Salpêtrière, AP-HP, 75013 Paris, France ; (2) Département de Génétique, Cytogénétique et Embryologie, Hôpital de la Pitié-Salpêtrière, AP-HP, 75013 Paris, France ; (3) Fédération de Neurologie, CHU Pitié-Salpêtrière, AP-HP, 75013 Paris, France

Introduction : La Maladie de Parkinson (MP) est la maladie neurodégénérative la plus fréquente après la Maladie d'Alzeihmer. Elle touche plus de 2 % de la population après 65 ans. Parmi les gènes impliqués dans les formes familiales de la MP, le gène de la Parkine est responsable de plus de 50 % des cas familiaux à début précoce ayant une transmission de type autosomique récessive et de 15 % des cas isolés à début précoce. Les mutations du gène de la Parkine sont généralement retrouvées à l'état homozygote ou à l'état hétérozygote composite. Toutefois, on a aussi retrouvé des cas hétérozygotes simples pour le gène de la Parkine. Le but de notre étude consiste donc à rechercher la deuxième mutation causale du gène de la Parkine chez les porteurs apparemment hétérozygotes. Matériels et méthodes : Environ 200 cas index provenant de familles présentant une transmission autosomique récessive et 400 cas isolés ont été sélectionnés avec un âge de début de la maladie inférieur à 50 ans. Les mutations du gène de la Parkine ont été détectées par dHPLC et séquençage direct, et les réarrangements exoniques du gène ont été détectés par dosage semi-quantitatif. La deuxième mutation est recherchée chez les hétérozygotes : 1)par dosage du promoteur du gène de la Parkine par PCR semi-quantitative, 2) par criblage de l'exon 41 du gène LRRK2 (pénétrance incomplète) à la recherche de la mutation la plus fréquente G2019S, par dHPLC et séquençage direct. Résultats : Sur 200 cas familiaux et 400 cas isolés, nous avons retrouvé 105 porteurs de deux allèles mutés, 23 porteurs d'un seul allèle muté et 472 patients ne portant aucune mutation de la Parkine. Sur 23 porteurs hétérozygotes (5 cas familiaux et 18 cas isolés), nous avons retrouvé 1 cas familial portant une délétion du promoteur et un cas isolé portant la mutation G2019S du gène LRRK2. Conclusion : Lors de cette étude, nous avons caractérisé la deuxième mutation du gène de la Parkine pour 2 cas sur 23 hétérozygotes. Nous ne savons pas encore si les autres cas sont de vrais hétérozygotes ou si nous n'avons pas encore mis en évidence la deuxième mutation. La Parkine étant peu exprimée au niveau des lymphoblastes, il serait envisageable de faire de la RT-PCR sur des fibroblastes afin de pouvoir détecter d'éventuels gros réarrangements ou encore des instabilités de l'ARNm.

Mots-clés : maladie de Parkinson, Parkine, hétérozygotes.

■P387 / 447. CUTIS LAXA DANS UN PÉDIGRÉE IRANIEN : LA MUTATION ET LE HAPLOTYPE ASSOCIÉ

R. Kalhor (1, 2), S. S. Banihosseini (1, 3), E. Elahi (1, 4)

(1) Institut national de l'ingénierie génétique et la biotechnologie, Tehran, Iran ; (2) Département de la biotechnologie, faculté des sciences, université de Tehran, Tehran, Iran ; (3) Université de Tehran des sciences médicales, Tehran, Iran ; (4) Département des sciences biologiques, faculté des sciences, université de Tehran, Tehran, Iran

La cutis laxa est une maladie héréditaire ou acquise du tissu conjonctif dans laquelle la peau perd son élasticité et pend en grands plis. Les deux formes héréditaires de la maladie sont le mode autosomal dominant et le mode autosomal récessif. La cutis laxa autosomale dominante a été causée par défection du gène codant pour elastin dans plusieurs familles. Une mutation du gène codant pour fibulin-5 (FBLN-5) a été découverte dans un pedigree turc de la cutis laxa montrant la transmission récessive. Plus tard, une mutation hétérozygouse du même gène a été répertoriée chez un cas sporadique de la maladie. La proband de cette étude appartient à un pedigree fortement inbréd. Elle a semblé prématurément âgée à douze ans. Elle avait souffert principalement de laxity de la peau, de l'hernie ombilicale, des defficulties de respiration tels que la dyspnée et des infections respiratoires récurrentes. Elle avait aussi eu des défauts de fonctionnement de cœur. La souillure de ses sections de biopsie de peau a montré réduire des fibres d'élastine. Le karyotype de la patiente était normal (46,XX). La patiente a été diagnostiquée de cutis laxa avant la mort, et les études génétiques ont été réalisées sur les cellules d'une ligne de cellules de sa fibroblaste de peau. Le modèle de la transmission dans le pedigree a suggéré un mode de transmission récessif autosomal. Nous avons cherché la mutation putative qui cause la maladie dans un pedigree Iranien de cutis laxa. Nous avons fait, dans un premier temps, l'analyse de linkage pour l'élastine et le FBLN-5. Les résultats ont suggéré que le gène de mutant est le FBLN-5. Puis, chacun des onze exons du gène FBLN5 de proband et leurs proches régions introniques ont été amplifiés par la réaction PCR. Dans cette article, nous présentons le troisième cas d'une mutation du gène codant pour fibulin-5, qui est héritée de façon récessive dans un pedigree Iranien de cutis laxa. La mutation est la même que celle trouvée dans le pedigree turc, confirmant donc qu'elle a causé la maladie. Un haplotype se composant de sept variations intragenics est décrit pour l'allèle de FBLN-5 qui porte la mutation.

Mots-clés : cutis laxa, mutation, fibulin-5.

■P388 / 454. LE PROMOTEUR CFTR : UNE NOUVELLE CIBLE POUR LE FACTEUR DE TRANSCRIPTION USF (UPSTREAM STIMULATORY FACTOR)

M. Taulan, C. René, D. Baux, C. Guittard, M. Claustres, M.C. Romey

Laboratoire de Génétique Moléculaire, IURC, 641, av. du Doyen Gaston Giraud, Montpellier

Si les conséquences fonctionnelles de certaines mutations dans le gène CFTR (Cystic Fibrosis Transmembrane conductance Regulator), comme la mutation dF508, sont à ce jour bien définies, celles des variations de séquence siègeant dans les régions non traduites du gène CFTR restent trop peu étudiées. Notre laboratoire, impliqué depuis de nombreuses années dans le diagnostic moléculaire de la mucoviscidose, a initié l'analyse fonctionnelle de variations de séquence identifiées dans le promoteur minimal du gène CFTR. L'une d'entre elles, la -94G>T, a particulièrement retenu notre attention. Le but de ce travail est d'évaluer l'effet de cet allèle rare (-94T), identifiée chez une patiente CF qui présentait une maladie pulmonaire chronique. Des transfections transitoires avec des constructions contenant le promoteur minimal polymorphe CFTR, dans différentes lignées cellulaires, ont montré que ce changement nucléotidique induit une diminution significative de l'activité transcriptionnelle basale de ce gène. Nous avons mis en évidence que le facteur de transcription USF fixe cette région polymorphe in vitro et in vivo, par des techniques de retardement de migration électrophorétique sur gel (EMSA) et d'immunoprécipitation de la chromatine (ChIP). De façon intéressante, USF peut être régulé soit par un jeu d'interaction entre ses différents isoformes ou par des co-facteurs additionnels. De plus, l'importance de ce facteur dans la régulation tissu-spécifique de certains promoteurs, comme le Surfactant A dans le poumon, est de mieux en mieux définie. Pour déterminer la fonction d'USF sur l'activité transcriptionnelle du gène CFTR, des expériences préliminaires de co-transfections transitoires, avec les vecteurs d'expression d'USF1 et USF2, ont été menées et montrent que ces facteurs induisent une diminution de la transcription basale du gène CFTR en contexte sauvage et muté. D'autres expériences de co-transfections avec leurs dominants négatifs respectifs et des siRNA sont en cours. L'ensemble de ces résultats suggère que la variation de séquence -94 G>T est une mutation régulatrice responsable d'un phénotype CF. La caractérisation des différents isoformes et des co-facteurs associés devrait permettre une meilleure compréhension du rôle d'USF dans la régulation transcriptionnelle du gène

CFTR. Ces travaux ont été financés en partie par l'association Vaincre la Mucoviscidose.

Mots-clés : *CFTR*, analyse fonctionnelle, mutation du promoteur.

■P389 / 455. MISE EN ÉVIDENCE DE MUTATIONS DANS LES GÈNES RESPONSABLES DU SYNDROME DE BRUGADA ET SYNDROMES DU QT LONG

P. Boisseau (1), A. Ponchaux (1), T. Marçaud (1), F. Airaud (1), V. Probst (2), H. Le Marec (2), S. Bezieau (1)
(1) Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHU de Nantes ; (2) Centre de Référence des Maladies Rythmiques Héréditaires, CHU de Nantes

Le syndrome de Brugada et les syndromes du QT long sont des arythmies cardiaques définies par deux entités cliniques différentes. Le syndrome de Brugada (OMIM 601144) est caractérisé par un aspect électrocardiographique typique comportant un sus décalage du segment ST associé à un bloc de branche droit. Ces anomalies du rythme cardiaque peuvent aboutir à des syncopes qui surviennent généralement au repos. Ces épisodes peuvent dégénérés jusqu'à provoquer la mort subite dans les cas les plus sévères. L'implantation d'un défibrillateur est le seul recours pour le traitement des patients symptomatiques. Du point de vue génétique, la transmission se fait sur le mode autosomique dominant et seul le gène SCN5A a été impliqué dans ce syndrome. On retrouve des mutations de ce gène chez environ 20 % des patients. Le syndrome du QT long congénital est caractérisé par une anomalie du rythme cardiaque résultant d'une anomalie de la repolarisation. La lecture de l'électrocardiogramme montre un espace QT anormalement long chez les patients. La complication majeure de cet allongement est le déclenchement de troubles du rythme cardiaque, à type de torsades de pointes, qui peuvent entraîner une mort subite. Le traitement par les bêta bloquants est efficace dans plus de 90 % des cas. Sans traitement, la mortalité chez les patients présentant symptomatiques est d'environ 70 %. Il existe une transmission autosomique récessive de la maladie : le syndrome de Jerwell et Lange-Nielsen (JLN) : QT long associé à une surdité et une transmission autosomique dominante : le syndrome de Romano et Ward (RW) plus fréquent avec uniquement un QT allongé. Ce syndrome est très hétérogène, puisque huit gènes morbides ont déjà été décrits. La recherche des mutations est actuellement réalisée en routine à Nantes pour les gènes responsables des QT longs de type 1, 2, 3, 5, 6 : – le QT long de type 1 (RW et JLN) (MIM 607542) est associé à des mutations du gène KCNQ1 codant un canal potassique voltage dépendant : KvLQT1. – le QT long de type 2 (MIM 152427) est associé à des mutations du gène KCNH2 codant un canal potassique : HERG. – le QT long de type 3 (MIM603830) est associé à des mutations du gène SCN5A codant un canal sodique. – le QT long de type 5 (MIM 176261) est associé à des mutations du gène KCNE1 codant un régulateur de KvLQT1 : IsK. – le QT long de type 6 (MIM 603796) est associé à des mutations du gène KCNE2 codant un régulateur de HERG : MiRP1. Compte tenu de la grande hétérogénéité génétique du syndrome du QT long congénital, une optimisation du diagnostic moléculaire est nécessaire. Plusieurs études relations génotype/phénotypes ont permis de montrer qu'il existait une corrélation entre l'aspect de l'onde T sur un électrocardiogramme, les circonstances de survenue de l'arythmie et le gène en cause. Ainsi ces documents sont adressés au Centre de Référence des Maladies Rythmiques Héréditaires de Nantes pour avis d'un expert en rythmologie. Ce cheminement permet de cibler le gène responsable de la maladie et représente un gain de temps considérable pour le rendu de l'analyse. Dans le laboratoire de Génétique Moléculaire du CHU de Nantes, la stratégie de recherche de mutations dans les gènes décrits précédemment est réalisée en premier lieu par une technique de criblage rapide de dHPLC des séquences codantes et des jonctions intron-exon suivi d'une technique de séquençage direct afin d'identifier le variant mis en évidence. Les mutations retrouvées chez ces familles sont la plupart du temps des mutations privées. Nous avons ainsi pu analyser 169 cas index de QT longs et 250 cas index de Brugada et nous avons retrouvé 87 loci de mutations toutes pathologies confondues qui concernent 64 mutations faux sens, 11 délétions, 6 mutations non-sens, 3 mutations d'épissage, 2 duplications et une délétion-insertion.

Mots-clés : syndrome de Brugada, syndromes du QT long, diagnostic moléculaire.

■P390 / 456. MOSAICISME SOMATIQUE CHEZ UN GARCON PORTEUR D'UNE MUTATION NULLE DU GÈNE *PDHA1* CODANT LA SOUS-UNITÉ E1 ALPHA DU COMPLEXE PYRUVATE DÉSHYDROGÉNASE

M. Brivet (1), M. Miné (1), L. Venet (1), G.K. Brown (2), M. Zater (1), E. Van Royen (1), A. Mantel (3), A.Boutron (1), H.Ogier (4)
(1) Laboratoire de Biochimie 1, AP-HP hôpital de Bicêtre, France ; (2) Department of Biochemistry, Oxford University of Oxford, United kingdom ; (3) Laboratoire d'hormonologie, pharmacologie et biologie moléculaire, AP-HP hôpital de Bicêtre, France ; (4) Neuropédiatrie et maladies métaboliques, AP-HP Hôpital Robert Debré, France

Les déficits les plus fréquents du complexe pyruvate deshydrogénase concernent la sous-unité E1 alpha codée par le chromosome X (Xp22.2-p22.1). Il existe plus de 80 mutations actuellement répertoriées sur ce gène, des mutations faux-sens, non-sens, de petites insertion-délétions ainsi qu'une grande délétion. Les mutations non-sens n'ont été rapportées que chez des filles, car elles sont responsables du décès in utero des fœtus males hémizygotes. Les fœtus de sexe féminin, qui sont hétérozygotes, survivent parce qu'ils ont un statut mosaïque du fait de la lyonisation. S'il existe une assymétrie d'inactivation du chromosome X, les filles porteuses d'une mutation nulle du gène PDHA1 peuvent aussi bien présenter une forme atténuée qu'une grave dysgénésie cérébrale, selon que l'assymétrie est favorable au gène normal ou muté dans le système nerveux central. Nous rapportons le cas d'un garçon exploré à l'âge 21 mois pour un retard psychomoteur avec microcéphalie. La mise en évidence de taux élevés de lactate dans le sang et le liquide céphalo-rachidien avec un rapport lactate/pyruvate normal évoquait un déficit en pyruvate deshydrogénase. Le dosage de l'activité enzymatique du complexe dans les lymphocytes, le muscle et les fibroblastes en culture a confirmé le déficit mais montré aussi qu'il était d'intensité variable en fonction du type cellulaire exploré, ce qui pouvait suggérer l'hypothèse d'un mosaïcisme somatique. La recherche de mutation sur le gène PDHA1, par séquençage direct, a révélé la présence d'une transition dans l'exon 8 (c.787C>T), créant un site DdeI et faisant apparaître un codon-stop prématuré (R263X). Le caractère apparemment hétérozygote de cette mutation, retrouvée chez un garçon, nous a fait rechercher s'il n'y avait pas d'anomalie du caryotype (XXY), ni de chimérisme. Après exclusion de ces 2 possibilités, nous avons confirmé le statut mosaïque du patient par plusieurs méthodes. L'étude immunocytochimique des fibroblastes à l'aide d'anticorps fluorescents anti E1 alpha et anti E2 a montré qu'il existait environ 20 % de cellules ne prenant pas le marquage anti E1 alpha. Un test de digestion par DdeI de l'exon 8 amplifié à partir à partir de 18 racines de cheveu, traitées individuellement, a révélé des proportions variables entre la bande normale et la bande mutée et l'absence de la mutation dans environ 25 % des cheveux. Le séquençage direct du cDNA, préparé à partir de fibroblastes, n'a d'abord pas décelé la présence de la mutation. Nous avons pensé qu'il existait probablement un phénomène de dégradation de l'ARNm par un processus de non-sense mediated mRNA decay (NMD). Un pré-traitement des fibroblastes par un inhibiteur de la traduction (émétine à 100 microgr/ml pendant 7 heures à 37 °C) avant l'extraction de l'ARN a permis de faire réapparaître le transcrit anormal et de confirmer la co-existence des deux transcrits, normal et muté, chez le patient. Ce patient est le premier garçon survivant, porteur d'une mutation nulle du gène PDHA1. Il s'agit du 3e cas de mosaicisme somatique observé dans cette maladie.

Mots-clés : pyruvate deshydrogénase, mosaïcisme somatique, nonsense mediated mRNA decay.

■P391 / 458. MUTATIONS SILENCIEUSES EXONIQUES ET ANOMALIES D'ÉPISSAGE DU GÈNE PDHA1 DANS LES DÉFICITS DU COMPLEXE PYRUVATE DÉSHYDROGENASE

M. Brivet, L. Venet, A. Boutron, C. Vequaud, A. Slama, M. Miné, A. Legrand
Laboratoire de Biochimie 1, AP-HP Hôpital de Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre, France

Le complexe pyruvate deshydrogénase (PDHc) joue un rôle important dans le métabolisme énergétique : il est responsable de la conversion du pyruvate en acétylCoA et fait partie des processus qui aboutissent à la production d'ATP dans la mitochondrie. Les malades atteints d'un déficit en PDHc sont atteints de troubles neurodégénératifs associés à une hyperlactatémie. La plupart ont une anomalie de la sous-unité E1 alpha codée par le gène PDHA1 localisé sur le chromosome X : plus de 80 mutations ont été identifiées. Des mutations faux sens ou non sens ont été décrites ainsi que des insertions-délétions de petite taille et plus récemment une délétion de grande taille. Nous rapportons le cas de 3 patients non-apparentés atteints d'un déficit en PDHc où la recherche de mutation sur les 11 exons et jonctions intron-exon du gène PDHA1 n'avait mis en évidence qu'une mutation silencieuse de l'exon 5 (Tyr161Tyr dans 2 cas et Ile166Ile dans le 3e). L'étude du cDNA-PDHA1 préparé à partir d'une culture de fibroblastes a montré, qu'après un pré-traitement des cellules par l'émétine à 100 microgr/ml pendant 7 h à 37 °C, il apparaissait en plus de l'espèce normale, une espèce supplémentaire, raccourcie, correspondant à l'excision de l'exon 5. Cette excision entraîne un décalage du cadre de lecture et l'apparition d'un codon-stop (T139fsX151), qui rend l'ARN instable par un phénomène de non-sense mediated mRNA decay (NMD). L'emploi

d'inhibiteurs de la traduction tels que l'émétine permet de limiter ce processus et donc de sensibiliser la détection de la bande anormale. Nous avons fait l'hypothèse que les mutations silencieuses présentes sur l'exon 5 des 3 patients pourraient altérer des séquences régulatrices de l'épissage telles que les ESE (Exonic Splicing Enhancer), sites de reconnaissance pour des protéines de positionnement comme les protéines SR. Le logiciel de prédiction ESE finder (http://exon.cshl.edu/ESE/) a permis de définir que les mutations Tyr161Tyr et Ile166Ile entraînaient la perte d'un site de reconnaissance pour la protéine SRp55. Nous avons mis en place une approche in vivo pour confirmer le rôle pathogène de ces mutations silencieuses : étude du transcrit après insertion d'un segment du gène PDHA1, de l'intron 4 à l'intron 5, à partir de l'ADN muté et non muté, dans un vecteur de type exon-trap et transfection de cellules COS. On estime qu'environ 15 % des mutations responsables de maladies génétiques affectent l'épissage du transcrit primaire. La recherche d'anomalies d'épissage associées à des mutations ponctuelles exoniques, en particulier lorsqu'elles sont silencieuses, devrait permettre d'améliorer l'identification des mutations pathogènes du gène PDHA1. On sait en effet, d'après la publication d'une série récente, que chez 35 % des patients ayant une anomalie de la sous-unité E1 alpha, la cause moléculaire reste inconnue.

Mots-clés : pyruvate deshydrogénase, épissage, mutations silencieuses.

■P392 / 460. ÉTUDE GÉNÉTIQUE DE 39 FAMILLES AVEC ACIDOSE TUBULAIRE RÉNALE DISTALE (ATRD) RÉCESSIVE

Vargas-Poussou R. (1, 2), Blanchard A. (3), Le Potier N. (2), Strompf L. (2), Houillier P. (3), Jeunemaître X. (2). Réseau pour l'étude des ATR
(1) Département de Pédiatrie Médicale CHU de Rouen ; (2) Département de Génétique et (3) de Physiologie, Hôpital Européen Georges Pompidou, Paris

Des mutations dans les gènes ATP6V1B1 et ATP6V0A4, codant pour les sous-unités B1 et a4 de la H+ ATPase, sont responsables des ATRd à transmission autosomique récessive. Classiquement, les patients ayant des mutations dans le gène ATP6V1B1 présentent une surdité précoce alors que les patients ayant des mutations dans le gène ATP6V0A4 présentent soit une audition normale soit une surdité dans la deuxième décennie. Nous avons étudié le phénotype et le génotype de 39 familles, dont 18 consanguines. Le choix du premier gène à étudier a été fait par étude de liaison dans les familles consanguines et en fonction de l'âge du diagnostic de la surdité dans les cas sporadiques. Avec cette stratégie, nous avons détecté des mutations dans 26 familles, pour un taux de détection de 67 %. Par la suite, pour les familles sans mutations nous avons élargi la recherche au deuxième gène, ce qui a permis de déceler des altérations dans 5 familles, augmentant le taux de détection à 79,5 %. Dans 10 familles, 2 mutations nouvelles (IVS2-1G>C, R394Q) et 2 déjà décrites (I386fsX441, P346R) ont été détectées dans le gène ATP6V1B1. Dans 21 familles, 14 mutations nouvelles (IVS10+1G>A, F67fsX77, R63fsX74, Q276fsX301, E713fsX407, R6X, Q108X, E123X, Y129X, R191X, R243X Y450X, R770X, D679Y) et 4 récurrentes (IVS6-1G>A, N113fsX117, P395fsX407, Q753X) ont été identifiées dans le gène ATP6V0A4. De façon inattendue, chez 5 patients avec des mutations dans le gène ATP6V0A4, une surdité précoce (entre 2 mois et 10 ans) a été constatée. Ces données élargissent le spectre de mutations de ces 2 gènes, sont en faveur d'une hétérogénéité génétique supplémentaire et soulignent l'importance du screening des deux gènes indépendamment de la surdité. Au vu de ces résultats, nous proposons pour les cas sporadiques, de commencer l'étude par le gène ATP6V0A4.

Mots-clés : acidose tubulaire, surdité, hétérogénéité génétique.

■P393 / 461. ANALYSE DU GÈNE *GJA12* DANS UNE GRANDE COHORTE DE PATIENTS PRÉSENTANT UN PHÉNOTYPE DE MALADIE DE PELIZAEUS MERZBACHER SANS ANOMALIES *PLP1* (PMLD)

Combes Patricia (1), Henneke Marco (2), Vaurs-Barrière Catherine (1), Gartner Jutta (2), Boespflug-Tanguy Odile (1)
(1) Inserm, U384, Clermont-Ferrand, F63000, France ; (2) Clinic of Pediatrics and Pediatric Neurology, University of Gottingen, Allemagne

La Maladie de Pelizaeus Merzacher (PMD ; OMIM#312080) est une leucodystrophie hypomyélinisante causée par des mutations du gène PLP1 situé en Xq22.2. Les anomalies géniques les plus fréquemment retrouvées sont des duplications entières du gène PLP1 (60 à 70 %). Les mutations ponctuelles de PLP1 rendent compte de 30 % des cas. Les délétions du gène sont beaucoup plus rares (1 %). Environ 20 % des patients avec un phénotype PMD typique ne présentent ni duplication, ni délétion, ni mutation dans les régions codantes et sites d'épissage. Cette absence d'anomalie suggère l'existence chez ces patients PMD Like (PMLD) d'anomalies PLP1 non détectées et/ou d'une hétérogénéité génétique impliquant un ou des gènes situés sur des chromosomes autosomiques. Cette dernière hypothèse est appuyée par le fait que des filles présentent le même phénotype PMD que des garçons, notamment chez des enfants dont les parents présentent une consanguinité. En 2004, Uhlenberg *et al.* ont mis en évidence l'implication du gène codant pour la connexine 46,6 : Gap Junction alpha 12 protéine (GJA12) situé en 1q41-q42 dans trois familles présentant un phénotype PMLD autosomique récessif (PMLDAR ; OMIM#608804). Afin d'évaluer le niveau d'implication du gène GJA12 dans l'étiologie de la maladie, nous avons séquencé les régions codantes du gène dans une cohorte de 150 patients avec un phénotype PMLD. Les résultats obtenus suggèrent une implication modérée de ce gène dans l'étiologie de ce phénotype (environ 6 %). Les patients mutés pour GJA12 apparaissent être plus particulièrement originaires de familles du bassin méditerranéen et présentent des phénotypes de sévérité variable, non particulièrement accompagnés d'une épilepsie ou d'une atteinte périphérique contrairement à ce qui avait été précédemment suggéré.

Mots-clés : *GJA12*, PMD, PMLD.

■P394 / 468. ASSOCIATION DE DEUX TUBULOPATHIES AUTOSOMIQUES RÉCESSIVES DANS LA MÊME FAMILLE

Vargas-Poussou R. (1, 2), Le Potier N. (2), Parchoux B (3), Cochat P. (3), Jeunemaître X. (2)
(1) Département de pédiatrie médicale, CHU de Rouen ; (2) Département de Génétique HEGP, Paris ; (3) Service de Néphrologie pédiatrique, Hôpital Édouard-Herriot, Lyon

Yasmine est le deuxième enfant d'une famille consanguine d'origine algérienne. À l'âge d'un mois, une acidose métabolique mormokaliémique et une néphrocalcinose ont été découvertes. Quelques mois plus tard, lors d'une hospitalisation pour pyélonéphrite, une acidose métabolique normokaliémique, une hypomagnésémie sévère (0,48 mmol/l) et une hypercalciurie avec néphrocalcinose ont été détectées chez sa sœur Sarah. Le diagnostic d'Hypomagnésémie-Hypercalciurie a été posé et confirmé par la détection de la mutation homozygote A139V dans le gène PCLN-1 chez Sarah. Les deux parents et sa sœur Yasmine sont hétérozygotes pour cette mutation. Il a été montré que les porteurs des mutations hétérozygotes dans le gène PCLN-1, peuvent avoir des anomalies cliniques et/ou biologiques. Néanmoins, aucune anomalie n'a été détectée chez ses parents. Quant à Yasmine, elle n'a jamais développé une hypomagnésémie et son évolution clinique était en faveur d'une acidose tubulaire rénale distale (ATRd) : acidose métabolique persistante, hypokaliémie, hypercalciurie et hypocitraturie.Les études de liaison, par l'amplification de trois marqueurs microsatellites pour chacun de deux gènes impliqués dans l'ATRd récessif, ont montré une homozygotie au locus du gène ATP6V1B1, responsables du ATRd associé à une surdité précoce. Le séquençage de ce gène a montré une mutation homozygote dans le site donneur d'épissage de l'intron 2 (IVS2-1 G>C) chez Yasmine. Les deux parents sont hétérozygotes pour cette mutation et aucune mutation n'a été détectée chez sa sœur Sarah. À l'âge de 3 ans, une surdité a été détectée chez Yasmine. Une telle association de deux tubulopathies récessives (Hypomagnésémie-Hypercalciurie et acidose tubulaire rénale distale) souligne l'importance du suivi clinique et la contribution de la génétique moléculaire dans la caractérisation des tubulopathies qui partagent certains traits phénotypiques.

Mots-clés : tubulopathies, acidose tubulaire, hypomagnésémie-hypercalciurie.

■P395 / 471. UTILISATION DE LA MÉTHODE SURVEYOR POUR L'ANALYSE DE LA TOTALITÉ DU GÉNOME MITOCHONDRIAL SUR UNE SÉRIE DE 100 PATIENTS : INTÉRÊT DANS L'IDENTIFICATION DE MUTATIONS HÉTÉROPLASMIQUES « À L'AVEUGLE »

S. Bannwarth (1), V. Procaccio (2), C. Rouzier (1), B. Vialettes (3), J. Pouget (4), D. Raccah (5), B. Chabrol (6), C. Desnuelle (7), J.F. Pellissier (8), J.C. Lambert (1), V. Paquis-Flucklinger (1, 9)
(1) Service de Génétique Médicale, Hôpital Archet 2, CHU Nice ; (2) Center for Molecular and Mitochondrial Medicine and Genetics, University of California, Irvine, USA ; (3) Service d'Endocrinologie, Hôpital Timone, CHU Marseille ; (4) Service de Neurologie, Hôpital Timone, CHU Marseille ; (5) Service d'Endocrinologie, Hôpital Ste-Marguerite, CHU Marseille ; (6) Service de Pédiatrie, Hôpital Timone, CHU Marseille ; (7) Service de Rééducation Fonctionnelle, Hôpital Archet 1, CHU Nice ; (8) Service de Neuropathologie, Hôpital Timone, CHU Marseille ; (9) FRE CNRS 2720, Faculté de Médecine, Université de Nice Sophia-Antipolis

L'étude moléculaire de l'ADN mitochondrial (ADNmt) tient une place importante dans le diagnostic des déficits de la chaîne respiratoire. Elle

est également indispensable pour le conseil génétique et éventuellement le diagnostic prénatal. Une recherche « ciblée » de mutations ponctuelles est réalisée dans les laboratoires de diagnostic. Mais la recherche de mutations « à l'aveugle » est beaucoup plus difficile, la taille de l'ADNmt rendant son séquençage systématique impossible. Nous avons mis au point une nouvelle méthode qui permet d'analyser rapidement la totalité de l'ADNmt à l'aide de 17 amplicons. Cette technique utilise une endonucléase, extraite de plantes : Surveyor. Lorsqu'une mutation est présente à l'état hétéroplasmique, les hétéroduplex résultant d'étapes de dénaturation et de renaturation successives au cours des cycles PCR sont reconnus par l'endonucléase Surveyor, qui coupe l'ADN au niveau du mésappariement. La présence des fragments de digestion révèle l'existence de la mutation qui est alors identifiée par séquençage. Cette technique est sensible puisqu'elle permet de détecter un taux d'hétéroplasmie de 3 % et rapide car il est possible de détecter la présence d'une mutation hétéroplasmique en 48 heures (Bannwarth *et al. Human Mutation* 2005). Nous avons utilisé cette méthode pour étudier une série de 100 patients, répartis en 2 groupes. Le premier est constitué de 50 patients diabétiques et sourds avec antécédents maternels de diabète. Notre objectif visait à déterminer l'implication de l'ADNmt dans des diabètes avec surdité lorsque la mutation 3243tRNAleu a été éliminée. Avec la même méthode, nous avons étudié une autre série de 50 patients présentant des signes neuromusculaires très vraisemblablement liés à une atteinte de la chaîne respiratoire (déficit enzymatique identifié et/ou présence de fibres « ragged-red » sur la biopsie musculaire et/ou « association illégitime » de symptômes avec transmission maternelle). Dans les diabètes et surdités, les résultats montrent que l'ADNmt est peu impliqué lorsque la mutation 3243 a été exclue. Par contre, dans la population avec atteinte neuromusculaire, nous avons identifié 8 mutations clairement pathogènes (16 %) et 2 mutations faux sens (dans les gènes cytb et COXI), dont la pathogénicité reste à déterminer. Nous décrivons également un patient qui est porteur de 2 mutations différentes. Les taux d'hétéroplasmie respectifs de ces 2 mutations sont associés à des tableaux cliniques distincts au sein de la famille. Lorsqu'une mutation pathogène est identifiée chez un patient, le reste du génome n'est pas exploré. Un des intérêts de Surveyor réside dans la possibilité d'identifier une autre mutation, potentiellement impliquée dans la variabilité phénotypique observée. En conclusion, la mise au point de cette nouvelle méthode, utilisée en routine dans le laboratoire, devrait permettre d'améliorer le diagnostic et la prise en charge des déficits de la chaîne respiratoire liés à des mutations du génome mitochondrial.

Mots-clés : surveyor, ADN mitochondrial, recherche de mutations.

■P396 / 480. RÉGULATION DE L'EXPRESSION DU GÈNE *CFTR* PAR LE JEU DE TROIS FACTEURS DE TRANSCRIPTION

C. René, M. Taulan, M. Claustres, M.C. Romey
Laboratoire de Génétique Moléculaire, IURC, 641, avenue du Doyen Gaston-Giraud, 34093 Montpellier

L'expression du gène CFTR est finement régulée au niveau temporel et spatial. Cependant, malgré de nombreuses études, les mécanismes responsables de ce contrôle demeurent encore mal connus. Le laboratoire a montré qu'une variation de séquence identifiée dans le promoteur minimal du gène CFTR, chez des patients présentant un phénotype atténué de mucoviscidose, entraînait une activation de la transcription (Romey *et al. JBC* 2000) via des mécanismes non encore élucidés. Notre modèle d'étude de la régulation transcriptionnelle du gène CFTR est basé sur l'analyse des interactions de facteurs de transcription avec cet élément CArG-like, composite et polymorphe. En utilisant des expériences de retardement de migration électrophorétique sur gel (EMSA) et d'immunoprécipitation de chromatine (ChIP), nous avons démontré que les facteurs de transcription SRF (Serum Response Factor) et YY1 (Yin Yang 1) se lient in vitro et in vivo au site YY1/CArG-like composite. Ces protéines ubiquitaires peuvent interagir avec de nombreux co-facteurs parmi lesquels CBP (CREB Binding Protein) qui est impliqué dans le remodelage de la chromatine. En utilisant des expériences de co-transfections transitoires des vecteurs d'expression de chacun de ces facteurs, nous avons montré que SRF et CBP jouent un rôle d'activateur alors qu'YY1 réprime l'activité transcriptionnelle du gène CFTR. Des co-transfections multiples ont mis en évidence une synergie entre CBP/SRF et un antagonisme fonctionnel entre SRF/YY1 et CBP/YY1. L'analyse des interactions protéine/protéine montre une interaction entre SRF/CBP et YY1/CBP mais pas entre SRF/YY1. De plus, des expériences d'EMSA ont mis en évidence un mécanisme de compétition entre les facteurs YY1 et SRF pour la séquence sauvage et la séquence mutée. Ces résultats préliminaires pris ensemble ont permis d'identifier un nouveau complexe régulant l'activité transcriptionnelle du gène CFTR. Ce complexe implique un jeu et un antagonisme fonctionnel entre YY1 d'une part et CBP/SRF d'autre part. Une meilleure connaissance des éléments de régulation contrôlant l'expression du gène CFTR nous permettra d'envisager de nouvelles pistes thérapeutiques. Ce travail est en partie financé par l'association Vaincre La Mucoviscidose.

Mots-clés : *CFTR*, régulation transcriptionnelle, variation de séquence modératrice.

■P397 / 1004. ÉTUDES MOLÉCULAIRES, CELLULAIRES ET FONCTIONNELLES DE 6 MUTATIONS RARES DU GÈNE *CFTR*

O. Ingster (1, 3), C. Norez (1), F. About (1), M. Baudis (2), M.C. Pasquet (2), B. Gilbert (3), A. Kitzis (1, 2), F. Bilan (1, 2)
(1) Institut de Physiologie et de Biologie Cellulaire / UMR CNRS 6187, Université de Poitiers ; (2) Laboratoire de Génétique Cellulaire et Moléculaire, CHU Poitiers ; (3) Service de Génétique Médicale, CHU Poitiers

La mucoviscidose est une maladie génétique à transmission autosomique récessive qui affecte essentiellement les tissus épithéliaux exocrines. Le gène responsable de la maladie est CFTR dont plus de 1 300 mutations ont été décrites à ce jour. Il code pour un canal chlorure exprimé à la surface apicale des cellules épithéliales. Les mutations au sein du gène CFTR perturbent la synthèse, l'adressage à la membrane ou le fonctionnement du canal chlore.
Nous reportons ici 6 mutations rares isolées au Laboratoire (L102P ; L167R ; V562I ; G622D, P841R et G576A). Nous établissons pour chaque mutation, leurs conséquences moléculaires et cellulaires. Nous avons effectué une mutagenèse dirigée du gène CFTR pour chacune de ces mutations à partir de l'ADNc de CFTR cloné dans un vecteur plasmidique permettant l'expression d'une protéine de fusion EGFP-CFTR (Enhanced Green Fluorescent Protein). Après transfection des différentes constructions plasmidiques dans un système d'expression dépourvue de CFTR endogène (cellules COS-7) et obtention de 6 lignées cellulaires stables, nous avons réalisé plusieurs types d'études.
Nous présentons dans ce travail l'impact de chaque mutation sur l'adressage, la maturation et la fonctionnalité du canal CFTR. Pour cela, nous avons visualisé le transport de CFTR par microscopie confocale à fluorescence après immunomarquage des cellules transfectées. À l'aide de différents marqueurs cellulaires nous avons déterminé dans quel compartiment CFTR est localisé (réticulum endoplasmique, membrane plasmique...). L'état de maturation de CFTR a été effectué par différentes techniques biochimiques (western blot ; pulse chase). La fonctionnalité de CFTR a été étudiée par la technique d'efflux d'iodure radiomarqué et sera complétée par une analyse par patch-clamp en présence de différentes drogues susceptibles de réadresser CFTR à la membrane ou de restaurer une fonctionnalité de canal chlore.
Ces méthodes permettent non seulement une approche intéressante des relations génotypes / phénotypes mais aussi de tester l'efficacité in vitro de certaines thérapeutiques pharmacologiques. Nous préconisons que chaque nouvelle mutation soit l'objet de ce type d'étude.

Mots-clés : *CFTR*, mutagenèse, fonctionnelle.

■P398 / 1016. RECHERCHE PAR HOMOZYGOTIEPAR FILIATION D'UN RéGION CANDIDATE RESPONSABLE DU PHÉNOTYPE « SPERMATOZOÏDES MACROCÉPHALES »

Dieterich K. (1), Hennebick S. (1), Zahi M. (2), Ben Amar B. (2), Rousseaux S. (3), Lunardi J. (1), Sèle B. (1), and Ray P.F. (1)
(1) Département de génétique et Procréation, CHU de Grenoble, 38700 La Tronche ; (2) Laboratoire d'analyse médicales, avenue Assan II, Rabat, Maroc ; (3) Unité INSERM U309, Institut Albert Bonniot, Domaine de la Merci 38706 La Tronche

L'infertilité, définie comme l'incapacité de concevoir après 2 ans de rapports sexuels non protégés, touche environ 15 % des couples et on estime que l'origine biologique de l'infertilité est partagée pour moitié par l'homme et la femme. Les causes de l'infertilité masculine sont variées et peuvent inclure par exemple des facteurs anatomiques, infectieux, chromosomiques ou génétiques, comme l'agénésie des déférents avec le gène CFTR, et les microdélétions du chromosome Y. À l'exception d'un petit nombre de gènes localisés sur le chromosome Y qui contribuent au phénotype de ces microdélétions, aucun gène impliqué dans la méiose ou la spermatogenèse n'a pu être formellement associé à un phénotype d'infertilité chez l'homme. Le syndrome des spermatozoïdes « macrocéphales » est une anomalie morphologique rare caractérisée par une oligoasthénotératozoospermie avec 100 % de spermatozoïdes anormaux présentant une augmentation importante du volume de l'extrémité céphalique et un nombre variable de flagelles. Par ailleurs, une étude réalisée récemment par notre groupe a montré que tous les spermatozoïdes de ces patients présentaient une hyperploïdie témoignant probablement d'un défaut de la scission cellulaire lors des deux divisions méiotiques [1]. La spécificité du

phénotype suggère une origine génétique unique ou restreinte à plusieurs acteurs d'un même mécanisme moléculaire. Au cours d'une période de cinq ans nous avons reçu en consultation de procréation médicalement assistée au CHU de Grenoble quatre patients présentant un tableau typique de « macrocéphalie ». Tous sont nés de parents cousins germains et originaires d'Afrique du Nord. Six autres patients ont été identifiés dans la région de Rabat et ont accepté de participer à l'étude. La présence de quatre familles ayant un fort degré d'apparentement est un argument fort en faveur d'une transmission autosomique récessive et la prévalence élevée de patients dans la région de Rabat pourrait témoigner d'un effet fondateur. Cette étude a obtenu l'avis favorable du Comité de Protection des Personnes de Grenoble. Nous avons réalisé pour ces patients un haplotypage microsatellitaire des 22 autosomes avec une couverture de 10cM (Linkage Mapping v2.5 Applied Biosystems) dans l'espoir d'identifier des régions d'homozygoties communes avec potentiellement des allèles conservés pour les patients de Rabat. L'analyse des haplotypes a montré 5 régions d'homozygotie présentes chez 6 patients et 20 présentes chez cinq. De nouveaux marqueurs sont analysés dans ces régions afin d'exclure les homozygoties fortuites dues à la présence d'allèles fréquents et de réduire le nombre des régions candidates. L'étude in silico de ces régions a permis d'identifier plusieurs gènes exprimés exclusivement dans les testicules, cependant aucun n'est décrit comme étant impliqué dans la division cellulaire. Par ailleurs, le gène CSNK2a2, responsable d'un phénotype de spermatozoïde globozoocéphale chez la souris [2], proche du phénotype humain investigué, n'est localisé dans aucune de ces 25 régions. Nous espérons que l'haplotypage fin des régions d'intérêts suivi du séquençage des gènes candidats nous permettra d'identifier le ou les gènes responsables du phénotype de macrocéphalie spermatique. La découverte de ce/ces gènes permettra une meilleure compréhension des mécanismes de la méiose.

Mots-clés : infertilité masculine, génotypage du génome, gène candidat.

Références

1. Devillard *et al. Hum Reprod* 2002 ; 17 (5) : 1292-8.
2. Xu *et al. Nat Genet* 1999 ; 23 (1) : 118-21.

Cette étude a été en partie soutenue par le Fond d'Aide à la Recherche Organon (FARO) et la Direction de la Recherche Clinique (DRC) du CHU de Grenoble.

■P399 / 1023. RECHERCHE DE MUTATIONS D'ÉPISSAGE DANS LE GÈNE *MECP2*

Isabelle Mortemousque (1), Nathalie Ronce (1,2), Marie-Pierre Moizard (1,2), Thierry Bienvenu (3, 4), Claude Moraine (1, 2), Martine Raynaud (1, 2)

(1) Service de Génétique, 37000 Tours, France ; (2) Inserm U619, 37000 Tours, France ; (3) Inserm U567, 75014 Paris, France ; (4) Laboratoire de Biochimie et Génétique Moléculaires, 75014 Paris, France

Le syndrome de Rett (RTT, MIM 321750) est une encéphalopathie progressive sévère touchant presque exclusivement les filles. L'extrême rareté des cas familiaux a rendu l'identification du gène en cause, codant la methyl-CpG-binding protein 2 (MECP2), localisé en Xq28, difficile. L'analyse des exons codants et des bornes intron/exon en routine, puis la recherche de grands réarrangements du gène en deuxième intention ne permettent d'identifier une mutation que dans environ 80 % des cas de syndrome de Rett typique. D'autres types de mutation pourraient être impliquées : la recherche d'anomalies de l'épissage a fait l'objet de cette étude. La RT-PCR a été réalisée en 5 fragments permettant d'amplifier les 2 transcrits, MECP2A et MECP2B, chez 20 patientes atteintes de syndrome de Rett, dont 15 de forme classique, pour lesquelles les études moléculaires antérieures avaient été négatives. Les résultats de cette étude seront rapportés et discutés. L'implication d'autres gènes dans l'étiologie du syndrome de Rett est probable mais les méthodes utilisées jusqu'à présent, cantonnées à l'étude de la séquence codante du gène MECP2, ne sont pas exhaustives.

Mots-clés : syndrome de RETT, epissage, *MECP2*.

■P400 / 1026. IDENTIFICATION D'UNE MUTATION DANS LE GÈNE *VSX1* DANS UNE FAMILLE ATTEINTE D'UNE DYSTROPHIE POSTÉRIEURE POLYMORPHE DE LA CORNÉE ET D'UNE DYSTROPHIE MACULAIRE DE LA RÉTINE

Sophie Valleix (1, 2), Brigitte Nedelec (2), Florence Rigaudiere (3), Paul Dighiero (4), Yves Pouliquen (5), Gilles Renard (5), Jean-François Le Gargasson ; (3) Marc Delpech (1,2)

(1) From the Laboratoire de Biochimie et Génétique Moléculaire, Hôpital Cochin, Paris, France ; (2) Institut Cochin, Département de Génétique, Développement et Pathologie Moléculaire, INSERM U567, Paris, France ; (3) Unité INSERM 592, Université Paris 7, Hôpital Lariboisière-Saint-Louis, Paris, France ; (4) Service d'Ophtalmologie, Centre Hospitalo, Universitaire de Poitiers, France ; (5) Service d'Ophtalmologie, Hôpital Hôtel-Dieu, Paris, France

VSX1 est un gène homéotique qui a été identifié initialement chez le poisson doré et qui est essentiel, en conjonction étroite avec le gène CHX10, pour la différentiation et le maintien des cellules bipolaires de la rétine chez les Vertébrés et les Invertébrés. Récemment, il a été démontré que le gène Vsx1 fonctionne, grâce à son domaine CVC, comme un répresseur transcriptionnel dont les gènes-cibles ne sont pas encore identifiés et par ce mécanisme permet la différenciation des cellules bipolaires dépendant des cônes uniquement, ainsi que leur maintien à l'âge adulte. Chez l'Homme, des mutations faux-sens à l'état hétérozygote ont été identifiées et sont étonnamment, associées à différentes atteintes cornéennes, alors que ce gène n'est pas exprimé dans la cornée adulte ni embryonnaire, mais il est également responsable d'atteintes extra-oculaires dont les mécanismes physiopathologiques restent à éclaircir. Nous rapportons ici la description clinique, l'étude électrophysiologique de la rétine ainsi que l'analyse génétique d'une famille atteinte d'une dystrophie postérieure polymorphe de la cornée et d'une dystrophie maculaire de la rétine, les deux pathologies étant transmises conjointement sur un mode autosomique dominant sur trois générations. Nous montrons que ces patients présentent un dysfonctionnement rétinien très sélectif touchant les cellules bipolaires ON dépendantes des cônes et épargnant les cellules bipolaires de type OFF ainsi que les cellules bipolaires dépendantes des bâtonnets. Ce type de déficit fonctionnel rétinien héréditaire est donc décrit pour la première fois. De surcroît, l'observation clinique d'une atteinte maculaire illustre pour la première fois que le gène Vsx1 a très probablement un rôle, jusque-là insoupçonné, au niveau des cônes de la macula. Bien que ce gène ne soit pas exprimé au niveau des photorécepteurs chez l'Homme, il est, à l'inverse, exprimé de façon transitoire, chez le poisson doré, au cours de la rétinogénèse. En effet, on le retrouve exprimé dans certaines cellules précurseur des cônes, des cellules bipolaires et des cellules horizontales puis réprimé dans les cônes et les cellules horizontales au fur et à mesure que la différenciation des cellules bipolaires prend place. Il est à noter que ce contrôle temporel et spatial de Vsx1 est intimement lié à celui de Chx10. La mutation que nous avons identifiée dans cette famille est située dans le domaine CVC de VSX1 et altère un acide aminé conservé à 1OO % parmi les espèces. Compte tenu de toutes ces informations, nous émettons l'hypothèse que l'atteinte maculaire chez nos patients pourrait résulter d'une absence de répression transcriptionnelle de certains gènes cibles de VSX1 au cours de la rétinogénèse conduisant à une dégénération des cônes maculaires.

Mots-clés : *VSX1*, dystrophie postérieure polymorphe de la cornée, dystrophie maculaire.

■P401 / 1031. UN NOUVEL OUTIL D'AIDE À LA RECHERCHE MÉDICALE

Dumesnil S. (1), Turleau C. (1), Chauvet M.L. (1), Tanin K. (1), Poizot N. (1), Frézal J. (1), Le Merrer M. (1), Mugnier C. (2)

(1) INSERM U393, Hôpital Necker, 145, rue de Sèvres, Paris ; (2) DSI Université Paris Descartes, Rue de l'école de médecine, 7505 Paris

Genatlas est une base de données qui recense les gènes et les maladies génétiques de l'Homme. À ce jour, une nouvelle thérapeutique concernant l'une de ces maladies, la myopathie de Duchenne, a donné de bons résultats lors d'essais sur les animaux. Cette thérapeutique repose sur la technique d'exon skipping. Celle-ci consiste à ôter au niveau du mRNA le ou les exons mutés responsables de la maladie et à permettre ainsi la production d'une protéine certes plus courte mais toutefois fonctionnelle. Afin de rechercher d'autres gènes éventuels auxquels la technique du saut d'exon pourrait être appliquée, un outil informatique a été développé au sein de Genatlas, en partenariat avec l'AFM. Cet outil est basé sur les données du séquençage du génome humain. Il permet d'effectuer une recherche sur l'ensemble des gènes en associant différents critères de sélection pour l'exon skipping, comme la longueur du transcript mRNA, le nombre d'exons, la localisation de la protéine ou encore sa fonction dans l'organisme. Chaque gène répondant positivement aux critères d'interrogation fait l'objet d'une fiche récapitulative. Celle-ci permet notamment de visualiser instantanément l'organisation des exons. Par le biais d'un code couleur, on peut ainsi déterminer si tel ou tel exon est « skippable » tout en restant dans le cadre de lecture pour produire correctement la protéine tronquée. Un lien sur la référence de la séquence protéique permet d'accéder à sa description complète sur le site du NCBI. Chaque fiche de synthèse d'un gène sélectionné est de plus associée à la fiche gène de la base de données Genatlas ainsi qu'aux descriptions des phénotypes associés. Les chercheurs disposent ainsi d'un outil rapide de pré-sélection des gènes candidats pour l'exon skipping et peuvent ensuite approfondir l'étude complète du gène incriminé dans le but d'évaluer la pertinence de cette nouvelle recherche thérapeutique pour d'autres maladies.

Mots-clés : base de données, exon skipping, analyse du séquençage.

■P402 / 1034. COMPARAISON DES MÉTHODES D'EXTRACTION D'ADN À PARTIR DE BLOCS TISSULAIRES CARDIAQUES FIXÉS EN FORMOL ET INCLUS EN PARAFFINE

L. Chalabreysse (1, 2), C. Camminada (1), L. Pezzotta (1), F. Thivolet (2), P. Bouvagnet (1)

(1) Laboratoire de cardiogénétique, Hôpital Louis-Pradel, Lyon ; (2) Service d'anatomie et de cytologie pathologiques, Hôpital Louis-Pradel, Lyon

Projet : Il serait très utile de pouvoir analyser l'ADN de prélèvements cardiaques fixés en formol et inclus en paraffine afin d'étudier rétrospectivement des pathologies rares ou pour étudier prospectivement des sujets dont la mort subite a été le premier (et dernier) symptôme. Différents protocoles d'extraction d'ADN ont été publiés dans la littérature. Ce travail a pour but de tester l'extraction d'ADN à partir de blocs tissulaires cardiaques fixés et inclus. Matériel et méthodes : Méthodes d'extraction : trois méthodes différentes d'extraction à partir de coupes tissulaires cardiaque fixées en formol et incluses en paraffine ont été comparées. La méthode 1 utilise conjointement du tween et du chelex. La méthode 2 repose sur le triton. La méthode 3 utilise la protéinase K. La qualité de l'extraction a été vérifiée sur 2 amplifications par PCR. La première amplification concerne le locus polymorphe D5S2108 de 200 paires de bases. La deuxième amplification correspond au gène de la connexine 43. L'amplicon de 1 690 paires de bases est amplifié par PCR nichée. Méthodes d'évaluation quantitative : différents paramètres ont été comparés : la quantité de matériel nécessaire, le rendement (nombre d'amplifications réussies), le temps de travail, le coût et la quantité de matériel récupéré. Méthodes d'évaluation qualitative : une deuxième étape a consisté à comparer chez un même individu l'ADN extrait à partir du tissu cardiaque frais et fixé par 2 méthodes. La première méthode a consisté à tester sept marqueurs polymorphes différents provenant de cinq chromosomes. La deuxième méthode a consisté à séquencer les exons 2 et 3 et l'intron 2 du gène de la desmine pour évaluer par clonage des amplicons le taux de mutation. Résultats : Évaluations quantitatives : la quantité de matériel nécessaire pour l'extraction a été évaluée à partir d'une coupe entière (environ 1 cm^2), et de

Mots-clés : extraction ADN, fixation formol, inclusion paraffine.

■P403 / 1035. *SCA2* EST RAREMENT RESPONSABLE DE MALADIE DE PARKINSON AVEC UNE TRANSMISSION DOMINANTE : ÉTUDE DE 162 FAMILLES ET DESCRIPTION DU PREMIER CAS DE DIGÉNISME AVEC *LRRKK2*

P. Charles (1), N. Benamar (2), F. Sellal (3), A.-M. Bonnet (4), A. Destée (5), P. Ribai (1, 2), S. Lesage (2), G. Stevanin (2), A. Dürr (1, 2), A. Brice (1, 2, 6)

(1) Département de Génétique, Cytogénétique et Embryologie, Hôpital Pitié-Salpêtrière, AP-HP, Paris ; (2) INSERM U679, Hôpital Pitié-Salpêtrière, AP-HP, Paris ; (3) Département de Neurologie, Hôpital Civil, Strasbourg ; (4) Fédération de Neurologie, Hôpital Pitié-Salpêtrière, AP-HP, Paris ; (5) Clinique Neurologique, CHU de Lille ; (6) Université Pierre et Marie Curie, Paris

Les mutations par expansion de répétions de trinucléotides CAG dans la région codante des gènes SCA sont généralement responsables de formes autosomiques dominantes d'ataxie cérébelleuse. À ce jour, six gènes responsables sont connus (SCA- spinocerebellar ataxia-1, 2, 3, 6, 7, 17). Il existe une corrélation entre la taille de l'expansion et l'âge de début ou le phénotype : une « petite » expansion dans les gènes SCA2 et SCA3 peut produire un phénotype de maladie de Parkinson associé à une perte neuronale dans la substance noire. Ainsi, de rares cas d'authentiques syndromes parkinsoniens avec la triade akinésie, rigidité et tremblement de repos ainsi qu'une bonne réponse au traitement par la levodopa sont dus à la présence d'une expansion anormale de triplets CAG dans les gènes SCA2 et 3. Ces rares causes de maladie de Parkinson s'ajoutent aux autres formes monogéniques dues à des mutations des gènes Parkine, PIINK1, DJ-1 avec une transmission autosomique récessive, et alpha-synucléine et LRRK2 avec une transmission autosomique dominante. Il a été récemment montré la fréquence de la mutation G2019S de ce dernier gène dans des cas isolés et familiaux. Le but de notre étude était de déterminer la fréquence des mutations de SCA2, 3 et 17 dans un groupe de 162 patients avec une maladie de Parkinson cliniquement définie (n = 151) ou probable (n = 11), et une transmission dominante. L'histoire familiale était déterminée par une interview du propositus dans 147 cas et confirmée par un examen clinique de patients dans 2 générations successives dans 60 cas. Résultats : Nous avons identifié deux familles (SAL-722 et SAL-755) avec une expansion CAG pathologique dans le gène SCA2 qui comportaient respectivement 4 et 3 patients avec une maladie de Parkinson. Les tailles de l'expansion étaient 36 et 38 triplets CAG, les deux familles sont d'origine française et le tableau clinique est une maladie de Parkinson typique avec des ages de début de la maladie allant de 29 à 64 ans, De façon intéressante, dans la famille SAL-755, le conjoint sain du cas index porte la mutation G2019S du gène LRRKK2. Deux des enfants de ce couple présentent une maladie de Parkinson et portent à l'état hétérozygote les mutations des gènes SCA2 et LRRK2. Ces deux patients avec un digénisme présentent un phénotype similaire à celui de leur mère, avec des âges de début néanmoins plus précoces (29 et 30 ans versus 52 ans chez la mère). Conclusion : Une petite proportion (environ 1 %) des cas familiaux de maladie de Parkinson cliniquement définie est bien due au gène SCA2. Dans ces familles particulières par l'homogénéité intrafamiliale du phénotype, de petites expansions sont impliquées. Nous rapportons également le premier cas de digénisme pour SCA2 et LRRK2 qui produit un syndrome parkinsonien typique sans que le phénotype soit différent de celui des patients avec une seule mutation. Ces résultats ont des implications tant pour le diagnostic moléculaire que pour le conseil génétique dans les familles concernées.

Mots-clés : ataxie spinocérébelleuse 2, maladie de Parkinson, *LRRK2*.

■P404 / 1039. IDENTIFICATION DE MUTATIONS PONCTUELLES DU GÈNE FVIII PAR SSCP-SÉQUENÇAGE CHEZ 51 HÉMOPHILES À SÉVÈRES, MODÉRÉS ET MINEURS : DÉCOUVERTE DE 19 MUTATIONS NOUVELLES ET ÉLABORATION D'UNE STRATÉGIE D'ANALYSE DU FACTEUR VIII SELON LE DEGRÉ DE SÉVÉRITÉ DE L

C. Gendrot (1), C. Guérois (2), Y. Gruel (2), P. Beurrier (3), M. Raynaud (4), C. Andres (1)

(1) : Laboratoire de Biochimie et de Biologie Moléculaire, Hôpital Bretonneau, CHRU de Tours ; (2) : Service d'Hématologie-Hémostase, Hôpital Trousseau, CHRU de Tours ; (3) : Centre de traitement de l'hémophilie, CHU d'Angers ; (4) : Service de Génétique, CHRU de Tours

Buts de l'étude : Les 51 hémophiles A reportés dans cette étude font partie d'un premier groupe de 73 patients, dont ont été exclus 22 hémophiles sévères chez qui nous avons préalablement identifié un réarrangement intragénique de l'intron 1 (3 cas) ou de l'intron 22 (19 cas). Il s'agit de cas sporadiques ou familiaux. Tous les échantillons sanguins ont été adressés au laboratoire pour recherche de mutation du gène FVIII dans un but de conseil génétique. La répartition des patients selon le degré de sévérité de la maladie est la suivante : – hémophilie A sévère (FVIII < 1 %) : 23 cas – hémophilie A modérée (2 % < FVIII < 5 %) : 16 cas – hémophilie A mineure (FVIII > 5 %) : 12 cas. Nous avons utilisé la méthode SSCP-séquençage pour explorer les 26 exons du gène et leurs bornes. Notre technique SSCP utilise des minigels d'acrylamide précoulés et 3 températures de migration. Sa sensibilité est évaluée à 90 %. Lorsque aucune anomalie de migration n'était détectée par SSCP sur l'ensemble des exons d'un patient, nous en avons effectué le séquençage systématique. Résultats Nous avons identifié 41 mutations différentes chez les 51 patients. Leur localisation dans le gène ainsi que le phénotype correspondant sont représentée sur un schéma. &#61656 ; Hémophiles A sévères : – 10 délétions avec décalage du cadre de lecture, dont une présente chez 2 patients (359delTTGT). Six nouvelles délétions (1847delT, 2495delAA, 3241del8, 6113delA, 6138delTC, 6149delGT) ont été identifiées, – 4 mutations non-sens, dont 2 nouvelles (Q565X, Q1110X), – 8 mutations faux-sens, dont 5 nouvelles (D125N, K166E, F428C*, G1853R et W2219R) &#61656 ; Hémophilies A modérées : 13 mutations faux-sens, dont une présente chez 2 patients (A704T) et une chez 3 patients (R2159C). Trois mutations sont nouvelles (D126V, F428C* et E1751A) &#61656 ; Hémophilies A mineures : 7 mutations faux-sens, dont une retrouvées chez 3 patients (F2127S) et une chez 4 patients (R2159H). Trois mutations sont nouvelles (R4G, P472L et F2127S). La corrélation sera effectuée entre ces mutations et l'apparition d'inhibiteurs chez les patients. Conclusion La distribution des mutations du gène FVIII dans notre population de 51 hémophiles A montre que leur localisation sur le gène est relativement ciblée selon le phénotype : – 30,4 % (7/23) des mutations liées à une hémophilie sévère se situent dans l'exon 14. Ce sont des délétions ou des mutations non-sens. – 51,7 % (15/29) des mutations liées à une hémophilie modérée ou mineure se trouvent dans l'exon 23. Il s'agit de mutations faux-sens qui, dans 50 % des cas, touchent le codon R2159 (R2159C : 3 cas ; R2159H : 4 cas). De part la grande taille de sa séquence codante, l'étude du gène FVIII peut s'avérer longue et coûteuse. Ces résultats nous permettent d'optimiser notre stratégie d'exploration, basée chez les hémophiles A sévères en priorité sur l'analyse SSCP de l'exon 14, et surtout, chez les hémophiles A modérés et mineurs, sur le séquençage direct de l'exon 23.

Mots-clés : hémophilie A, gène *FVIII*, mutations.

■P405 / 1040. ÉTUDE GÉNÉTIQUE DE LA DYSPLASIE VENTRICULAIRE DROITE

V. Fressart (1), F. Simon (1), R. Frank (2), C. Coirault (3), D. Keller (4), P. Charron (5), B. Hainque (1)

(1) Service de Biochimie B, UF de Cardiogénétique et Myogénétique moléculaire et cellulaire, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, 47, bd de l'Hôpital, 75013, Paris ; (2) Unité de Rythmologie, Institut de Cardiologie, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, 47, bd de l'Hôpital, 75013, Paris ; (3) Service d'Explorations Cardio-Respiratoires, CHU de Bicêtre, 76, rue du Général Leclerc, 94275, Le Kremlin-Bicêtre ; (4) Service de Cardiologie, Hôpital Universitaire de Bâle, Petergraben 4, 4031 Bâle, Suisse ; (5) Département de Génétique, Cytogénétique et Embryologie, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, 47, bd de l'Hôpital, 75013 Paris

Introduction : la Dysplasie Ventriculaire Droite Arythmogène (DVDA) est une cardiomyopathie rare (prévalence estimée à environ 1/10 000) se caractérisant au plan anatomopathologique par le remplacement du tissu musculaire par du tissu fibro-adipeux au niveau du ventricule droit. La DVDA se manifeste typiquement par des syncopes chez le sujet jeune mais l'évolution peut se compliquer de mort subite et/ou d'insuffisance cardiaque. Elle est plus fréquente chez l'homme (plus de 70 % des cas). L'expressivité de la maladie est variable, allant de formes cliniques pauci symptomatiques à des formes sévères. La maladie est parfois familiale (20 % à 50 %) avec une transmission habituellement autosomique dominante. Les deux premiers gènes impliqués, JUP pour la Plakoglobine et DSP pour la Desmoplakine, l'ont été en 2000 dans des formes récessives très particulières de DVDA (associées à des anomalies de la peau et des phanères), et codent des protéines du desmosome. D'autres études portant sur les formes autosomiques dominantes ont par ailleurs montré que cette pathologie présente une grande hétérogénéité de loci au nombre de 9. Cependant, seuls trois gènes ont été identifiés à partir de 2001 : RyR2 pour l'isoforme cardiaque du Récepteur de la Ryanodine, DSP pour la Desmoplakine et PKP2 pour la Plakophiline 2. Alors que le nombre de mutations identifiées dans RyR2 et DSP est faible, l'étude réalisée par une équipe allemande (Gerull *et al.*, 2004) montre que 25 % des cas de DVDA présentent une mutation dans le gène PKP2 codant la Plakophiline 2, protéine constitutive du desmosome. La DVDA semble donc préférentiellement liée à des anomalies touchant les protéines des jonctions cellulaires, et plus spécifiquement celles des desmosomes. Objectifs : ce travail préliminaire portant sur 20 patients atteints de DVDA a été réalisé dans le cadre d'un projet GIS-maladies rares. Dans un premier temps, nous avons mis au point les conditions d'amplification et de séquençage de trois des gènes impliqués dans la DVDA (PKP2, DSP, JUP) et dans un deuxième temps nous avons recherché la présence de variants chez ces 20 patients. Méthodes : 20 cas index ayant bénéficié d'un bilan cardiologique confirmant le diagnostic de DVDA sporadique ou familiale ont eu un prélèvement sanguin destiné aux études génétiques. La recherche de variants s'est faite par séquençage systématique des exons et des jonctions intron-exon. Le gène PKP2 a été analysé en 17 fragments, DSP en 45 fragments et Jup en 17 fragments. Résultats : l'étude de ces trois gènes a permis de mettre en évidence de nouveaux polymorphismes dans DSP, JUP et PKP2, ainsi qu'une nouvelle mutation dans PKP2. Dans un premier groupe de 10 patients, l'analyse des gènes DSP et JUP a permis d'identifier dans le gène DSP, un variant I 305 F dans l'exon 7, quatre polymorphismes exoniques silencieux et trois polymorphismes introniques et dans le gène JUP, trois polymorphismes exoniques silencieux ainsi que cinq polymorphismes introniques et un polymorphisme faux sens fréquent (M 697 L). Par ailleurs, l'analyse du gène PKP2 réalisée pour un autre groupe de 10 patients, a permis d'objectiver trois polymorphismes introniques et un polymorphisme faux sens L 366 P dans l'exon 4, ainsi qu'une nouvelle mutation délétion du nucléotide G en position 1643 du cDNA. Conclusions et Perspectives : La poursuite des analyses génétiques préliminaires chez ces 20 patients de même que l'étude phénotypique et génétique en cours chez leurs apparentés nous permettra une première approche des différents polymorphismes existants, de leurs fréquences, ainsi que la mise en évidence d'éventuelles nouvelles mutations. L'analyse des résultats génétiques d'un plus grand nombre de cas index et de leur famille permettra d'apprécier la contribution respective de chacun des gènes étudiés en terme de responsabilité dans la pathologie. La mise en évidence de corrélations génotype – phénotype pourrait permettre de mieux comprendre l'expressivité variable.

Mots-clés : génétique, dysplasie ventricuaire droite, desmosme.

■P406 / 1043. IDENTIFICATION D'UNE NOUVELLE MUTATION DE LA NEUROTRYPSINE DANS UNE FAMILLE DE RETARD MENTAL NON SYNDROMIQUE

Pierre Cacciagli (1), Chantal Missirian (1, 2), Brigitte Chabrol (3), Laurent Villard (2), Anne Moncla (1, 2)

(1) Département de Génétique Médicale, CHU Timone enfants, 264, rue Saint-Pierre, 13385 Marseille, France ; (2) INSERM U491, Faculté de Médecine de la Timone, 27, bd Jean-Moulin, 13385 Marseille, France ; (3) Service de Neuropédiatrie, CHU Timone enfants, 264, rue Saint-Pierre, 13385 Marseille, France

Nous rapportons l'observation d'une famille consanguine d'origine Kabyle, dont les deux seuls enfants vivants de sexe masculin présentent le même phénotype clinique associant un retard mental sévère, une microcéphalie, une dysmorphie faciale, des anomalies des extrémités, et une tétraparésie spastique. Ce tableau clinique est comparable à celui décrit chez les patients présentant une délétion homozygote de 4 pb dans le gène PRSS12 (4q26) responsable d'un décalage du cadre de lecture et l'apparition d'un codon stop. Ce gène code pour la neurotrypsine et a été rapporté comme étant le premier gène responsable de retard mental non syndromique de transmission autosomique récessive. Pour tester l'hypothèse de son implication dans le phénotype observé dans notre famille, nous avons dans un premier temps recherché cette mutation, à priori récurrente, chez nos deux patients. L'absence d'identification de cette mutation nous a conduit dans un second temps à l'étude complète de la séquence de ce gène. Une mutation homozygote G175S a été identifiée chez nos deux patients et est présente à l'état hétérozygote chez les parents. Cette mutation faux sens a été recherchée dans une population de 50 individus sains et non retrouvée. Une étude familiale est actuellement en cours pour tenter d'établir l'implication de cette variation de séquence dans le phénotype clinique de nos deux patients.

Mots-clés : retard mental non syndromique, neurotrypsine, mutation faux sens.

■P407 / 1044. ÉTUDE DES GÈNES DE L'ARNR 12S ET DE L'ARNTSER (UCN) MITOCHONDRIAUX CHEZ DES FAMILLES TUNISIENNES ATTEINTES DE SURDITÉ HÉRÉDITAIRE NON SYNDROMIQUE

E. Mkaouar Rebai (1), Abdelaziz Tlili (1), Nacim Louhichi (1), Ilhem Charfeddine (2), Saber Masmoudi (1), Hammadi Ayadi (1), Faiza Fakhfakh (1)

(1) Laboratoire de Génétique Moléculaire Humaine ; Faculté de médecine de Sfax. Tunisie ; (2) Service d'ORL, CHU Habib Bourguiba de Sfax, Tunisie

Les cytopathies mitochondriales regroupent une grande variété de pathologies qui doivent leur origine à un déficit de la chaîne respiratoire mitochondriale résultant d'anomalies touchant l'ADN mitochondrial ou l'ADN nucléaire codant des protéines mitochondriales. Dans ce cadre, une dizaine de mutations mitochondriales touchant les gènes codant pour l'ARNr ou bien l'ARNt ont été associées à des surdités héréditaires. Nous nous sommes intéressés au cours de ce travail à l'étude des gènes de l'ARNr 12S et de l'ARNtSer(UCN) afin de rechercher des mutations mitochondriales associées à des surdités héréditaires et particulièrement la mutation A1555G dans le gène de l'ARNr 12S. L'étude a porté sur 100 patients atteints de surdité et appartenant à 100 familles non apparentées originaires du sud Tunisien pour lesquelles aucune mutation nucléaire responsable de surdité n'a été retrouvée. Cent témoins normaux de la même population ont été testés comme contrôle. La recherche de mutations a été réalisée par les techniques de PCR-RFLP et de séquençage automatique. Les résultats de la PCR-RFLP ont montré la présence de la mutation mitochondriale A1555G à l'état homoplasmique chez une seule famille Tunisienne atteinte de surdité héréditaire non-syndromique. Les membres de cette famille qui présentent la mutation A1555G montrent une grande variabilité phénotypique allant d'une audition normale à la surdité profonde. Ce qui suggère l'éventuelle présence d'autres mutations mitochondriales ou nucléaires qui pourraient être responsables de cette variabilité phénotypique. Grâce au séquençage du gène de l'ARNr 12S mitochondrial, nous avons retrouvé 16 polymorphismes dont 5 sont nouveaux et 11 sont décrits dans la littérature et dans la base de données de l'ADN mitochondrial www.mitomap.org (G709A, T710C, A750G, G769A, T825A, A930G, G1018A, C1048T, T1189C, T1420C et A1438G). L'étude du gène de l'ARNtSer(UCN) mitochondrial a montré l'absence des mutations connues A7445G, T7510C et T7511C aussi bien chez les 100 patients que chez les 100 témoins normaux tunisiens testés. En conclusion, nous rapportons dans ce travail la première description de la mutation A1555G chez une famille Tunisienne atteinte de surdité ainsi que 5 nouveaux polymorphismes dans le gène de l'ARNr12S.

Mots-clés : mutations mitochondriale, A1555G, surdité héréditaire.

■P408 / 1052. DES MUTATIONS D'UN TRANSPORTEUR DU FER RESPONSABLES D'ANÉMIE NÉONATALE MICROCYTAIRE HYPOCHROME SÉVÈRE

Carole Beaumont (1), Jean Delaunay (2-4), Gilles Hetet (5), Bernard Grandchamp (1,5), Mariane de Montalembert (2) et Gil Tchernia (2)

(1) INSERM U656, Faculté X. Bichat, Paris ; (2) Centre de Référence des Maladies Constitutionnelles du Globule Rouge et de l'Érythropoïèse, CHU Le Kremlin-Bicêtre ; (3) Laboratoire d'Hématologie, CHU Le Kremlin-Bicêtre ; (4) INSERM U473, CHU Le Kremlin-Bicêtre ; (5) Laboratoire de Génétique et Biochimie Hormonale, CHU Bichat

L'absorption du fer à partir des aliments au pôle apical des entérocytes duodénaux et le passage du fer à travers les membranes des endosomes dépendent principalement de DMT1, un co-transporteur membranaire du Fe (II) et des protons. Une mutation de DMT1 chez la souris mk et chez le rat Belgrade est responsable d'une anémie microcytaire hypochrome résultant d'un défaut d'absorption intestinale du fer et d'un défaut d'utilisation du fer pour l'érythropoïèse. Deux cas de mutation de DMT1 ont été décrits récemment chez l'homme. Dans un cas, il s'agit d'une mutation homozygote G>C portant sur la dernière base de l'exon 12. Elle entraîne un remplacement G399A qui ne semble pas affecter la fonction de la molécule. La principale conséquence de cette mutation est la production préférentielle d'un variant d'épissage avec saut d'exon 12. Le deuxième cas est un hétérozygote composite avec une délétion d'un triplet dans l'intron 4 entraînant un variant d'épissage et une mutation C>T conduisant à la production d'une protéine mutée avec un remplacement R416C. Ici nous rapportons le troisième cas de mutation de DMT1. Il s'agit d'une enfant née en 1996, avec une hypotrophie et une anémie microcytaire hypochrome (Hb = 7,5 g/dL, MCV = 53 fL). Après une transfusion à J0, l'enfant est mise sous traitement martial per os, à l'exception d'une injection intraveineuse de fer (Venofer®) pratiquées en 2003. À l'âge de cinq ans, une exploration plus complète montre une moelle hyperplasique avec un défaut de maturation. Le récepteur soluble à la transferrine est augmenté (8,3 mg/L ; N = 0,83-1,76). La ferritinémie reste basse (15-25 µg/L ; N = 14-197) malgré un coefficient de saturation de la transferrine compris entre 68 et 95 %. De façon surprenante, la charge en fer hépatique estimée par IRM est très élevée (250 +/- 50 µmoles fer/g de foie (N<36). Le séquençage de l'ADNc du récepteur à la transferrine n'a pas fait ressortir de mutation. Le séquençage des exons et des jonctions intron-exon du gène DMT1 a mis en évidence deux mutations hétérozygotes. La première est une délétion d'un codon GTG dans l'exon 5, entraînant la délétion de la valine 114, dans le deuxième domaine transmembranaire. La deuxième est une substitution dans l'exon 8 conduisant au remplacement G212V dans le cinquième domaine transmembranaire. Les parents sont totalement asymptomatiques et chacun est hétérozygote pour une des deux mutations. Ces résultats, outre qu'ils permettent d'expliquer l'origine d'une anémie néonatale résistant au traitement martial, apportent un éclairage nouveau sur certains aspects du métabolisme du fer. Ils confirment le rôle de DMT1 dans l'érythropoïèse et renforcent l'idée que l'acquisition du fer par les précurseurs érythroïdes de la moelle osseuse dépend principalement de l'endocytose du complexe fer- transferrine. À l'inverse, il semble exister une voie alternative d'absorption du fer au niveau duodénal, probablement la voie d'acquisition du fer héminique, et une voie d'acquisition du fer par les hépatocytes indépendante de DMT1. Curieusement, le fer qui s'accumule en excès dans ces hépatocytes déficitaires en DMT1 pourrait être retenu dans un compartiment inhabituel empêchant la stimulation de la synthèse de ferritine.

Mots-clés : anémie microcytaire hypochrome, mutations DMT1, surcharge en fer.

■P409 / 1053. ANALYSE DE GÈNES CANDIDATS POUR LA POLYMICROGYRIE LIÉE AU CHROMOSOME X

Anne-Marie Lossi (1), Pauline Aubourg (1), Carlos Cardoso (1), Laurent Villard (1)

(1) INSERM Unité 491, Faculté de Médecine de La Timone, 13385 Marseille Cedex 5

La polymicrogyrie est une anomalie du développement du cerveau caractérisée par la présence d'un cortex cérébral anormal, présentant de multiples petits gyri souvent fusionnés et dans lequel on ne peut souvent distinguer que quatre couches de neurones au lieu des six couches composant un cortex normal. Les patients présentent le plus souvent un retard mental modéré et une épilepsie. Nous avons récemment montré grâce à une analyse de liaison génétique qu'un locus pour une forme liée au chromosome X de polymicrogyrie bilatérale périsylvienne était localisé en Xq28 entre le marqueur DXS8103 et le télomère. Nous avons étudié 17 gènes candidats pour leur implication éventuelle dans la pathologie. Ces gènes ont été sélectionnés en fonction de leur profil d'expression dans le système nerveux central ou en fonction de leur rôle dans le développement ou le métabolisme cérébral. Il s'agit des gènes : GABRA3, GABRE, GABRQ, ATP2B3, MECP2, MPP1, PLXNB3, PLXNA3, SYBL1, BAP31, CAMKL1, FLNA, ATP6S1, CETN2, ZNF185, SLC6A8 et ARHGAP4. Dans chaque cas, l'ADN du cas index de chacune des familles liées à la région a été séquencé. Un défaut éventuel d'épissage a également été testé pour les gènes exprimés dans les lymphocytes. Parmi les gènes testés, deux sont déjà responsables d'une pathologie. Le gène MECP2, responsable du syndrome de Rett, était muté chez un garçon présentant une encéphalopathie néonatale sévère et une polymicrogyrie mais nous n'avons retrouvé de mutation dans aucune de nos familles ni dans 10 cas sporadiques testés. Le gène FLNA est responsable d'une autre malformation cérébrale, l'hétérotopie nodulaire périventriculaire et ne pouvait pas être directement exclu. À l'issue de ce travail, nous n'avons identifié aucune mutation pathogène. Nous avons par contre mis en évidence de nombreux polymorphismes qui seront utiles pour des études d'association menées sur cette région du chromosome X humain.

Mots-clés : polymicrogyrie, chromosome X, Xq28.

■P410 / 1058. LA SUBSTITUTION Q283P DANS LA PROTÉINE HFE ENTRAINE DES CONSÉQUENCES STRUCTURALE ET FONCTIONNELLE SEMBLABLES À CELLES DÉCRITES POUR LA MUTATION C282Y

Chandran Ka (1, 2, 3), Gérald Le Gac (1, 2), Francois-Yves Dupradeau (5), Jacques Rochette (5), Claude Férec (1, 2, 3, 4)

(1) INSERM U613, Brest, France ; (2) Établissement Français du Sang, Bretagne, Brest, France ; (3) Université de Bretagne Occidentale, Brest, France ; (4) Centre Hospitalier Universitaire, Bretagne, Brest, France ; (5) EA 2629 Université de Picardie Jules Verne, Amiens, France

Introduction : L'hémochromatose héréditaire de type I est caractérisée par une hyperabsorption intestinale du fer alimentaire qui conduit à une surcharge progressive des cellules parenchymateuses de plusieurs organes majeurs, principalement le foie, le cœur et le pancréas. Elle est transmise selon le mode autosomal récessif et est liée majoritairement à la mutation C282Y du gène HFE. En plus de cette mutation principale, 18 mutations rares ou privées ont aujourd'hui été associées à des phénotypes plus ou moins sévères de surcharge en fer. Nous avions précédemment identifié une nouvelle mutation dans l'exon 4 du gène HFE : la transversion 848 A>C qui provoque la substitution de la glutamine 283 par une proline (Q283P). La nature et la position de ce changement d'acide aminé suggéraient que la mutation Q283P pouvait avoir un retentissement sur la structure de la protéine HFE. Pour tester notre hypothèse nous avions alors réalisé une modélisation tridimensionnelle in silico. Elle montrait que l'introduction d'une proline en position 283 de la protéine HFE déstabilisait complètement la structure du domaine extra-membranaire alpha-3, en empêchant notamment l'établissement du pont disulfure entre les Cys 225 et 282. Les conséquences fonctionnelles de la mutation Q283P devaient être par conséquent proches de celles de la mutation C282Y. Matériels et méthodes : Le but de cette étude était de confirmer les effets fonctionnels prédits par le modèle in silico pour la mutation Q283P. Nous avons mis en place une série d'expériences permettant de comparer les propriétés de la protéine HFE de type sauvage avec celles de type muté 283P. Elle comprenait des immunoprécipitations, de la localisation cellulaire par fractionnement et des tests d'absorption de transferrine marquée avec du fer radioactif (55Fe). Cette étude a été réalisée à partir de cellules de type HeLa dans lesquelles nous avons transfecté de façon stable, en aval d'un promoteur inductible à la tétracycline, la séquence qui code soit la protéine HFE de type sauvage, soit celle de type muté 283P. Résultats : Les conclusions tirées de nos expériences in vitro sont en concordance avec les prédictions déduites du modèle informatique. Nos résultats confirment que les mutations C282Y et Q283P produisent des conséquences similaires sur la structure tridimensionnelle et certaines fonctions de la protéine HFE. Les interactions protéiques HFE/beta2-microglobuline et HFE/récepteur 1 de la transferrine sont altérées et l'absorption du fer lié à la transferrine n'est que très peu inhibée (5 % contre 43 %). Conclusion : Cette étude nous a permis de vérifier l'implication de la mutation Q283P du gène HFE dans un phénotype de surcharge en fer. La mutation Q283P, par sa nature (substitution d'une glutamine par une proline) et sa position dans la protéine HFE (adjacente à la cystéine 282 impliquée dans le pont disulfure du domaine alpha-3), constituait un exemple idéal pour ce type d'approche. Les résultats pour certaines mutations, n'entraînant que de faibles remaniements, pourraient se révéler beaucoup plus difficile à interpréter. Néanmoins, nos résultats témoignent de la validité de notre travail in silico. Le recours à la modélisation informatique pourrait permettre de tester rapidement le retentissement de nouvelles variations sur la structure d'une protéine donnée et d'en tirer des prédictions sur de possibles conséquences fonctionnelles.

Mots-clés : hémochromatose héréditaire, HFE, mutation Q283P.

■P411 / 1062. DES MUTATIONS DU RÉCEPTEUR MINÉRALOCORTICOÏDE SONT LA CAUSE PRINCIPALE DE LA FORME RÉNALE DE PSEUDOHYPOALDOSTÉRONISME DE TYPE I

Lucie Pujo (1, 2), Jérôme Fagart (3), Aurélie Claes (2), Xavier Jeunemaître (1, 2), Maria-Christina Zennaro (1, 2)

(1) Département de Génétique, Hôpital Européen Georges-Pompidou, Paris ; (2) INSERM U36, Collège de France, Paris ; (3) INSERM U478, Faculté de Médecine X. Bichat, Paris

L'aldostérone joue un rôle clé dans la régulation de l'équilibre hydrosodé et de la pression artérielle. Le PHA1 est une forme rare de résistance aux minéralocorticoïdes. Des mutations du canal à sodium ENaC sont à l'origine du PHA1 récessif généralisé. Des mutations du gène du récepteur minéralocorticoïde humain (hMR) sont à l'origine de la forme rénale, à présentation familiale dominante ou sporadique. L'implication éventuelle d'autres gènes dans le PHA1 rénal a été discutée. Ceci prend une importance toute particulière en raison de l'hétérogénéité de présentation de la maladie qui va de la déshydratation profonde avec possibilité de décès néonatal à des formes frustres qui peuvent passer inaperçues. Cette étude rapporte la mise en place du premier diagnostic génétique exhaustif du PHA1 rénal, qui inclut l'étude du gène hMR (exons codants, exons 5'-non traduits, recherche de délétions). Grâce au réseau PHA1NET (GIS-Institut des maladies rares, responsable M-C Zennaro), nous avons pu analyser 33 patients provenant de 25 centres différents. Tous les patients présentaient un syndrome de perte de sel en période néonatale avec stagnation pondérale et déshydratation. Le diagnostic a été basé sur l'élévation de l'aldostérone et de la rénine plasmatique et/ou sur les mesures des électrolytes. Tous les patients ont été traités avec un supplément sodé et/ou des résines échangeuses d'ions. Le séquençage direct de l'ensemble des parties codantes du gène hMR nous a permis d'identifier 15 mutations différentes chez 16 patients, toutes à l'état hétérozygote. Une recherche systématique de délétion de chaque exon par amplification enzymatique en temps réel a montré 6 délétions. L'analyse familiale, lorsqu'elle a pu être réalisée, a montré une transmission dominante dans 68 % des cas, et 18 % de mutations de novo. Il est intéressant de constater qu'une histoire familiale n'était présente que pour une faible proportion de mutations transmises (7/15) ce qui confirme l'expression phénotypique très variable. Certains cas très modérés pouvant être passés inaperçus dans l'enfance, nous suggérons le dosage systématique de l'aldostérone chez les apparentés de patients PHA1. L'étude de la structure cristallographique du MR fait apparaître que les mutations affectent des résidus clés dans la conformation de la poche de liaison du ligand et l'interaction du récepteur avec l'ADN, des corégulateurs transcriptionnels ou des protéines associées. Seulement 3 mutations (toutes tronquantes – non-sens, décalage du cadre de lecture) affectent la partie N-terminale du récepteur qui représente pourtant les deux tiers de la protéine. Ceci suggère que la perte de ce domaine n'affecte pas, du moins à l'état hétérozygote, l'activité du hMR et/ou ne donne pas lieu à un phénotype PHA1. Le résultat principal de notre étude est la fréquence très élevée de mutations du hMR dans le PHA1 rénal. Nous avons pu établir des critères diagnostiques très fortement corrélés à la présence de mutations du hMR, notamment l'association entre aldostérone et potassium plasmatiques élevés. Alors que 66 % de l'ensemble de nos patients sont porteurs d'une mutation, ce pourcentage augmente significativement (14/17, 82 %) si on ne retient que les patients présentant ces critères. Dans 73 % des cas où aucune mutation n'a été mise en évidence, les patients font partie de trois catégories : PHA1 non typique (18 %, aldostérone ou potassium normal), patients avec dossier clinique insuffisant (46 %), patients avec autre diagnostic a posteriori (9 %). En conclusion, une stratégie complète de recherche mutationnelle dans le PHA1 rénal montre que le gène hMR est responsable de la quasi-totalité des cas avérés. Il reste cependant possible que d'autres gènes soient impliqués dans la maladie et que le PHA1 rénal regroupe différentes pathologies similaires.

Mots-clés : aldosterone, recepteur nucleaire, perte de sel.

■P412 / 1066. LIGNÉES CHONDROCYTAIRES HUMAINES : UN MODÈLE CELLULAIRE POUR UNE FAMILLE DE CHONDRODYSPLASIES

C. Benoist-Lasselin, L. Gibbs, S. Heuertz, A. Munnich, L. Legeai-Mallet
INSERM U393, Unité de Recherche sur les handicaps génétiques de l'enfant, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris

L'achondroplasie (ACH) et le nanisme thanatophore (TD) sont deux dysplasies osseuses fréquentes, résultant de mutations activatrices dans le gène FGFR3 (Fibroblast Growth Factor Receptor 3). Ces chondrodysplasies sont caractérisées par une désorganisation et une réduction variables de la plaque de croissance. Afin d'obtenir un modèle cellulaire de ces pathologies, nous avons généré plusieurs lignées chondrocytaires humaines. Des chondrocytes humains témoins ou issus de fœtus porteurs de mutations FGFR3 ont été immortalisés par l'antigène T de SV40. Neuf lignées ont été obtenues, deux lignées témoins et sept lignées exprimant le récepteur muté. Les mutations hétérozygotes dans le gène FGFR3 sont localisées dans les domaines extracellulaire, transmembranaire et intracytoplasmique de la protéine. Une lignée exprime la mutation G380R (ACH) et six lignées les mutations R248C, S249C, Y373C, G370C, K650E et X807S (TD). Pour chacune des lignées, des clones ayant conservés un phénotype chondrocytaire et exprimant des protéines de la matrice cartilagineuse ont été sélectionnés. Parmi les composants de la matrice extracellulaire, nous avons étudié les protéoglycannes (aggrécanne, biglycanne, décorine), les collagènes de type II et IX, la métalloprotéinase matricielle 9 (MMP9) et les facteurs contrôlant la prolifération et la différenciation chondrocytaire comme Indian Hedgehog (Ihh), le récepteur de l'hormone Parathyroidienne (PTHR1) et FGFR3. Dans les différents modèles cellulaires obtenus, nous avons montré que : 1) le récepteur normal et le récepteur muté sont exprimés ; 2) FGFR3 muté est activé de façon constitutive ; 3) la voie des STAT (Signal Transducers and Activators of Transcription) est activée ; 4) la voie des Map-kinases reste activable par les ligands FGFs. Les lignées chondrocytaires (ACH et TD) reproduisent parfaitement la situation observée dans le cartilage pathologique. Ces lignées sont d'excellents modèles cellulaires qui vont permettre de tester in vitro des molécules capables d'inhiber l'activation constitutive du récepteur FGFR3 muté dans ces chondrodysplasies.

Mots-clés : chondrodysplasie, *FGFR3*, lignées chondrocytaires.

■P413 / 1067. ANALYSE CGH TRÈS HAUTE RÉSOLUTION DE PATIENTS PRÉSENTANT DES ANOMALIES DU DÉVELOPPEMENT GONADIQUE

El Houate B. (1), Chantot S. (1, 2), Ravel C. (1, 2), Tar A. (3), Siffroi J.P. (2), Brauner R. (4), McElreavey K. (1)
(1) Reproduction, Fertilité et Populations, Institut Pasteur, Paris ; (2) UPMC EA1533, AP-HP, Hôpital Tenon, Paris ; (3) Buda Childrens Hospital, Budapest, Hungary ; (4) Université Paris Descartes et Unité d'Endocrinologie Pédiatrique, Hôpital Bicêtre, France

La technologie oligo-microarrays pour l'analyse CGH (« Comparative Genome Hybridization ») très haute résolution offre la possibilité de découvrir des changements subtiles dans le nombre de copies dans le génome humain pouvant ainsi contribuer à la diversité génétique mais dans certains cas pouvant entraîner une maladie génétique. Dans cette étude, nous présentons l'analyse par arrays oligonucléotidiques de très haute résolution de 18 patients d'origine caucasienne présentant des anomalies diverses du développement gonadique. Cette analyse a identifié 87 différences du nombre de copies représentant 56 loci uniques. De plus, cette analyse a permis de préciser les points de cassure chromosomique déjà décrits chez deux individus présentant une réversion sexuelle, le premier étant porteur d'une délétion du chromosome 9p (point de cassure dans le gène GASC1) et le second d'une délétion Xp (point de cassure distal du gène ZNF673). Parmi les 56 loci uniques présentant des changements dans le nombre de copies, 32 sont des polymorphismes déjà décrits mais les 24 autres changements du nombre de copies ne sont observés que chez un seul individu et n'ont pas été décrits auparavant. Même si certains peuvent être des polymorphismes rares sans conséquence phénotypique, il est probable que d'autres peuvent contribuer à la pathologie. Ces nouveaux changements incluent : une délétion intragénique du gène ERBB4 chez un patient porteur d'une dysgénésie gonadique associée à une coarctation aortique, un nystagmus congénital et des troubles du comportement ; une duplication partielle du gène KIF18A chez un patient présentant une puberté pseudo-précoce ; une duplication du gène de la cycline B3 chez un patient présentant des anomalies de la ligne médiane et une délétion partielle du gène FLJ31810 (codant pour une protéine neuronale riche en leucine) chez un patient porteur d'un syndrome évoquant celui de Silver-Russel associé à un retard mental. Ces résultats suggèrent que l'analyse CGH très haute résolution offre la possibilité de définir de nouveaux loci responsables de maladies génétiques chez des patients pour lesquels les approches génétiques conventionnelles, telles les analyse de déséquilibre de liaison ou les études d'association, ne peuvent être réalisées en raison de la rareté et la nature de la pathologie.

Mots-clés : CGH très haute résolution, anomalies du développement gonadique, duplication/délétion.

■P414 / 1068. EXPLORATION DES GÈNES TSC1 ET TSC2 DANS LA SCLÉROSE TUBÉREUSE DE BOURNEVILLE

R.L. Touraine, A. Combes, M.F. Gilet
Service de Génétique, CHU de Saint-Étienne

Nous avons débuté l'exploration des gènes TSC1 et TSC2 dans la Sclérose Tubéreuse de Bourneville en 2002, d'abord par séquençage systématique puis depuis fin 2004 par dHPLC. Nous recherchons également les délétions du gène TSC2 par technique MLPA, PCR longue et par l'étude des polymorphismes. Plus de 80 familles nous ont été adressées et une mutation a déjà été identifiée chez plus de la moitié d'entre elles. Les analyses sont

en cours pour les cas restant. Toutefois, aucune mutation n'a pu être identifiée dans quelques cas. Parmi les mutations identifiées, les 2/3 sont de novo. Le gène TSC2 est plus fréquemment impliqué (75 %), ceci d'autant plus qu'il s'agit d'une forme de novo (85 %). Dans les formes héritées, les mutations de TSC2 ne sont qu'un peu plus fréquentes que les mutations de TSC1 (56 % versus 44 %). Plus des 2/3 des mutations identifiées n'avaient jamais été décrites. Ce sont essentiellement des mutations tronquantes. Nous souhaitons illustrer de plus certains aspects particuliers, représentés par les cas diagnostiqués in utero devant des rhabdomyomes cardiaques (14 cas), l'existence de formes très modérées, le problème éventuel de mosaïque somatique et une famille où 2 mutations différentes coexistent.

Mots-clés : sclérose tubéreuse, DHPLC, rhabdomyomes.

■P415 / 1069. DÉTECTION DE RÉARRANGEMENTS SUBTÉLOMÉRIQUES PAR MLPA

S. Drunat, A. Aboura, A.C. Tabet, O. Dupuy, C. Baumann, J. Elion, A. Verloes
Département de Génétique, Hôpital Robert-Debré, AP-HP, Paris, France

Les réarrangements subtélomériques cryptiques sont retrouvés chez 5 % des patients avec caryotype normal présentant un retard mental isolé ou associé à un syndrome polymalformatif. Malgré des résultats performants, les techniques de FISH pantélomérique sont encore peu utilisées car elles restent onéreuses et fastidieuses pour les laboratoires de diagnostic. Par conséquent, seuls les patients sélectionnés sur des critères cliniques sont actuellement testés. Les critères de présélection établis ne sont pourtant pas entièrement satisfaisants. L'objectif de cette étude est d'évaluer la rentabilité technique et clinique d'une recherche de remaniements subtélomériques par une technique MLPA chez des patients non sélectionnés présentant un retard mental ou un autisme. Dans ce but nous avons étudié plus de 500 patients évalués par un généticien qui présentaient un caryotype normal par MLPA (kits MLPA p036 ou P019 et P020, MRC-Holland). Nous avons pu mettre en évidence un réarrangement subtélomérique, confirmé par FISH, chez 36 patients (7,1 %). 21 de ces remaniements sont des délétions, 9 sont des duplications, et 6 sont des réarrangements associant à la fois une duplication et une délétion. Quelques cas cliniques sont détaillés. En conclusion, la MLPA est une méthode fiable, peu coûteuse et rapide pouvant facilement être mise en œuvre dans un laboratoire de diagnostic. Cette accessibilité permet un screening étendu à une large population de patients présentant un retard mental. Ceci devrait aboutir à une meilleure caractérisation des caractères phénotypiques associés à ces réarrangements qui, à l'heure actuelle, sont probablement sous-diagnostiqués.

Mots-clés : réarrangement subtélomérique, MLPA, retard mental.

■P416 / 1073. CRYPTORCHIDIES IDIOPATHIQUES DANS LA POPULATION MAROCAINE : RECHERCHE DE MUTATIONS DES GÈNES *INSL3* ET *LGR8*

B. El Houate (1, 2), H. Sibai (3), E. Chadli (2), H. Barakat (2), M. Fehri (3), A. Chafik (2), A.I. Agoulnike (4), H. Rouba (2), Mcelreavey K (1)
(1) Reproduction, Fertilité et Population, Institut Pasteur Paris ; (2) Laboratoire de Génétique Humaine, Institut Pasteur du Maroc ; (3) Service de chirurgie viscérale, CHU Ibn Rochd Maroc ; (4) Department of Obstetrics and Gynecology, Baylor College of Medicine, USA

Introduction : La cryptorchidie est l'anomalie congénitale la plus fréquente du tractus urogénital chez l'homme. Elle touche 1-2 % des nouveaux nés dans les pays développés. Son étiologie semble dépendre de facteurs génétiques et environnementaux. INSL3 (Leydig Insulin like-fator) et son récepteur LGR8 (Leucine-rich repeat-containing G protein-coupled receptor) ont été impliqués dans le contrôle de la première étape de la descente testiculaire indépendante des androgènes, par la régulation du développement du gubernaculum. INSL3 est un membre de la superfamille des insulines caractérisé par un précurseur composé d'un peptide signal, une chaîne A, une chaîne B et une chaîne C. Après maturation, la protéine est composée de deux chaînes A et B liées par des ponts disulfures. Jusqu'à présent 6 mutations hétérozygotes ont été décrites au niveau du gène INSL3. Une seule mutation hétérozygote du gène LGR8 (T222P) a été identifiée chez 4 patients italiens et un patient français. Cette mutation (T222P) a des conséquences fonctionnelles importantes car elle abolit la liaison d'INLS3 avec son récepteur. But de l'étude : Aucune donnée concernant les populations d'Afrique du Nord n'est connue. Nous avons souhaité déterminer la fréquence des mutations dans les gènes INSL3 et LGR8 (T222P) dans la population marocaine. Matériel et méthodes : Nous avons étudié 90 patients présentant une cryptorchidie idiopathique et 127 contrôles d'origine marocaine. L'analyse des deux exons du gène INSL3 a été réalisée par séquençage. La recherche de la mutation T222P du gène LGR8 a été réalisée par PIRS (Primer introduced restriction site). Résultats : Nous avons identifié deux nouvelles mutations du gène INSL3 associées au phénotype. La première mutation, V18M, est localisée au niveau du peptide signal, la seconde mutation, R105H, se situe au niveau du C-terminal du peptide C. L'analyse fonctionnelle montre que la mutation V18M diminue l'activité de la protéine mutée par rapport à la forme sauvage. La mutation T222P (résultant d'une transversion A/C au niveau de l'ectodomaine du gène LGR8) a été retrouvée chez les malades (4/90) et chez des individus sans cryptorchidie (4/127). L'analyse d'autres marqueurs adjacents suggère un effet fondateur. Conclusion : Nos résultats confirment que les mutations du gène INSL3 sont rares chez les patients présentant une cryptorchidie. La mutation T222P du gène LGR8 est présente dans la population marocaine. Cette mutation est le résultat d'un possible effet fondateur au sein du bassin méditerranéen et son expression phénotypique doit dépendre de la contribution d'autres facteurs d'origine génétique et/ou environnementale.

Mots-clés : cryptorchidie, mutation, gène *INSL3*, gène *LGR8(T222P)*.

■P417 / 1074. DIAGNOSTIC MOLÉCULAIRE DES DYSFERLINOPATHIES : L'EXPÉRIENCE FRANÇAISE

Martin Krahn (1), Karin Nguyen (1), Rafaëlle Bernard (1), Guillaume Bassez (2), Véronique Labelle (1), Dominique Figarella-Branger (3), Nicolas Wein (9), Jean Pouget (4), El Hadi Hammouda (5), Rabah Ben-Yaou (6), Christophe Béroud (7), Andoni Urtizberea (5), Bruno Eymard (2), France Leturcq (8), Nicolas Lévy (1, 9) et le Réseau Français de Travail sur les Dystrophies Musculaires des Ceintures
(1) Département de Génétique Médicale, Hôpital d'enfants de la Timone, Marseille, France ; (2) Institut de Myologie, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France ; (3) Laboratoire d'Anatomopathologie, Hôpital de la Timone, Marseille, France ; (4) Service de Neurologie, Hôpital de la Timone, Marseille, France ; (5) AFM et Généthon, Évry, France ; (6) Institut de Myologie, Inserm U582, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France ; (7) Laboratoire de Génétique Moléculaire, Institut de Génétique Humaine, Montpellier, France ; (8) Laboratoire de Biochimie Génétique, Hôpital Cochin, Paris, France ; (9) Inserm U491 : « Génétique Médicale et Développement », Faculté de Médecine de la Timone, Marseille, France

Les Dysferlinopathies appartiennent au groupe hétérogène des dystrophies musculaires autosomiques récessives. Des mutations dans le gène de la Dysferline (DYSF) sont à l'origine de deux phénotypes majeurs : la dystrophie musculaire des ceintures de type 2B (Limb Girdle Muscular Dystrophy 2B – LGMD2B) et la myopathie de Miyoshi (MM). En raison de l'hétérogénéité clinique, l'analyse de la protéine Dysferline en immunohistochimie et/ou Western Blot sur fragments de biopsie musculaire est une étape essentielle pour orienter le diagnostic. Le diagnostic doit par la suite être confirmé par l'analyse moléculaire du gène DYSF. La grande taille du gene DYSF (> 150 kbp, 55 exons) nous a conduit à baser l'analyse moléculaire sur un précriblage mutationnel par SSCP et/ou DHPLC, suivi du séquençage des fragments présentant un profil anormal. Nous rapportons ici les résultats de l'analyse moléculaire du gène DYSF dans une cohorte de patients inclus par le réseau français de travail sur les Dystrophies Musculaires des Ceintures. Pour 42 patients non apparentés, l'analyse moléculaire a permis de confirmer le diagnostic de Dysferlinopathie primaire sur le plan génétique : 12 patients portent une mutation à l'état homozygote et 30 patients sont hétérozygotes composites. Pour 13 autres patients, une seule mutation a été mise en évidence et des analyses complémentaires sont en cours pour compléter l'exploration moléculaire. La majorité des mutations identifiées n'ont pas été rapportées au préalable. Il s'agit principalement de mutations prédites pour entraîner une modification de décalage du cadre de lecture (44 %) ou type faux-sens (43 %). Notre étude n'a pas permis de mettre en évidence de corrélations génotype-phénotype. Toutes les données génétiques et phénotypiques ont été compilées dans la base de données « Universal Dysferlin Mutations Database » (UDMD).

Mots-clés : Dysferlinopathie, *DYSF*, Dysferline.

■P418 / 1075. UNE NOUVELLE MUTATION DANS LE GÈNE DE LA *CAVÉOLINE 3 A* L'ORIGINE D'UNE MYOPATHIE DANS UNE FAMILLE FRANÇAISE

Chapon F. (1, 2), Herlicoviez D. (2), Bernard R. (3), Daluzeau N. (4), Labelle V. (3), Bouvier F. (4), Levy N. (3), Krahn M. (3)
(1) Consultation de Pathologies neuro-musculaires ; (2) Laboratoire de Neuropathologie, CHU Côte-de-Nacre, Caen ; (3) Laboratoire de génétique moléculaire, Département de génétique médicale, CHU de la Timone, Marseille ; (4) Service de Neurologie, Hôpital de Lisieux

Les dystrophies musculaires des ceintures ou limb-girdle muscular dystrophies (LGMD) constituent un groupe de pathologies cliniquement et génétiquement très hétérogène, de transmission autosomique dominante (LGMD 1) ou récessive (LGMD 2). Parmi les LGMD de transmission autosomique dominante, la forme de type LGMD 1C est liée à des mutations dans le gène de la Cavéoline 3 (CAV3). Cette protéine est impliquée dans la formation de cavéoles, invaginations de la membrane plasmique impliquées dans des phénomènes de trafic vésiculaire et de signalisation. Elle interagit avec de nombreuses protéines, dont le complexe associé à la dystrophine et la dysferline. Des mutations dans le gène de la Cavéoline 3 peuvent être impliqués dans la dystrophie musculaire des ceintures autosomique dominante 1C (LGMD 1C), ainsi que dans des formes de myopathies de type « rippling muscle disease », d'hyperCPKémie isolée et de myopathies distales. À ce jour, seulement 21 mutations différentes ont été rapportées (dans la base de données Leiden Muscular Dystrophy Database). Nous rapportons le cas d'une patiente présentant depuis l'âge de 6 ans une intolérance à l'effort et des myalgies associées à des crampes musculaires. Une biopsie pratiquée à l'âge de 12 ans avait montré histologiquement une surcharge glycogénique sans anomalie de l'étude biochimique. À 31 ans, la patiente se plaint de fatigabilité, ne présente pas d'anomalie clinique en dehors d'une obésité. L'électromyogramme montre des anomalies myogènes distales, les CPK sont à 3-4 fois la normale. La biopsie musculaire met en évidence une variabilité de taille des fibres, quelques internalisations nucléaires (> 4 %) et d'exceptionnelles fibres nécrotiques ou régénératives. L'étude immuno-cytochimique montre une réduction extrême du marquage avec l'anticorps anti-cavéoline 3. L'étude génétique révèle une mutation dans l'exon 2 du gène de la cavéoline 3 (c.298A>T, p.Ile100Phe, hétérozygote). La même mutation a été trouvée chez le père de la patiente qui présente une hyperCPKémie isolée. L'oncle paternel se plaint d'une fatigabilité et de myalgies avec des CPK élevées. Cette mutation faux-sens n'a pas été rapportée jusqu'ici. Elle n'est pas observée dans une population témoin de 60 sujets. Notre cas clinique illustre la variabilité intra-familiale du phénotype pour une même mutation du gène CAV3.

Mots-clés : LGMD1C, *cavéoline-3*, myopathie des ceintures.

■P419 / 1076. ANALYSE MOLÉCULAIRE DU GÈNE DE LA *CALPAINE-3* DANS UNE COHORTE FRANÇAISE DE PATIENTS ATTEINTS DE DYSTROPHIE MUSCULAIRE DES CEINTURES

Martin Krahn (1), Rafaëlle Bernard (1), Christophe Pécheux (1), El Hadi Hammouda (2), Andoni Urtizberea (2), France Leturcq (3), Nicolas Lévy (1, 4) et le Réseau Français de Travail sur les Dystrophies Musculaires des Ceintures

(1) Département de Génétique Médicale, Hôpital d'enfants de la Timone, Marseille, France ; (2) AFM et Généthon, Évry, France ; (3) Laboratoire de Biochimie Génétique, Hôpital Cochin, Paris, France ; (4) Inserm U491 : « Génétique Médicale et Développement », Faculté de Médecine de la Timone, Marseille, France

Les dystrophies musculaires des ceintures (Limb Girdle Muscular Dystrophies – LGMD) constituent un groupe hétérogène de pathologies musculaires, sur le plan clinique et génétique, de transmission autosomique dominante (LGMD1) ou récessive (LGMD2). Les Calpainopathies, ou LGMD2A, sont causées par des mutations dans le gène de la Calpaine-3 (CAPN3, 15q15.1-q21.1), codant une protéase calcium-dépendante non lysosomale, dont la fonction n'est pas clairement élucidée à ce jour. La prévalence des Calpainopathies parmi les LGMD récessives est estimée de 10 à 30 %. Il s'agit de la forme la plus fréquente de LGMD récessive, justifiant la mise en place de dispositifs d'analyses moléculaires efficients. En raison de la grande variabilité du phénotype clinique, l'analyse de la protéine Calpaine-3 en Western Blot sur fragments de biopsie musculaire est une étape essentielle pour orienter le diagnostic. Cependant, le diagnostic doit par la suite être confirmé par l'analyse moléculaire du gène CAPN3. Celle-ci est basée sur l'utilisation de techniques de pré-criblage mutationnel, en raison de la grande taille du gène CAPN3 (> 45kbp, 24 exons) et du large spectre mutationnel. Nous rapportons ici les résultats de l'analyse moléculaire du gène CAPN3, effectuée dans une cohorte de 55 patients atteints de LGMD. Le diagnostic de LGMD2A a pu être confirmé sur le plan génétique pour 36 patients (65 %), par l'identification de deux mutations constitutionnelles délétères. Pour 9 autres patients, une seule mutation a été mise en évidence. Au total, 81 mutations ont été identifiées, majoritairement prédites pour entraîner une modification de type faux-sens (41 %) ou décalage du cadre de lecture (29 %). Parmi les mutations identifiées, 12 n'ont pas été rapportées à ce jour.

Mots-clés : LGMD2A, *Calpaine-3*, myopathie des ceintures.

■P420 / 1085. ASSOCIATION DE DÉLÉTIONS AU LOCUS D4Z4 ET D'AUTRES DYSTROPHIES MUSCULAIRES GÉNÉTIQUEMENT TYPÉES : COINCIDENCE OU EFFET MODIFICATEUR ?

K. Nguyen (1), M. Krahn (1), S. Attarian (2), J. Pouget (2), D. Figarella-Branger (3), P. Malzac (1), N. Lévy (1)

(1) Département de Génétique Médicale, CHU Timone, Marseille ; (2) Service de Neurologie, CHU de la Timone, Marseille ; (3) Laboratoire d'anatomopathologie, CHU de la Timone, Marseille

La dystrophie musculaire facio-scapulo-humérale (FSH) est associée à une délétion d'unités répétées en tandem au locus D4Z4 sur le chromosome 4q35, qui résulte en un court fragment EcoR1/Bln1 de 1 à 10 unités (< 35 Kb), alors qu'en population générale, ce fragment comporte de 11 à 100 unités. La sévérité de la maladie est grossièrement corrélée à la taille de la délétion : les allèles de 5 ou 6 unités sont en général associés à un phénotype FSH typique alors que les allèles « limites » de 8 à 10 unités sont associés à un large spectre de manifestations cliniques et de sévérité, et à une pénétrance incomplète. Un segment polymorphe de 10Kb proche de D4Z4 comporte deux variants alléliques 4qA et 4qB, et il a été montré que la dystrophie FSH ne survient que lorsque l'allèle délété est associé à 4qA. Nous rapportons ici deux patients porteurs d'allèles FSH délétés associés à des phénotypes particuliers de dystrophie musculaire. Le premier patient avait cliniquement des signes suggestifs de dystrophie FSH mais également des signes évocateurs de dystrophie myotonique de Steinert. Il était porteur d'un allèle FSH à 4 unités/ 4qA et d'une expansion à 800 CTG dans le gène DMPK. Le deuxième patient avait un phénotype de myopathie distale avec une atteinte proximale d'emblée au niveau des membres inférieurs. Il était porteur d'un allèle FSH à 9 unités/ 4qA et de deux mutations dans le gène DYSF avec un déficit total en dysferline au niveau du muscle. Nous discutons la contribution des allèles FSH délétés au phénotype de dystrophie musculaire chez ces patients et en particulier des allèles « limites » qui pourraient être des facteurs modificateurs du phénotype causé par d'autres dystrophies musculaires caractérisées.

Mots-clés : myopathie facio-scapulo-humérale, allèles intermédiaires, 4qA, 4qB.

■P421 / 1097. PRÉVALENCE DES DÉLÉTIONS DE GRANDE TAILLE [DEL(GJB6-D13S1830) ET DEL(GJB6-D13S1854)] AU LOCUS DFNB1, CHEZ LES PATIENTS SOURDS DE L'OUEST DE LA FRANCE

Le Maréchal C. (1, 2), Creff J. (1), Férec C. (1, 2)

(1) Laboratoire de génétique moléculaire, Centre Hospitalier Universitaire de Brest ; (2) Unité INSERM U613

Il est maintenant admis que les surdités non syndromiques (SNS) sont d'origine génétique dans 50 à 70 % des cas. Actuellement 21 gènes responsables de SNS sont identifiés et, a terme, une centaine de gènes rendront compte de l'hétérogénéité génétique des SNS. L'implication du gène GJB2 (Connexin-26) représente, ce qui était inattendu, l'étiologie la plus fréquente puisqu'au moins une mutation est identifiée chez 25 à 50 % des patients testés. La place prédominante des anomalies moléculaires du gène GJB2 dans les SNS a conduit à mettre en place l'analyse de la partie codante (exon 2) dans de nombreux laboratoires diagnostiques. À coté de la mutation c.35delG qui représente environ 60 % des allèles mutés identifiés, plus de 100 mutations ponctuelles localisées dans le gène GJB2 (exon 1 non codant et exon 2) sont décrites. Toutefois, 10 à 50 % des patients sourds ne sont porteurs que d'un seul allèle muté. Une première réponse sur la nature du deuxième allèle a été apportée par l'équipe espagnole de Del Castillo qui a identifié chez 50 % des hétérozygotes, une délétion de 309 kb, située en 5' de GJB2 et qui emporte le gène GJB6 [del(GJB6-D13S1830)]. Cette même équipe, a récemment identifié une deuxième délétion de grande taille de 232 kb au locus DFNB1 emportant également le gène GJB6 [del(GJB6-D13S1854)]. Mat & Méth : Après analyses des exons 1 et 2 du gène GJB2, nous avons recherché les deux délétions de grande taille décrites au locus DFNB1 chez les 28 échantillons porteurs d'une seule mutation (c.35delG majoritairement) dans la cohorte de sourds SNS originaires de l'ouest de la France étudiés au laboratoire du CHU de Brest. Dans un deuxième temps, 155 échantillons sans mutation dans le gène GJB2 issus de patients SNS sporadique ou familiale, ont bénéficié de cette analyse complémentaire. La recherche des deux délétions a été réalisée d'après les conditions décrites par Del Castillo *et al.* par PCR spécifique. Les amorces spécifiques des délétions sont positionnées à proximité des points de cassure. Les échantillons positifs ont été séquencés pour confirmer le point de cassure. Résultats : Parmi les 28 échantillons hétérozygotes, 8 allèles (29 %) sont porteurs d'une délétion de grande taille. Sept patients sont porteurs de la délétion de 309 kb del(GJB6-D13S1830) et la nouvelle délétion de 232kb del(GJB6-D13S1854) a été retrouvée pour la première fois chez un patient français. Elle est associée à la mutation

c.35delG. Ce patient est originaire du Morbihan et présente une SNS bilatérale symétrique sévère. Compte tenu de la fréquence élevée de la del(GJB6-D13S1830), nous avons identifié 4 patients (2 homozygotes et 2 hétérozygotes) porteurs parmi les 155 échantillons sans mutation. Aucun de ces échantillons n'est porteur de la délétion de 232 kb. Discussion : La délétion del(GJB6-D13S1830) est la deuxième mutation la plus fréquente après c.35delG dans notre population. Il semble donc légitime d'inclure sa recherche dans l'analyse systématique de routine. Elle semble toutefois plus rare (29 %) qu'en Espagne où elle est présente chez 50 % des hétérozygotes. La délétion del(GJB6-D13S1854) est rare dans notre population. Le mécanisme physiopathologique conduisant à la surdité chez les hétérozygotes composites GJB2/delGJB6 reste à démontrer. La perte d'une séquence régulatrice est l'hypothèse la plus probable mais la taille des délétions actuellement bornées (309 et 232 kb) est trop large pour identifier de telles séquences. Après recherche des mutations ponctuelles et des deux délétions, les hétérozygotes représentent encore 8 à 30 % (10 % dans notre cohorte) des cas testés ce qui est en très large excès comparé au taux de porteurs « par coïncidence » attendus. La poursuite des recherches pour identifier le deuxième allèle muté est essentielle pour fournir un conseil génétique pertinent aux familles.

Mots-clés : surdité, délétion, DFNB1.

■P422 / 1098. BASES MOLÉCULAIRES D'UNE FIÈVRE MÉDITERRANÉENNE FAMILIALE ATYPIQUE ET RÔLE DE PYPAF1 DANS L'INFLAMMATION

I. Jéru (1), H. Hayrapetyan (2), P. Duquesnoy (1), T. Sarkisian (2), S. Amselem (1)
(1) INSERM U654, Hôpital H. Mondor, 94010 Créteil Cedex, France ; (2) Center of Medical Genetics, National Academy of Sciences, 375010 Yerevan, Armenia

La fièvre méditerranéenne familiale (FMF) est une maladie auto-inflammatoire en rapport avec des mutations du gène MEFV. Par ailleurs, des mutations faux-sens du gène PYPAF1 – dont le retentissement fonctionnel est controversé – ont été associées à trois fièvres récurrentes héréditaires : l'urticaire familiale au froid (UFF), le syndrome de Muckle-Wells et le syndrome CINCA. Nous avons étudié une patiente arménienne présentant un syndrome auto-inflammatoire particulier mimant une FMF (diagnostic positif selon les critères de Livneh) mais dont les crises sont déclenchées par l'exposition au froid, un signe considéré jusque là comme spécifique de l'UFF. Aucune mutation du gène MEFV n'a été identifiée ; l'analyse moléculaire a cependant révélé une mutation stop du gène PYPAF1 (p.Arg554X), une observation qui remet en question l'actuelle nosologie des FRHs. Nous avons ensuite étudié le rôle de la protéine PYPAF1 sur la voie NF-κB et évalué le retentissement fonctionnel de la mutation p.Arg554X qui conduit à une protéine tronquée de tous les domaines « leucin rich repeats » de PYPAF1. La protéine PYPAF1 normale a un puissant effet inhibiteur sur la voie NF-κB, alors que la protéine tronquée a des propriétés anti-inflammatoires très diminuées. Ce dernier résultat, qui démontre clairement une perte de fonction partielle de la protéine associée à cette première mutation stop, rend compte du syndrome auto-inflammatoire observé chez la patiente.

Mots-clés : FMF, *PYPAF1*, mutation stop.

■P423 / 1103. LES BÉTA-THALASSÉMIES EN TUNISIE : SPECTRE DE MUTATIONS ET HAPLOTYPES CHROMOSOMIQUES ASSOCIÉS

A. Bibi, B. El Aissi, T. Messaoud, S. Fattoum
Laboratoire de biochimie, Hôpital d'enfants de Tunis

Les béta-thalassémies constituent un groupe de maladies héréditaires du globule rouge dues à un déficit total ou partiel de synthèse des chaînes béta de globine. Ce sont les anomalies quantitatives du globule rouge les plus répandues et sévissent en particulier dans les pays du pourtour méditerranéen. L'analyse moléculaire du gène béta-globine dans son locus a souligné un extrême polymorphisme. En effet, plus de 200 mutations béta-thalassémiques ont été déjà décrites à travers le monde. Par ailleurs, une association préférentielle a été notée entre certaines mutations et la combinaison de sites polymorphes de restriction du locus béta-globine constituant l'haplotype. Dans le présent travail nous rapportons la stratégie d'identification des mutations béta-thalassémiques et les haplotypes de restriction associés dans une population de 62 patients béta-thalassémiques Tunisiens. L'identification des mutations est basée tout d'abord sur la recherche des mutations fréquentes dans le pourtour méditerranéen et dans notre pays par les techniques de reverse dot blot et de PCR-RFLP. Si la lésion reste inconnue, nous procédons à un criblage du gène béta globine par DGGE afin de sélectionner le fragment à séquencer. Les réactions de séquençage sont ensuite menées sur séquenceur automatique ABI Prism 310. La stratégie suivie a permis ainsi d'identifier 21 mutations béta-thalassémiques dont 2 décrites pour la première fois en Tunisie : codon47(+A) et codon106/107(+G). L'étude des haplotypes de restriction a été menée par la technique de PCR/RFLP. L'analyse a montré une association des mutations aux haplotypes méditerranéens habituels ; en effet les 2 mutations les plus fréquentes en Tunisie codon39(C>T) et IVSI-110(G>A) sont respectivement supportées par les haplotypes I,II et I. Les mutations rares d'origine Tunisienne : codon25/26(+T), codon30(G>C) et IVSI-2(T>G) sont également supportées par des haplotypes habituels I et IX avec toutefois une particularité au niveau de la mutation codon25/26(+T) qui se trouve supportée par deux haplotypes différents : I et X. Les mutations nouvellement identifiées en Tunisie : codon47(+A) et codon106/107(+G) se trouvent par ailleurs associées aux mêmes haplotype V et « framework » 2 que les mutations codon6(-A) et IVSI-1(G>A) qui sont d'ailleurs plus fréquentes, témoignant d'une origine commune. L'acquisition de techniques de biologie moléculaire de plus en plus performantes a permis la constitution d'une riche collection de mutations et de marqueurs génétiques polymorphes réalisant de véritables cartes d'identité des populations.

Mots-clés : béta-thalassémie, mutations, haplotypes.

■P424 / 1107. STRATÉGIE D'ÉTUDE DES LÉSIONS MOLÉCULAIRES DE LA MUCOVISCIDOSE DANS LA POPULATION TUNISIENNE

T. Messaoud (1), S. Hadj Fredj(1), A. Bibi, C. Ferec (2), S. Fattoum (1)
(1) Laboratoire de biochimie, Clinique-hôpital d'enfants de Tunis ; (2) Centre de transfusion sanguine de Brest, France

La mucoviscidose ou fibrose kystique du pancréas est la maladie autosomique récessive la plus fréquente dans la population nord européenne. Sa fréquence est de 1/2500 et le nombre de porteurs est de 1/25. Le développement des techniques de biologie moléculaire a largement facilité la mise en place d'une stratégie d'étude des différentes lésions moléculaires du gène CF responsables de la mucoviscidose dont le nombre actuellement est supérieur à 1 200 mutations.
Dans le présent travail, nous rapportons la stratégie d'étude des défauts moléculaires responsables de la mucoviscidose dans la population Tunisienne.
Notre étude a porté sur une population mixte d'enfants suspects de la mucoviscidose âgés de 2 mois à 15 ans et présentant un test de la sueur positif.
Plusieurs techniques de biologie moléculaire ont été utilisées pour le diagnostic génotypique : l'extraction de l'ADN à partir du sang périphérique, la réaction de polymérisation en chaîne (PCR), l'électrophorèse sur gel de polyacrylamide, le réverse dot-blot, l'électrophorèse sur gel en gradient dénaturant (DGGE) et la chromatographie liquide à haute performance dans des conditions dénaturantes (DHPLC) pour la détection des mutations inconnues suivie par la réaction de séquençage selon la méthode enzymatique de Sanger réalisée sur ABI Prism 310. Cette étude a permis d'identifier 14 mutations déjà décrites dans la littérature et localisées sur différents exons du gène CF. La mutation délétionnelle F508del est la plus fréquente (50,74 %). Trois nouvelles mutations ont été identifiées pour la première fois dans le monde sur nos échantillons (F1166C, L1043R, T665S).
La mise au point des techniques performantes dans le laboratoire nous a permis d'établir le profil de distribution des mutations mucoviscidosiques, d'affiner le conseil génétique et de renforcer les techniques déjà existantes utilisées dans le diagnostic prénatal de la mucoviscidose.

Mots-clés : mucoviscidose, moléculaire, mutations.

■P425 / 1110. SYNDROME DU QT LONG CONGÉNITAL : IDENTIFICATION DES MUTATIONS ET DES POLYMORPHISMES ASSOCIÉS AU SEIN D'UNE COHORTE DE 42 PATIENTS FRANÇAIS

Millat G. (1), Chevalier P. (2), Restier L. (2), Da Costa A. (3), Bouvagnet P. (1, 4), Chanavat V. (1), Froidefond E. (1), Perraudin R. (1), Rousson R. (1), Rodriguez-Lafrasse C. (1)
(1) Laboratoire de Biochimie et Biologie Moléculaire, Hôpital CardioVasculaire et Pneumologique L. Pradel, 69677 BRON Cedex ; (2) Unité de Cardiologie et Soins Intensifs, Hôpital CardioVasculaire et Pneumologique L. Pradel, 69677 BRON Cedex ; (3) Service de Cardiologie, Hôpital Nord St-Étienne, 42055 St-Étienne Cedex 2 ; (4) Unité de Génétique, Hôpital CardioVasculaire et Pneumologique L. Pradel, 69677 Bron Cedex

Le syndrome du QT long congénital est une pathologie cardiaque cliniquement et génétiquement hétérogène caractérisée par un allongement de l'espace QT à l'ECG. Cet allongement est associé à un risque élevé de

survenue de troubles graves du rythme ventriculaire (torsades de pointes, fibrillation ventriculaire) pouvant entraîner syncope et mort subite. La mort subite peut être le premier signe de la maladie. Il est donc fondamental de dépister les sujets génétiquement atteints mais asymptomatiques. Cette pathologie existe sous deux formes : l'une très rare associée à une surdité, ayant une transmission autosomique récessive (syndrome de Jervell et Lange-Nielsen) et l'autre à transmission autosomique dominante (syndrome de Romano/Ward) qui représente à elle seule 90 % des cas. Le diagnostic repose à la fois sur une analyse phénotypique et génotypique. À ce jour, parmi les gènes morbides impliqués dans ce syndrome, l'étude moléculaire repose sur l'analyse des 5 gènes codant des sous-unités de canaux sodiques et potassiques (KCNQ1, KCNH2, SCN5A, KCNE1 et KCNE2). Le syndrome du QT long congénital est cliniquement hétérogène. Cette variation d'expressivité phénotypique peut être observée au sein d'une même famille dans laquelle différents apparentés porteurs de la même mutation présentent des phénotypes différents allant de l'absence de symptôme jusqu'à la mort subite. Afin de mieux appréhender cette variation d'expressivité, il semble donc nécessaire d'identifier pour chaque patient la ou les mutations causales mais également de compléter cette étude par la recherche de polymorphismes préalablement décrits dans la littérature comme ayant un effet sur l'intervalle QT. Cette analyse, basée sur l'exploration des gènes KCNQ1, KCNH2, SCN5A, KCNE1 et KCNE2 permettra ainsi d'établir un profil moléculaire de chaque patient. Une étude préliminaire a permis d'établir le profil moléculaire pour 42 patients français. Après amplification des exons et des jonctions exons-introns de chacun de ces 5 gènes puis analyse des amplicons par DHPLC/séquençage, un profil a été établi pour chacun des patients. Ce dernier contient évidemment les mutations pathogéniques mais est complété par la recherche des principaux polymorphismes fréquents décrits dans la littérature comme ayant un effet phénotypique modulateur sur l'intervalle QT : p.K897T (KCNH2), p.H558R et p.D1819D (SCN5A) et p.D85N (KCNE1). Cette étude a permis d'identifier 43 mutations dont 26 nouvelles. Actuellement une analyse semblable est effectuée pour chacun des apparentés disponibles au sein de ces 42 familles. À moyen terme, la compilation de ces différents profils au sein d'une base de données reprenant le profil moléculaire de chaque patient pour les 5 gènes étudiés devrait permettre d'améliorer les corrélations génotype/phénotype, l'évaluation du pronostic et pourrait avoir également des conséquences sur le plan thérapeutique. Étude réalisée dans le cadre du PHRC 97061 et du réseau RMN-RM.

Mots-clés : QT long, mort subite, DHPLC.

■P426 / 1116. IDENTIFICATION D'UN ÉLÉMENT RÉGULATEUR AU NIVEAU DE L'EXON 11 DU GÈNE *LMNA* PORTANT UNE MUTATION RESPONSABLE DU HGPS

N. Bakkour (1), J. Soret (2), J. Tazi (3)
IGMM, CNRS-UMII, UMR5535, IFR122

L'épissage alternatif est un mécanisme central de la régulation de l'expression génique à la fois dans les conditions physiologiques étant donné que les trois quarts de nos gènes font l'objet d'au moins un événement d'épissage alternatif mais aussi dans de nombreuses pathologies. Ce mécanisme est donc sensible à la fois à des mutations touchant les séquences d'ARN responsables du choix des sites d'épissage et à des altérations qualitatives ou quantitatives des facteurs protéiques qui les reconnaissent. Dans le cas de la Progéria, la pathologie résulte de l'inactivation, par mutation ou délétion du gène de la Lamine A/C. Cette maladie fatale est caractérisée par un vieillissement accéléré chez l'enfant et les signes cliniques majeurs incluent un retard de croissance postnatal et un certain nombre d'anomalies squelettiques. Parmi les mutations les plus fréquentes de ce gène, une mutation ponctuelle de l'exon 11 induit l'apparition d'un site cryptique d'épissage 5 nucléotides en amont de la mutation et conduit à la production d'une protéine tronquée avec une délétion de 50 aa. Dans ce travail, nous avons tenté d'identifier et de caractériser le(s) facteurs d'épissage responsables de l'épissage aberrant mais aussi de développer des stratégies permettant la correction des défauts d'épissage. Par des expériences de cross-link nous avons pu identifier une protéine d'un PM apparent de 63 kDa qui se fixe fortement à la séquence mutée du gène. En gel à deux dimensions cette protéine se répartie en plusieurs spots, correspondant à des isoformes phosphorylées. Des méthodes de purifications sont en cours pour mieux caractériser cette protéine. Par transfection de mini-gènes rapporteurs nous avons pu montré que la mutation G608G à elle seule suffit pour induire un épissage aberrant. Nous sommes en train d'utiliser ces mêmes constructions dans des expériences de complémentation in vitro. L'ensemble de ces résultats sera présenté au cours du congrès des 3es assises de génétique humaine et médicale à Montpellier.

Mots-clés : progéria, mutation silencieuse, épissage.

■P427 / 1125. CONSÉQUENCES MOLÉCULAIRES ET CLINIQUES DES PETITES MUTATIONS DANS LE GÈNE *DMD*

Nathalie Deburgrave (1, 2), Cécile Peccate (1, 6), Stéphane Llense (1, 2), Jean-Claude Barbot (1, 2), Fatma Daoud (2), Célia Gonzales (1), Dominique Récan (1, 2), Rabah Ben-Yahou (3), Itxaso Marti (4), Christophe Béroud (5), Luis Garcia (6), Jean-Claude Kaplan (1, 2), Jamel Chelly (1, 2), France Leturcq (1, 2)
(1) Laboratoire de Biochimie et Génétique Moléculaire, Hôpital Cochin, 75014 Paris. France ; (2) Université René-Descartes Paris 5, Faculté de Médecine, Institut Cochin, Inserm Unité 567, CNR UMR 1408, CHU Cochin, 75014 Paris ; (3) INSERM UR 582, Institut de Myologie, Hôpital Pitié-Salpétrière 75013 Paris ; (4) Hôpital Le Nid Marin, 64 Hendaye ; (5) Laboratoire de génétique moléculaire, IURC, Hôpital Arnaud de Villeneuve, 34 Montpellier. France ; (6) Généthon, CNRS, 91 002 Évry

À partir de 842 familles de dystrophinopathie, dûment authentifiées sur le trépied clinique/protéine/ADN au Laboratoire Cassini (Hôpital Cochin), nous avons procédé à une analyse de corrélations génotype/phénotype dans 140 cas de « petites mutations ». Nous englobons dans cette catégorie toutes les anomalies du gène DMD qui ne font pas partie du groupe le plus abondant (environ 75 % des cas) des pathologies qui touchent un ou plusieurs exons en entier (délétions ou insertions). Il s'agit donc des mutations situées (i) soit à l'intérieur d'un exon ; (ii) soit dans les introns et perturbant l'épissage. Pour cela nous avons utilisé un premier crible par une méthode de PCR multiplex fluorescente suivie d'analyse dans un séquenceur capillaire, ce qui permet de visualiser toute mutation intra-exonique modifiant le nombre de nucléotides (pouvoir résolutif = 1 nucléotide). Dans les cas négatifs, nous avons exploré la totalité du cDNA préparé à partir de RNA musculaire total par RT-PCR en 11 fragments, à la recherche d'une substitution exonique (mutation non-sens, ou faux-sens) ou d'une mutation d'épissage. Au total les mutations suivantes ont été détectées : 33 petites délétions et 7 petites insertions intra-exoniques ; 47 mutations d'épissage (dont 5 enfouies au milieu d'un intron) ; 52 mutations non-sens ; 1 faux-sens. Les données moléculaires (type de mutation, topographie dans le gène, répercussions sur la transcription, impact sur le cadre de lecture) ont été confrontées au phénotype clinique (Duchenne, Becker, forme intermédiaire, atteinte cardiaque, retard mental). L'analyse des exceptions à la règle de Monaco (cadre de lecture aboli = DMD ; cadre de lecture maintenu = BMD) a permis (i) de préciser qu'en fait cette règle n'est pas violée, grâce à des sauts d'exons spontanés rétablissant le cadre de lecture et atténuant le phénotype ; (ii) de comprendre le mécanisme de ces sauts d'exon spontanément correcteurs ; (iii) d'évaluer leur tolérance clinique. Ces renseignements sont utiles dans la perspective d'une thérapie par saut d'exon.

Mots-clés : DMD/BMD, mutations, exon skipping.

■P428 / 1127. PRÉSENCE DE DEUX NOUVELLES MUTATIONS À L'ÉTAT HÉTÉROZYGOTE DANS LE GÈNE *LAMA2* CHEZ UNE PATIENTE TUNISIENNE ATTEINTE D'UNE FORME PARTICULIÈRE DE DYSTROPHIE MUSCULAIRE CONGÉNITALE

Olfa Siala (1), Nacim Louhichi (1), Fatma Kammoun (2), Hayet Jerbi (3), Chahinez Triki (2), Faiza Fakhfakh (1)
(1) Laboratoire de Génétique Moléculaire Humaine, Faculté de Médecine de Sfax, Tunisie ; (2) Hôpital universitaire : CHU Habib Bourguiba de Sfax, Service de Neurologie, Tunisie ; (3) Hôpital régional de Jbeniana, Tunisie

Les dystrophies musculaires congénitales (DMCs) forment un groupe hétérogène de maladies musculaires à transmission autosomique récessive. Plusieurs gènes responsables ont été identifiés pour différentes formes de DMC. Parmi ces formes, la forme MDC1A caractérisée par une déficience primaire en laminine alpha2 ou « mérosine » causée par des mutations dans le gène LAMA2 sur le chromosome 6q22 et la forme RSMD mérosine positive due à des mutations dans le gène SEPN1 sur le chromosome 1p35. L'objectif de ce travail est de déterminer les causes moléculaires de l'atteinte de DMC chez une patiente appartenant à une famille Tunisienne consanguine et présentant une hypotonie généralisée, un retard mental moyen, une scoliose dorsolombaire et une hyperdensité de la substance blanche. L'étude de l'expression de la laminine et d'autres protéines musculaires a été réalisée par immuno-histochimie sur biopsie musculaire. L'analyse de liaison a été réalisée par homozygotie mapping en utilisant des marqueurs microsatellites spécifiques des loci connus de DMC. La recherche de mutation a été faite par séquençage automatique. Les résultats de l'immuno-histochimie ont montré un déficit total en laminine alpha2 et une expression normale des autres protéines musculaires testées. Les résultats de l'analyse de liaison ont suggéré une exclusion du locus LAMA2 ou d'une liaison à ce locus avec l'éventualité d'une héterozygotie composite. Cette analyse a aussi suggéré une liaison probable au locus RSMD.

Les résultats de séquençage des 65 exons du gène LAMA2 a montré chez la patiente la présence de deux mutations à l'état hétérozygote : la première est une délétion d'une thymine (8138delT) sur l'exon 57 retrouvée chez la patiente, chez sa mère et chez un de ses frères non atteint et générant un codon stop prématuré ; la deuxième est une néomutation retrouvée uniquement chez la patiente : il s'agit d'une délétion intronique de 7 pb à partir de la position (+5) de l'intron 17 (IVS17 +5 del gtaacaa), cette délétion est absente chez 100 témoins normaux issus de la même région. En conclusion, les résultats ont montré la présence de deux nouvelles mutations dans le gène LAMA2 à l'état hétérozygote composite chez une patiente atteinte d'une forme particulière de DMC avec déficit total en mérosine. En perspective, nous comptons, en premier lieu étudier l'impact de la mutation (IVS17 +5 del gtaacaa) sur le métabolisme de l'ARNm du gène LAMA2 et en second lieu faire une investigation du gène SEPN1 chez cette même famille pour laquelle une liaison au locus RSMD a été aussi retrouvée.

Mots-clés : dystrophie musculaire congenitale, *LAMA2* gene, *SEPN1* gene.

■P429 / 1128. APPARENTE STABILITÉ TRANSGÉNÉRATIONNELLE DES TRIPLETS CTG CHEZ DES PATIENTS FÉMININS DE 2 FAMILLES ATTEINTS DE DYSTROPHIE MYOTONIQUE DE STEINERT

David Geneviève (1), Marguerite Jambou (1), Geneviève Gourdon (2), Jélèna Martinovic (1), Sophie Loizeau (3), Michel Vekemans (1), Alexandra Benachi (3), Yves Dumez (3), Mona Masri (4), Arnold Munnich (1), Jean-Paul Bonnefont (1)

(1) Département de Génétique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris ; (2) Unité INSERM U383, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris ; (3) Service de Gynécologie Obstétrique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris ; (4) Service de Gynécologie Obstétrique, Hôpital François-Mitterrand, Pau

La dystrophie myotonique de Steinert (DMS) est une maladie neuromusculaire fréquente due à une instabilité du nombre de triplets CTG dans la région 3' non traduite du gène (DMPK dystrophia myotonica protein kinase) localisé en 19q13.3. Les individus normaux ont entre 5 et 37 triplets CTG qui restent stables de génération en génération tandis que les individus atteints ont plus de 50 triplets CTG. Pour la majorité des patients atteints de DMS, le nombre de triplets est extrêmement instable et augmente lors de la transmission de l'allèle mutant, étayant les bases moléculaires au phénomène d'anticipation. Nous décrivons ici l'observation de la stabilité intergénérationnelle du nombre triplets CTG dans 2 familles chez des femmes atteinte et conductrice de DMS. Le nombre de triplets CTG dans le sang a été estimé a 143, 133, 121 et 109 pour l'arrière grand-mère, la grand-mère, la mère et la fille pour la famille 1 et à 350, 300 et 220 pour la grand-mère, la mère et le fœtus pour la seconde famille. Nous avons également observé que l'absence d'expansion du nombre de triplets CTG corrélait avec l'absence d'anticipation clinique dans nos familles. Nous avons également eu l'opportunité d'analyser le nombre de triplets CTG pour plusieurs tissus fœtaux obtenus après une interruption de grossesse à 15 semaines d'aménorrhées chez un fœtus atteint dans les 2 familles. De façon surprenante, la taille du nombre de triplets CTG est strictement identique dans le muscle, le cerveau, le foie, le cœur et le trophoblaste chez pour les 2 fœtus. Ces résultats suggèrent l'existence d'un facteur dominant limitant ou prévenant l'instabilité de l'expansion des triplets CTG durant la gamétogenèse de la femme dans ces 2 familles. Nous avons exclu par étude indirecte les loci MSH2 et MSH3 du fait de l'observation d'un modèle murin qui présentait des contractions du nombre de triplets CTG par anomalie dans ces 2 gènes de réparation des mésappariements (Savouret *et al. Mol Cell Biol* 2004 24 : 629-37). Nous pensons qu'il existe un facteur en cis ou en trans responsable de la stabilité des triplets CTG voir de la contraction transgénérationnelle dans ces 2 familles. Des études en génétique moléculaire sont en cours.

Mots-clés : Steinert, contraction, MSH2/MSH3.

■P430 / 1138. AVANCÉES RÉCENTES DANS LE DIAGNOSTIC GÉNÉTIQUE DES CÉROÏDE-LIPOFUSCINOSES

Jean-Philippe Puech (1), Jeanne Dussau (1), Brigitte Chabrol (2), Livia Poenaru (1), Catherine Caillaud (1)

(1) Laboratoire de Génétique (AP-HP, Université Paris V), Faculté de Médecine Cochin Port-Royal, Paris ; (2) Unité de Médecine Infantile, Hôpital d'Enfants de la Timone, Marseille

Les céroïde-lipofuscinoses neuronales (CLN) sont des maladies neurodégénératives, à transmission récessive autosomique, caractérisées par l'accumulation intralysosomale de lipopigments autofluorescents, notamment dans les neurones. Quatre formes cliniques principales ont été décrites : infantile (débutant entre 6 et 18 mois), infantile tardive (entre 2 et 4 ans), juvénile (entre 4 et 7 ans) et adulte. Cependant, de très nombreux variants ont été rapportés, laissant présager une possible hétérogénéité génétique. Ainsi, sept loci (CLN1 à CLN7/8) ont d'ores et déjà été impliqués dans la genèse de ces affections, parmi lesquels six ont été clonés. Le gène CLN1 code une enzyme lysosomale, la palmitoyl protéine thioestérase (PPT) et est majoritairement associé à la forme infantile de la maladie. Le gène CLN2 qui code la tripeptidyl peptidase I (TPP-I) est lui plutôt responsable de la forme infantile tardive classique. La forme juvénile quant à elle est due à des anomalies du gène CLN3, codant une protéine transmembranaire de fonction inconnue. Trois autres gènes ont été rapportés dans des formes infantiles tardives : CLN5 dans un variant finlandais, CLN6 dans un variant indo-européen et CLN7/8 dans un variant appelé « Northern epilepsy », ainsi que chez des patients turcs. Les gènes CLN5, CLN6 et CLN7/8 codent pour des protéines transmembranaires de fonction méconnue. La caractérisation récente de ces différents gènes a permis le développement de méthodes diagnostiques pour les patients atteints de ces affections. 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 atteints de cette forme de CLN et présentant une surcharge de type curvilinéaire. Les mutations correspondantes du gène CLN2 ont été caractérisées, parmi lesquelles deux représentant 60 % des allèles (R208X et IVS5G>C). Une dizaine de mutations nouvelles ont été retrouvées (délétions, non-sens, épissage, faux-sens), dont certaines associées à des formes variantes. Il est à noter que tous les patients originaires d'Afrique du nord présentant un déficit en TPP-I étaient porteurs de la mutation R208X à l'état homozygote. La mise au point des méthodes enzymatique et moléculaire d'étude du locus CLN2 a permis de proposer un diagnostic prénatal aux couples à risque. Une étude du gène CLN1 a été menée en parallèle dans les formes infantiles de la maladie. Un déficit en palmitoyl protéine thioestérase a été retrouvé chez les patients ayant une forme à début précoce et une surcharge de type granulaire (GROD). Les mutations présentes chez ces patients étaient majoritairement des anomalies communes (R151X, L55X), mais aussi quelques mutations nouvelles. Un déficit en PPT a été également mis en évidence chez un patient atteint de forme juvénile qui était hétérozygote composite pour une mutation non sens commune et une mutation faux-sens, probablement moins délétère. Plusieurs diagnostics prénatals ont là encore été réalisés par des méthodes à la fois enzymatique et moléculaire. En ce qui concerne le locus CLN3 impliqué dans la forme juvénile classique de la maladie, quelques patients français ont été testés. Ils étaient pour la plupart porteurs de la délétion de 1,02 kb rapportée dans la littérature comme étant commune dans la plupart des populations. Parmi les patients atteints d'autres formes infantiles tardives, le gène CLN6 a été retrouvé impliqué dans deux cas, l'un d'origine pakistanaise, l'autre d'origine portugaise. D'autres patients ayant une surcharge neuropathologique typique sont actuellement en cours d'analyse, notamment pour les gènes CLN5 et CLN7/8. En cas de négativité, d'autres gènes candidats seront testés parmi ceux décrits dans certains modèles animaux, mais non encore mis en évidence chez l'homme (cathepsine D...).

Mots-clés : céroïde-lipofuscinose, diagnostic, étude moléculaire.

■P431 / 1150. THE G526R GLYCYL-TRNA SYNTHETASE GENE MUTATION IN FAMILIES WITH DISTAL HEREDITARY MOTOR NEUROPATHY TYPE V

H. Azzedine (1), O. Dubourg (1, 2), R. Benyaou (2), J. Pouget (3), A. Barois (4) V. Meininger (5), D. Bouteiller (1), M. Ruberg (1), A. Brice (1, 6), LeGuern (1, 6)

(1) Inserm U679 hôpital de la Slapêtrière, Paris ; (2) Consultation pluridisciplinaire des neuropathies héréditaires, Institut de Myologie ; (3) Service de neurologie, Hôpital La Timone, Marseille, France ; (4) Service de rééducation fonctionnelle, Hôpital Raymond-Poincaré, Garches, France ; (5) Fédération de Neurologie ; (6) Département de Génétique, Cytogénétique, et Embryologie, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Assistance Publique des Hôpitaux de Paris, France

Background : Distal hereditary motor neuropathy (dHMN) or distal spinal muscular atrophy (dSMA) is a heterogeneous group of disorders characterized almost exclusively by degeneration of motor nerve fibres, predominantly in the distal part of the limbs. One subtype, dHMN type V (dHMN-V), is transmitted by autosomal dominant inheritance and involves predominantly the hands. It is allelic with Charcot-Marie-Tooth disease 2D (CMT2D), in which a similar phenotype is associated with sensory signs. Missense mutations in the glycyl-tRNA synthetase (GARS) gene have been recently reported in families with either dHMN-V, CMT2D, or both. Methods : We searched for GARS mutations in eight dHMN-V families. Results : We found the G526R missense mutation in three families

(16 patients) of Algerian Sephardic Jewish origin. All patients shared a common disease haplotype, highly suggestive of a founder effect. The clinical phenotype consists of a slowly progressive, purely motor distal neuropathy. It starts in the in hands in most patients, but also in both distal upper and lower limbs or in distal lower limbs alone. The age at onset in symptomatic individuals was between the second to fourth decades, but four mutation carriers were still asymptomatic, two of whom were already 49. Électrophysiology showed that the motor fibres of the median nerve were the most affected in upper limbs. Sensory nerve action potentials were always normal. Conclusions : We studied the phenotype of a group of dHMN patients with the same G526R mutation in the GARS gene. The age at onset varied widely, but the clinical and electrophysiological presentation was quite uniform and progressed slowly. GARS mutations are a frequent cause of familial dHMN-V but, because of the reduced penetrance of the disease, could also account for isolated cases.

Mots-clés : dHMN V, CMT2D, GARS.

■P432 / 1153. ÉTUDE CLINIQUE ET GÉNÉTIQUE DU SYNDROME DE SOTOS

Saugier-Veber P. (1), Drouin-Garraud V. (1), Malan V. (2), Portnoi M.F. (2), Baumann C. (3), Gérard M. (3), Héron D. (5), Roume J. (6), Billette de Villemeur T. (7), Bonneau D. (8), Calvas P. (9), David A. (10), Odent S. (11), Till M. (12), Toutain A. (13), Verloes A. (3), Feldmann D. (4), Legall A. (14), Jeanne N. (14), Ferenbach S. (1), Blanchet P. (15), Cormier-Daire V. (16), Doco-Fenzy M. (17), Gilbert B. (18), Lacombe D. (19), Lespinasse J. (20), Moncla A. (21), Philip N. (21), Frebourg T. (1), Burglen L. (7, 14)

(1) Service de Genetique, Rouen, France ; (2) Laboratoire de cytogenetique Hôpital St-Antoine, Paris ; (3) Unité de génétique clinique, hôpital Robert-Debré, Paris ; (4) Service de biochimie, hôpital Trousseau, Paris ; (5) Département de génétique, Hôpital Pitié-Salpétrière, Paris ; (6) Service de génétique médicale, hôpital intercommunal, Poissy-St-Germain ; (7) Service de neuropédiatrie, hôpital Trousseau, Paris ; (8) Service de génétique médicale, CHU d'Angers ; (9) Service de génétique médicale, CHU de Toulouse ; (10) Service de génétique médicale, CHU de Nantes ; (11) Service de génétique médicale, CHU de Rennes ; (12) Service de génétique médicale, CHU Lyon ; (13) Service de génétique médicale, CHU de Tours ; (14) Unité de neurogénétique moléculaire, hôpital Trousseau, Paris ; (15) Service de génétique médicale, CHU de Montpellier ; (16) Service de génétique médicale, Hôpital Necker, Paris ; (17) Service de génétique médicale, CHU de Reims ; (18) Service de génétique médicale, CHU de Poitiers ; (19) Service de génétique médicale, CHU de Bordeaux ; (20) Laboratoire de génétique chromosomique, Hôpital de Chambéry ; (21) Service de génétique médicale, CHU de Marseille

Le syndrome de Sotos associe classiquement une avance staturale avec avance de l'âge osseux, une macrocéphalie, un retard de développement de sévérité variable et une dysmorphie. Des microdélétions de la région 5q35 ou des mutations ou délétions partielles du gène NSD1 sont retrouvées chez 60-90 % des patients atteints de syndrome de Sotos. Nous avons étudié 77 patients atteints de syndrome de Sotos, âgés de 5 mois à 25 ans, à la recherche d'une microdélétion de la région 5q35 (QMPSF +/- FISH) ou d'une anomalie du gène NSD1, mutation ponctuelle ou délétion partielle (QMPSF et séquençage). Une anomalie du gène NSD1 ou de la région 5q35 a été retrouvée chez 65 patients (85 %) : 8 grandes délétions emportant tous les exons du gène NSD1 (10,5 %), 3 délétions partielles concernant quelques exons (4 %), 54 mutations ponctuelles ou délétions/insertions de quelques bases (70 %). Les mutations, réparties tout le long de la séquence codante, sont de tous types (nonsense, faux-sens, frame-shift par insertion/délétion d'une ou plusieurs bases, mutation d'épissage). Chez les 8 patients porteurs d'une microdélétion 5q35, nous avons observé, comme cela a été rapporté dans d'autres études, un retard mental plus sévère. Deux patients ont une épilepsie. Chez la moitié des patients, la taille de naissance est normale. La croissance postnatale est accélérée (>+2DS) dans 6/7 cas. Le PC de naissance est normal dans 5 cas, supérieur à + 2DS dans 2 cas. Nous avons observé une fréquence accrue de malformations associées, rénales, cardiaques, ophtalmologiques dans ce groupe de patients. Un patient a développé une néphrocalcinose, déjà rapportée chez 2 patients avec microdélétion. L'analyse phénotypique des 54 patients avec mutation ponctuelle ou délétion partielle du gène NSD1 confirme le caractère inconstant de l'avance staturale et surtout de l'avance d'âge osseux. La taille de naissance est fréquemment augmentée, supérieure au 95éme percentile dans 73 %. Chez 6 patients, la taille de naissance est inférieure à la moyenne avec un vrai RCIU dans 1 cas (< 3e p) et 2 patients au 5e p, ces 3 patients ayant ultérieurement développé une avance staturale. La croissance postnatale est normale dans 16 % des cas mais la majorité des patients grandit entre + 2 et + 4 DS (77 %). À la naissance le PC est normal le plus souvent, supérieur à +2DS dans 38 %. Tous les patients ont un PC post-natal supérieur à la moyenne, même si 9/50 ne répondent pas à la définition stricte de la macrocranie (1/50 avec PC à + 1,5 DS, 8/50 avec PC à +2DS). La déficience intellectuelle est inconstante et très variable : la marche est acquise entre 14 et 30 mois en dehors d'un patient sévèrement atteint qui a marché à 5 ans. Sur 21 patients de plus de 4 ans, 15 ont un langage normal, 4 s'expriment avec des phrases courtes, 2 ne prononcent que quelques mots. Sur 17 patients âgés de plus de 7 ans, 11 ont acquis la lecture. L'épilepsie est retrouvée chez 12/50 patients (24 %) dont 6 crises fébriles et 2 syndromes de West. Parmi les 4 patients avec épilepsie (différente de crises fébriles ou d'un West bénin), 3 ont une déficience intellectuelle particulièrement sévère. Cette étude confirme que l'avance staturale ne peut être retenue comme critère obligatoire, contrairement à la dysmorphie faciale qui constitue un élément important du diagnostic. Dans notre série, les malformations semblent plus fréquentes chez les patients avec microdélétion que chez les patients avec mutation ou délétion partielle. Enfin l'épilepsie est aussi fréquente dans les 2 groupes, mais pourrait être associée à un phénotype neurologique plus sévère.

Mots-clés : syndrome de Sotos, *NSD1,* macrocéphalie.

■P433 / 1154. *KIAA1985* GENE MUTATIONS, A COMMON CAUSE OF CMT4C ASSOCIATED WITH SPINE DEFORMITIES

H. Azzedine (1, 2, 3), N. Ravisé (1, 2, 3), Christophe Verny (1, 2, 3), A. Gabrëels-Festen (4), M. Lammens (4), D. Grid (5), J. M. Vallat (6), G. Durosier (1, 2, 3), J. Senderek (7), S. Nouioua (8), T. Hamadouche (9), A. Bouhouche (10), A. Guilbot (1, 2, 3), M. Ruberg (1, 2, 3), A. Brice (1, 2, 3, 11), N. Birouk (12), O. Dubourg (1, 2, 3, 13, 14), M. Tazir (8), E. LeGuern (1, 2, 3, 11)

(1) INSERM U679 (ex U289), Neurology and Experimental Therapeutics, Paris, France ; (2) La Pitié-Salpêtrière Hospital, Paris, France ; (3) Pierre and Marie Curie University (P6), Faculty of Medecine, Paris, France ; (4) Neuromuscular Center, Departments of Neurology and Pathology, Radboud University Nijmegen Medical Center, Nijmegen, the Netherlands ; (5) AFM-Généthon Paris, France ; (6) Department and Laboratory of Neurology, CHU Dupuytren, Limoges, France ; (7) Department of Human Genetics, Aachen University of Technology, Aachen, Germany ; (8) Department of Neurology, CHU Mustapha, Algiers, Algeria ; (9) Laboratory of molecular biology, Institut Pasteur d'Algérie, Algiers, Algeria ; (10) Laboratory of Neurogenetics, Hospital of specialities, Rabat, Morocco ; (11) Laboratory of Neurogenetics, Department of Genetics, Cytogenetics and Embryology, la Pitié-Salpêtrière Hospital, AP-HP, Paris, France ; (12) Department of Neurophysiology, Hospital of specialties, Rabat, Morocco ; (13) Centre de référence sur les pathologies neuromusculaires Paris-Est, Institute of myology, la Pitié-Salpêtrière hospital, Paris, France ; (14) Laboratory of neuropathology « Escourolle », la Pitié-Salpêtrière Hospital, Paris, France

Charcot-Marie-Tooth (CMT) disease is a heterogeneous group of inherited peripheral motor and sensory neuropathies with autosomal dominant, X-linked and autosomal recessive inheritance. A locus responsible for demyelinating form of autosomal recessive CMT was assigned to the 5q23-q33 region (CMT4C) by homozygosity mapping. Eleven mutations have already been identified in the KIAA1985 gene in 12 families with demyelinating autosomal recessive ARCMT. We have now analysed the coding sequence of the KIAA1985 gene in 11 consanguineous CMT families suspected to be linked to 5q31-q33 from haplotype segregation and linkage analysis. Eight different new homozygous or compound heterozygous mutations were identified in 10 families. One mutation was recurrent in the population studied. We describe the phenotype and the course of the disease, and confirm that spine deformities are the hallmark of CMT4C, suggesting that KIAA1985 might be involved in spine development. We also show that giant axons can be observed in nerve biopsies from CMT4C patients.

Mots-clés : *KIAA1985,* CMT4C, mutations.

■P434 / 1155. RÉVERSION DU PHÉNOTYPE SANDHOFF EX VIVO À L'AIDE D'UN VECTEUR LENTIVIRAL BICISTRONIQUE

A. Arfi (1), R. Ziesling (2), L. Basso (3), C. Emiliani (4), B. Tancini (4), V. Chigorno (3), A. Orlacchio (4), L. Poenaru (1), S. Sonnino (3), A. Futerman (2), C. Caillaud (1)

(1) Laboratoire de Génétique, Institut Cochin (Université Paris V, INSERM, CNRS), Paris, France ; (2) Weizmann Institute of Science, Department of Biological Chemistry, Rehovot, Israel ; (3) Center of Excellence on Neurodegenerative Diseases, Department of Medical Chemistry, Biochemistry and Biotechnology, University of Milan, Italy ; (4) Department of Biochemical Sciences and Molecular Biotechnology, University of Perugia, Italy

La maladie de Sandhoff est une affection récessive autosomique caractérisée par une accumulation intra-lysosomale de ganglioside GM2. Elle est due à des mutations du gène HEXB codant la chaine bêta des hexosaminidases et se traduit par un double déficit en Hex A (alpha-bêta) et Hex B (bêta-bêta). Cette maladie atteint principalement le système nerveux central et elle a une évolution rapidement mortelle, notamment dans sa forme infantile, la plus fréquente. Elle ne dispose d'aucun traitement à l'heure actuelle. Notre équipe est orientée vers le développement de méthodes de transfert de gènes pour cette affection à l'aide de vecteurs viraux. Compte tenu de nos résultats antérieurs, nous avons envisagé de réaliser une construction bicistronique, ceci afin d'optimiser l'expression in vivo des deux sous-unités des hexosaminidases. Pour cela, nous nous sommes orientés vers les vecteurs lentiviraux offrant une grande capacité de clonage, ainsi qu'une bonne expression à long terme. Des vecteurs mono et bicistroniques ont été construits et testés ex vivo sur des fibroblastes de patients atteints de maladie de Sandhoff. Une restauration massive des hexosaminidases a été obtenue sur substrat artificiel avec le vecteur bicistronique SIV.ASB (HEXA-IRES-HEXB), par comparaison avec les vecteurs monocistroniques. L'activité Hex A spécifique testée sur substrat naturel était de l'ordre de 20 %, un niveau potentiellement thérapeutique. Par ailleurs, le surnageant de cellules transduites mis au contact de cellules déficientes naives a permis d'obtenir une correction du métabolisme du GM2, démontrant pour la première fois dans ce modèle la possibilité d'une « cross-correction ». Des avancées ont été obtenues récemment dans la connaissance des mécanismes physiopathologiques impliqués dans la maladie de Sandhoff. Notamment, un lien semble exister entre l'accumulation de GM2, la diminution de l'activité SERCA (Ca2+-ATPase sarco-endoplasmique), la réduction de la croissance axonale et la mort neuronale. Nous avons donc testé l'efficacité du vecteur lentiviral bicistronique sur des neurones embryonnaires de souris Sandhoff. Nous avons ainsi montré que l'infection des neurones par le vecteur permet de corriger non seulement le déficit enzymatique dans ces cellules, mais aussi certaines des anomalies physiopathologiques. Une normalisation du recaptage du Ca2+ par la SERCA, de la croissance neuronale et de la sensibilité à la thapsigargine (inducteur de la mort neuronale) a été observée, ceci parallèlement à la décroissance du GM2 et du GA2 accumulé. Ces résultats renforcent la potentialité de notre vecteur lentiviral pour des applications dans la maladie de Sandhoff. Ce vecteur va maintenant être utilisé in vivo chez les souris Hexb-/-, soit par administration directe, soit après transduction de cellules hématopoïétiques qui seront ensuite greffées chez l'animal.

Mots-clés : maladie de Sandhoff, transfert de gènes, vecteur lentiviral.

■P435 / 1168. CORRÉLATIONS GÉNOTYPE/PHÉNOTYPES DANS LA MALADIE DE NIEMANN-PICK TYPE C

G. Millat, C. Rodriguez, M.T. Vanier
INSERM and Laboratoire Fondation Gillet-Merieux, Centre Hospitalier Lyon-Sud, Pierre-Bénite

La maladie de Niemann-Pick type C (NPC, OMIM 257220) est une pathologie neurodégénérative à transmission autosomique récessive, résultant de mutations touchant soit le gène NPC1, soit le gène NPC2. Dans les deux cas, elle est caractérisée sur le plan cellulaire par une accumulation endolysosomale de lipides, plus particulièrement le cholestérol non estérifié et certains sphingolipides, due à des anomalies de transport. La fonction exacte des protéines NPC1 et NPC2 n'est toutefois pas encore élucidée. Cette affection constitue une entité totalement distincte des déficits en sphingomyélinase (Niemann-Pick A et B). Au cours des 25 dernières années, plus de 650 cas ont été étudiés dans notre laboratoire, dont 143 cas provenant des hôpitaux français. En tenant compte des autres cas familiaux, ceci conduit à une incidence de l'ordre de 1/130 000 naissances en France. Le matériel biologique accessible est bien caractérisé sur le plan biochimique et, le plus souvent, clinique. Selon l'intensité de la lésion portant sur le transport du cholestérol étudiée dans les fibroblastes en culture, nous avions antérieurement défini deux phénotypes biochimiques : « classique » (sévère) et « variant » (modérée). Environ 85 % des cas appartiennent à la forme classique ; tous les cas d'une fratrie appartiennent à la même forme biochimique ; nous avons ensuite démontré que le phénotype « variant » dépend de la présence de certains allèles NPC1. Par ailleurs, il existe une hétérogénéité clinique très importante, avec une forme périnatale avec atteinte hépatique rapidement fatale, des formes neurologiques dont la sévérité est corrélée à l'âge de début des signes neurologiques (infantile, la plus rapidement évolutive, infantile tardive, juvénile, adulte), et une rarissime forme adulte sans atteinte neurologique. L'étude de 248 familles par complémentation génétique (hybridation cellulaire) ou analyse mutationnelle a permis d'identifier 14 familles « NPC2 » (soit 5,6 %), présentant toutes un phénotype biochimique « classique ». L'analyse des génotypes démontre une excellente corrélation entre la sévérité de la maladie neurologique et l'atteinte de la protéine NPC2. Compte-tenu de la lourdeur de l'étude mutationnelle de NPC1 (25 exons), impliqué dans près de 95 % des familles, une méthodologie DHPLC a récemment été mise au point (*Mol Genet Metab* 2005 ; 86 : 220). En se fondant sur le génotypage au laboratoire d'une centaine de cas, certaines conclusions peuvent être tirées. Bien qu'il existe une grande hétérogénéité allélique, la mutation NPC1 I1061T est la plus fréquente en Europe de l'Ouest (27 % des allèles en France). Elle n'a jamais été retrouvée chez les patients avec la forme neurologique à début infantile, la plus sévère, mais peut être retrouvée dans les formes avec anasarque ou défaillance hépatique. Globalement, il existe une assez bonne corrélation entre le type de mutation et la sévérité neurologique, alors que l'atteinte hépatique ne semble pas dépendre de la mutation (coexistence dans une même fratrie). Deux domaines de la protéine NPC1 semblent avoir une importance fonctionnelle particulière. Les mutations affectant le domaine senseur des stérols, même faux-sens, paraissent corrélées à un pronostic neurologique plus sévère. La boucle luminale riche en cystéine renferme près d'un tiers des mutations identifiées, dont toutes celles définitivement associées à un phénotype « variant », la plus fréquente étant P1007A. Les mutations « variant » sont en général retrouvées chez des patients à début neurologique plus tardif et à évolution plus lente. En conclusion, le génotypage des patients NPC est souvent utile pour le pronostic. Une connaissance accrue permettra, avec une meilleure probabilité, de situer sur l'échelle de sévérité un patient diagnostiqué avant l'apparition des symptômes neurologiques. Par ailleurs, le génotypage est crucial pour le conseil génétique, en rendant le diagnostic prénatal plus rapide et applicable à toutes les familles.

Mots-clés : Niemann-Pick, NPC1, NPC2.

■P436 / 1170. DIMINUTION DE L'ACTIVITÉ TYROSINE PHOSPHATASE DE SHP-2 DANS LE SYNDROME LÉOPARD

N. Hanna (1), W.H. Lee (2), M. Miteva (2), G. Viot (3), A. Raas-Rotschild (4), D. Hannequin (5), H. de Leersnyder (6), S. Lyonnet (7), B.O. Villoutreix (2), M. Vidaud (1), B. Parfait (1)
(1) Laboratoire de Génétique Moléculaire EA 3618, Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, Paris ; (2) INSERM U648, UFR biomédicale des Saints-Pères, Paris ; (3) Centre multidisciplinaire de Diagnostic Prénatal et d'Échographie, Maternité Port-Royal, Paris ; (4) Department of Human Genetics, Hadassah Hebrew University Medical Center, Jerusalem, Israel ; (5) Service de Neurologie, Hôpital Charles Nicolle, Rouen ; (6) Département de Génétique, Hôpital Robert-Debré, Paris ; (7) Département de Génétique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris

L'équilibre entre l'activation des protéine-tyrosine kinases et des protéine-tyrosine phosphatases règle le niveau de phosphorylation des résidus tyrosine de nombreuses molécules des réseaux de signalisation intracellulaire. Le gène PTPN11 codant la protéine-tyrosine phosphatase à domaines SH2 SHP-2 (Src Homology 2 domain-containing tyrosine phosphatase 2) a été retrouvé muté dans environ 50 % des cas de syndrome de Noonan (MIM#163950) et 90 % des cas de syndrome LÉOPARD (MIM#151100). Un certain nombre de manifestations sont communes aux deux syndromes, notamment le retard de croissance, la dysmorphie cranio-faciale et les malformations cardiaques. Néanmoins, le tableau clinique global permet de les différencier dans la grande majorité des cas, suggérant que les conséquences fonctionnelles des différentes mutations du gène PTPN11 ne sont pas identiques. Les mutations retrouvées à la fois dans le syndrome de Noonan et dans le syndrome LÉOPARD sont pratiquement exclusivement des mutations faux sens. Dans le syndrome de Noonan, l'étude structurale et fonctionnelle des mutants montre une activité phosphatasique de SHP-2 augmentée associée à une prolongation de l'activation de la voie des MAP kinases. À ce jour, il n'existe aucune donnée sur les conséquences fonctionnelles des mutations associées au phénotype LÉOPARD. Le présent travail a pour objectif l'étude des conséquences fonctionnelles des 3 mutations faux-sens du gène PTPN11 identifiées chez 5 patients atteints de syndrome LÉOPARD et leur comparaison à celles des mutations associées au syndrome de Noonan, à travers la mesure de l'activité phosphatasique basale de SHP-2 in vitro. Contrairement aux mutants associés au phénotype Noonan, les 3 mutants identifiés (p.Tyr279Cys, p.Thr468Met et p.Gln510Pro) associés au phénotype LÉOPARD montrent une activité phosphatasique basale effondrée et comparable à celle du mutant p.Cys459Gly du site catalytique du domaine PTP. La localisation exclusive des mutations dans le domaine PTP, la très grande conservation des résidus mutés au sein des protéine-tyrosine phosphatases ainsi que leur regroupement à proximité du site catalytique en structure secondaire sont très en faveur de l'hypothèse d'une perte de l'activité phosphatasique de SHP-2 dans le syndrome LÉOPARD et confortent nos résultats. Les répercussions de ces variations d'activité phosphatasique de SHP-2 dans les syndromes

de Noonan et LÉOPARD sur les voies de signalisation cellulaire impliquées restent maintenant à explorer pour essayer de mieux comprendre les mécanismes physiopathologiques à l'origine de ces deux syndromes.

Mots-clés : syndrome de Noonan, syndrome Léopard, SHP-2.

■P437 / 1171. STRATÉGIE DE DIAGNOSTIC MOLÉCULAIRE DE LA NEUROFIBROMATOSE DE TYPE I BASÉE SUR L'ÉTUDE DES ARNM DE *NF1*

B. Parfait (1), C. Bellanné-Chantelot (2), S. Pinson (3), C. de Toma (4), M. Soares (1), G. Leroy (2), S. Hadj-Rabia (5), M. Vidaud (1), P. Wolkenstein (6), D. Vidaud (1)
(1) Service de Biochimie, Hôpital Beaujon, AP-HP, Clichy ; (2) Unité de Biologie Moléculaire, Hôpital Saint-Antoine, AP-HP, Paris ; (3) Unité de Génétique Moléculaire, Hôpital E. Herriot, Lyon ; (4) Fondation Jean-Dausset-CEPH, Paris ; (5) Service de Dermatologie, Hôpital Necker-Enfants Malades, AP-HP, Paris ; (6) Service de Dermatologie, Hôpital H. Mondor, AP-HP, Créteil

La neurofibromatose de type I (NF1, MIM162200) est une des maladies héréditaires à transmission autosomale dominante les plus fréquentes (1/3 500). Dans la moitié des cas, les sujets atteints de la maladie sont des cas sporadiques. La plupart des patients NF1 ont une mutation privée sans localisation préférentielle au sein du gène NF1 qui s'étend sur plus de 300 kb et comprend 60 exons. Dans le cadre d'une analyse de routine, nous avons développé une stratégie de diagnostic moléculaire basée sur l'étude des ARNm. Après reverse transcription puis amplification de fragments chevauchants, l'intégralité du cDNA du gène NF1 est séquencé. Cette approche nous a permis d'identifier des anomalies moléculaires chez 125 des 135 (93 %) patients non apparentés présentant les critères diagnostiques de NF1. Dans tous les cas, la présence de la mutation a ensuite été confirmée au niveau de l'ADN. En dehors de sa rapidité, l'avantage principal de cette stratégie « ARN » est de mettre en évidence les anomalies d'épissage du gène (n = 42, 34 %) créées par des mutations des sites consensus d'épissage (31), des mutations non-sens (5), des mutations faux-sens (5) ou une délétion d'une base (1). Cette approche permet également de caractériser des délétions d'un ou plusieurs exons à l'origine de transcrits anormaux qui ne pourraient être identifiées par simple analyse de l'ADN génomique. Bien que très performante, cette stratégie ne permet pas de mettre en évidence les anomalies moléculaires responsables de la dégradation des messagers (Non sense Mediated mRNA Decay). Cependant, le séquençage de l'ensemble des exons du gène NF1 réalisé sur l'ADN génomique de dix patients pour lesquels l'analyse du cDNA s'était avérée négative nous a permis de retrouver une mutation non sens chez un seul d'entre eux. En conclusion, nous proposons de réaliser le diagnostic moléculaire de la neurofibromatose de type 1 par séquençage du cDNA du gène NF1 en première intention et de confirmer dans un second temps au niveau génomique la présence de la mutation identifiée. Cette approche est rapide, efficace et offre la possibilité de mettre en évidence les conséquences des mutations sur la maturation des transcrits du gène.

Mots-clés : neurofibromatose de type 1, diagnostic moléculaire, *NF1*.

■P438 / 1173. ÉTUDE DE GÈNES CANDIDATS CODANT DES PROTÉINES IMPLIQUÉES DANS LA VOIE DE SIGNALISATION DE RAS DANS LES SYNDROMES DE NOONAN, CARDIO-FACIO-CUTANE ET COSTELLO

N. Hanna (1), I. Laurendeau (1), V. Cormier-Daire (2), J. Amiel (2), S. Lyonnet (2), D. Vidaud (1), M. Vidaud (1), B. Parfait (1)
(1) Laboratoire de Génétique Moléculaire EA 3618, Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, Paris ; (2) Département de Génétique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris

Le syndrome de Noonan (MIM163950) est un syndrome polymalformatif héréditaire fréquent à transmission autosomale dominante (1/2 000 environ) d'expressivité variable, caractérisé essentiellement par une dysmorphie faciale particulière, des anomalies cardiaques et une petite taille. Plusieurs syndromes apparentés sont également décrits, notamment le syndrome de Costello (MIM218040), le syndrome Cardio-Facio-Cutané (CFC, MIM115150) et le syndrome LÉOPARD (MIM151100). De nombreuses manifestations cliniques sont en effet communes à ces syndromes et la distinction de ces entités se révèle parfois difficile particulièrement dans le cas des nouveau-nés et des enfants chez lesquels les critères majeurs de diagnostic ne sont pas évidents. L'identification récente de mutations du gène PTPN11 dans près de 50 % des cas de syndrome de Noonan a fourni un premier outil pour définir la relation moléculaire existant entre ces syndromes apparentés. Des mutations de PTPN11 ont été recherchées en vain chez des patients présentant un phénotype CFC ou Costello mais identifiées chez 90 % des patients présentant un phénotype LÉOPARD. PTPN11 code la protéine ubiquitaire SHP-2 (SH2 domain-containing protein-tyrosine phosphatase 2). Différents stimuli permettent le recrutement de SHP-2 et son interaction avec de nombreux partenaires protéiques tels que des récepteurs à activité tyrosine kinase, des adaptateurs protéiques ou des molécules d'adhésion cellulaire. Parmi les nombreuses voies de signalisation impliquées, SHP2 joue notamment un rôle clé dans l'activation de la cascade Ras-Mitogen-Activated Protein (MAP) kinase induite par différents facteurs de croissance (EGF, FGF, PDGF...). L'étude de la région codante de PTPN11 nous a permis d'identifier une mutation à l'état hétérozygote chez 20/35 patients atteints de syndrome de Noonan, 5/5 patients atteints de syndrome LÉOPARD, 1/5 patients atteints de syndrome CFC et 0/5 patients atteint de syndrome de Costello et de constituer ainsi un groupe d'ADNs de patients « PTPN11 négatifs ». Notre objectif consiste maintenant à identifier de nouveaux gènes responsables non seulement du syndrome de Noonan (15 patients) mais également des syndromes CFC (5 patients) et Costello (5 patients). Étant donné la fréquence élevée de cas sporadiques dans ces différents syndromes, la petite taille des familles pour les cas familiaux et l'absence de remaniement chromosomique récurrent, seule une stratégie gène candidat est envisageable et nous avons choisi d'explorer les gènes codant des partenaires protéiques de SHP-2 dans la voie RAS/MAP kinases. Ainsi, nous avons séquencé la région codante des gènes GAB1 codant un partenaire direct de SHP-2, RASA1 qui code RasGAP un régulateur négatif de Ras, ainsi que les gènes SPRY1, 2 et 3 codant les protéines de la famille sprouty régulateurs négatifs de la voie de Ras. L'absence de mutation au sein de ces différents gènes dans notre échantillon d'ADNs signifie qu'ils ne présentent pas un rôle majeur dans la physiopathologie du syndrome de Noonan et apparentés. La découverte récente de mutations germinales « gain de fonction » du gène HRAS responsables du syndrome de Costello nous a conduit à identifier l'une de ces mutations chez certains des patients atteints de syndrome de Costello. Ce résultat montre que notre stratégie d'étude des gènes codant des protéines intervenant dans la voie de Ras doit être poursuivie.

Mots-clés : syndrome de Noonan, syndrome cardio-facio-cutané, syndrome de Costello.

■P439 / 1509. ÉPIDÉMIOLOGIE MOLÉCULAIRE *(GJB2, GJB6, SLC26A4 & M.1555A>G)* DES SURDITÉS GÉNÉTIQUES DU SUD-OUEST DE LA FRANCE

D. Dupin-Deguine (1), S. Ibos, P. Calvas (1), O. Deguine (2), E. Bieth (1)
(1) Service de Génétique Médicale, Hôpital Purpan, TSA 40031, 31059 Toulouse Cedex 9 ; (2) Service ORL, Hôpital Purpan, TSA 40031, 31059 Toulouse Cedex 9

Nous présentons les résultats moléculaires de 5 années d'activité de la consultation de génétique des surdités du CHU de Toulouse. Au total, 290 sujets non apparentés atteints d'une surdité de cause indéterminée ont bénéficié d'une exploration fine du gène GJB2, d'une recherche de la mutation récurrente del342kb du gène GJB6 (GJB6-D13S1830) et de la mutation m.1555A>G du génome mitochondrial (gène tRNAleu). Les surdités syndromiques représentaient 10 % de la population analysée. Seuls les sujets présentant un goître (syndrome de Pendred) et/ou des anomalies au scanner des rochers (Mondini, dilatation des acqueducs...) ont bénéficié d'un criblage du gène SLC26A4. L'implication du gène GJB2 et de la del342kb (surdité récessive de type DFNB1) est démontrée (deux allèles mutés) chez 9,3 % (n = 24) des patients atteints de surdités non syndromiques (n = 259) mais elle atteint 18,3 % des sujets ayant une surdité dont le diagnostic a été porté avant l'âge de 6 ans (surdité pré ou péri-linguale) tandis qu'elle n'est retrouvée que chez moins de 1 % des sujets présentant une surdité post-linguale (n = 1/114). La fréquence de la surdité de type DFNB1 est également corrélée au niveau de sévérité de la perte auditive puisqu'elle est de 30 % pour les cophoses (n = 10), 19 % pour les surdités profondes (n = 53) et 7 % pour les surdités moyennes à sévères (n = 141). En revanche, aucune surdité légère n'a pu être liée au gène GJB2. La fréquence allélique de la mutation 35delG (GJB2) est dans la population des sujets atteints de surdité type DFNB1 de 53 % tandis que celle de la del342kb (GJB6) est de 10 %. Environ 10 % des sujets de cette même population présentent une surdité liée à un digénisme GJB2/GJB6. L'implication du gène SLC26A4 est prouvée chez 3 % des sujets de la cohorte (5 % des surdités pré ou péri-linguales). La mutation m.1555A>G est l'anomalie moléculaire retrouvée le plus rarement : 1 % seulement des sujets de notre étude en sont porteurs (n = 3).
En conclusion, l'étude des gènes GJB2, GJB6 et SLC26A4 permet dans notre population d'établir un diagnostic génotypique chez environ le tiers des patients porteurs d'une surdité prélinguale d'origine indéterminée. En revanche, la recherche systématique de la mutation m.1555A>G ne paraît pas justifiée compte-tenu de la faible représentativité de cette mutation dans notre population.

Mots-clés : surdité, épidémiologie, mutation.

■P440 / 1515. SYNDROME DE SJÖGREN-LARSSON : ASPECTS CLINIQUES, RADIOLOGIQUES ET ANALYSES GÉNÉTIQUES

C. Sarret (1, 2), E. Eymard-Pierre (2), C Vaurs-Barrière (2), P. Combes (2), G. Giraud (2), J.P. Renou (3), O. Boespflug-Tanguy (1, 2)*
(1) Service de génétique médicale, CHU Clermont-Ferrand, 28, boulevard Léon-Malfreyt, 63058 Clermont-Ferrand Cedex. E-mail : otanguy@chu-clermontferrand.fr ; (2) UMR INSERM 384, faculté de Médecine, Clermont-Ferrand ; (3) STIM INRA Clermont-Ferrand Theix

Le syndrome de Sjögren-Larsson (SLS) est une maladie génétique de transmission autosomique récessive, liée à un déficit en déshydrogénase des aldéhydes gras (FALDH). Cette enzyme est impliquée dans le métabolisme lipidique. Son déficit entraîne une accumulation d'alcools gras à chaîne longue et de métabolites de la dégradation des leucotriènes B4, en particulier dans les tissus cutanés et le système nerveux. Le gène ALDH3A2 codant pour cette protéine est situé en 17p11.2, et plus de 70 mutations de ce gène ont été identifiées à l'heure actuelle.
Nous avons été amenés à suivre trois patients âgés de trois, quatre et quatorze ans pour lesquels le diagnostic de SLS était évoqué sur l'association : retard global du développement, diplégie spastique et ichtyose cutanée. Dans les trois cas à la RMN du cerveau, des anomalies peu spécifiques de la substance blanche de type retard diffus de myélinisation étaient présentes à l'imagerie et un pic anormal à 1,3 ppm, maximal dans la substance blanche, était retrouvé en spectroscopie. Le diagnostic de SLS était confirmé par l'étude de l'activité FALDH sur fibroblastes (Pr Wanders, Université d'Amsterdam). Nous avons mis en place les outils nécessaires à l'étude du gène et des transcrits ALDH3A2 chez ces trois patients. La mutation c.471+1delG affectant un site d'épissage, était identifiée à l'état homozygote chez le patient de quatre ans. Le patient de quatorze ans était hétérozygote composite pour les mutations c.472-1G>T (correspondant à une erreur d'épissage) et c.733G>A (mutation faux-sens). Aucune mutation des régions codantes ni des jonctions intron/exon n'était retrouvée sur l'ADN génomique du troisième patient. L'analyse des transcrits, en cours, pourra sans doute permettre d'identifier des anomalies de séquence du gène ALDH3A2 chez ce patient.
Devant la triade clinique caractéristique et la mise en évidence d'un pic anormal à la spectroscopie de RMN, la recherche de mutations du gène ALDH3A2 est une alternative intéressante à la mesure de l'activité FALDH sur fibroblastes pour confirmer le diagnostic de SLS. Elle permet de proposer rapidement un conseil génétique et un éventuel diagnostic anténatal.

Mots-clés : syndrome de Sjögren-Larsson, spectroscopie de RMN, analyses génétiques.

■P441 / 1516. *MATH1/ATOH1* RÉGULE L'EXPRESSION D'UNE SOUS-UNITÉ CHOLINERGIQUE DANS L'OREILLE INTERNE

D. Scheffer (1), D.-S. Zhang (2), R.E. Palmer (3), D.P. Corey (2), V. Pingault (1)
(1) Équipe Avenir INSERM U654, Hôpital Henri-Mondor, 94010 Creteil, France ; (2) Department of Neurobiology, Harvard Medical School, Boston ; (3) Massachusetts General Hospital, Boston

ATOH1 est un facteur de transcription de la famille bHLH (basic Helix-Loop-Helix). Dans l'oreille interne, il semble nécessaire et suffisant à l'induction de la différenciation des cellules ciliées de la cochlée et du vestibule.
Afin d'identifier des gènes cibles de ATOH1, nous avons développé un système TET-off dans des cellules d'ostéosarcomes permettant d'avoir une expression conditionnelle de ATOH1. Une analyse par puces à ADN Affymetrix nous a permis de comparer les transcriptomes des cellules en présence et en absence de ATOH1. Parmi les gènes induits en présence de ATOH1, nous nous sommes intéressés à CHRNA1 (nicotinic cholinergic receptor alpha polypeptide 1), une sous-unité du canal cholinergique des synapses neuro-musculaires.
Les récepteurs nicotiniques à l'acétylcholine sont organisés sous forme de pentamères, Chrna1 étant l'une des sous unités qui forment les canaux cholinergiques du muscle. Dans ce tissu, Chrna1 est régulé par MYO D, un autre facteur de transcription de type bHLH et de même classe que ATOH1. Les cellules ciliées externes de l'organe de corti forment des synapses avec les axones du système nerveux efférent de la cochlée. L'expression de Chrna1 dans l'oreille interne n'a cependant jamais été montrée.
Nous avons d'abord confirmé l'expression de Chrna1 sous le contrôle de ATOH1 dans les cellules d'ostéosarcomes par RT-PCR semi quantitative à différents temps après avoir enlevé la tétracycline du milieu. Ce gène est induit à partir de 2 h, ce qui laisse supposer que Chrna1 pourrait être directement régulé par ATOH1. Nous avons ensuite étudié par RT-PCR son expression : Chrna1 est exprimé dans la cochlée de souris sauvages. De plus, chez les souris Atoh1-/-, qui présentent une absence totale de cellules ciliées dans l'organe de Corti et dans le vestibule, Chrna1 est totalement absent. Nous avons ensuite étudié l'activation de ce gène par ATOH1 par des tests luciférase qui nous ont permis de mettre en évidence deux sites de fixation de ATOH1 sur le promoteur de Chrna1. Des expériences de retard sur gel ont confirmé une implication équivalente des deux E-box localisées dans cette région.

Ce travail nous a permis de caractériser Chrna1, première cible transcriptionnelle connue de ATOH1 dans l'oreille interne. Il s'agit de la troisième sous-unité cholinergique décrite dans l'organe de Corti après Chrna9 et Chrna10. Ces données permettront de mieux comprendre l'organisation des canaux cholinergiques des cellules ciliées de l'organe de Corti et aussi certains mécanismes de neurotransmission des signaux dans les cellules ciliées de l'oreille interne. L'étude des cibles de ce facteur de transcription fournira des précisions sur le contrôle transcriptionnel du développement des cellules ciliées de l'oreille interne.

Mots-clés : *MATH1/ATOH1*, recepteurs cholinergiques, oreille interne.

■P442 / 1528. GLYCOGÉNOSE DE TYPE II : HÉTÉROGÉNÉITE CLINIQUE ET MOLÉCULAIRE, ET IMPLICATIONS POUR LE DIAGNOSTIC PRÉNATAL

R. Froissart (1), M.O. Rolland (1), M. Nicolino (2), I. Maire (1)
(1) Laboratoire de Biochimie Pédiatrique, Hôpital Debrousse, 29, rue Sœur Bouvier, 69005 Lyon ; (2) Service d'Endocrinologie Infantile, Hôpital Debrousse, 29, rue Sœur Bouvier, 69005 Lyon

La glycogénose de type II (GSDII) est une maladie de surcharge lysosomale due au déficit en alpha-glucosidase acide lysosomale (GAA), et caractérisée par une accumulation de glycogène dans les lysosomes. Sa présentation clinique varie de la forme infantile précoce classique (maladie de Pompe) dominée par une hypotonie et une cardiomégalie sévères et conduisant au décès avant l'âge de 2 ans, à une forme adulte se présentant comme une myopathie proximale lentement progressive. Un continuum existe entre ces deux extrêmes avec des formes intermédiaires (infantiles plus ou moins tardives sans cardiomyopathie et juvéniles). Le gène de la GAA est localisé sur le chromosome 17q25, contient 20 exons, et plus de 100 mutations différentes ont été identifiées. Nous rapportons notre expérience chez 48 patients : 18 formes classique (Pompe), 9 formes intermédiaires et 21 formes adultes. Le diagnostic des patients a été confirmé par la mise en évidence du déficit en GAA dans les lymphocytes, les fibroblastes et/ou une biopsie de muscle (réalisée dans les formes adultes dans le cadre du diagnostic différentiel d'une myopathie). La recherche des 3 mutations les plus fréquemment rapportées, IVS1-13T>G, del exon 18 et 525delT a été réalisée chez tous les patients. Trente deux patients ont eu un séquençage complet du gène GAA, et seul un allèle sur 64 n'a pas été identifié. La mutation IVS1-13T>G, jamais retrouvée à l'état homozygote, est peu sévère car il subsiste une faible quantité de transcrit normal. Elle n'est jamais retrouvée dans les formes les plus sévères (Pompe) et représente 28 % des allèles des formes intermédiaires et 50 % des formes adultes. La délétion de l'exon 18 et la mutation 525delT sont nettement moins fréquentes dans notre population que dans l'étude hollandaise : 12,5 % et 3,1 % des allèles respectivement. Elles sont retrouvées à l'état hétérozygote dans toutes les formes cliniques. La délétion de l'exon 18 à l'état homozygote a été retrouvée chez 3 patients atteints de maladie de Pompe. Plus de 10 nouvelles mutations ont été identifiées, confirmant l'hétérogénéité génétique de cette affection. Trois mutations faux sens ont été identifiées dans plus d'une famille : p.C103G et p.L552P (6,3 % des allèles chacune) et p.Y292C (3 % des allèles). La mutation p.L552P a été identifiée à l'état homozygote dans une forme classique de maladie de Pompe. Dans un cas, la mutation n'a pas été retrouvée chez le père, suggérant une mutation de novo ou un mosaïcisme germinal. Dans une famille, l'activité GAA anormalement basse dans les lymphocytes et les fibroblastes de la mère du cas index (atteinte d'une forme infantile tardive, génotype p.G219W/p.Y292C), nous a conduit à établir grâce à l'étude moléculaire, qu'elle était elle-même atteinte d'une forme adulte au stade encore asymptomatique (génotype IVS1-13T>G/p.G219W). Même si le diagnostic prénatal est réalisé par la recherche des mutations identifiées chez le cas index, il est impératif de s'assurer que les parents n'ont pas une activité enzymatique anormalement basse. Un séquençage complet du gène GAA permet alors de différencier les situations de pseudo déficit ou de parent asymptomatique atteint d'une forme adulte, dont la découverte pose de difficiles problèmes éthiques. Ce travail a bénéficié d'un financement du Réseau de recherches sur la maladie de Pompe (appel d'offres INSERM/AFM 2000).

Mots-clés : maladie de Pompe, glycogénose de type II, lysosome.

■P443 / 1529. ÉTUDE DES MUTATIONS GERMINALES DU GÈNE *BMPR2* CHEZ LES PATIENTS ATTEINTS D'HYPERTENSION ARTÉRIELLE PULMONAIRE

F. Coulet (1), S. Martin (1), S. Bellenfant (1), A. Yaici (2), B. Sztrymf (2), G. Simonneau (2), F. Soubrier (1), M. Humbert (2)
(1) Laboratoire d'Oncogénétique et d'Angiogénétique Moléculaire, Groupe hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris ; (2) UPRES EA2705, Service de Pneumologie et Réanimation Respiratoire, Hôpital Antoine-Béclère, Clamart

L'hypertension artérielle pulmonaire (HTAP) (OMIM 178600) est une maladie progressive associant vasoconstriction, thrombose, prolifération et remodelage des artères pulmonaires de petit calibre menant à une insuffisance cardiaque droite et à une diminution marquée de la survie. Les formes familiales d'HTAP présentent des caractéristiques cliniques et histopathologiques suggérant une étiologie commune aux formes idiopathiques. La forme familiale de la maladie est liée à des mutations hétérozygotes sur le gène BMPR2, localisé sur le chromosome 2q33 et codant pour un membre de type II de la voie de signalisation de la superfamille du TGF-beta. Il est estimé que 6 à 10 % des cas d'HTAP sont d'origine familiale, ces chiffres sont probablement sous-estimés du fait de la faible pénétrance de la maladie. Nous avons étudié 164 personnes indépendantes présentant une HTAP familiale ou idiopathique. La séquence codante ainsi que les jonctions introns-exons du gène BMPR2 ont été étudiées par la technique de chromatographie liquide haute performance en conditions dénaturantes. L'étude a été complétée, dans les formes familiales sans mutation ponctuelle sur le gène BMPR2, par la recherche de grands réarrangements par la technique de QMPSF (Quantitative Multiplex PCR of Short Fluorescent Fragments). Une mutation germinale est identifiée dans 22 % des cas (n = 164). Nous rapportons ici 36 mutations qui altèrent la séquence codante du gène BMPR2 ; 13 mutations ont été retrouvées dans les formes familiales d'HTAP (soit 69 % de mutations dans les formes familiales) et 23 dans les cas idiopathiques (soit 16 % de mutations dans les formes idiopathiques). La majorité des mutations entraînent des codons STOP prématurés (6 mutations avec décalage du cadre de lecture et 12 mutations non-sens) ; 6 mutations impliquent les sites d'épissage ; 9 mutations sont des mutations faux-sens localisées dans des régions hautement conservées impliquées dans la liaison du ligand ou le domaine kinase. Enfin, 3 réarrangements de grande taille ont été détectés parmi les familles testées, une délétion de l'exon 10, une délétion de l'exon 11 à 13, et une délétion hétérozygote complète du gène. Nous avons étudié, dans la population française, les mutations germinales sur le gène BMPR2 dans le cadre d'HTAP, ainsi que la répartition de ces mutations dans les formes familiales et les formes idiopathiques. Enfin, 8 % des mutations détectées sont des grands réarrangements démontrant l'existence de ce type d'anomalie dans le gène BMPR2.

Mots-clés : *BMPR2,* hypertension arterielle pulmonaire, mutation.

■P444 / 1530. MALADIE DE RENDU-OSLER ASSOCIÉE À UNE POLYPOSE JUVÉNILE : MUTATIONS SUR LE GÈNE *MADH4* (SMAD4)

F. Coulet (1), Y. Lahely (1), J. Roume (2), J.C. Piette (3), F. Soubrier (1)
(1) Laboratoire d'Oncogénétique et d'Angiogénétique Moléculaire, Groupe hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris ; (2) Service de Génétique Clinique, Ambroise Paré, Boulogne ; (3) Service de Médecine interne, Groupe hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris

La maladie de Rendu-Osler, ou Télangiectasie Hémorragique Héréditaire (OMIM 187300) est une maladie dont les lésions essentielles, les malformations artério-veineuses, provoquent des épistaxis fréquents et abondants, ainsi que des manifestations viscérales de type hémorragique. Des mutations sur deux gènes, endogline (HHT1) et ALK1 (HHT2), sont à l'origine de la maladie. Un 3e locus a été récemment identifié sur le chromosome 5 (Cole. *J Med Genet* 2005) suggérant l'existence d'un 3e gène lié à la maladie (HHT3). C'est une affection autosomique dominante à pénétrance quasi-complète et à expressivité variable. Dans certains cas, la maladie de Rendu-Osler est associée à une polypose juvénile, ceci a été décrit dans plusieurs familles, toutes liées au gène MADH4 (SMAD4) (Gallione. *Lancet* 2004). Les produits des gènes Endogline, ALK1 et MADH4 appartiennent à la voie de signalisation du TGF-beta impliquée dans l'angiogénèse. Nous décrivons ici deux cas de maladie de Rendu-Osler, associée à une polypose juvénile, prédisposition héréditaire autosomique dominant de cancer gastro-intestinal : – Un cas familial : le proposant, sa mère et son frère présentent le syndrome combiné alors que trois enfants sur quatre présente des signes cliniques de maladie de Rendu-Osler. Aucune mutation n'a été identifiée sur les gènes impliqués dans la maladie de Rendu-Osler (endogline et ALK1). En revanche, une mutation faux sens (c.1571G>T, p.Trp524Leu) a été identifiée sur le gène MADH4 dans une région hautement conservée et impliquant une région fonctionnelle essentielle, le domaine MH2. – Le second cas est un cas isolé de syndrome combiné Rendu-Osler et polypose juvénile. Une mutation faux sens (c.1082G>C, p.Arg361Pro) a été identifiée sur le gène MADH4. Cette mutation de novo implique la même région fonctionnelle dans laquelle plusieurs mutations faux-sens délétères sont décrites dans la littérature. L'observation de signes cliniques de Rendu-Osler ou de polypose juvénile doit induire une recherche systématique des manifestions de la 2e pathologie et la mise en évidence du syndrome combiné de ces deux pathologies doit conduire à le recherche de mutations germinales sur le gène MADH4.

Mots-clés : *MADH4*, Rendu-Osler, polypose juvenile.

■P445 / 1545. ANALYSE GÉNÉTIQUE DE L'INSUFFISANCE OVARIENNE PRÉMATURÉE

S. Caburet (1), J. Cocquet (1), R.A. Veitia (1), M. Fellous (1), S. Christin-Maitre (2), P. Bouchard (2), A. Bernheim (3), P. Touraine (4), F. Kutten (4), S. Heath (5), D. Bacq (5)
(1) INSERM U709, Hôpital Cochin, Paris ; (2) Département d'Endocrinologie, Hôpital Saint-Antoine, Paris ; (3) CNRS UMR 8125, Institut Gustave-Roussy, Villejuif ; (4) Département d'Endocrinologie et de Médecine Reproductive, Hôpital Necker, Paris ; (5) Centre National de Génotypage, Évry

L'insuffisance ovarienne prématurée (IOP) est une maladie rare affectant 1 à 3 % des femmes avant l'âge de 40 ans. Le signe clinique majeur est une aménorrhée hypogonadique hypergonadotrophe, primaire ou secondaire, induisant la plupart du temps une infertilité. Bien que la détection d'anomalies génétiques et de mutations dans quelques cas familiaux indique une origine génétique du syndrome, l'étiologie précise de la maladie reste inconnue dans 90 % des cas.
Le syndrome BPES humain (blepharophimosis ptosis epicanthus syndrome) est une maladie rare à transmission autosomique dominante associée dans certains cas à une insuffisance ovarienne prématurée. Ce syndrome est causé par les mutations du gène FOXL2, codant pour le marqueur le plus précoce du développement ovarien connu à ce jour. Nous avons poursuivi notre caractérisation de facteur de transcription FOXL2, et nos derniers résultats nous permettent de mieux comprendre le mécanisme de pathogénicité associé à la mutation la plus fréquente du gène. Nous avons également montré l'existence d'un ARN anti-sens de FOXL2, ce qui laisse entrevoir une régulation complexe de l'expression de ce gène.
D'autre part, un tour de génome de cas familiaux rares d'IOP nous a permis d'identifier une région d'intérêt sur le chromosome 7, dans laquelle nous espérons identifier par clonage positionnel un ou plusieurs nouveaux gènes impliqués dans l'insuffisance ovarienne prématurée.

Mots-clés : infertilité féminine, BPES, Forkhead, polyAlanine, expansion trinucléotides, antisens, réinitiation traductionnelle.

7. Oncogénétique

■P446 / 62. CRÉATION D'UNE CONSULTATION PSYCHOLOGIQUE AU SEIN D'UNE UNITÉ D'ONCOGÉNÉTIQUE : PLACE ET MISSIONS

C. Laurent (1), I. Coupier (2), P. Pujol (3)
(1) Psychologue, Unité d'oncogénétique, Service de Génétique médicale, CHU de Montpellier ; (2) Médecin généticien, Unité d'oncogénétique, Service de Génétique médicale, CHU de Montpellier ; (3) Pofesseur en Génétique, Unité d'oncogénétique, Service de Génétique médicale, CHU de Montpellier

L'oncogénétique est une activité médicale récente qui a pour objectif la prise en charge de personnes soumises à un risque intrafamilial de cancer. Cette prise en charge multidisciplinaire implique des généticiens, des cancérologues, des spécialistes d'organes et des psychologues. Elle vise à optimiser la prévention et le dépistage de sujets à haut risque de développer la maladie. La création d'une consultation psychologique en oncogénétique est inhérente à la démarche présymptomatique mais revêt aussi d'autres missions que nous décrirons ici.
Aux prises avec une temporalité différente de celle que l'on peut rencontrer dans d'autres services de cancérologie où le pronostic vital est en jeu, la consultation d'oncogénétique ne s'inscrit pas dans « l'urgence ». Un temps de réflexion est en effet toujours proposé à l'intérieur duquel le psychologue peut être appelé à intervenir. Dans cette aire, sorte de « temporalité subjective », peuvent être travaillées l'anticipation de résultats dans le cadre d'une démarche présymptomatique, l'aide à la décision en cas de geste prophylactique par exemple. Cette activité comprend aussi l'ajustement de stratégies d'adaptation par le biais d'un soutien psychologique

étant donnée l'intrication importante de problématiques individuelles et familiales souvent douloureuses. Le psychologue est également amené à donner son éclairage dans sa relation avec le corps médical, lors des consultations « d'annonce de résultats », lors de Réunions de Concertation Pluridisciplinaire en oncogénétique ou encore lors de réunions de spécialité. Son intervention s'inscrit aussi au long cours par la nécessité d'une évaluation des pratiques afin d'appréhender les répercussions chez la personne en terme de qualité de vie, notamment lors des gestes de prophylaxie chirurgicale. Spécialistes d'organes, médecins généticiens et psychologues sont donc voués à une complémentarité, conférant ainsi une place considérable au respect de la personne dans sa dimension physique et psychologique.

Mots-clés : oncogénétique, création, consultation psychologique.

■P447 / 107. CAUSALITÉ DU GÈNE *ATM* DANS LE DÉVELOPPEMENT D'UN CANCER DU SEIN : TENDANCE OU PAS TENDANCE ?

A.K. d'Almeida (1), E. Cavaciuti (1), M.-G. Dondon (2), A. Laugé (3), N. Janin (4), D. Stoppa-Lyonnet (3), N. Andrieu (1)
(1) Inserm Emi 00-06 & Service de Biostatistiques, Institut Curie, Paris ; (2) Inserm IC10213, Service de Biostatistiques, Institut Curie, Paris ; (3) Service de Génétique Oncologique, Institut Curie, Paris ; (4) Département de Génétique Humaine, CHU Sart Tilman, Liège, Belgique

Objectifs : L'Ataxie télangiectasie (AT) est une maladie récessive de l'enfant caractérisée par une ataxie cérébelleuse dégénérative, des télangiectasies cutanées ou muqueuses, un déficit immunitaire et un risque augmenté de cancer. Des études sur les apparentés de patients AT ont montré que les femmes hétérozygotes AT (HetAT) ont un risque de cancer du sein (CS) multiplié par ~3 par rapport à la population générale. Cependant, la causalité des gènes de l'AT dans le CS est discutée : peu d'études en population générale (c'est-à-dire cas de CS non sélectionnés) de type cas témoin ou de cohorte ont observé une association entre le gène ATM et le CS (ex : FitzGerald *et al.*, 1997) et aucune étude sur les apparentés de patients AT n'observe de tendance entre l'augmentation de la probabilité d'être porteur d'une mutation des gènes de l'AT et le risque de CS (J. Hall, 2005). Dans ce travail, nous nous sommes particulièrement intéressés à l'absence de tendance en explorant l'hypothèse qu'elle pouvait être partiellement expliquée par le mode de recensement des apparentés et par les méthodes utilisées pour déterminer leur statut vis-à-vis de la mutation ATM (statut ATM), méthodes pouvant a posteriori s'avérer plus ou moins biaisées.
Données et méthodes : De 1994 à 1997, 34 familles ont été recensées à partir d'enfants AT. Les données démographiques, la survenue de cancer et les prélèvements sanguins ont été recueillis auprès des apparentés du 1er au 3e degré de l'enfant AT (Janin *et al.*, 1999). Le nombre observé de cancers a été comparé au nombre attendu calculé à partir des données d'incidence estimées France entière.
Trois méthodes ont été utilisées pour définir le statut ATM des individus : (1) l'approche « a priori » : le statut est déterminé par la probabilité d'être porteur de la mutation selon le degré de parenté avec l'enfant AT ; (2) l'approche « mixte » : le statut est déterminé par l'étude moléculaire ou en l'absence de prélèvement sanguin, calculé à partir du statut de l'apparenté testé le plus proche ; (3) l'approche « mixte corrigée » : afin d'éviter le biais potentiel dû au fait que seuls les survivants ont pu être testés, le statut d'un individu testé est déterminé par la probabilité a priori d'être porteur, le résultat de l'étude moléculaire servant alors à déterminer le statut de ses apparentés (Olsen *et al.*, 2005).
Résultats : Quelle que soit la méthode utilisée, on observe un risque relatif (RR) de CS élevé chez les HetAT. Ce RR est moins élevé mais plus précis avec l'approche « mixte » (RR = 3,88) qu'avec l'approche « a priori » (RR = 4,48) ou l'approche « mixte corrigée » (RR = 5,13). Le RR de CS est particulièrement élevé dans le groupe des mères (RR = 7,1), mais aussi dans le groupe des apparentées ayant une probabilité 0,125 d'être porteuse. Chez ces dernières, l'excès de risque semble être dû à un sur-échantillonnage de fratries éloignées lorsqu'un des membres de cette fratrie a un antécédent de cancer. En ignorant cette catégorie, le test de tendance est significatif avec les approches « a priori » (p = 0,012) et « mixte corrigée » (p = 0,048).
Conclusion : Les méthodes utilisées pour déterminer le statut ATM modifient peu les estimations du RR de CS chez les HetAT. Par contre, la précision des estimations y est très sensible. La prise en compte des données moléculaires a clairement introduit un biais dû au sur-génotypage des cas de CS comparé aux apparentés non atteints. Ce biais se traduit par une sous estimation du risque de CS chez les apparentés au génotype incertain, expliquant l'absence de tendance initialement observée. Le test de tendance significatif observé en utilisant les méthodes « a priori » et « mixte corrigée » va dans le sens d'un lien de causalité entre ATM et CS. Le risque paraît plus élevé chez les mères que chez les autres HetAT mais les faibles effectifs ne permettent pas la mise en évidence d'une différence significative entre ces deux groupes. Des études à un échelon international permettront de préciser l'association entre ATM et CS.

Mots-clés : *ATM*, cancer du sein, tendance.

■P448 / 110. SIGNATURE MOLÉCULAIRE DE GLANDES MAMMAIRES DE RATTES AYANT REÇU UN RÉGIME RICHE EN PHYTO-ŒSTROGÈNES

Stéphanie Bornes (1), Nasséra Chalabi (1), Ludovic Le Corre (1), Laetitia Delort (1), Marie-Noelle Horcajada (2), Marie-Jeanne Davicco (2), Pierre Lebecque (2), Véronique Coxam (2), Yves-Jean Bignon (1), Dominique Bernard-Gallon (1)
(1) Centre Jean-Perrin, Département d'oncogénétique, Centre Biomédical de recherche et Valorisation, 28, place Henri-Dunant, 63000 Clermont-Ferrand, France ; (2) Groupe ostéoporose, U3M, INRA Theix, 63122 Saint-Genès-Champanelle, France

Les phyto-œstrogènes sont des composés phénoliques dont la structure est proche de celle du 17 beta-œstradiol et qui ont la capacité de se lier aux récepteurs aux œstrogènes et d'exercer des effets pro et anti- œstrogéniques. Parmi les phyto-œstrogènes, les isoflavones comme la génistéine et la daidzéine sont retrouvés essentiellement dans le soja. Des études épidémiologiques montrent un effet du mode de vie et notamment de l'alimentation sur le risque de développer un cancer et les phyto-œstrogènes du soja ont été montré comme étant des facteurs protecteurs. En effet, l'incidence du cancer du sein est plus faible dans les populations asiatiques qui ont une alimentation riche en soja (30 à 50 g par jour) par rapport aux populations occidentales.
L'objectif de ce travail est d'étudier les conséquences d'un régime riche en phyto-œstrogènes de soja sur l'expression génique de glandes mammaires de rattes. Une étude longitudinale a été réalisée. Deux générations de rattes ont suivi un régime alimentaire contrôle ou un régime riche en phyto-œstrogènes du soja (Novasoy) soit 0,87 mg d'isoflavones par g de nourriture ingéré. Les glandes mammaires des rattes de la génération F1 ayant suivi l'un ou l'autre des deux types de régimes alimentaires ont été prélevées à différents âges. Dans un premier temps, les ARN extraits à partir de ces glandes mammaires sont hybridés sur des biopuces pangénomiques de rat (44 000 gènes) (Agilent Technologies) afin de définir un profil d'expression génique chez les rattes ayant mangé des grandes quantités d'isoflavones par rapport aux rattes ayant suivi un régime standard. L'analyse des résultats des biopuces transcriptome est effectuée à l'aide des logiciels Genepix et Midas et nous permet de mettre en évidence des variations d'expression de certains gènes. Cette analyse à grande échelle sera complétée par RT-PCR quantitative en temps réel selon la méthode Taqman qui nous permettra de vérifier et d'évaluer plus précisément les variations d'expression des gènes observées en biopuces. L'ensemble des résultats obtenus nous permettra d'établir une signature moléculaire spécifique des glandes mammaires de rattes ayant reçu un régime alimentaire riche en phyto-œstrogènes et de comprendre par quels mécanismes les phyto-œstrogènes du soja exercent leur effet protecteur envers le cancer du sein.

Mots-clés : phyto-œstrogènes, biopuces, rattes.

■P449 / 120. EFFETS D'UN TRAITEMENT PAR LE LYCOPÈNE SUR LA SIGNATURE MOLÉCULAIRE DE CELLULES MAMMAIRES HUMAINES EN LIGNÉE CONTINUE

Nasséra Chalabi, Ludovic Le Corre, Laetitia Delort, Stéphanie Bornes, Yves-Jean Bignon, Dominique Bernard-Gallon
Centre Jean-Perrin, INSERM UMR 484, UdA, Centre Biomédical de Recherche et Valorisation, Département d'Oncogénétique, 28, place Henri-Dunant, BP 38, 63001, Clermont-Ferrand, France

Avec l'essor de la génomique fonctionnelle et le séquençage du génome, la technologie des puces est une des techniques d'analyse moléculaire à grande échelle les plus utilisées. En effet, elle consiste à mesurer simultanément le niveau d'expression d'un grand nombre de gènes dans le but de détecter un différentiel d'expression. Dans le cas de la cancérogenèse mammaire, un grand nombre de gènes serait impliqué mais le cancer du sein reste une maladie multifactorielle où interviennent à la fois des facteurs biologiques et des facteurs liés aux comportements individuels et à l'environnement. Parmi ces facteurs, l'alimentation jouerait un rôle essentiel. Nous nous sommes intéressés à la famille des caroténoïdes et plus particulièrement au lycopène de la tomate. Le but de cette étude est de déterminer si le lycopène a un effet sur l'expression des gènes impliqués dans le cancer du sein. Pour cela, une biopuce transcriptome contenant 202

gènes a été conçue par dépôt d'oligonucléotides. L'étude a été réalisée sur 3 lignées continues issus de cellules mammaires humaines tumorales (MCF-7, MDA-MB-231) ou non tumorales (MCF-10a) supplémentées ou non avec 10 µM de lycopène pendant 48 h. Dans le but de générer une hybridation compétitive, les ARN issus des cellules témoins non traitées ont été marqués à la cyanine 3 (verte) et les ARN issus des cellules traitées par le lycopène à la cyanine 5 (rouge). L'ensemble a été déposé sur la biopuce pour une hybridation d'une nuit à 37 °C dans une atmosphère humide. Après quantification et normalisation des signaux obtenus, les données ont été analysées et des regroupements hiérarchiques ont été réalisés.
Les résultats montrent une influence du traitement par le lycopène sur les cellules mammaires tumorales et non tumorales sur l'expression de gènes impliqués dans différentes fonctions telles que l'apoptose, la régulation du cycle cellulaire et la réparation de l'ADN. Néanmoins, chaque lignée continue montre une signature moléculaire spécifique de chaque type cellulaire, probablement due à leurs statuts différents en récepteurs aux œstrogènes et à l'acide rétinoïque via lesquels le lycopène pourrait exercer ses effets.

Mots-clés : transcriptome, cancer du sein, lycopène.

■P450 / 121. ÉTUDE DE COHORTE FRANÇAISE SUR L'ATAXIE-TÉLANGIECTASIE (COF-AT) : 2003-2006

E. Cavaciuti (1), A. Laugé (2), A.K. d'Almeida (1), M. Labbé (1), M.-G. Dondon (3), N. Janin (4), J.-O. Bay (5), J. Hall (6), groupe CoF-AT (*), D. Stoppa-Lyonnet (2), N. Andrieu (1) * = Dr C. Adenis (Centre Oscar-Lambret, Lille), Dr P. Berthet (Centre François-Baclesse, Caen), Dr V. Bonadona (Centre Léon-Bérard, Lyon), Dr A. Chompret (Institut Gustave-Roussy, Villejuif), Dr P. Collignon (Hôpital Font-Pré, Toulon), Dr I. Coupier (Hôpital Arnaud-de-Villeneuve, Montpellier), Dr K. Dahan (Centre Hospitalier de Luxembourg, Luxembourg), Dr L. Demange (Polyclinique de Courlancy, Reims), Dr C. Dugast (Centre Eugène-Marquis, Rennes), Dr L. Faivre (CHU Hôpital d'Enfants, Dijon), Dr F. Fellmann (Hôpital Saint-Jacques, Besançon), Dr M. Frenay (Centre Antoine-Lacassagne, Nice), Dr J.-P. Fricker (Centre Paul-Strauss, Strasbourg), Pr B. Gilbert-Dussardier (Hôpital Jean-Bernard, Poitiers), Dr L. Gladieff (Institut Claudius-Regaud, Toulouse), Dr C. Lasset (Centre Léon-Bérard, Lyon), Pr B. Leheup (Hôpital Brabois, Nancy), Dr S. Lejeune (Institut Curie, Paris), Dr D. Leroux (CHU, Grenoble), Dr J. Lespinasse (Centre Hospitalier, Chambéry), Dr M. Longy (Institut Bergonié, Bordeaux), Dr Alain Lortholary (Centre Catherine de Sienne, Nantes), Dr S. Nizard (CHR Hôpital de la Source, Orléans), Dr P. Rohrlich (Hôpital Saint-Jacques, Besançon), Dr C. Thauvin (CHU Hôpital d'Enfants, Dijon), Dr P. Vennin (Centre Oscar-Lambret, Lille), Dr H. Zattara-Cannoni (Hôpital d'Enfants de la Timone, Marseille)
(1) Inserm Emi 00-06 & Service de Biostatistiques, Institut Curie, Paris ; (2) Service de Génétique Oncologique, Institut Curie, Paris ; (3) Inserm IC10213, Service de Biostatistiques, Institut Curie, Paris ; (4) Département de Génétique Humaine, CHU Sart Tilman, Liège, Belgique ; (5) Unité de Transplantation médullaire et Laboratoire d'Oncologie Moléculaire, Centre Jean-Perrin, Clermont-Ferrand ; (6) Groupe de la Réparation de l'ADN, CIRC, Lyon

L'Ataxie-Télangiectasie (AT) est une maladie génétique récessive de l'enfant caractérisée par une ataxie cérébelleuse dégénérative, des télangiectasies cutanées ou muqueuses, un déficit immunitaire et un risque augmenté de cancer. Les femmes hétérozygotes AT auraient un risque relatif de cancer du sein (CS) de l'ordre de 3 comparé à la population générale. En 1995 a été identifié un premier gène (ATM) responsable de cette maladie, codant une protéine impliquée dans la réparation des cassures double-brin de l'ADN. Bien que l'AT soit rare (entre 1 cas sur 100 000 naissances et 1 sur 40 000), on estime à 0,5 % la proportion d'hétérozygotes pour les gènes de l'AT dans la population. Ce trait génétique pourrait donc être impliqué dans un pourcentage non négligeable de CS.
Les objectifs de l'étude CoF-AT sont les suivants : proposer une surveillance mammaire aux femmes apparentées à un enfant atteint d'AT, estimer précisément le risque de cancer associé aux gènes de l'AT, rechercher les facteurs de risque associés et étudier les caractéristiques du CS chez les hétérozygotes AT.
Une cohorte de femmes apparentées à un enfant atteint d'AT est en cours de constitution depuis mai 2003. Un total de 800 inclusions de femmes hétérozygotes et non-hétérozygotes est attendu. Les femmes appartiennent aux familles recrutées lors de l'étude familiale rétrospective (Janin *et al.*, 1999) et aux nouvelles familles identifiées dans le cadre du diagnostic des enfants atteints. Ces nouvelles familles sont contactées par l'intermédiaire des pédiatres, des neuropédiatres, des généticiens et de l'APRAT. Les femmes sont interrogées tous les deux ans sur leurs antécédents personnels et familiaux de cancer et sur leur exposition aux facteurs de risque. Le suivi médical proposé consiste en une surveillance mammaire clinique, et si les femmes ont 40 ans et plus, une mammographie leur est prescrite tous les deux ans par leurs médecins habituels. Une DNAthèque et une tumorothèque sont mises en place.
Un peu plus de 2 ans après le début de l'étude, environ 180 familles AT ont été identifiées à partir des dossiers médicaux du laboratoire de Génétique Oncologique de l'Institut Curie. 112 familles ont été invitées à participer, soit 371 femmes : 182 femmes appartenant à 57 familles différentes ont accepté de participer (49 %), 41 ont refusé (11 %), 148 n'ont pas encore répondu (40 %). L'avancement de l'étude CoF-AT sera présenté en détail et les caractéristiques de la population incluse en janvier 2006 seront décrites.

Mots-clés : ATM, risque de cancer, étude prospective.

■P451 / 127. OPTIMISATION DE LA DÉTECTION DES MUTATIONS MMR À PARTIR D'UNE BASE DE DONNÉES CLINIQUES DE CANCERS DE L'ENDOMÈTRE SUIVIS ET TRAITÉS

P. Legrand, S. Meunier, V. Dupuis, G. Pourcher, S. Nasca, M.C. Gorisse, C. Delvincourt, T.D. Nguyen
DIM, unité de recherche clinique, unité d'oncogénétiqiue et de biologie oncologique

La survenue d'un cancer colo-rectal est habituellement l'évènement clinique qui déclenche une investigation oncogénétique sous la forme d'une consultation avec reconstitution d'un arbre. Les cancers appartenant au spectre étroit du syndrome HNPCC ont cependant tous la même signification « oncogénétique », et notamment les cancers de l'endomètre. Le risque cumulé pour une femme présentant une mutation délétère, de développer un cancer colo-rectal est le même que celui de développer un cancer de l'endomètre. Il s'établit entre 30 % et 40 %. Ce travail repose sur le postulat qu'il est possible de retrouver dans une population de femmes atteintes d'un cancer de l'endomètre autant de femmes porteuses de mutation MMR que dans une population de femmes atteintes d'un cancer colorectal. Il s'agit d'une étude rétrospective fondée sur la succession de processus d'élimination des dossiers pour ne conserver que ceux pouvant jusitifier une consultation oncogénétique. Entre 1993 et 2004, la base de données de l'institut Jean-Godinot a retrouvé 696 cas de cancers de l'endomètre prouvés histologiquement. Nous avons éliminé les dossiers de patientes dont lâge au moment du diagnostic était supérieur à 60 ans. Nous avons ensuite sélectionné les seules patientes en vie aux dernières nouvelles. Cent douze dossiers ont été retenus et nous avons adressé à ces 112 personnes un courrier d'information, un questionnaire anonymisé et une enveloppe timbrée pour la réponse. Un courrier a également été adressé au dernier médecin traitant connu. Entre juin 2005 (date d'envoi) et octobre 2005, nous avons reçu 76 réponses soit 68 %. L'analyse des questionnaires montrait que 13 patientes n'avaient pas d'antécédents familiaux de cancers, 33 autres avaient des antécédents de cancers gynécologiques, et 18 femmes rapportaient un ou plusieurs antécédents de cancers digestifs.
Six questionnaires étaient inexploitables. Parmi les 18 cas de familles comptant au moins un cas de cancer intestinal et un cas de cancer de l'endomètre survenu avant l'âge de 60 ans, nous avons retrouvé une famille déjà identifiée comme porteuse d'une mutation MMR. Les 17 patientes restantes vont maintenant recevoir par courrier une information sur la consultation oncogénétique et le syndrome HNPCC. Elles pourront ainsi décider ou non de déclencher une démarche d'information directe au travers de la consultation d'oncogénétique.
Conclusion : Ce travail rétrospectif de concentration des indications possibles de consultation oncogénétique afin d'optimiser la mise en évidence de nouvelles mutations MMR a montré, d'après les auteurs, sa faisabilité. Les résultats définitifs en terme de diagnostic seront rapportés ultérieurement.

Mots-clés : syndrome HNPCC, cancers de l'endomètre, consultation oncogénétique.

■P452 / 129. 20 % DES POLYPOSES ADÉNOMATEUSES COLORECTALES NON LIÉES À *APC* SONT ASSOCIÉES À DES MUTATIONS DU GÈNE MYH

M. Blayau (1), C. Dugast (2), B. Buecher (3), D. Bonneau (4), G. Bouguen (5), JF Bretagne (5), V. David (1)
(1) Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHU Rennes ; (2) Service de Génétique Médicale, CHU Rennes ; (3) Unité d'Oncologie Génétique, Centre René-Gauducheau, Nantes ; (4) Service de Génétique, CHU Angers ; (5) Service des Maladies de l'Appareil Digestif, CHU Rennes

Les polyposes adénomateuses familiales (PAF) sont classiquement associées à des mutations du gène APC transmises sur le mode autosomique

dominant. En 2002, une équipe britannique a montré l'implication du gène MYH dans la prédisposition aux adénomes colorectaux multiples et au cancer. Ce gène, homologue humain de Mut Y, intervient dans la réparation de l'ADN par un mécanisme d'excision de base (BER) et son dysfonctionnement conduit à un excès de transversions G>T produites lors du stress oxydatif de l'ADN. Le phénotype de la polypose associée à MYH est proche de celui des PAF atténuées et de certains HNPCC. Quant au mode de transmission initialement décrit comme autosomique récessif, il est parfois complexe et reste à préciser. Afin d'évaluer la fréquence des mutations du gène MYH dans les polyposes colorectales atténuées associées ou non à un cancer, nous avons étudié une cohorte de 56 patients dont l'étude du gène APC s'était révélée négative. Les 16 exons du gène MYH et leurs régions flanquantes ont été séquencés chez chacun d'eux.
Des mutations ont été identifiées chez 11 patients (19,6 %) :
– 1 patient a une mutation unique à l'état hétérozygote (p.Gly382Asp).
– 10 sont porteurs de 2 mutations du gène MYH.
Les mutations les plus fréquemment décrites dans la population caucasienne (p.Arg165Cys et p.Gly382Asp) représentent 71 % des mutations identifiées. Elles sont retrouvées à l'état homozygote (2 sujets) et à l'état hétérozygote composite (7 sujets) associées entre elles ou à des mutations plus rares : (p.Gln324X ; c.891+3A>C ; c.1103delC ; c.1186_1187insGG). Les 2 mutations caucasiennes sont absentes chez 1 seul des 11 patients (p.Pro391Leu /c.1103delC). L'âge moyen des patients (9 hommes et 2 femmes) ayant au moins une mutation du gène MYH est de 46,5 ans. Tous sont porteurs d'adénomes rectocoliques (11 à 100) et un cancer colique est associé à la polypose chez 7 d'entre eux (63,6 %).
Cette étude confirme l'importance du gène MYH dans les prédispositions aux adénomes colorectaux associés ou non à un cancer. Ce gène doit donc désormais être pris en compte pour le diagnostic moléculaire et le conseil génétique.

Mots-clés : polypose adénomateuse familiale, gènes de réparation de l'ADN, cancer colorectal.

■P453 / 130. ÉVALUATION DE L'IMPLICATION DES MUTATIONS Y165C ET G382D DU GÈNE *MYH* DANS LA CARCINOGENÈSE COLORECTALE SPORADIQUE

Hélène Colman (2), Sébastien Küry (1, 2), Catherine Scoul (2), Audrey Donnart (2), Claire LeHouérou (1), Mathieu Schnee (3), Jean Ollivry (4), Bernard Lafraise (5), Louis-Dominique Chupin (6), Jean-Paul Galmiche (1), Bruno Buecher (1, 2), Stéphane Bézieau (1, 2)
(1) Institut des Maladies de l'Appareil Digestif (IMAD) et CIC INSERM, CHU de Nantes ; (2) Laboratoire d'Étude du Polymorphisme de l'ADN (LEPA), Faculté de Médecine de Nantes ; (3) Service d'Hépato-Gastroentérologie, CHD de La Roche-sur-Yon ; (4) Association des Gastroentérologues de Vendée (AGEV) ; (5) Centre d'Examen de Santé de Saint Nazaire ; (6) Centre d'examen de Santé de La Roche-Sur-Yon

Introduction : Le gène MYH (Mut Y Homolog) code pour une ADN glycosylase impliquée dans la réparation des lésions oxydatives de l'ADN. Récemment, des mutations germinales biallélliques de ce gène ont été impliquées dans la genèse de polyposes adénomateuses de phénotype généralement atténué. Il existe en revanche peu de données concernant la signification des mutations monoalléliques de MYH et leur prévalence dans la population générale.
L'objectif de notre étude est d'évaluer l'implication éventuelle des deux mutations les plus fréquentes du gène MYH identifiées en Europe occidentale, Y165C et G382D, dans la carcinogenèse colorectale sporadique, par comparaison des données du génotypage d'une cohorte de 1000 individus avec antécédent personnel de cancer colorectal (« cas ») et d'une cohorte de 1000 individus « témoins », indemnes de cette affection.
Matériels et Méthodes : Le matériel de cette étude correspond à la banque d'ADN constituée au laboratoire et correspondant à l'ADN extrait des leucocytes des individus de ces 2 cohortes. Le génotypage des mutations Y165C et G382D est réalisé au moyen du système de discrimination allélique TaqMan. Les amorces et les sondes TaqMan spécifiques ont été synthétisées par PPE Applied Biosystems (Foster City, CA). Après amplification PCR, la lecture de la fluorescence en point final est effectuée sur l'instrument de mesure Applied Biosystems 7900HT et les génotypes sont assignés grâce au logiciel de discrimination allélique SDS (Applied Biosystems). Des échantillons de contrôle de qualité ainsi que des contrôles négatifs ne contenant pas d'ADN, sont inclus dans chaque analyse.
Résultats : Les résultats du génotypage et le calcul du risque relatif de cancer colorectal associé à la présence de l'une et/ou de l'autre de ces mutations seront disponibles à la fin de l'année 2005 et présentés au congrès.
Conclusion : L'identification d'un risque accru de cancer colorectal permettrait d'établir des recommandations de dépistage spécifiques, sur la base des données génotypiques. L'étude de la signification d'autres mutations germinales du gène MYH de même que de mutations d'autres gènes codant pour des protéines coopérant avec MYH pour la réparation des lésions oxydatives de l'ADN par excision de base est également prévue.

Mots-clés : gène *MYH*, mutations germinales monoalléliques, carcinogenèse colorectale sporadique.

■P454 / 141. POLYMORPHISME ALA148THR (C.442 A) DU GÈNE *CDKN2A* ET SUSCEPTIBILITÉ AU MÉLANOME : RÉSULTATS D'UNE DOUBLE ÉTUDE FRANÇAISE ET ITALIENNE

Nadem Soufir (1), Tania Spica (1, 2), Marc Portela (1), Bénédicte Gérard (1), Vincent Descamps (3), Béatrice Crickx (3), Laurence Ollivaud (4), Alain Archimbaud (4), Nicolas Dupin (5), Isabelle Gorin (5), Pierre Wolkenstein (6), Dominique Vitoux (7), Céleste Lebbe (4), Philippe Saiag (8), Nicole Basset-Seguin (4), Maria Concetta Fargnoli (2), Ketty Perris (2), Bernard Grandchamp (1), Melan-Cohort
(1) Laboratoire de Biochimie Hormonale et Génétique, Hôpital Bichat-Claude-Bernard ; (2) Service de Dermatologie, Hôpital de l'Aquila, Italie, Paris ; (3) Service de Dermatologie, Hôpital Bichat, Paris, France ; (4) Service de Dermatologie, Hôpital Saint-Louis, Paris, France ; (5) Service de Dermatologie, Hôpital Tarnier, Paris, France ; (6) Service de Dermatologie, Hôpital Henri-Mondor, Créteil, France ; (7) Service de Biochimie Hôpital Saint-Louis, Paris, France ; (8) Service de Dermatologie, Hôpital Ambroise-Paré, Boulogne, France

Introduction : CDKN2A est un gène de prédisposition majeur au mélanome familial. Des données récentes suggèrent qu'un polymorphisme fréquent de ce gène, c.442 A (A148T), augmente le risque de mélanome et de cancer du sein dans une grosse cohorte polonaise (fréquence allélique 7 % chez les malades contre 2,9 % chez les témoins, OR 2,53, p = 0,0003) ; mais le risque de ces cancers dans d'autres populations n'a pas été évalué.
Matériels et méthodes : Après extraction de l'ADN lymphocytaire de tous les participants, ce polymorphisme a été génotypé par sonde Taqman dans le cadre d'une double étude cas-témoin : 184 malades français atteints de mélanomes versus 143 témoins français (région IDF), et 121 mélanomes italiens versus 119 témoins (région de l'Aquila), tous les sujets étudiés étant caucasiens. Les témoins étaient appariés sur l'âge, le sexe, et n'avaient aucun antécédent familial ou personnel de cancer cutané. Une étude de réplication a été faite sur une autre cohorte de 316 mélanomes français.
Résultats : Lors du premier screening, la fréquence de l'allèle c.442 A était de 4 % chez les malades français, de 3,84 % chez les contrôles français, 7 % chez les malades italiens, et 7 % chez les témoins italiens. Il n'y avait donc pas de différence significative entre les malades et les témoins de chaque pays (p respectives 0,65 et 0,52). Deux malades et un témoins étaient homozygotes pour le polymorphisme. L'étude de réplication sur la cohorte de mélanome français montrait une fréquence du polymorphisme de 2,8 %.
Discussion et Conclusion : La fréquence du polymorphisme c.442 A n'est pas significativement différente chez les malades et les témoins dans 2 populations européennes différentes, bien que les fréquences alléliques soient légèrement différentes dans les 2 populations. Ce polymorphisme n'est donc clairement pas associé de manière évidente au risque de mélanome en France et en Italie.

Mots-clés : mélanome, *CDKN2A*, polymorphisme.

■P455 / 142. ANOMALIES GERMINALES DU GÈNE *PATCHED* CHEZ LES SUJETS À RISQUE DE CARCINOMES CUTANÉS BASOCELLULAIRES : RÉSULTATS ET INDICATIONS DU TEST GÉNÉTIQUE

Soufir N. (1), Gerard B. (1), Portela M. (1), Liboutet M. (2), Wolkenstein P. (3), Saiag P. (4), Descamps V. (5), Kerob D. (6), Gorin I. (7), Lebbé C. (6), Dupin N. (7), Crickx B. (5), Basset-Seguin N. (2), Grandchamp B. (1)
(1) Laboratoire de Biochimie Hormonale et Génétique, Hôpital Bichat-Claude-Bernard ; (2) Service de Dermatologie, Hôpital Saint-Louis, Paris ; (3) Service de Dermatologie, Hôpital Henri-Mondor, Créteil ; (4) Service de Dermatologie, Hôpital Ambroise-Paré, Boulogne ; (5) Service de Dermatologie, Hôpital Bichat-Claude-Bernard ; (6) Service de Dermatologie, Hôpital Saint-Louis ; (7) Service de Dermatologie, Hôpital Tarnier, Paris, France

Introduction : La naevomatose baso-cellulaire (syndrome de Gorlin) est une génodermatose rare de transmission autosomique dominante due à des mutations germinales du gène patched et caractérisée par une très forte prédisposition génétique aux carcinomes basocellulaires (CBC) ainsi qu'à de nombreuses malformations. Cependant, plusieurs questions restent en suspens. Le taux de mutations de patched varie d'une étude à l'autre, de 50 à 80 %, les délétions germinales ne sont pas recherchées

systématiquement et la corrélation génotype-phénotype n'a pas été établie. Notamment, l'implication de patched dans d'autres situations faisant suspecter une prédisposition génétique au CBC (CBC survenant à un âge jeune, CBC multiples, CBC familial) en l'absence des autres critères de Gorlin n'est pas connue.
Matériel et Méthodes : Afin de préciser les indications et les modalités du test génétique, dans ce travail, nous avons recherché des mutations et des délétions germinales du gène patched chez 12 patients présentant des critères typiques de syndrome de Gorlin ainsi que chez 55 autres patients suspects de prédisposition génétique au CBC (CBC multiples (39 malades, définis par la survenue d'au moins 2 CBC) et/ou âge au diagnostic < 40 ans (28 malades) et/ou CBC familial (8 malades). Les critères de syndrome de Gorlin étaient la présence d'au moins 2 critères majeurs (CBC multiples, kystes odontogéniques maxillaires, pits palmo-plantaires, calcifications cérébrales), ou l'association d'un critère majeur avec 2 critères mineurs (macrocéphalie, hypertélorisme, kystes épidermiques, anomalies costales ou vertébrales, fibromes ovariens, médulloblastomes). Les 23 exons du gène patched ont été entièrement séquencés, et une recherche de délétion germinale de patched a été réalisée par PCR quantitative en temps réel (exons 1, 4, 15 et 23), et par MLPA (examen des 23 exons).
Résultats : Parmi les 12 sujets atteints de Gorlin typique, 9 présentaient des petites mutations inactivatrices à l'état hétérozygote (5 mutations décalant le cadre de lecture et quatre mutations non sens). En outre, une grande délétion germinale emportant de l'exon 4 jusqu'à l'exon 23 a été identifiée chez un autre patient atteint de naevomatose basocellulaire par les 2 techniques. La ségrégation de deux mutations a été vérifiée dans 2 familles de Gorlin. Parmi les 55 patients atteint de CBC hors Gorlin, seule une mutation faux sens de patched dont le caractère pathogène est incertain a été identifié chez un patient atteint de CBC multiple.
Discussion : Les anomalies germinales de patched sont présentes chez 83 % des patients Gorlin contre seulement 1,8 % des autres patients suspects de prédisposition génétique au CBC ($p < 0,0001$). La délétion germinale retrouvée chez un patient conforte l'existence de délétions de patched dans la prédisposition au syndrome de Gorlin.
Conclusion : Les anomalies germinales de patched sont donc présentes quasi-exclusivement chez les patients présentant les critères complets de syndrome de Gorlin et très rarement dans les autres situations faisant suspecter une prédisposition clinique au CBC. Par conséquent, ceci a une importance cruciale pour le conseil génétique, et nous proposons que la recherche d'anomalies germinales de patched ne soit réalisée que chez les patients porteurs des critères complets de Gorlin avec la stratégie suivante : recherche de mutations ponctuelles par séquençage de la totalité de la séquence codante du gène, puis recherche de délétions germinales en l'absence de mutation détectée.

Mots-clés : Gorlin, *PATCHED*, conseil génétique.

■P456 / 156. CONTRIBUTION DU GÈNE *BOP1* À L'ANEUPLOÏDIE DES CANCERS COLORECTAUX

A. Killian (1), C. Vasseur (1), F. Le Pessot (2), A. Lamy (2), F. Blanchard (2), M. Laurent (2), J.C. Sabourin (2), R. Sesboüé (1), J.M. Flaman (2), T. Frébourg (1)
(1) Inserm U614, Faculté de Médecine de Rouen ; (2) Laboratoire de Génétique Somatique des tumeurs, Service d'Anatomie et de Cytologie Pathologiques, CHU de Rouen

La majorité des tumeurs solides présente une forte instabilité chromosomique (CIN) qui contribue à la transformation maligne en favorisant la perte de gènes suppresseurs ou le gain d'oncogènes. Il est donc aujourd'hui essentiel d'identifier les gènes dont les altérations sont à l'origine de cette instabilité. Grâce à un crible biologique utilisant une souche de levure indicatrice de l'instabilité chromosomique, nous avons identifié des gènes candidats dont l'inactivation ou l'activation perturbe la ségrégation correcte des chromosomes. Nous avons ainsi récemment mis en évidence que l'altération de plusieurs gènes impliqués dans la biogenèse des ribosomes induisait une instabilité chromosomique dans différents modèles expérimentaux. Afin de rechercher, dans des tumeurs coliques primaires, d'éventuelles anomalies de ces gènes pouvant contribuer à l'aneuploïdie observée dans ces cancers, nous avons utilisé une version somatique de la QMPSF (Quantitative Multiplex PCR of Short Fluorescent fragments). La QMPSF somatique permet, en une seule PCR, en comparant pour chaque patient le profil de la tumeur et celui du tissu non tumoral de détecter des altérations géniques quantitatives somatiques (pertes d'hétérozygotie (LOH) et amplifications géniques). L'analyse de 57 cancers colorectaux par QMPSF somatique a révélé une augmentation du nombre de copies du gène BOP1 dans un pourcentage élevé de tumeurs (21/57 soit 37 %). Lorsque l'ARN des échantillons était disponible, nous avons montré que ces gains de copies étaient associés à une augmentation de l'expression du gène BOP1, ce qui suggère que ces altérations ont une conséquence fonctionnelle. Le gène BOP1 étant situé dans la même région chromosomique que l'oncogène MYC (8q24.3), nous avons cartographié par QMPSF spécifique de cette région les amplifications de BOB1 et MYC. Cette analyse a révélé que certaines tumeurs présentaient une augmentation exclusive de nombre de copies de BOP1 indiquant que l'augmentation du nombre de copies de BOP1, que nous avions détectée, ne reflétait pas simplement l'amplification de MYC. Nous avons alors généré des constructions rétrovirales permettant de surexprimer la protéine BOP1 dans des cellules humaines.
Nos résultats préliminaires indiquent que cette surexpression augmente de façon significative le nombre de mitoses anormales. Ces travaux indiquent que l'augmentation du nombre de copies du gène BOP1 localisé en 8q24.3 est un événement fréquent dans les cancers colorectaux et que cette augmentation pourrait contribuer à l'aneuploïdie observée dans ces tumeurs et à l'oncogenèse des tumeurs présentant une amplification de MYC.

Mots-clés : instabilité chromosomique, QMPSF, *BOP1*.

■P457 / 161. ÉVALUATION D'UNE MÉTHODE DE CRIBLAGE PAR DHPLC DU GÈNE *RET* : DIAGNOSTIC GÉNÉTIQUE DES NEM2 ET FCMT

M.C. Gorisse (1), B. Maes (1), C. Schvartz (1), D. Gaillard (2), M. Doco-Fenzy (2), A. Kolkes (1), C. Delvincourt (1)
(1) Institut Jean-Godinot, Biologie Oncologique et Médecine Nucléaire, Reims ; (2) Centre Hospitalier Universitaire, Service de Génétique et de la Reproduction, CECOS, Reims

Le cancer médullaire de la thyroïde (CMT) est une tumeur rare dérivée des cellules C de la thyroïde. Environ 75 % des cas sont d'origine sporadique et 25 % d'origine familiale. Ces derniers surviennent dans le cadre de néoplasies endocriniennes multiples (NEM2A et NEM2B) et de FCMT (CMT familial isolé). Le protooncogène RET (REarranged during Transfection) est le gène de prédisposition à ces néoplasies.
L'étude a évalué la performance d'une technique de criblage mise au point pour la détection des variants du gène RET par méthode dHPLC (denaturating High Pressure Liquid Chromatography), chromatographie liquide à haute pression en condition dénaturante. Les conditions opératoires ont été déterminées pour l'analyse des exons 8, 10, 11, 13, 14, 15 et 16 et des jonctions intron-exon (? 30 nucléotides). La détection des variants a été réalisée avec le sytème WAVE (Transgenomic). Le choix de 2 ou 3 températures de dénaturation pour chaque amplicon a permis d'optimiser la séparation des différents profils d'élution pour un même amplicon. Les profils d'élution ont été comparés après normalisation afin d'obtenir une meilleure discrimination.
L'étude rétrospective a été réalisée pour les 7 exons du gène RET à partir de l'ADN constitutionnel de 30 sujets atteints de CMT et de 10 témoins. Tous les échantillons avaient préalablement été étudiés par séquençage direct. Une mutation avait été identifiée chez 10 d'entre eux et pour 4 d'entre eux au moins un polymorphisme avait été caractérisé. Pour 5 CMT aucun polymorphisme n'avait été noté. Parmi les 15 autres, de 1 à 3 polymorphismes avait été identifié par séquençage.
Toutes les mutations ou polymorphismes identifiés par séquençage ont été détectés par dHPLC. Des profils d'élution spécifiques ont été observés pour différents variants au sein d'un même exon. Par exemple 4 profils d'élution ont été obtenus pour l'exon 14 correspondant respectivement à un amplicon normal, au polymorphisme S836S, à la mutation V804M et à l'association du polymorphisme S836S et de la mutation V804M. L'étude des jonctions intron-exon a permis la détection de SNP identifiés par séquençage : IVS16+54 A>T, IVS14-24 G>A et 2 SNP associés IVS8+83 G>A et IVS8+88delC.
En conclusion, la méthode de criblage par dHPLC des exons du gène RET affectés par des mutations germinales dans le cadre des NEM 2 et des FCMT est une méthode fiable, sensible et rapide.

Mots-clés : *RET,* dHPLC, CMT.

■P458 / 171. DESCRIPTION D'UNE DOUBLE HÉTÉROZYGOTIE *BRCA1* ET *BRCA2* CHEZ UNE PATIENTE D'ORIGINE FRANÇAISE PORTEUSE D'UN CANCER OVARIEN

C. Dugast (1), S. Krieger, J.J. Baumann, A. Hardouin (2), B. Laguerre (3), F. Foucher (4), S. Odent (5)
(1) Service d'oncologie, Centre Eugène-Marquis, Rennes /Service de génétique, CHU Rennes ; (2) Laboratoire de biologie, Centre Francois-Baclesse, Caen ; (3) Service d'oncologie, Centre Eugène-Marquis, Rennes ; (4) Service de chirurgie, Centre Eugène-Marquis, Rennes ; (5) Service de génétique, CHU Rennes

BRCA1 et BRCA2 sont 2 gènes majeurs de prédisposition aux cancers du sein et de l'ovaire, de transmission autosomique dominante. La prévalence

des mutations dans la population générale européenne est estimée entre 1/500 et 1/800. Certaines populations, notamment les ashkénazes, ont une prévalence très supérieure avec 1,21 % de la population porteuse d'une des 2 mutations fondatrices de BRCA1 et 1,52 % d'une mutation fondatrice de BRCA2. Il a été rapporté 25 familles porteuses d'une double hétérozygotie BRCA1 et BRCA2, 80 % d'entre elles sont d'origine ashkénaze. Pour les populations non ashkénazes la prévalence de cette double hétérozygotie est faible, de l'ordre de 1/250 000. Nous rapportons le cas d'une patiente d'origine française, porteuse d'une double hétérozygotie BRCA1 et BRCA2 : mutation frameshift 3958del5ins4, ter1280 sur BRCA1 répertoriée dans le Breast cancer Information Core database (BIC) comme délétère et une mutation frameshift délétère sur BRCA2 1864delT, ter557 non répertoriée dans le BIC. À notre connaissance, il s'agit du premier cas français décrit. Dans la littérature, le phénotype ne semble pas plus sévère. Cela semble également être le cas chez notre patiente atteinte à 57 ans d'un carcinome ovarien séropapillaire de grade 3 stade IIIc à 57 ans en évolution métastatique hépatique depuis 2 ans et qui présente un antécédent de tumeur vésicale à 68 ans chez une sœur et un antécédent de cancer ovarien à 43 ans chez sa mère. Une étude de la perte d'hétérozygotie de BRCA1 et BRCA2 est prévue sur la tumeur.

Mots-clés : *BRCA1*, *BRCA2*, double hétérozygote.

■P459 / 187. IDENTIFICATION DE NOUVELLES DÉLÉTIONS GÉNOMIQUES DE *TP53* DANS LE SYNDROME DE LI-FRAUMENI

G. Bougeard (1, 2), S. Vasseur (1), C. Martin (1), L. Brugières (3), A. Chompret (4), B. Bressac-De-Paillerets (5), P. Jonveaux (6), H. Sobol (7), L. Gladieff (8), P. Gesta (9), T. Frebourg (1, 2)

(1) Service de Génétique, CHU de Rouen ; (2) Inserm U614, Faculté de Médecine, Rouen ; (3) Département d'Oncologie Pédiatrique, Institut Gustave-Roussy, Villejuif ; (4) Oncogénétique, Institut Gustave-Roussy, Villejuif ; (5) Service de Génétique, Institut Gustave-Roussy, Villejuif ; (6) Service de Génétique Médicale, CHU de Nancy ; (7) Département d'Oncologie Génétique, Institut Paoli-Calmettes, Marseille ; (8) Oncogénétique, Institut Claudius-Regaud, Toulouse ; (9) Service d'Oncologie, Centre Hospitalier, Niort

L'absence de mutation constitutionnelle détectable de TP53 dans certaines familles atteintes du syndrome de Li-Fraumeni (LFS) a suggéré l'hétérogénéité de ce syndrome, mais cette hypothèse reste controversée. La densité de séquences Alu dans le gène TP53 nous a conduit à rechercher par QMPSF des réarrangements génomiques de TP53 dans des familles suspectes de syndrome de Li-Fraumeni sans mutation détectable de TP53. Nous avons pu ainsi récemment mettre en évidence le premier cas de délétion génomique hétérozygote complète de tous les exons de TP53 dans une grande famille française. Nous avons donc intégré au diagnostic de routine du LFS la recherche de réarrangements par QMPSF, explorant les 11 exons et le promoteur de TP53. L'analyse de 220 familles par séquençage et QMPSF nous a permis d'identifier une altération constitutionnelle de TP53 dans 48 familles. En particulier nous avons mis en évidence 3 délétions génomiques de grande taille, ce qui indique que les réarrangements de TP53 constituent environ 6 % des altérations de TP53 dans le LFS. Point important, nous avons identifié dans 2 familles distinctes 2 délétions emportant l'exon 1 non codant et le promoteur, mais respectant les 10 exons codants de TP53. La présentation clinique des familles présentant ces délétions génomiques de TP53 était similaire à celle classiquement observée dans le LFS, ce qui est un argument définitif démontrant que le LFS résulte d'une haploinsuffisance au locus TP53.

Mots-clés : syndrome de Li-Fraumeni, *TP53*, QMPSF.

■P460 / 188. CONTRUCTION GÉNÉTIQUE DE CELLULES PRÉSENTATRICES D'ANTIGÈNES ARTIFICIELLES POUR L'IMMUNOTHÉRAPIE DES CANCERS COLORECTAUX

E. Fauquembergue (1), A. Drouet (1), S. Baert-Desurmont (1), M. Sadelain (2), T. Frebourg (1), J.-B. Latouche (1)

(1) Inserm U614, Faculté de Médecine de Rouen ; (2) Laboratory of Gene Transfer and Gene Expression, Department of Human Genetics and Immunology Program, Memorial Sloan-Kettering Cancer Center, New York

L'activation et l'expansion in vitro de lymphocytes T cytotoxiques spécifiques d'antigènes tumoraux est une approche thérapeutique très prometteuse du traitement des cancers. Les cellules dendritiques sont les cellules présentatrices d'antigène les plus efficaces pour activer et expandre ces lymphocytes, mais leur utilisation thérapeutique est limitée par la nécessité de les obtenir, pour chaque donneur ou patient, afin d'éviter tout problème d'alloréactivité. Nous avons préalablement démontré qu'il était possible de construire, à partir de fibroblastes, des cellules présentatrices d'antigène artificielles (CPAAs) par transduction rétrovirale (Latouche et Sadelain, Nature Biotechnology 2000). Ces CPAAs (i) permettent une activation de lymphocytes T cytotoxiques supérieure à celle obtenue avec des cellules dendritiques autologues, (ii) sont utilisables pour tout patient dont les cellules expriment la même molécule HLA de classe I, (iii) sont des lignées cellulaires stables qui peuvent être utilisées immédiatement et (iv) représentent des cellules présentatrices d'antigène « universelles », la même CPAA pouvant être transduite avec différents antigènes. En particulier, cette stratégie a déjà été appliquée expérimentalement avec succès aux mélanomes malins et aux lymphomes induits par l'Epstein-Barr Virus. Notre projet vise à développer cette stratégie pour les cancers colorectaux (CCR), en utilisant différents épitopes restreints aux molécules HLA de classe I, associés aux CCR. Nous avons donc généré les CPAAs par transduction de fibroblastes murins avec des vecteurs rétroviraux dérivés du Moloney Murine Leukemia Virus. Ces vecteurs codent pour la molécule HLA A2.1 (molécule HLA de classe I la plus fréquente chez l'homme), la β2-microglobuline humaine, trois molécules de costimulation (B7.1, ICAM-1, LFA-3) ainsi qu'un antigène tumoral. L'ensemble de ces molécules permet de recréer la synapse immunologique nécessaire à l'activation de lymphocytes T CD8 spécifiques. Pour ce projet, nous avons sélectionné les peptides les plus antigéniques restreints à la molécule HLA A2.1, dérivés des antigènes suivants associés aux CCR : antigène carcinoembryonnaire (ACE), Ep-CAM, Her-2/Neu, MAGE-3, récepteur de type II du TGFbeta muté et TP53. Les épitopes résultant de mutations frameshift du gène du récepteur de type II du TGFbeta sont associés au phénotype RER observé dans 12 % des cancers colorectaux et dans le syndrome HNPCC (Hereditary Non Polyposis Colorectal Cancer), première cause de cancer colique héréditaire. Pour les antigènes ACE et Ep-CAM, nous avons également sélectionné deux peptides présentant une mutation artificielle augmentant leur immunogénicité. Pour chacun de ces peptides, nous avons construit un vecteur rétroviral dicistronique permettant l'expression simultanée du peptide et du gène de résistance à la puromycine afin de sélectionner les cellules transduites. Nous avons également cloné, en amont de la séquence d'intérêt, l'ADN complémentaire codant pour le peptide signal du CD8alpha humain, ce qui permet l'adressage de l'antigène vers le réticulum endoplasmique. Nous avons transfecté des cellules productrices de virus puis, avec le surnageant viral, nous avons transduit des fibroblastes murins afin d'obtenir les CPAAs. Après avoir vérifié le phénotype de ces CPAAS par cytométrie en flux, nous les avons irradiées puis mis en co-culture pendant 14 à 21 jours avec des lymphocytes T A2.1 +. L'aptitude de ces CPAAs à induire des lymphocytes T cytotoxiques spécifiques des antigènes associés aux CCR sera analysée in vitro par cytométrie en flux avec des complexes tétramériques, par ELISPOTS, et par essais cytotoxiques. Si des lymphocytes T spécifiques anti-tumoraux peuvent être obtenus grâce à l'utilisation de ces CPAAs, leur effet anti-tumoral sera mesuré in vivo après avoir injecté des lignées tumorales dérivées de cancer colorectal, A2.1+ ou -, à des souris immuno-déficientes.

Mots-clés : cancer colorectal, immunothérapie, rétrovirus.

■P461 / 238. POLYPOSE ADÉNOMATEUSE FAMILIALE CAUSÉE PAR UNE L'INSERTION D'UN ÉLÉMENT ALU DANS L'EXON 14 DU GÈNE *APC*

Raverot V. (1), Lesca G. (1), Laurent-Puig P. (2), Maltaverne A.L. (1), Calender A. (1), Pinson S. (1)

(1) Service de Génétique Médicale et Moléculaire, Hôpital Édouard-Herriot, Lyon, France ; (2) Service de Chirurgie générale et Digestive, Hôpital Européen Georges-Pompidou, Paris, France

Les éléments Alu sont des séquences répétées de l'ADN fréquemment impliquées en pathologie humaine et à l'origine de délétions ou duplications de taille variable, allant d'un exon à plusieurs gènes. L'implication directe des séquences Alu par rétrotransposition dans la séquence codante d'un gène est en revanche beaucoup plus rare, bien que décrite occasionnellement dans un certain nombre de maladies humaines. Nous rapportons la découverte d'une nouvelle mutation correspondant à l'insertion d'un élément Alu dans l'exon 14 du gène APC chez un patient présentant une forme classique de polypose adénomateuse familiale (PAF). Dans la famille du patient, quatre personnes sur 2 générations sont cliniquement malades. L'amplification par PCR de la région codante du gène APC chez ce patient montrait, pour l'exon 14, une bande de taille anormalement grande (650 pb) surajoutée à la bande de taille attendue (300 pb). La purification sur gel d'agarose de la bande anormale, puis son séquençage, ont permis de montrer qu'il s'agissait d'une séquence Alu insérée entre les codons 637 et 638. Cette insertion, d'une taille globale de 366 pb, est composée d'un élément Alu de 282 pb, parfaitement homologue à la séquence consensus AluYa5, d'une queue poly(A) comportant 68 résidus et d'une duplication du site d'insertion de 16 pb. Le cadre de lecture est

conservé, mais la séquence comporte plusieurs codons stop, confortant l'idée qu'il s'agit de la mutation délétère.
À ce jour, seulement deux autres insertions d'éléments transposables dans le gène APC ont été rapportées chez deux patients présentant une forme atténuée de polypose et des tumeurs desmoïdes. Il s'agissait d'une séquence Alu et d'un élément L1, toutes deux étaient insérées au même endroit de l'exon 15. Il semble donc que ces insertions ne se fassent pas au hasard mais au niveau de séquences particulières. Chez notre patient, le phénotype correspond à celui qui est habituellement associé aux mutations de l'exon 14 du gène APC. Chez les patients porteurs d'une mutation par insertion d'un rétrotransposon, le phénotype semble donc plus en rapport avec le site d'insertion qu'avec le type de mutation.

Mots-clés : alu, polypose adénomateuse familiale, *APC*.

■P462 / 254. LE POLYMORPHISME DE LA RÉGION RÉGULATRICE DU GÈNE DE L'INTERLEUKINE 10 (IL10-1082G/A) : NOUVEAU FACTEUR PRONOSTIQUE DE SURVENUE DE CYTOPÉNIE AUTOIMMUNE DANS LA LEUCÉMIE LYMPHOÏDE CHRONIQUE (LLC)

S. Poulain (1), S. Mayolle (1), B. Cazin (2), M. Simon (3), J.P. Pollet (3), P. Duthilleul (1), P. Morel (4)
(1) Service d'Hématologie Immunologie Cytogénétique, CH de Valenciennes ; (2) Service des Maladies du Sang, CHRU de Lille ; (3) Service d'Hématologie Clinique, CH de Valenciennes ; (4) Service d'Hématologie Clinique, CH de Lens

Contexte : Les cytopénies auto-immunes (CAI) figurent parmi les complications de la LLC. L'interleukine 10 (IL10) jouerait un rôle dans la physiopathologie des LLC ainsi que dans celle des anémies hémolytiques auto-immunes (AHAI). Un polymorphisme situé en position -1082 du gène de l'IL10 (IL10(-1082 G/A)) est susceptible de modifier le profil d'expression de la cytokine définissant un profil « haut sécréteur » d'IL10 pour l'allèle G. L'objectif principal de cette étude a été d'évaluer l'influence de ce variant génétique du gène de IL10 ainsi que celle d'autres facteurs pronostiques tels que l'expression du CD38 et de ZAP70 dans la survenue de CAI dans la LLC.
Matériel et Méthodes : Dans cette étude, 99 sujets sains ont été inclus ainsi que 134 patients (pts) porteurs de LLC (84 % pts stade A, 16 % pts stades B/C) dont 35 ont présenté une CAI (LLC/CAI ; 25 AHAI, 4 purpuras thrombopéniques autoimmuns, 6 Syndromes d'Évans). Au cours de l'évolution clinique, 14 pts ont été splénectomisés. Le polymorphisme de l'IL 10 (-1082G/A) a été étudié par discrimination allélique en chimie Taqman-MGB. L'expression du CD38 a été déterminée par comarquage CD5FITC/CD19PE/CD38PC5 en cytométrie de flux (seuil de positivité : 20 % des lymphocytes comarqués CD5/CD19). L'expression de ZAP70 a été analysée en immunocytochimie (Vectastain Élite, (Vector) / Anticorps : clone 2F3.2 (Upstate) chez 92 pts ayant une lymphocytose supérieure à 50G/L (seuil de positivité : 20 % des lymphocytes).
Résultats : La fréquence de l'allèle G est comparable dans le groupe LLC et la population témoin (0,38 vs 0,44). En revanche, la fréquence de l'allèle A du variant IL10 (-1082G/A) est significativement plus élevée dans le groupe LLC/CAI par rapport au groupe LLC sans CAI (0,79 vs 0,57, $p<0,05$). Dans le groupe LLC/CAI, 57,1 % des pts sont IL (-1082 A/A) ; aucun pt n'est homozygote pour l'allèle IL10 (-1082 G). Aucune association significative n'a été observée entre le génotype et le stade de Binet, le délai de survenue de CAI, la splénectomie, l'expression du CD38 et de ZAP70. D'autre part, la fréquence d'expression de ZAP70 est significativement plus élevée dans le groupe LLC/CAI par rapport au groupe LLC sans CAI (61 % vs 28 %, $p<0,05$).
Conclusion : Deux nouveaux facteurs pronostiques en terme de survenue de CAI dans la LLC ont été identifiés : l'expression de ZAP70 et la présence de l'allèle A du variant IL10 (-1082G/A), correspondant à un profil génétique « bas sécréteur » d'IL10.

Mots-clés : LLC, polymorphisme, IL10.

■P463 / 265. LES MUTATIONS DU GÈNE *BRCA1* ET LE CANCER DU SEIN EN ALGÉRIE : HAUTE FRÉQUENCE CHEZ LES CAS SPORADIQUES DE < 38 ANS

N. Uhrhammer (1), A. Abdelhouahib (2), L. Lafarge (1), R. Kraiba (3), A. Kouchkar (4), A. Bendib (2) Y.J. Bignon (1)
(1) Laboratoire Diagnostique Génétique Et Moléculaire, Centre Jean-Perrin, Clermont-Ferrand ; (2) Service de Sénologie, Centre Pierre et Marie Curie, Algiers ; (3) Service de Biologie Cellulaire CPMC ; (4) Service d'Anatomopathologie, CPMC

Les études épidémiologiques ont montré des grandes différences au niveau du cancer du sein entre les populations européennes et de l'Afrique du nord. Notamment, dans le Maghreb, l'incidence de ce cancer est réduit, l'âge moyen de diagnostic est plus jeune, la taille et le grade des tumeurs sont plus élevés. Les différences de taille et de grade peut s'expliquer partiellement par un diagnostic tardif. Les différences importantes en alimentation, le mode de vie, l'histoire reproductive (grossesse plus fréquente et plus précoce, allaitement plus long), ainsi que les variances génétiques peuvent contribuer à l'incidence plus bas et l'âge plus jeune du diagnostic. Nous avons étudié la contribution de mutations du gène BRCA1 au cancer du sein en Algérie. D'une part, nous avons analysé les cas familiaux définis comme nos familles françaises (trois cas de cancer du sein et/ou de l'ovaire dont deux apparentés au premier degré, ou deux cas dont un bilatéral ou diagnostiqué à un âge précoce) et d'autre part les cas sporadiques de moins de 38 ans. Onze cas dans 9 familles et 54 cas sporadiques étaient inclus. Tous les exons et jonctions intron/exon BRCA1 étaient amplifiés et séquencés. La recherche de mutation de grande taille était réalisée par QMPSF. Quatre mutations ont été observées dans les 9 familles (44,4 %), contre 5 pour les 54 cas sporadiques (9,3 %). L'âge moyen au diagnostic des cas familiaux était de 39,5 + 6,4 ans pour les porteuses de mutation et 38,3 + 9,5 pour les non porteuses (contre respectivement 41,2 + 10,4 et 50,3 + 13 chez les familles françaises). Le taux de mutation chez les jeunes femmes sans histoire familiale de cancer était effectivement équivalent à ce qu'on observe chez les cas familiaux en France. Ces résultats suggèrent que, si le cancer du sein est moins fréquent en Algérie qu'en France, la part des cas liée aux mutations germinales de BRCA1 est beaucoup plus importante. Toutefois, il est possible que certains des cas identifiés comme sporadiques sont en effet familiaux. Il existe dans le Maghreb un tabou contre toute discussion de cancer, et souvent les femmes atteintes ne le disent pas à leur proches ; par conséquence le caractère familial du cancer n'est pas détecté. La mutation c.798_799delTT était observée dans deux familles, suggérant un effet fondateur dans la population maghrébine. L'analyse des marqueurs microsatellites autour du locus BRCA1 montre un haplotype commun à toutes les porteuses de cette mutation.
Les dossiers cliniques étaient disponibles pour le plupart des cas. Pour les tumeurs sans mutation BRCA1, une était de grade 1, 23 de grade 2 et 22 % de grade 3. Il y avait 5 tumeurs de type papillaire ou pseudopapillaire, 15 polymorphe, 3 colloïde, une neuroendocrine, une sarcomatoïde, une lobulaire, une juvénile secrétoire et 26 canalaire. Deux sur 12 était ER+ et 19 sur 30 PR+. La taille moyen des tumeurs sans mutation était de 3,42 cm. Pour les tumeurs des porteuses de mutation BRCA1, deux était de grade 2 et cinq de grade 3. Il y avait une de type papillaire, deux polymorphe, une médullaire et cinq canalaire. Une sur 4 était ER+ et une sur 5 PR+. La taille moyen était de 3,9 cm. Pour les cas sans mutation ou porteuses de mutation, respectivement, l'âge moyen aux premières régles était 13,0 ou 13,1 ans (range 12-17 et 12-15) ; la parité 1,76 et 1,71 (range 0-7 et 0-6) ; la durée de l'allaitement 12 et 28 mois (0-120 et 0-72) et l'indice de masse corporelle 24,1 et 23,8 (15,3-34,5 et 20,6-34,2). En conclusion, BRCA1 joue un rôle très important dans le cancer du sein en Algérie, malgré l'incidence réduite de ce cancer dans cette population. De plus, il nous semble que l'analyse moléculaire des gènes BRCA ne doit pas se limiter aux cas familiaux de cancer du sein et/ou de l'ovaire, mais s'étend aux cas sporadiques diagnostiqués avant l'âge de 38 ans. L'analyse moléculaire de gène BRCA2 est également indiquée ; il est actuellement en cours.

Mots-clés : *BRCA1*, cancer du sein familial, cancer du sein sporadique.

■P464 / 271. THYMOMES MULTIPLES ET TRANSLOCATION CONSTITUTIONNELLE T(17;22)(P13;Q11.2)

S. Geffroy (1), F. Nicodème (2), E. Bélot (1), M.-C. Copin (3), M. Conti (2), H. Porte (2), B. Delobel (4), J.-L. Laï (1, 5), J. Andrieux (1, 5)
(1) Laboratoires de Génétique Médicale, Hôpital Jeanne-de-Flandre, CHRU de Lille ; (2) Clinique de chirurgie thoracique, Hôpital Albert-Calmette, CHRU de Lille ; (3) Service d'Anatomie et de Cytologie Pathologiques, Parc Eurasanté, CHRU de Lille ; (4) Centre de Génétique Chromosomique, Université Catholique de Lille ; (5) INSERM Unité 524, Institut de Recherches sur le Cancer de Lille

Mr D, âgé de 26 ans, présente en 1998, 3 masses médiastinales lors d'un examen prescrit par la médecine du travail. Le patient est asymptomatique et le bilan clinique est normal. On ne note aucun antécédent médical personnel particulier, hormis un tabagisme modéré. On ne retrouve pas dans son histoire familiale d'antécédents médicaux en particulier ni fausses-couches spontanées, ni maladie tumorale, ni maladie auto-immune. Le bilan étiologique : bilan biologique inflammatoire, marqueurs tumoraux, sérologie de l'hydatidose reste négatif. Le scanner montre des lésions calcifiées kystiques intra-péricardiques qui restent stables. En 2002, en l'absence de diagnostic, un traitement chirurgical est réalisé avec exérèse des masses médiastinales développées aux dépens du thymus. L'analyse

anatomo-pathologique révéle la présence de multiples thymomes (de type mixte selon la classification de Muller Hermelink et de type AB selon la classification OMS) dans ces amas tumoraux. Une chimiothérapie adjuvante (cyclophosphamide, doxorubicine, cisplatine) compléta le traitement. Depuis ce traitement, les lésions n'ont pas récidivé. Il n'y a pas eu de caryotype réalisé sur les cellules tumorales mais devant la singularité de la survenue de thymomes multiples et la récente description d'une translocation t(14;20) dans une famille avec récurrence de thymomes (Nicodeme *et al.*, 2005), un caryotype constitutionnel a été proposé. Il a mis en évidence une t(17;22)(p13;q11.2) cytogénétiquement équilibrée dans toutes les cellules. L'étude des points de cassure de cette translocation a permis de montrer l'implication de 3 gènes : RTN4RL1 en 17p13, PRAME et IGLC1 en 22q11.2. RTN4RL1 est un gène exprimé principalement dans les neurones des systèmes nerveux embryonnaire et de l'adulte. Un cas de translocation dans les cellules tumorales impliquant 17p a été publié (Sonobe *et al.*, 1999). Des délétions 17p13pter ont été décrites (Inoue *et al.*, 2003), le gène candidat en 17p est P53 gène fréquemment impliqué dans de nombreuses pathologies cancéreuses. Le point de cassure de la t(17;22)(p13;q11.2) se situe en 17p13.3 à 5,6 Mb en position plus télomérique par rapport à P53 17p13.1. Le point de cassure en 22q11.2 est couvert par le BAC RP11-357D12. Ce BAC contient 2 gènes antisens : IGLC1 (immunoglobulin lambda constant 1) qui est fortement exprimé dans le tissu hématopoiétique et notamment dans le thymus, et le gène PRAME (Preferentially Expressed Antigen in Melanoma) qui code pour un antigène tumoral reconnu par les lymhocytes T autologues cytotoxiques. Ce gène est exprimé dans les leucémies aiguës : des études par RT-PCR (van Baren *et al.*, 1998) ont montré que les échantillons de 25 % des leucémies aiguës, de 35 % des leucémies myéloïdes aiguës, et de 15 % des leucémies aiguës lymphoïdes expriment PRAME. Cette expression est d'autant plus importante dans les LAM avec t(8;21) ou t(15;17) (96 % et 45 %), anomalies chromosomiques qui ont un pronostic relativement favorable. Les cellules dendritiques, qui sont présentes avec des lymphocytes mémoire dans les thymomes au niveau d'infiltrats périvasculaires (Nagane *et al.*, 2005), sont également impliquées dans l'immunogénicité des LAM (Li *et al.*, 2005) avec surexpression de plusieurs antigènes dont PRAME. Un cas de translocation impliquant 22q dans une t(15;22) robertsonienne a été publié (Dal Cin *et al.*, 1988). La perte d'hétérozygotie en 6p est l'événement cytogénétique récurrent dans les cellules tumorales, mais à ce jour aucune anomalie génétique causale n'a été mise en évidence. L'étude de la possible implication de PRAME, et des autres gènes impliqués dans cette translocation, dans la pathogenèse du thymome chez ce patient est en cours.
C'est dans notre expérience la deuxième observation d'anomalie cytogénétique constitutionnelle associée à la survenue de thymomes. Il est recommandé de proposer un caryotype constitutionnel dans cette pathologie cancéreuse rare.

Mots-clés : thymome, translocation constitutionnelle, FISH.

■P465 / 272. ASSOCIATION DE SNP DANS LES GÈNES *XRCC2, XRCC3, IGF-1, EGFR* ET *VDR* ET LE CANCER DU SEIN CHEZ LES FAMILLES À RISQUE SANS MUTATION BRCA

Y. Yang, F. Kwiatkowski, Y.-J. Bignon, N. Uhrhammer
Laboratoire Diagnostic Génétique et Moléculaire, Centre Jean-Perrin, Clermont-Ferrand

Les gènes BRCA1 et BRCA2 sont en cause pour une grande partie des agrégations familiales de cancer du sein et de l'ovaire. Pour les familles avec 5 cas de ces cancers, l'un ou l'autre des gènes BRCA est muté dans > 90 %. Par contre, pour les familles comprenant seulement 3 cas de cancers (ou 2 cas dont un bilatéral ou diagnostiqué à un âge précoce), beaucoup plus nombreuses, les gènes BRCA sont en cause dans seulement 20 à 30 % des familles. Une partie des familles non BRCA peut être associée aux mutations dans d'autres gènes tels que ATM et Chk2. Ce sont les gènes de risque modéré, associés à un risque relatif de cancer du sein d'autour de 3, mais ils n'expliquent qu'une petite partie des familles non BRCA. Les autres familles seront liées aux autres gènes de faible pénétrance ou bien aux allèles de risque dans plusieurs gènes à la fois (un modèle polygénique). La littérature cite des variants ou polymorphismes de nombreux gènes comme étant associés au risque de cancer du sein ou à d'autres cancers, dont des allèles spécifiques de IGF-1, EGFR, XRCC2, XRCC3 et VDR. Pour IGF-1 et EGFR, la longueur des STR microsatellites présents dans les régions régulatrices module l'expression de ces gènes, tout deux impliqués dans la prolifération et différenciation cellulaire. Un STR plus long sera associé à l'expression plus fort de ces gènes. XRCC2 et XRCC3, paralogues de Rad51, sont impliqués dans la réparation de l'ADN. La variant 188H d'XRCC2 a été retrouvée moins efficace in vitro à cette réparation, et associé à un risque accru de cancer, par rapport à l'allèle 188R « normale ». Les variants du gène XRCC3 peuvent également modifier l'activité ou expression de cette protéine essentielle : l'allèle 241M a été associé au cancer du sein, tandis que l'allèle IVS5-14 aura un effet protecteur. VDR, codant pour le récepteur de la vitamine D, est impliqué dans la prolifération et différenciation cellulaire ; trois SNP exoniques peuvent modifier son activité. Un rôle dans le cancer du sein a été proposé pour ces SNP, à travers la fonction de VDR dans les réponses aux hormones stéroïdes. Nous avons choisis 56 familles à risque de cancer du sein pour lesquelles aucune mutation BRCA1 ou BRCA2 n'a été retrouvée. ADN était extrait de 87 femmes atteintes d'un cancer du sein et 113 femmes sans cancer de ces mêmes familles. Pour les microsatellites, l'une des amorces de chaque PCR était marquée par un fluorophore ; les produits étaient séparés sur un séquenceur 3100 (Applied Biosystems). Les loci contenant les SNP étaient amplifiés par PCR et purifiés par rétention sur membrane Millipore ou par traitement avec alcaline phosphatase et exonucléase I. Les produits de PCR étaient mélangés dans deux réactions SNaPshot multiplex avec les amorces spécifiques pour chaque SNP. La longueur des amorces SNP étant entre 20 et 45 nt, leur séparation sur le séquenceur 3100 permettait l'analyse de plusieurs SNP ensemble. Les données, pour l'instant préliminaires, montrent que le cancer du sein familial était fortement associé aux allèles longs (L >243 bp) d'IGF-1 (OR 5,067, 95 % CI 2,132-19,633, p < 0,0004). Les résultats pour EGFR montraient une tendance sans atteindre un seuil de significativité : pour les génotypes SL+LL vs SS, OR 1,372, 95 % CI 0,765-2,462, p = 0,228, avec un risque légèrement plus élevé associé aux allèles L > 157 bp. Les résultats pour XRCC2 R188H montrent une association non significative pour le génotype hétérozygote et le cancer du sein (OR 1,802, 95 % CI 0,889-3,651, p = 0,099). Nous n'avons pas observé d'homozygotie pour l'allèle A, codant pour la variant 188H. Un effet de synergie était observé entre l'hétérozygotie au gène XRCC2 et les allèles longs de IGF-1. Aucune association n'était retrouvée entre les allèles du gène VDR et le cancer du sein. XRCC3 est encore en cours d'étude. En résumé, différents allèles de gènes impliqués dans diverses voies métaboliques peuvent contribuer au risque de cancer du sein dans les familles à risque.

Mots-clés : cancer du sein, polygénique, gènes de faible pénétrance.

■P466 / 274. CANCER RÉNAL À CELLULES CLAIRES RÉVÉLATEUR DE SCLÉROSE TUBÉREUSE DE BOURNEVILLE : RÔLE DE L'ANALYSE GÉNÉTIQUE

Marie-Claire Malinge (1), Brigitte Bressac-de Paillerets (2), Bernard Escudier (3), Jean-Philippe Rougier (4), Olivier Cussenot (5), Jean Fretin (6), François Rozet (7), Mathilde Sibony (8), Jean-Paul Bonnefont (9), Gérard Benoît (10), Pierre Ronco (4), Dominique Bonneau (1), Stéphane Richard (11,12) et le Réseau national « Cancers du rein héréditaires »
(1) Service de Génétique, CHU d'Angers ; (2) Service de Génétique, Institut Gustave-Roussy, Villejuif ; (3) Département d'Immunothérapie, Institut Gustave-Roussy, Villejuif ; (4) Service de Néphrologie, Hôpital Tenon, Paris ; (5) Service d'Urologie, Hôpital Tenon, Paris ; (6) Service d'Urologie, Centre hospitalier, Creil ; (7) Service d'Urologie, Institut Mutualiste Montsouris, Paris ; (8) Laboratoire d'Anatomie Pathologique, Hôpital Tenon, Paris ; (9) Laboratoire de Génétique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris ; (10) Service d'Urologie, Hôpital de Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre ; (11) Génétique Oncologique EPHE, UMR 8125, Institut Gustave-Roussy, Villejuif et Faculté de Médecine Paris-Sud, Le Kremlin-Bicêtre ; (12) Consultation d'Oncogénétique Spécialisée AP-HP, Service d'Urologie, CHU, Le Kremlin-Bicêtre

Les prédispositions héréditaires sont estimées à seulement 2 à 3 % de l'ensemble des 8 300 nouveaux cas de cancers du rein découverts chaque année en France mais sont d'un intérêt capital. Au plan clinique, l'identification des gènes en cause permet de proposer un test génétique chez les personnes à risque puis un suivi clinique des porteurs du gène muté, permettant un diagnostic et un traitement précoce des tumeurs. Au plan fondamental, les gènes responsables sont aussi impliqués dans la survenue des tumeurs sporadiques et permettent de mieux comprendre les étapes de la cancérogenèse. Enfin, la compréhension des rôles physiologiques de ces gènes peut ouvrir de nouvelles voies thérapeutiques en Cancérologie. Le cancer à cellules claires ou conventionnel constitue 75 % de l'ensemble des tumeurs du rein et la maladie de VHL, due à des mutations germinales du gène VHL, représente près de 95 % des causes possibles de prédisposition héréditaire. Son diagnostic est suspecté en premier devant un cancer rénal survenant à un âge précoce, des lésions multiples ou bilatérales ou encore un aspect kystique des tumeurs rénales. Les causes plus rares de cancer à cellules claires héréditaires sont représentées par les translocations constitutionnelles du chromosome 3 et les formes familiales de cancer rénal à cellules claires à gène inconnu. Bien que des cancers du rein puissent survenir dans 1 à 2 % des cas, le diagnostic de sclérose tubéreuse de Bourneville est très rarement évoqué devant un cancer rénal en l'absence de

manifestations neurologiques, cutanées, cardiaques et/ou d'angiomyolipomes rénaux. Nous rapportons les cas de 2 familles pour lesquelles une recherche de mutation dans le gène VHL s'est d'abord révélée négative suite à la découverte de tumeur(s) rénale(s) à cellules claires bilatérales chez les cas index (à respectivement 44 et 37 ans), sans autre manifestation clinique caractéristique d'une affection particulière. Nous avons ensuite réalisé une étude moléculaire des gènes TSC1 et TSC2 pour les 2 patients atteints. La recherche de mutation dans les gènes TSC1 et TSC2 a été effectuée par DHPLC puis séquençage des exons pour lesquels en DHPLC nous avions un tracé modifié. Le résultat de l'analyse moléculaire réalisée pour ces 2 cas index montre qu'ils sont porteurs d'une mutation germinale dans le gène TSC1 à l'état hétérozygote. Il apparaît donc très important d'envisager une analyse moléculaire des gènes TSC1 et TSC2 devant un cancer rénal bilatéral, lorsqu'une maladie de von Hippel-Lindau a été éliminée par l'étude génétique, même en l'absence de manifestation clinique évidente de sclérose tubéreuse de Bourneville.

Mots-clés : cancer rénal, sclérose tubéreuse de Bourneville, analyse moléculaire.

■P467 / 277. IMPLICATION DU CHROMOSOME 17 DANS LES TUMEURS DU REIN SPORADIQUES

Sophie Gad (1), Sandrine Lefèvre (1), Sandra Rebouissou (2), Sophie Giraud (3), Annick Vieillefond (4), Viorel Vasiliu (5), Sophie Ferlicot (6), Vincent Molinié (7), Yves Denoux (7), Nicolas Thiounn (8), Marc Zerbib (9), Gérard Benoît (10), Jean-Marie Hervé (11), Yves Chrétien (8), Arnaud Méjean (8), Guy Allègre (1), Jessica Zucman-Rossi (2), Bin Tean Teh (12), Stéphane Richard (1, 13)

(1) Génétique Oncologique EPHE, UMR 8125, Institut Gustave-Roussy, Villejuif et Faculté de Médecine Paris-Sud, Le Kremlin-Bicêtre ; (2) INSERM U674, CEPH, IUH Saint-Louis, Paris ; (3) Laboratoire de Génétique, Hôpital Herriot, Lyon ; (4) Laboratoire d'Anatomie Pathologique, Hôpital Cochin, Paris ; (5) Laboratoire d'Anatomie Pathologique, Hôpital Necker, Paris ; (6) Laboratoire d'Anatomie Pathologique, Hôpital de Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre ; (7) Laboratoire d'Anatomie Pathologique, Hôpital Foch, Suresnes ; (8) Service d'Urologie, Hôpital Necker, Paris ; (9) Service d'Urologie, Hôpital Cochin, Paris ; (10) Service d'Urologie, Hôpital de Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre ; (11) Service d'Urologie, Hôpital Foch, Suresnes ; (12) Laboratory of Cancer Genetics, Van Andel Research Institute, USA ; (13) Consultation d'Oncogénétique Spécialisée AP-HP, Service d'Urologie, CHU, Le Kremlin-Bicêtre

Le cancer du rein représente 3 % de l'ensemble des cancers et 8 300 nouveaux cas sont diagnostiqués chaque année en France. Son incidence est d'environ 11/100 000 nouveaux cas par an et est en augmentation régulière. On distingue quatre formes histologiques principales de tumeurs rénales : les cancers à cellules claires (75 %), les cancers papillaires (10 %), les cancers chromophobes (5 %) et les oncocytomes (tumeurs bénignes) (5 %). La majorité des cancers du rein sont sporadiques et plusieurs facteurs sont connus pour augmenter le risque (tabagisme, obésité, hypertension, exposition professionnelle). Les cancers du rein familiaux représentent moins de 5 % des cas mais certains des gènes de prédisposition identifiés sont également impliqués dans les cancers sporadiques. L'inactivation somatique du gène *VHL* est ainsi retrouvée dans 70 % des cancers à cellules claires sporadiques, les mutations somatiques du gène *c-MET* surviennent dans 13 % des tumeurs papillaires sporadiques et l'hyperméthylation du promoteur du gène *BHD* a été décrite dans plusieurs types histologiques. Récemment, l'inactivation bi-allélique du gène *HNF1b*, dont les mutations germinales sont responsable du diabète MODY5, a été rapportée dans des cancers chromophobes. Les gènes *BHD* et *HNFb* sont localisés sur le chromosome 17, qui est fréquemment perdu dans les tumeurs chromophobes, et le gène *TP53* est situé à proximité de *BHD*. Nous avons étudié l'implication du chromosome 17 dans une série de 92 tumeurs du rein sporadiques de différents types histologiques, enrichie en tumeurs chromophobes. Des mutations de *HNF1b, BHD* et *TP53* ont successivement été recherchées par séquençage direct, ainsi qu'une hyperméthylation du promoteur de *BHD* par digestion et PCR, dans une série de 45 cancers chromophobes, 20 tumeurs à cellules claires, 18 oncocytomes et 9 cancers papillaires.

Aucune mutation de *HNF1b* n'a été détectée mais certains haplotypes au niveau de 7 SNP suggèrent une perte d'hétérozygotie dans les tumeurs chromophobes. Pour le gène *BHD*, 5 mutations ont été détectées, dans 1 tumeur à cellules claires, 3 chromophobes et 1 oncocytome. Ces mutations sont actuellement recherchées au niveau germinal pour en préciser l'origine. Nous n'avons pas mis en évidence d'hyperméthylation du promoteur de *BHD*. La recherche de mutation de *TP53* est encore en cours actuellement mais les résultats préliminaires ont permis d'identifier une mutation dans une tumeur chromophobe. Lorsque le criblage de ces gènes à la recherche de mutations sera complété, la recherche de pertes d'hétérozygotie du chromosome 17 sera réalisée pour les tumeurs ayant du tissu normal correspondant. Ceci devrait nous permettre de mieux cerner l'implication du chromosome 17 dans les cancers du rein et en particulier dans les tumeurs chromophobes.

Mots-clés : cancer du rein, chromosome 17, mutations.

■P468 / 299. ÉTUDE DES VARIATIONS D'EXPRESSION DES GÈNES IMPLIQUÉS DANS LA GVH APRÈS ALLOGREFFE DE MOELLE OSSEUSE

Choufi B., Chalabi N., Le Corre L., Delort L., Bornes S., Bignon Y.-J., Bernard-Gallon D.J.

Département d'Oncogénétique, Centre Jean-Perrin, INSERM U484-UdA, CBRV, 28, place Henri-Dunant, BP38, 63001 Clermont-Ferrand Cedex

L'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques (CSH) d'origine périphérique ou médullaire est une thérapeutique reconnue dans le traitement de certaines hémopathies malignes. Le pouvoir curatif de l'allogreffe de CSH repose d'une part sur le conditionnement et d'autre part sur l'effet anti-tumoral du greffon lui-même : effet GVL. Cet effet thérapeutique est souvent associé à une réaction toxique appelée réaction du greffon contre l'hôte ou GVH. Plusieurs modèles murins ont été étudiés, cependant la physiopathologie de la GVH reste encore mal connue. Afin d'évaluer la différence du profil d'expression d'un certain nombre de gènes au moment de la survenue d'une GVH clinique, nous avons réalisé une étude prospective chez 2 patients porteur de GVH, le donneur de chaque patient étant utilisé comme témoin. Nous avons utilisé pour chaque prélèvement des lymphocytes totaux isolés à partir du sang périphérique. L'analyse des variations d'expression des ARNm est réalisée par RT-PCR quantitative en temps réel (méthode Taqman®) et par biopuces transcriptome. Nous avons étudié les gènes des cytokines (TNFalpha945;, INFgamma947;, IL4 et IL10), le complexe majeur d'histocompatibilité classe II (MHCII) et classe III (BAT2), la molécule d'adhésion (VCAM1) et un gène de l'apoptose, le Granzyme M. Par méthode Taqman, on observe une hyper-expression des ARNm INFgamma947 ;, TNFalpha945;, BAT2, IL4 tandis que les gènes *IL10* et *VCAM1* sont fortement inhibés. Pour les biopuces transcriptome, les résultats ont montré une variation d'expression de gènes impliqués dans l'inflammation, l'adhésion cellulaire et des gènes inductibles par l'INFgamma947;.

Mots-clés : GVH, RT-PCR quantitative, biopuces transcriptome.

■P469 / 302. RÔLES DES POLYMORPHISMES DES GÈNES *CYP1A1* ET *CYP1B1* DANS LES CANCERS DE L'OVAIRE

L. Delort, L. Le Corre, N. Chalabi, S. Bornes, Y.J. Bignon, D.J. Bernard-Gallon

Département d'Oncogénétique, Centre Jean-Perrin, UMR 484 INSERM-UdA, 28, place Henri-Dunant, BP 38, 63001 Clermont-Ferrand Cedex 1

Le cancer de l'ovaire est la troisième cause de décès par cancer chez la femme après le sein et le côlon. 3 200 nouveaux cas par an sont estimés en France. Des facteurs génétiques (mutations des gènes BRCA1 et BRCA2 ont été identifiés mais ne rendent compte que de moins de 5 % des cancers ovariens. Ainsi, la présence de certains polymorphismes dans des gènes de faible pénétrance tels que CYP1A1 et CYP1B1 pourrait directement contribuer au risque de cancer de l'ovaire par un mécanisme de stress oxydant ou indirectement en influençant l'ovulation et la reproduction. L'objectif de cette étude est de rechercher la présence de Single Nucleotide Polymorphisms (SNP) connus dans les gènes CYP1A1 et CYP1B1 codant pour des enzymes du métabolisme des xénobiotiques et impliqués dans la formation de catécholœstrogènes, chez des femmes qui ont développé un cancer de l'ovaire non héréditaire et qui ont accepté de participer à notre étude épidémiologique COSA (Cancers de l'Ovaire et du Sein en Auvergne) entre 1996 et 1999. À partir de l'ADN de 53 patientes du programme COSA, le génotypage est effectué par discrimination allélique grâce à l'utilisation de sondes MGB (Minor Groove Binder). Le génotypage du SNP dans le gène CYP1A1 (A462G) donne une fréquence de 0,028, ce qui n'est pas significativement différent des données de la littérature (0,05 d'après Miyoshi *et al.*, 20031), (Intervalle de confiance à 95 %, IC = 0,006-0,12). L'étude de deux SNP au niveau du gène CYP1B1 (G432C et A453G) ne montre pas de différence significative de fréquences entre la population COSA et les données de population témoin : une fréquence de 0,6 a été retrouvée pour le SNP de CYP1B1 au niveau du codon 432 (population contrôle = 0,59, IC à 95 % = 0,47-0,74) ainsi qu'une fréquence de 0,2 pour le SNP de CYP1B1 au niveau du codon 453 (0,17 dans la population témoin, IC à 95 % = 0,08-0,3). Ainsi, ces résultats préliminaires suggèrent que les SNP étudiés n'auraient pas un rôle majeur dans la cancérogenèse ovarienne. Cependant, des études complémentaires

devront être réalisées en particulier pour rechercher le lien entre ces polymorphismes, les facteurs environnementaux et le risque de cancer de l'ovaire.

Mots-clés : polymorphismes, cancer de l'ovaire, *CYP1A1*, *CYP1B1*.

■P470 / 304. SUSCEPTIBILITÉ GÉNÉTIQUE INDIVIDUELLE À DÉVELOPPER UN CANCER PROFESSIONNEL DE LA VESSIE SELON LA CAPACITÉ D'ACÉTYLATION DE L'ENZYME N-ACÉTYL-TRANSFÉRASE 2

L. Delort (1), L. Fontana (2, 3), D. Provost (2, 3), L. Guy (4, 5), J.P. Boiteux (4, 5), A. Chamoux (2, 3), P. Boffetta (6), Y.J. Bignon (1), D.J. Bernard-Gallon (1)

(1) Département d'Oncogénétique, Centre Jean-Perrin, INSERM UMR484-UdA, CBRV, 28, place Henri-Dunant, BP38, 63001 Clermont-Ferrand Cedex ; (2) CHU Clermont-Ferrand, service de Médecine du Travail et des Pathologies Professionnelles, 28, place Henri-Dunant, BP38, 63001 Clermont-Ferrand Cedex ; (3) Univ Auvergne, Fac Médecine, Institut de Médecine du Travail, 28, place Henri-Dunant, 63001 Clermont-Ferrand Cedex ; (4) CHU Clermont-Ferrand, service d'Urologie, Hôp. G. Montpied, 58, rue Montalembert, 63003 Clermont-Ferrand Cedex 1 ; (5) Univ. Auvergne, Fac. Médecine, Urologie, 28, place Henri-Dunant, 63001 Clermont-Ferrand Cedex ; (6) Centre International de Recherche sur le Cancer, 150, cours Albert-Thomas, 69008 Lyon

Le cancer de la vessie est l'un des cancers les plus fréquents chez l'homme. De nombreux facteurs de risque ont été évalués, en particulier des facteurs liés aux habitudes de vie tels que le tabac, des antécédents urologiques ainsi que des expositions environnementales notamment professionnelles comme l'exposition à certaines amines aromatiques. À côté de ces facteurs acquis, une susceptibilité individuelle est aussi évoquée comme pouvant jouer un rôle dans la survenue des cancers de la vessie, en particulier celle qui est due à l'existence de polymorphismes dans les capacités de métabolisation des substances exogènes. L'enzyme N-acétyl-transférase 2 (NAT2) est impliquée dans le métabolisme des amines aromatiques plus précisément dans une étape importante de la détoxication. L'existence de certains polymorphismes du gène NAT2 définit le phénotype acétyleur d'un individu. Les sujets européens acétyleurs lents présenteraient un risque supplémentaire de cancer de la vessie de 30 à 40 % par rapport aux sujets acétyleurs rapides. L'objectif de ce travail est d'étudier les conséquences des interactions entre les génotypes de NAT2 et l'exposition aux amines aromatiques sur le risque de cancer de la vessie. Une étude cas-témoin comprenant 51 cas de tumeur de la vessie et 45 témoins d'origine caucasienne et de sexe masculin a été réalisée. Ils ont été recrutés en milieu hospitalier et interrogés sur leurs antécédents médicaux et professionnels. L'exposition aux amines aromatiques a été estimée à partir des professions exercées. Les polymorphismes de NAT2 au niveau des codons 282, 381, 481, 590, 803 et 857 ont été déterminés par la méthode de PCR quantitative (méthode Taqman). 49 % d'acétyleurs lents sont observés chez les cas contre 28,8 % chez les témoins ($p > 0,05$). Parmi les sujets exposés aux amines aromatiques, 50 % sont acétyleurs lents chez les cas contre seulement 33 % chez les témoins ($p > 0,05$). Ces résultats sont préliminaires et doivent être renforcés par un effectif plus important. Néanmoins, ils semblent en accord avec ceux retrouvés dans la littérature et évoquent un risque supplémentaire de développer un cancer de la vessie chez les sujets acétyleurs lents et exposés aux amines aromatiques cancérigènes.

Mots-clés : NAT2, cancer de la vessie, polymorphismes.

■P471 / 307. DÉLÉTIONS 1P 19Q, FACTEURS PRONOSTIQUES DANS LES GLIOMES : MISE AU POINT D'UNE NOUVELLE MÉTHODE DE DÉTECTION PAR QMPSF

S. Monnot (1), D. Fontaine (2), F. Vandenbos (3), P. Paquis (2), J.F. Michiels (3), J.C. Lambert (1), V. Paquis-Flucklinger (1, 4)

(1) Service de Génétique Médicale, CHU de Nice ; (2) Service de Neurochirurgie, CHU de Nice ; (3) Service d'Anatomopathologie, CHU de Nice ; (4) FRE CNRS 2720, Faculté de Médecine, Université de Nice-Sophia Antipolis

Les tumeurs gliales sont les tumeurs cérébrales primitives malignes les plus fréquentes. Les oligodendrogliomes représentent 10 à 30 % de ces tumeurs. Ils ont un meilleur pronostic que les astrocytomes et semblent mieux répondre à la chimiothérapie. Le diagnostic différentiel n'est pas facile puisqu'il n'existe aucun marqueur moléculaire spécifique. Néanmoins, les oligodendrogliomes présentent des délétions chromosomiques en 1p et en 19q dans 50 à 80 % des cas. Ces anomalies pourraient représenter des marqueurs diagnostiques et/ou pronostiques dans les gliomes. Plusieurs méthodes permettent de détecter ces délétions comme la FISH (Fluorescent In Situ Hybridization) et la LOH (Loss Of Heterozygoty) dont les résultats sont comparables. La FISH est une technique « lourde », coûteuse, qui pose des problèmes d'artéfact de coupe et d'hybridation et ne permet pas de détecter les délétions partielles. La LOH est limitée par l'informativité des microsatellites utilisés et par la nécessité de disposer d'un ADN constitutionnel. De plus, les résultats sont parfois difficiles à interpréter car cette technique n'est pas quantitative et l'identification d'une perte allélique n'est possible que si l'échantillon analysé possède au moins 80 % de cellules délétées. Nous avons mis au point une méthode de détection semi-quantitative qui pourrait palier certaines difficultés rencontrées en LOH. La QMPSF (Quantitative Multiplex PCR of Short Fluorescent fragments) repose sur l'amplification simultanée de plusieurs exons avec des amorces fluorescentes dans une PCR multiplex semi-quantitative. Elle permet de détecter une réduction ou une augmentation du nombre de copies d'un ou de plusieurs gènes par rapport à des contrôles. Elle est déjà utilisée pour la détection de délétions hétérozygotes dans des maladies constitutionnelles. Pour la détection des délétions 1p/19q, nous réalisons 2 multiplex pour chaque patient, une avec des gènes situés en région minimale délétée sur le chromosome 1 et une pour le chromosome 19. Les gènes contrôles sont situés en 1q et en 19p. Les produits PCR sont ensuite analysés sur séquenceur automatique ABI 310. Le profil de chaque patient est comparé à celui d'un témoin non délété. Nous avons étudié 36 patients présentant un gliome par LOH, d'une part et par QMPSF, d'autre part. Les résultats obtenus avec les 2 techniques étaient concordants dans 78 % des cas. Dans 22 % des cas, les résultats montraient une absence de délétion par LOH et un profil délété en QMPSF. Une vérification par FISH est en cours afin de déterminer si ces variations pourraient être liées à une différence de sensibilité en faveur de la QMPSF. Dans un cas seulement, nous avons une discordance inverse, la délétion observée en LOH n'étant pas retrouvée en QMPSF. Cette nouvelle technique nous a également permis de mettre en évidence 3 duplications, non détectables par LOH. En conclusion, la QMPSF est une technique rapide, sensible et facilement applicable en routine. Elle semble particulièrement adaptée à la recherche des délétions 1p/19q dans les gliomes et pourrait représenter un moyen alternatif et/ou complémentaire dans la détection de ces anomalies chromosomiques.

Mots-clés : gliomes, 1p 19q, FTA.

■P472 / 309. ADAPTATION DE LA TECHNIQUE FTA® POUR LA DÉTECTION DES DÉLÉTIONS 1P/19Q DANS LES GLIOMES PAR LOH : INTÉRÊT POUR LE DIAGNOSTIC ET LA DÉCISION THÉRAPEUTIQUE

S. Monnot (1), D. Fontaine (2), F. Vandenbos (3), P. Paquis (2), J.F. Michiels (3), J.C. Lambert (1), V. Paquis-Flucklinger (1, 4)

(1) Service de Génétique Médicale, CHU de Nice ; (2) Service de Neurochirurgie, CHU de Nice ; (3) Service d'Anatomopathologie, CHU de Nice ; (4) FRE CNRS 2720, Faculté de Médecine, Université de Nice-Sophia Antipolis

Les délétions 1p/19q sont les anomalies chromosomiques le plus fréquemment retrouvées dans les oligodendrogliomes. D'après plusieurs études rétrospectives, ces anomalies génétiques auraient un intérêt diagnostique, mais également pronostic puisque leur présence serait corrélée à une meilleure réponse à la chimiothérapie et à une survie plus longue. Plusieurs méthodes de détection sont utilisées dont la FISH (Fluorescent In Situ Hybridization) et la LOH (Loss Of Heterozygoty) qui semblent donner des résultats comparables. Néanmoins, la recherche de délétions 1p/19q n'est pas réalisée de manière systématique dans tous les centres spécialisés. Nous avons cherché à améliorer la recherche de ces délétions par la méthode LOH qui consiste à comparer le profil de marqueurs microsatellitaires, 2 situés en 1p et 2 en 19q, dans la tumeur et dans le sang. Pour cela, nous avons adapté la technique FTA® qui nous a permis de purifier les acides nucléiques à partir de sang total, de tumeur fraîche ou congelée. Une petite quantité de matériel, 75 µl de sang et 2 mm^3 de tissu tumoral, est déposée sur papier Whatman FTA® au bloc opératoire. Après séchage, chaque amplification PCR est réalisée avec un disque de papier Whatman FTA® de 1,2 mm de diamètre qui sert de matrice. Les amplifications sont réalisées avec des amorces fluorescentes et les produits PCR analysés sur ABI 310. Pour valider cette méthode, nous avons recherché les délétions 1p/19q par LOH chez 10 patients après extraction phénol-chloroforme et purification FTA® (80 microsatellites) et nous avons obtenu des résultats identiques. Cette méthode simple et très rapide est maintenant utilisée en routine dans le laboratoire. Elle nous a permis de déterminer le statut 1p/19q de 60 patients atteints de gliome en obtenant des résultats comparables à ceux publiés dans la littérature : 5 patients présentaient une délétion 1p, 10 une délétion 19q et 4 patients présentaient une co-délétion. La purification FTA® est une méthode particulièrement adaptée à la recherche des délétions 1p/19q dans les gliomes car elle permet de travailler à partir

de faibles quantités de matériel tumoral comme lors de biopsies stéréotaxiques. Le papier Whatman FTA® permet également de conserver les acides nucléiques sans conditions particulières de stockage pendant de nombreuses années, sans détérioration, et de réitérer les analyses si besoin. De plus, l'obtention de résultats en 24 h permet d'envisager facilement un transfert en pratique clinique afin d'orienter la décision thérapeutique puisque ces délétions seraient un facteur prédictif de chimiosensibilité. Enfin, nous avons montré que cette technique est aussi utilisable à partir de prélèvement tumoraux inclus en paraffine, les coupes étant simplement déposées sur buvard après déparaffinage. Ceci permet d'effectuer des études rétrospectives mais surtout de sélectionner des régions tumorales plus riches en cellules néoplasiques et d'améliorer ainsi la sensibilité de la LOH.

Mots-clés : Gliomes, 1p 19q, FTA.

■P473 / 312. DÉLÉTION CLONALE RÉCURRENTE 4Q24, DANS DES PROLIFÉRATIONS MYÉLOÏDES MALIGNES

F. Viguié (1), A. Aboura (1, 2)
(1) Laboratoire de Cytogénétique Onco-hématologique, Hôtel-Dieu, Paris ; (2) Laboratoire de Cytogénétique, Hôpital R. Debré, Paris

Cinq patients atteints de leucémie aigue myéloïde ou de myélodysplasie ont été étudiés en raison d'une altération caryotypique clonale au diagnostic impliquant la même bande 4q24. Il s'agissait de 4 translocations réciproques apparemment équilibrées t(3;4)(q26;q24), t(4;5)(q24;p16), t(4;7)(q24;q21) et t(X;4)(p22;q24), et d'une délétion segmentaire limitée del(4)(q23q24). L'analyse FISH à l'aide de sondes ADN produites à partir de BACs (bacterial artificial chromosomes) étagées entre 4q22.3 et 4q27, a permis de mettre en évidence dans tous les cas une délétion 4q24 avec une zone commune de délétion couvrant approximativement 0,5 mégabases. Chez une patiente, une des sondes BAC détecte une délétion homozygote, sur le dérivé de la translocation et sur le chromosome 4 normal. L'analyse des bases de données génomiques montre que cette région contient un gène caractérisé uniquement par son cDNA, de fonction inconnue mais particulièrement exprimé dans les cellules hématopoïétiques. Chez 4 patientes sur 5 le remaniement génomique est retrouvé, en mosaïque, dans tous les tissus hématopoïétiques non tumoraux testés (moelle osseuse en rémission, lymphocytes B et T, lignée lymphoblastoïde B immortalisée par l'EBV établie dans 2 cas), en faveur d'une altération survenant dans une cellule souche hématopoïétique très précoce, capable de générer la totalité des lignées sanguines. Par ailleurs, l'absence de la délétion dans les cellules à caryotype normal montre que la délétion et la translocation sont 2 événements simultanés. Enfin 2 patientes ont développé une prolifération lymphoïde tumorale simultanée, l'une un lymphome T ganglionnaire, l'autre un lymphome B médullaire. Tous ces éléments d'analyse sont en faveur de l'existence d'un gène de type « suppresseur de tumeur » non encore caractérisé, intervenant dans un processus multi étapes.

Mots-clés : bande 4q24, délétion, gène suppresseur de tumeur.

■P474 / 315. SIGNATURE MOLÉCULAIRE DES LEUCÉMIES AIGUËS LYMPHOBLASTIQUES PÉDIATRIQUES TEL/AML1

V. Gandemer*$, V. Sibut*, A.G. Rio*, S. Mottier*, R. Bouvet*, A. Monnier *, C. Berthou#§,V. Ugo#, J.Y. LeGall*, J. Mosser*, M.D. Galibert*
** Laboratoire de génétique et développement CNRS UMR6061 Rennes, Plateforme Ouest Génopole IFR.GFAS-CHU Rennes ; # Laboratoire d'hématologie CHU Brest ; § Service d'hématologie clinique CHU Brest ; $ Service d'hémato-oncologie pédiatrique CHU Rennes et Université Rennes 1*

Les leucémies aiguës lymphoblastiques de la lignée B (LAL-B) représentent la pathologie maligne la plus fréquente de l'enfant mais sont une entité hétérogène. Ainsi deux grands groupes pronostiques (standard et haut risque) ont été définis au vu de critères clinico-biologiques initiaux et de réponse précoce au traitement. La t(12;21) (ou le transcrit TEL/AML1) est l'anomalie génétique récurrente la plus fréquente des LAL-B (25 %) et identifie une catégorie de pronostic favorable, relativement uniforme facilitant l'identification de nouveaux marqueurs moléculaires pronostiques et de voies métaboliques.

Matériel et méthodes : Nous avons ainsi analysé les profils d'expression génique des blastes médullaires au diagnostic de 26 enfants porteurs d'une LAL-B traités selon l'essai FRALLE 2000 sur puces à ADN pangénomique 44K Agilent (20 autres enfants ont été exclus pour quantité ou qualité insuffisante d'ARN-RIN < 9/10 – et 2 pour incorporation faible des fluorochromes – < 1,2 pg/microl). Finalement 19 enfants appartenaient au groupe « standard risque » (dont 6 étaient TEL/AML1) et 7 au groupe « haut risque » (dont 1 TEL/AML1). Aucune autre anomalie chromosomique récurrente que la t(12;21) n'a été mise en évidence dans notre série. Un mélange équimolaire des ARN des différents échantillons a servi d'ARN de référence. Après extraction et normalisation des données (7,5 feature extraction software), l'analyse n'a porté que sur les gènes dont l'intensité du signal était > 2,6 DS du bruit de fond local et significativement différente de lui, homogène et non saturée. Une série de gènes pour lesquels la p-value log ratio était < 0,01 a été sélectionnée à partir d'une puce et seuls les gènes comportant < 30 % de valeur manquante sur l'ensemble des puces ont été analysés. Une analyse supervisée par SAM a permis de mettre en évidence les gènes différentiellement exprimés (Q < 0,02) dans les sous-groupes d'intérêt et enfin ceux-ci ont été classés de façon non supervisée par clustering hiérarchique et K-means.

Résultats : La SAM a identifié 54 gènes différentiant les LAL TEL/AML1 des LAL haut risque, set validé en clustering hierachique ; ce nombre a pu être diminué à 13 grâce à la classification par K-means. Par ailleurs 41 gènes séparent les patients TEL/AML1 des « standard risque ». Ces gènes ont ensuite été répartis selon leurs annotations dans Gene Ontology pour faciliter l'interprétation. Cinq catégories ont été mises en évidence (transduction du signal, défense cellulaire, prolifération cellulaire, différentiation cellulaire et développement). Les voies suivantes caractérisent les blastes TEL/AML1 : régulation de la différentiation cellulaire et de la prolifération (TIF1, TCFL5, RAG1, CBFA2T3 ; SMAD1), protection contre l'apoptose (TNFRSF7, PIK3C3 ; SOCS2, UHRF1), migration cellulaire et formation osseuse (EGF, IRS2 ; ANXA2). Quatre de ces gènes ont été validés en PCR-Q.

Discussion : Cette étude portant sur les LAL-B de l'enfant est la première réalisée avec les puces pangénomiques Agilent et a permis de confirmer les données obtenues sur le groupe TEL/AML1 avec les technologies Affymetrix et UCBI. De nouvelles voies impliquées dans les LAL-B TEL/AML1+ ont pu être identifiées dans cette série de patients du FRALLE 2 000 caractérisées par une régulation positive de la différentiation cellulaire, une modulation de la migration cellulaire et une protection contre l'apoptose. Ces données sont en adéquation avec le profil clinique de ces patients qui rechutent parfois très tardivement en particulier au niveau de sites sanctuaires. Ainsi un clone minoritaire non totalement malin au vu de la différentiation cellulaire et des capacités de prolifération serait protégé dans un site extramédullaire sanctuaire de l'apoptose et acquérrait des mutations somatiques ultérieures pour donner naissance à une nouvelle LAL exprimant alors ces capacités de migration endothéliale.

Mots-clés : leucémie aigue lymphoblastique, transcriptome, TEL/AML1.

■P475 / 334. ÉTUDE DE LA FRÉQUENCE DE LA MUTATION *JAK2* V617F DANS LA LEUCÉMIE LYMPHOÏDE CHRONIQUE

S. Poulain (1), M. Merchez (1), A. Daudignon (1), M. Simon (2), P. Duthilleul (1), P. Morel (3)
(1) Service d'Hématologie Immunologie Cytogénétique, CH de Valenciennes ; (2) Service d'Hématologie Clinique, CH de Valenciennes ; (3) Service d'Hématologie Clinique, CH de Lens

Contexte : Janus kinase 2 (JAK2) est une tyrosine kinase qui contribue à la transduction du signal de diverses cytokines impliquées dans la physiopathologie de la Leucémie Lymphoïde Chronique (LLC). Des agents bloquant la voie JAK STAT tel que AG 490 induisent l'apoptose des cellules tumorales de la LLC. Récemment, une mutation dans le domaine JH de JAK2, une substitution valine phénylalanine en position 617 (JAK2 V617F) qui conduit à une activité constitutive de la fonction de phosphorylation de JAK2, a été décrite dans les syndromes myéloprolifératifs. Notre objectif a été d'analyser la fréquence de la mutation JAK2 V617F dans la LLC. Matériel et Méthode : Une cohorte de 74 patients a été étudiée. Selon la classification de Binet, 60 % des patients sont au stade A, 16 % au stade B et 24 % au stade C. Les recherches des délétions 11q22.3, 13q34, 17p13.1 et de la trisomie 12 ont été réalisées chez 41 patients par technique de FISH à l'aide de sondes commerciales (LSI p 53 17p13.1, LSI ATM 11q22.3, LSI D13S319, LSI 13q34, CEP 12, Vysis Abott Diagnostic). L'expression de ZAP70 a été analysée avec l'anticorps monoclonal anti ZAP 70 (Clone 2F3.2, Upstate) en cytométrie de flux et en immunocytochimie. Après extraction de l'ADN, l'étude de la mutation a été réalisée par PCR RFLP et PCR allèle spécifique selon les protocoles techniques décrits par Baxter et col (*Lancet* 2005 : 1054-61) Résultats : Une délétion en 11q22.3 a été observée dans 16 % des cas, une délétion en 17p13.1 dans 11 % des cas, une délétion en 13q34 chez 41 % des patients, une trisomie 12 dans 23 % des cas. Une expression de ZAP 70 dans les lymphocytes tumoraux a été mise en évidence dans 54 % des patients. Aucune discordance dans l'interprétation des résultats obtenus par PCR RFLP et PCR allèle spécifique n'a été observée : aucun cas de mutation JAK2V617F n'a été mis en évidence dans cette cohorte de 74 pts atteints de LLC. Une analyse séquentielle de la recherche de cette mutation

au cours de l'évolution clinique de 10 patients a été réalisée : aucun cas d'acquisition de la mutation JAK2V617F n'a été observée. En conclusion, cette étude n'a pas mis en évidence la présence de la mutation JAK2V617F dans cette cohorte de 74 patients porteurs de LLC pour lesquels les facteurs pronostiques cliniques majeurs ont été étudiés. L'existence de cette mutation ponctuelle semble donc exclusivement associée aux syndromes myéloprolifératifs.

Mots-clés : LLC, *JAK 2*, mutation.

■P476 / 341. PRÉDISPOSITION HÉRÉDITAIRE AU CANCER DU REIN ASSOCIÉE À UNE TRANSLOCATION T(3;8)(P12;Q24) CONSTITUTIONNELLE

N. Le Meur (1), M. Tabu (1), A. Cattanéo (2), M. Annoot (3), A. Vidart (4), F. Gobet (5), J. Ziade (6), Frébourg T. (7), A. Rossi (1)

(1) Laboratoire de Cytogénétique, EFS de Normandie, Bois Guillaume ; (2) Service d'Hémodialyse, Hôpital de la Croix Rouge Française, Bois-Guillaume ; (3) Service de Chirurgie, Clinique St-Hilaire, Rouen ; (4) Service d'Urologie, CHU de Rouen ; (5) Service d'Anatomopathologie, CHU de Rouen ; (6) Laboratoire d'Anatomopathologie, Rouen ; (7) Service de Génétique, CHU de Rouen

Si les prédispositions héréditaires au carcinome rénal à cellule claire (CRCC) sont le plus souvent associées à la maladie de Von Hippel Lindau (VHL), des translocations impliquant les régions péricentromériques du chromosome 3 et dont les points de cassure sont situés en dehors du gène VHL ont été décrites dans de rares familles. Dans ces translocations, les partenaires du chromosome 3 et les points de cassures sont variables et un modèle de carcinogénèse à trois étapes, alternatif à celui de Knudson, à été proposé. Nous rapportons une famille de CRCC associée à une translocation constitutionnelle impliquant le chromosome 3. Une prédisposition héréditaire a été suspectée d'emblée chez le cas index en raison de l'atteinte bilatérale. La recherche de mutation et de délétion de VHL s'est cependant révélée négative. Devant la survenue d'un second cas de CRCC dans la famille, un caryotype a été réalisé et a mis en évidence, chez les deux patients atteints, une translocation t(3;8)(p12;q24) dont le point de cassures sur le chromosome 3 est différent de ceux rapportés dans la littérature. L'identification de ce remaniement a permis de compléter l'étude familiale. Un remaniement chromosomique équilibré constitutionnel associé à une prédisposition génétique au cancer est exceptionnelle. Cette observation souligne l'intérêt de proposer d'emblée un caryotype standard, qui reste un test génétique simple et rapide, chez tous les patients atteints de CRCC et évocateurs de prédisposition génétique (tumeur précoce, bilatérale, antécédents familiaux). De plus, le phénomène d'anticipation déjà observé dans une famille présentant une translocation similaire se confirme dans cette famille. Ce phénomène dont la cause reste inconnue doit être pris en compte pour le conseil génétique de manière à dépister les apparentés à risque suffisamment précocement pour leur proposer un suivi adapté. Enfin, l'étude des points de cassure de cette translocation rarissime et des caractéristiques génétiques de la tumeur est actuellement en cours afin de mieux comprendre les mécanismes moléculaires de la carcinogénèse rénale.

Mots-clés : cancer du rein, translocation, prédisposition au cancer.

■P477 / 356. CONTRIBUTION DES DÉLÉTIONS ET DUPLICATIONS DE GRANDE TAILLE DU GÈNE *BRCA2* À LA PRÉDISPOSITION AU CANCER DU SEIN

I. Tournier (1), F. Casilli (1), O. Sinilnikova (2), F. Coulet (3), C. Houdayer (4), A. Hardouin (5), H. Sobol (6), V. Bourdon (6), D. Muller (7), J.P. Fricker (7), B. Bressac-de Paillerets (8), C. Capoulade-Metay (8), M. Barrois (8), C. Nogues (9), I. Bièche (9), S. Mazoyer (10), P. Maillet (11), C. Philippe (12), S. Bézieau (13), S. Onteniente (14), C. M. Maugard (15), D. M. Provencher (15), C. Dugast (16), C. Delvincourt (17), L. Faivre (18), V. Bonadona (19), T. Frébourg (1, 20), R. Lidereau (9), D. Stoppa-Lyonnet (4), M. Tosi (1)

(1) Inserm U614, IFRMP, Faculté de Médecine, Rouen ; (2) Plate-forme Mixte de Génétique Constitutionnelle des Cancers Fréquents, Hospices Civils de Lyon, Centre Léon-Bérard, Lyon ; (3) Unité d'Onco-angiogénétique moléculaire, Pitié-Salpétrière, Paris ; (4) Service de Génétique Oncologique, Institut Curie, Paris ; (5) Laboratoire de Biologie Clinique et Oncologique, Centre François-Baclesse, Caen ; (6) Inserm UMR599 et Institut Paoli-Calmettes, Marseille ; (7) Unité d'Oncogénétique, Centre de Lutte contre le cancer Paul Strauss, Strasbourg ; (8) Service de Génétique, Institut Gustave-Roussy, Villejuif ; (9) Service d'Oncogénétique, Inserm U735, Centre René-Huguenin, Saint-Cloud ; (10) Laboratoire de Génétique, UMR5201 CNRS, Lyon ; (11) Service d'Oncologie, Hôpital Universitaire de Genève ; (12) Laboratoire de Génétique, CHU de Nancy ; (13) Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHU de Nantes ; (14) Institut Claudius-Regaud, Toulouse ; (15) CR-CHUM, Service de Médecine Génique, Département de Médecine, Université de Montréal ; (16) Centre Régional de lutte contre le cancer Eugène-Marquis, Rennes ; (17) Centre Régional de Lutte Contre le Cancer Institut Jean-Godinot, Reims ; (18) Oncogénétique, Centre Georges-Francois-Leclerc et Hôpital Le Bocage, Dijon ; (19) Unité de Prévention et d'Épidémiologie Génétique, Centre Léon-Bérard, Lyon ; (20) Service de Génétique, CHU de Rouen

La recherche des délétions ou duplications de grande taille du gène BRCA1 fait partie intégrale du diagnostic moléculaire en routine de la prédisposition au cancer du sein. Cependant, la contribution de tels remaniements aux défauts du gène BRCA2, deuxième gène majeur impliqué dans cette prédisposition, reste encore à déterminer. Nous avons décrit récemment la détection, en utilisant la méthode QMPSF (Quantitative Multiplex PCR of Short fluorescent Fragments), de 3 remaniements de BRCA2 dans une cohorte de 39 familles présentant au moins un cas de cancer du sein masculin et au moins un deuxième cas de cancer du sein, chez une femme ou un homme apparentés au 1er ou 2e degré et sans mutation détectable de BRCA2 et de BRCA1 (Tournier *et al. Cancer Research* 2004 ; 64 : 8143-8147). Afin d'élargir la recherche de remaniements constitutionnels de BRCA2 à d'autres familles à risque, nous avons d'abord établi la distribution des mutations trouvées, selon le nombre de cas, les types de cancers et l'age au diagnostic, dans les familles françaises ayant bénéficié en 2003 et 2004 d'un diagnostic moléculaire portant sur les gènes BRCA1 et BRCA2. Outre le groupe de familles déjà décrites présentant un ou plusieurs cas de cancer du sein masculin, le groupe présentant la fréquence la plus élevée de mutations BRCA2 est celui des familles avec au moins 4 cas de cancer du sein et un age moyen au diagnostic de 50 ans au maximum (14 % de mutations BRCA1 et 18 % de mutations BRCA2 détectées). Nous avons ensuite testé par QMPSF 170 cas index appartenant à ce groupe et nous avons trouvé 3 familles avec des délétions génomiques hétérozygotes distinctes de BRCA2 : une nouvelle délétion des exons 12 et 13, une délétion des exons 15 et 16 et une délétion des exons 14-18. Nous avons déterminé les bornes de ces délétions, par PCR longue et séquençage ; dans chaque cas, au moins une des bornes est située dans une séquence répétée Alu et en particulier la délétion des exons 12 et 13 diffère des deux autres délétions déjà rapportées qui affectent les mêmes exons. Cette étude, et notre étude précédente des familles avec cancer du sein masculin (Tournier *et al.*, 2004) nous permettent de conclure que les remaniements génomiques représentent 6 à 10 % des altérations de BRCA2. Leur contribution au spectre des mutations est donc légèrement inférieure à celle des remaniements de BRCA1 (12 à 15 % du spectre des mutations de ce gène). Ces résultats soulignent l'importance d'inclure la recherche des remaniements génomiques de BRCA2 dans le diagnostic de prédisposition, au moins chez toute famille ayant une forte probabilité d'altération constitutionnelle du gène BRCA2.

Mots-clés : cancers du sein héréditaires, gènes *BRCA1* et *BRCA2*, remaniements génomiques constitutionnels.

■P478 / 366. LES GÈNES *SDHB, SDHC* ET *SDHD* NE REPRÉSENTENT PAS UN FACTEUR DE RISQUE POUR LE DÉVELOPPEMENT DE L'HYPERPLASIE DES CELLULES C FAMILIALE

Savagner F. (1), Mirebeau-Prunier D. (1), Rodien P. (2), Rohmer V. (2), Malthiery Y. (1)

(1) Inserm U694, Laboratoire de Biochimie, CHU, 4, rue Larrey, 49033 Angers Cedex, France ; (2) Service d'Endocrinologie,CHU, 4, rue Larrey, 49033 Angers Cedex, France

Les formes familiales de cancer médullaire de la thyroïde (CMT) sont rattachées dans 95 % des cas à une mutation du gène RET. Un âge précoce d'apparition et l'existence d'une hyperplasie des cellules C bilatérale sont en faveur d'une forme familiale. Il est ainsi fréquent de définir l'hyperplasie des cellules C comme la lésion initiale du CMT familial. Une étude récente a montré que l'hyperplasie des cellules C pouvait être associée à un variant du gène codant pour la sous unité D de la succinate deshydrogenase (SDHD). L'implication des gènes codant pour trois des quatre sous unités de la SDH, dans le développement de paragangliomes et phéochromocytomes familiaux, peut faire suspecter un rôle de ces gènes dans le développement précoce des CMT. Nous avons exploré les anomalies des gènes SDHB, SDHC et SDHD dans 10 familles présentant une hyperplasie des cellules C sans anomalie du gène RET. Une calcitonine de base supérieure à 10 pg/ml chez au moins deux membres de la famille ont conduit à des thyroïdectomies totales. Le diagnostic d'hyperplasie a été défini par la présence de plus de 50 cellules C dans plus de 3 champs lors de l'examen cytologique. L'analyse des gènes par d-HPLC et séquençage n'a pas permis d'identifier de mutation. En particulier le variant H50R du gène SDHD n'a pas été retrouvé chez les cas index ou les apparentés. Nous ne pouvons pas associer le développement d'une hyperplasie bilatérale des cellules C familiale à des anomalies des gènes SDH. L'exploration de ce gène dans

des tumeurs neuroendocrines autres que les paragangliomes et phéochromocytomes n'est pas justifiée pour le moment.

Mots-clés : hyperplasie des cellules C, succinate deshydrogenase, cancer médullaire de la thyroïde.

■P479 / 370. ONTOLOGIE ET PROFIL D'EXPRESSION DIFFÉRENTIEL DES CANCERS THYROÏDIENS RICHES EN MITOCHONDRIES

Savagner F. (1), Baris O. (1), Mirebeau-Prunier D. (1), Franc B. (2), Houlgatte R. (3), Reynier P. (1), Malthiery Y. (1)
(1) Inserm U694, Laboratoire de Biochimie, CHU, 4, rue Larrey, 49033 Angers Cedex, France ; (2) Service d'Anatomopathologie, Hôpital A.-Paré, 92104 Boulogne-Billancourt ; (3) ERM 0206, TAGC, 13288 Marseille

Les carcinomes oncocytaires thyroïdiens constituent un sous groupe de cancers folliculaires caractérisé par leur extrême richesse en mitochondries. Ces cancers sont rares mais présentent une évolution péjorative au contraire des cancers papillaires, fréquents et de bon pronostic. Certains cancers papillaires présentent un cytoplasme riche en mitochondries sans pour autant que cela semble modifier leur évolution. Le rôle de l'accumulation des mitochondries dans la pathogénie de ces tumeurs n'est pas connu. Nous avons comparé l'expression de 6 cancers oncocytaires thyroïdiens à celle de 6 cancers papillaires riches en mitochondries par la technique de puces à ADN ou microarrays. Nous avons identifié 83 gènes différentiellement exprimés et les avons classés en fonction de leur ontologie. L'expression de 3 gènes a été validée par RT-PCR quantitative et immunohistochimie. Parmi les 59 gènes surexprimés dans les cancers papillaires, 51 % sont impliqués dans la communication cellulaire. Parmi les 24 gènes surexprimés dans les tumeurs oncocytaires, 84 % sont impliqués dans le métabolisme cellulaire et mitochondrial. Nos résultats suggèrent un rôle particulier des complexes III et IV de la chaîne respiratoire dans la régulation du stress oxydant des cancers oncocytaires. Nous montrons que les mécanismes de tumorigenèse sont dissociés et indépendants du métabolisme mitochondrial pour les cancers papillaires.

Mots-clés : mitochondries, cancer, metabolisme.

■P480 / 386. LES MÉNINGIOMES RÉCIDIVANTS : ANALYSE DES DONNÉES HISTOPATHOLOGIQUES ET CYTOGÉNÉTIQUES (FISH ET MULTIPLEX FISH) D'UNE SÉRIE MARSEILLAISE

B. Quilichini (1)*, A.I. Martin-Mista (1)*, D. Intagliata (1), C. Colin (3), N. Baeza (3), P. Metellus (5), I. Nanni (4), A. Moncla (2), D. Figarella-Branger (3), H. Dufour (5), H. Zattara (1)
*(1) Laboratoire de Cytogénétique Hémato-Oncologique, Département de Génétique Médicale ; (2) Laboratoire de Cytogénétique Constitutionnelle et Prénatale, Département de Génétique Médicale ; (3) Laboratoire de Biopathologie de l'Adhésion et de la Signalisation EA 3281 ; (4)Service de Transfert Oncologie Biologique ; (5) Service de Neuro-Chirurgie, Hôpital La Timone 1, 2, 5, Hôpital Nord 4, Faculté de Médecine de Marseille 3, Marseille, France ; * Ces auteurs ont contribué de façon équivalente au travail*

Les méningiomes représentent la plus fréquente tumeur intra-cérébrale bénigne. La classification OMS des méningiomes, internationalement reconnue, permet de réaliser un grading histo-pronostique en grade I (bénin), II (atypique) et III (anaplasique). 90 % des méningiomes sont classés en grade I. Cependant, certains méningiomes récidivent indépendamment de leur qualité de résection au diagnostic et de leur grade OMS. Ainsi, des facteurs prédictifs de récurrence semblent importants à établir. Dans notre étude, après une enquête rétrospective de 12 ans, nous avons analysé 10 prélèvements tumoraux de patients ayant présenté au moins une récidive de leur méningiome par technique de cytogénétique conventionnelle et moléculaire (FISH et Multiplex FISH). Cette analyse a été complétée par des techniques d'immunohistochimie (étude de l'indice de prolifération Ki67) et d'histoenzymologie (étude de l'expression de la phosphatase alcaline). Un groupe témoin apparié en sexe et en grade a également été constitué. Pour les techniques de FISH interphasique, nous avons utilisé des sondes locus spécifiques (BACs et PACs) pour étudier le statut de loci d'intérêts en 1p36 (ALPL), 9p21 (p14-p15-p16) et 14q. La présence d'un caryotype complexe au diagnostic est prédictive de récidive (analyse Kaplan-Meier). Nous avons mis également en évidence une corrélation entre les réarrangements du 1p et la perte d'expression de la phosphatase alcaline. De nouveaux réarrangements chromosomiques impliquant les bandes 1p13 et 9p12p21 ont été également précisés par M-FISH. Un suivi clinique rapproché et une éventuelle stratification thérapeutique pourraient être proposés dans les méningiomes à caryotype complexe.

Mots-clés : meningiome, récidive, fish.

■P481 / 404. BASE DE MUTATIONS *BRCA1* ET *BRCA2* DANS LES FAMILLES FRANÇAISES

Lidereau R. (1), Béroud C. (2) et le sous-groupe Laboratoire du Groupe Génétique et Cancer de la FNCLCC (3)
(1) Service d'Oncogénétique/INSERM U735, Centre René-Huguenin, Saint-Cloud, France ; (2) Laboratoire de Génétique Moléculaire et Chromosomique, CHU de Montpellier, Montpellier, France ; (3) Sous-groupe des laboratoires du Groupe Génétique et Cancer (GCC) de la FNCLCC (Hôpital Nord, Nantes ; Centre René-Huguenin, Saint-Cloud ; Institut Gustave-Roussy, Villejuif ; Hôpital La Pitié-Salpétrière, Paris ; Institut Jean-Godinot, Reims ; Centre François-Baclesse, Caen ; Institut Curie, Paris ; Institut Bergonié, Bordeaux ; Centre Paul-Strauss, Strasbourg ; Institut Paoli-Calmettes, Marseille ; Centre Oscar-Lambret, Lille ; Centre Alexis-Vautrin et CHU, Nancy ; CHU Arnault-de-Villeneuve, Montpellier ; Centre Léon-Bérard, Lyon ; Institut Claudius-Régaud, Toulouse ; Centre Jean-Perrin, Clermont-Ferrand)

Objectifs : La mise en place d'une base de mutations des gènes BRCA1 et BRCA2 a eu pour but dans un premier temps de détecter la diversité des mutations dans les familles françaises présentant une agrégation de cancer du sein et/ou de l'ovaire afin d'orienter le choix des méthodologies d'analyse les plus appropriées. En fait, les mutations germinales affectant ces gènes sont majoritairement des mutations de petite taille (mutations ponctuelles, délétions ou insertions de quelques nucléotides). Plus récemment des mutations complexes ont été décrites (pertes ou duplications d'exons, altérations en 5' du gène). Ces mutations sont retrouvées sur l'ensemble de la séquence des 2 gènes.

Si le caractère délétère des mutations tronquantes est généralement admis, peu de données permettent de conclure sur la signification biologique de nombreuses mutations faux sens, introniques, délétions ou insertions « in frame ». Le second objet de la collecte exhaustive des mutations était d'aider à l'interprétation de cette catégorie de mutations.

Méthodes : Ces banques sont créées à l'aide du logiciel générique UMD® (« Universal Mutation Database ») développé à partir du logiciel 4e dimension® (société 4D). Il intègre de nombreux outils d'analyse (distribution des mutations, corrélations génotype-phénotype...) qui en font un produit de référence au niveau international (recommandé par HUGO et HGVS). Par ailleurs, l'outil UMD a déjà permis la création de plus d'une cinquantaine de LSDBs (http://www.umd.be) pour des gènes impliqués dans des cancers (TP53, APC, VHL...) ou dans des maladies génétiques (FBN1, DMD, LDLR...).

Résultats : Dans un premier temps, l'analyse des 300 premières mutations nous a conduit à considérer qu'une analyse exhaustive des séquences des 2 gènes était justifiée en raison de la diversité et de la répartition des mutations. 16 laboratoires français pratiquant des analyses dans un cadre de diagnostic participent à la collecte des informations et les résultats acquis sur plus de 1 000 familles seront présentés. De plus la compilation des données issues des différents laboratoires associés aux consultations du Groupe Génétique et Cancer doit aider en particulier à valider le caractère délétère de mutations de signification biologique inconnue, grâce à la mise en commun des données moléculaires.

Mots-clés : *BRCA1, BRCA2*, mutations germinales.

■P482 / 410. CONTRIBUTION DES RÉARRANGEMENTS DE GRANDE TAILLE AUX MUTATIONS DÉLÉTÉRÉS DU GÈNE *BRCA1* DANS 625 FAMILLES DU NORD OUEST DE LA FRANCE

A. Hardouin (1), S. Krieger (1), D. Vaur (1), J.-J. Baumann (1), G. Mastiti (1), A. Pannetier (1) C. Dugast (2), A. Lortholary (3), A. Rossi (4), A. Chevrier (4), T. Frebourg (4), P. Berthet (5)
(1) Laboratoire de Biologie clinique et Oncologique, CRLCC François-Baclesse, Caen ; (2) Consultation d'oncogénétique, Centre Eugène-Marquis et CHU de Rennes ; (3) Consultation d'oncogénétique, CRLCC Paul-Papin, Angers ; (4) Service de Génétique, CHU de Rouen ; (5) Consultation d'oncogénétique, CRLCC François-Baclesse, Caen

La recherche de réarrangements de grande taille dans le gène BRCA1 fait maintenant partie du criblage de routine des gènes BRCA dans les familles présentant une prédisposition héréditaire au cancer du sein et/ou des ovaires. Nous présentons ici les résultats de 625 familles dont les prélèvements nous ont été adressés par les consultations d'oncogénétique d'Angers, de Caen, de Rennes et de Rouen. La recherche de réarrangements de grande taille du gène BRCA1 a été effectuée de façon rétrospective sur 238 familles restées négatives pour des mutations délétères après

le criblage des gènes BRCA1 et BRCA2 par DHPLC (Denaturing High Performance Liquid Chromatography). Depuis deux ans, 322 familles ont été criblées de façon prospective en associant la recherche des réarrangements de grande taille en parallèle avec les recherches en DHPLC. La recherche a été effectuée à l'aide des techniques MLPA (Multiplex Ligationdependant Probe Amplification) et QMPSF (Quantitative Multiplex PCR Short fluorescent Fragments) qui permettent la détection des remaniements génomiques hétérozygotes. Les résultats positifs ont à chaque fois été validés par les deux techniques. Nous avons mis en évidence 11 réarrangements différents dans 16 familles distinctes, dont 8 délétions et 3 duplications. Parmi ces 11 réarrangements, 4 n'ont à ce jour jamais été décrits : une délétion du gène NBR2 et des exons 1a-1b (1 cas), une délétion des exons 3 à 16 (2 cas), une délétion des exons 11 et 12 (1 cas) ainsi qu'une duplication des exons 8 à 20 (2 cas). Les 5 autres délétions correspondent à une délétion du gène NBR2 et des exons 1-2 (2 cas), une délétion de l'exon 3 (1 cas), une délétion des exons 8 à 13 (3 cas), une délétion de l'exon 15 (1 cas) et une délétion de l'exon 20 (1 cas). Les 2 autres duplications correspondent à une duplication de l'exon 13 (1 cas) et une duplication des exons 3 à 8 (1 cas). Il est à noter que les 3 délétions 8-13 ont été mises en évidence chez 3 familles rouennaises distinctes. L'étude des haplotypes microsatellitaires et le niveau de cassure dans l'intron 7 sont en faveur d'un effet fondateur. Dans notre expérience, les techniques MLPA et QMPSF sont équivalentes et aucune discordance n'a été notée dans cette étude. Le nombre de mutations clairement délétères mises en évidence par DHPLC puis séquençage dans le gène BRCA1 étant de 72, ceci porte la contribution des réarrangements de grande taille dans les mutations délétères du gène BRCA1 à 18 % dans notre population. Ces résultats sont en accord avec les données de la littérature. En effet, le pourcentage de contribution des réarrangements dans le gène BRCA1 est estimé entre 10 et 15 %, parfois plus en présence d'un effet fondateur. Ces résultats confirment qu'il est indispensable d'inclure en routine la recherche de réarrangements génomiques hétérozygotes dans le criblage du gène BRCA1 par les techniques actuellement disponibles telles que MLPA et QMPSF.

Mots-clés : remaniement, génomique, hétérozygote.

■P483 / 443. DOUBLE MUTATION DE *BRCA1* ET *BRCA2* CHEZ UNE PATIENTE ATTEINTE D'UN CANCER OVARIEN

Huiart L. (1, 2), Bourdon V. (1, 2), Gravis G. (3), Noguchi T. (1, 2), Sauvan R. (1, 2), Rabayrol L. (1, 2), Chabannon C. (2, 4), Eisinger F. (1, 2, 5), Sobol H. (1, 2, 5)

(1) Département d'Oncologie Génétique de Prévention et Dépistage, Institut Paoli-Calmettes (IPC), Marseille ; (2) UMR 599, Marseille ; (3) Département de Médecine, IPC ; (4) Département de Thérapie Cellulaire et CRB, IPC ; (5) UFR de Médecine, Université Aix-Marseille II

Les gènes BRCA1 et BRCA2 sont impliqués dans la moitié des formes familiales de cancers du sein/ovaire. La fréquence des mutations de BRCA1 et BRCA2 en population générale est estimée à 0,024 % et 0,041 % respectivement. La fréquence d'une double mutation – une mutation de BRCA1 et une mutation de BRCA2 – est donc très faible, estimée à moins de 1/250 000 individus. Nous rapportons le premier cas français d'une patiente porteuse d'une double mutation BRCA1 et BRCA2. La proposante, âgée de 47 ans, a développé un cystadéno-carcinome séreux ovarien correspondant à un stade III Figo. Elle a bénéficié d'une chirurgie première avec hystérectomie élargie avec omentectomie, puis de 6 cures de chimiothérapie et d'une chirurgie de second-look avec curage ganglionnaire lombo-aortique. L'histoire familiale retrouve une agrégation significative de cancers. Dans la fratrie du père de la consultante, on retrouve un cancer du sein chez une femme à 60 ans, un cancer de site primitif indéterminé chez un homme à 75 ans et un cancer du poumon à 76 ans. Dans la fratrie de la mère, on note un cancer du côlon chez un homme à 60 ans et un cancer du poumon à 61 ans. Le frère de la consultante a développé une leucémie à l'âge de 19 ans (diagnostic non confirmé). Bien que la probabilité d'identifier une mutation délétère dans l'un des deux gènes BRCA chez la consultante ait été considérée comme modérée (12 % Myriad II, 7,4 % BRCAPRO), l'indication d'analyse génétique a été posée en raison de la présence chez des apparentés au 2º degré d'un cancer du sein et d'un cancer de l'ovaire avec passage par un homme. L'analyse des gènes BRCA1 et BRCA2 par DHPLC et séquençage a mis en évidence une mutation sur chacun de ces gènes : IVS11+1 G>A sur BRCA1 et 8475 delGA sur BRCA2. Ces deux mutations ont été rapportées respectivement deux et huit fois dans le BIC (The Breast Cancer Information Core). Cette association n'a jamais été décrite antérieurement. La présence d'une double mutation chez cette patiente ne semble pas entraîner une aggravation du phénotype : la sévérité du tableau clinique familial et la précocité des atteintes observées ne sont pas supérieures à celles attendues dans le cas où une mutation unique est identifiée. De même, les données de la littérature ne suggèrent pas un effet cumulatif de deux mutations sur le phénotype. En ce qui concerne le conseil génétique, les enfants de la consultante ont 75 % de risque d'être porteur d'au moins une mutation et 25 % de la double mutation. Ce risque accru, pour les descendants, légitime à lui seul la recherche de mutations multiples. De plus, l'existence de doubles mutations souligne la nécessité de réaliser une analyse complète des 2 gènes chez les femmes ayant développé un cancer du sein précoce ou de l'ovaire et non porteuse d'une mutation familiale préalablement identifiée.

Mots-clés : double mutation, BRCA1, BRCA2.

■P484 / 449. MISE EN ÉVIDENCE DE DEUX EFFETS FONDATEURS DU GÈNE *BRCA1* DANS LE SUD DE LA FRANCE

Bourdon V. (1, 2), Huiart L. (1, 2), Cannoni H. (3, 4), Frénay M. (5), Deyfus H. (6), Sauvan R. (1, 2), Noguchi T. (1, 2), Rabayrol L. (1, 2), Chabannon C. (2, 7), Colignon P. (8), Philip N. (3, 4), Eisinger F. (1, 2, 4), Sobol H. (1, 2, 4)

(1) Département d'Oncologie Génétique de Prévention et Dépistage, Institut Paoli-Calmettes (IPC), Marseille ; (2) UMR 599, Marseille ; (3) Département de Génétique, Hôpital de la Timone, Marseille ; (4) UFR de Médecine, Université Aix-Marseille II ; (5) Consultation d'Oncogénétique, Centre Antoine-Lacassagne ; (6) Consultation d'Oncogénétique, Institut Ste-Catherine, Avignon ; (7) Département de Thérapie Cellulaire et CRB, IPC ; Consultation d'Oncogénétique, CHG de Toulon

Un réseau régional en oncogénétique s'est mis en place à l'initiative des praticiens depuis plusieurs années dans la région PACA (Provence-Alpes-Côte d'Azur-Corse) correspondant à près de 5 millions d'habitants. Son émergence et sa structuration ont été grandement favorisées par le « Plan Cancer » et la politique d'appels d'offres de la DHOS portant sur l'aide aux consultations et aux laboratoires d'oncogénétique. Un partenariat et un partage d'activité se sont naturellement établis entre les membres du réseau. Le laboratoire d'oncogénétique moléculaire de l'IPC est le laboratoire hospitalier de référence régionale pour les gènes prédisposant aux cancers du sein et aux tumeurs coliques. Ainsi nous réalisons les tests génétiques des gènes BRCA1 et BRCA2 pour les patients vus dans les consultations recensées auprès du Groupe Génétique et Cancer de la FNCLCC de la région PACA. Cette situation de quasi exhaustivité est idéale pour identifier des effets fondateurs. Entre Octobre 1996 et Février 2002, nous avons analysé les gènes BRCA1 et BRCA2 de 481 proposants dont 431 appartenaient à des familles de cancer du sein seul et 50 à des familles de cancers du sein et de l'ovaire. Soixante deux mutations différentes ont été identifiées. Parmi celles-ci, nous avons identifié deux mutations récurrentes dans le gène BRCA1, c'est à dire retrouvées dans plus de trois familles indépendantes. La première n'a été décrite qu'une seule fois dans la base internationale BIC, il s'agit de 5154del5 (quatre familles) et la seconde bien connue : 5382 insC (sept familles) correspond à une mutation retrouvée dans la population Juive Ashkénaze. La première mutation a été retrouvée exclusivement chez des individus originaires de Corse. La seconde mutation a été identifiée initialement dans notre série chez des sujets provenant principalement des Hautes-Alpes (cinq familles) et sans lien connu avec la population Juive Ashkénaze et chez deux autres familles provenant de départements limitrophes (avec une origine Ashkénaze certaine ou compatible). Afin de déterminer si l'on avait à faire à un effet fondateur pour chacune de ces mutations, nous avons réalisé une analyse haplotypique avec des marqueurs intra-géniques et flanquants BRCA1 dans les différentes familles. Un haplotype spécifique a été identifié dans cinq des sept familles porteuses de la mutation 5382insC. Ces cinq familles ont toute une origine géographique commune avec des ancêtres originaires de Saint Étienne en Dévoluy. Les deux autres familles ne présentent que quelques variantes de cet haplotype (portant sur les marqueurs les plus éloignés). Nous en avons tiré la conclusion que tous ces sujets porteurs de la mutation 5382 insC avaient probablement un ancêtre commun. Le fondateur à l'origine de la diffusion de la mutation dans les Hautes-Alpes pouvait très bien s'être réfugié dans les vallées encaissées difficiles d'accès de cette région suite à des persécutions religieuses comme cela a été rapporté en d'autres occasions. Parallèlement, la mutation 5154del4 a été également retrouvée associée à un haplotype particulier dans les quatre familles analysées et originaires de Corse. À notre connaissance, c'est le premier effet fondateur décrit pour le cancer du sein et/ou de l'ovaire dans cette population. Ainsi, cette étude est très en faveur d'une origine géographique spécifique pour chacune de ces mutations. L'insertion 5382 insC initialement liée à une population particulière a pu se retrouver tel un isolat dans les territoires enclavés des Hautes-Alpes pour constituer un autre groupe sans contact avec la population d'origine. Alors que la délétion 5154del4 est restée cantonnée à sa population d'origine insulaire que ses membres

vivent encore en Corse ou sur le continent. Dans ces populations, l'identification d'effet fondateur majeur pourrait permettre de tester en premier lieu ces mutations fondatrices.

Mots-clés : effet fondateur, gène *BRCA1*, Sud de la France.

■P485 / 451. CRIBLAGE PAR DHPLC DES GÈNES *SDHD, SDHB* ET *SDHC* CHEZ 50 PATIENTS ATTEINTS DE PARAGANGLIOMES ET/OU DE PHÉOCHROMOCYTOMES

Sylvain Lefebvre (1), Clarisse-Anne Bourdin (1), Françoise Borson-Chazot (2), Alfred Penfornis (3), Jean Caron (4), Isabelle Ringeard (5), Stéphane Pinson (1), Anne-Paule Gimenez-Roqueplo (6), Alain Calender (1), Sophie Giraud (1)

(1) Génétique moléculaire et clinique, Hôpital E. Herriot, Lyon ; (2) Médecine nucléaire, Hôpital Neuro-cardiologique, Lyon ; (3) Endocrinologie, Hôpital J. Minjoz, Besançon ; (4) Endocrinologie, Hôpital Hautepierre, Reims ; (5) Maladies métaboliques, Hôpital Lapeyronie, Montpellier ; (6) Génétique, Hôpital Européen Georges-Pompidou, Paris ; Université Paris-Descartes, Faculté de Médecine ; INSERM U36, Collège de France, Paris

Les paragangliomes sont des tumeurs neuroendocrines développées aux dépens des paraganglions associés au système nerveux autonome. Elles sont le plus fréquemment sporadiques mais peuvent être familiales, leur transmission est alors autosomique dominante. Associées à d'autres manifestations, ces tumeurs peuvent rentrer dans le cadre de deux syndromes : la néoplasie endocrinienne de type 2 (gène *RET*) et la maladie de Von Hippel Lindau (gène *VHL*). Dans le cadre du syndrome phéochromocytome/paragangliome, trois gènes de prédisposition sont impliqués : *SDHD, SDHB*, *SDHC* codant respectivement 3 sous-unités de la succinate déshydrogénase. Les mutations sur le gène *SDHB* prédisposeraient préférentiellement aux phéochromocytomes et aux paragangliomes abdominaux, les mutations sur le gène SDHD aux paragangliomes cervico-céphaliques. Pour l'étude des gènes *SDHD, SDHB* et *SDHC*, respectivement formés de 4, 8 et 6 exons, nous avons voulu tester la technique de criblage par dHPLC (Chromatographie Liquide dénaturante Haute Performance), système chromatographique qui permet de détecter la formation d'hétéroduplexes. Les conditions optimales d'utilisation de cet appareil dHPLC ont été mises au point pour 17 exons (le dernier exon de *SDHC* a été analysé par séquençage) : pour l'amplification, l'utilisation de protocoles PCR Touchdown et d'une TAQ polymérase spécifique, la Taq Optimase de Transgenomic® ; pour la dHPLC, sélection d'une température et d'un gradient spécifiques à chaque exon. Nous avons pu vérifier la bonne sensibilité de la technique en testant 19 variants connus et en obtenant 100 % de détection. Nous avons ensuite étudié 50 patients présentant un paragangliome et/ou un phéochromocytome pour lequel le séquençage des gènes *RET* et *VHL* n'avait pas mis en évidence de mutation. Le séquençage des profils anormaux obtenus par dHPLC a permis d'identifier 25 variants : 15 polymorphismes, 9 mutations pathogènes et 1 variant intronique dont le caractère délétère reste à prouver. Parmi les mutations pathogènes, nous avons identifié deux faux sens déjà décrits, 3 non sens, 2 décalage du cadre de lecture, 1 sur un site d'épissage et 1 touchant le premier codon de SDHC. Leur répartition est de 2 sur *SDHD*, 5 sur *SDHB* et 2 sur *SDHC*. Nous discutons les corrélations génotype-phénotype de nos patients. La dHPLC permet le criblage rapide et sensible des gènes *SDHD, SDHB* et *SDHC* pour la recherche de mutations ponctuelles. Nous prévoyons de mettre au point une application complémentaire permettant la recherche de grands réarrangements sur cet appareil : la MP/LC (PCR Multiplex par Chromatographie Liquide).

Mots-clés : paragangliomes, SDHD, SDHB, SDHC, dHPLC.

■P486 / 479. PRÉDISPOSITION FAMILIALE AU MÉLANOME : À PROPOS DE 6 CAS DE PHÉNOCOPIES

C. Colas (1), C. Kannengiesser (2), V. Chaudru (3), F. Demenais (3), M.F. Avril (4), Groupe Français de recherche sur la génétique du mélanome, B. Bressac de Pailleret (2), A. Chompret (1)

(1) Service d'oncogénétique clinique, Institut Gustave-Roussy, Villejuif ; (2) Service de génétique moléculaire, Institut Gustave-Roussy, Villejuif ; (3) INSERM Unité EMI 0006, génopole, Évry ; (4) Service de dermatologie, Hôpital Cochin, Paris

Le mélanome malin cutané est une pathologie multi-factorielle dont l'incidence est en augmentation constante. Environ 10 % des cas de mélanome surviennent dans un contexte familial, c'est à dire dans une famille où au moins un autre sujet a développé un mélanome. Dans 20 à 40 % des cas, cette prédisposition familiale peut être rattachée à une mutation dans le gène CDKN2A. La pénétrance de ces mutations est incomplète et modulée par des facteurs environnementaux et par des facteurs génétiques. Le gène MC1R est l'exemple type d'un gène impliqué dans la pigmentation, dont certains allèles peuvent non seulement conférer aux sujets des caractéristiques pigmentaires à risque mais aussi moduler le risque de mélanome indépendamment des caractéristiques pigmentaires (gène de susceptibilité) ou encore moduler la pénétrance des mutations de CDKN2A (gène modificateur). Dans certains pays, où l'incidence des mélanomes sporadiques est importante, l'intérêt de la recherche des mutations de CDKN2A en routine est discutée en partie en raison de la fausse réassurance qu'entraîne un test négatif chez les non porteurs, chez qui persiste le risque de développer un mélanome sporadique et donc la nécessité de maintenir une surveillance. Le pourcentage de phénocopies dans les familles mutées pour CDKN2A é été évalué à 9 % par un Consortium International. Le service de génétique clinique et moléculaire de l'Institut Gustave Roussy travaille sur la prédisposition au mélanome depuis de nombreuses années. Sur 352 sujets testés, appartenant à 74 familles mutées pour CDKN2A, nous avons identifié 6 cas de phénocopies (soit 4,7 %) chez lesquels nous avons étudié les facteurs de risque de mélanome (caractéristiques pigmentaires, exposition solaire mais aussi présence ou non de variants MC1R). La présence d'un ou plusieurs variants de MC1R est retrouvée chez 4 des 6 sujets ayant développé une phénocopie et pourrait donc expliquer, au moins en partie, le développement d'un mélanome chez ces sujets. L'un des deux cas restant présentait un facteur de risque environnemental important (exposition solaire), chez le second en revanche aucun autre facteur de risque connu n'a pu être mis en évidence. Il est donc probable que d'autres gènes, encore inconnus, soient également impliqués dans la susceptibilité au mélanome. Des études complémentaires, en population générale et dans les familles, sont nécessaires pour identifier ces gènes et permettre de s'acheminer vers une prise en charge plus personnalisée du risque de mélanome.

Mots-clés : mélanome familial, phénocopies, MC1R.

■P487 / 1012. PREMIÈRES MUTATIONS GERMINALES DU GÈNE FH DANS LES FAMILLES FRANÇAISES ATTEINTES PAR LA LEIOMYOMATOSE CUTANÉO-UTÉRINE AVEC CANCER PAPILLAIRE DU REIN

Betty Gardie (1), Sandrine Lefèvre (1), Charline Ladroue (1), Didier Bessis (2), Christelle Pruvost-Balland (3), Emmanuel Van Glabeke (4), Bernard Escudier (5), Brigitte Gilbert (6), Félicia Malthieu (7), Pierre Vabres (7), Nicolas Janin (8), Brigitte Bressac-de Paillerets (9), Marie-Françoise Avril (3), Stéphane Richard (1, 10) et le Réseau national « Cancers du rein héréditaires »

(1) Génétique Oncologique EPHE, UMR 8125, Institut Gustave-Roussy, Villejuif et Faculté de Médecine Paris-Sud, le Kremlin Bicêtre ; (2) Service de Dermatologie, Hôpital Saint-Éloi, Montpellier ; (3) Service de Dermatologie, Institut Gustave-Roussy, Villejuif ; (4) Service d'Urologie, Hôpital André-Grégoire, Montreuil ; (5) Département d'Immunothérapie, Institut Gustave-Roussy, Villejuif ; (6) Service de Génétique, CHU, Poitiers ; (7) Service de Dermatologie, CHU, Poitiers ; (8) Département de Génétique, CHU, Liège, Belgique ; (9) Service de Génétique, Institut Gustave-Roussy, Villejuif ; (10) Consultation d'Oncogénétique Spécialisée AP-HP, Service d'Urologie, CHU, Le Kremlin-Bicêtre

Les prédispositions héréditaires de cancers du rein sont estimées à seulement 2 à 3 % de l'ensemble des 8 300 nouveaux cas découverts chaque année en France mais sont d'un intérêt capital tant au plan clinique (le diagnostic présymptomatique permet le suivi clinique des personnes à risque) que fondamental (les gènes responsables sont aussi impliqués dans la survenue des tumeurs sporadiques et permettent de mieux comprendre les étapes de la cancérogenèse). À côté de la maladie de von Hippel-Lindau (VHL) qui représente 95 % de l'ensemble des cas de tumeurs rénales héréditaires, une dizaine de syndromes ont maintenant été décrits en association avec un risque accru de tumeurs rénales. La léiomyomatose héréditaire avec cancer papillaire du rein (« HLRCC ») (OMIM 605839) est la dernière affection en date dont le gène ait été identifié en 2002. Il s'agit d'une affection rare, de transmission autosomique dominante, essentiellement connue des dermatologues en raison de la survenue de léiomyomes cutanés, petites tumeurs bénignes développées à partir des muscles arrecteurs des poils. Il s'y associe souvent des léiomyomes et léiomyosarcomes utérins et, dans 20 % des cas, des cancers rénaux de survenue précoce et très agressifs (cancer papillaire de type 2 ou plus rarement cancer des tubes collecteurs). La léiomyomatose héréditaire avec cancer papillaire du rein est due à des mutations germinales hétérozygotes du gène suppresseur de tumeur FH (1q42.3-43) qui code une enzyme du cycle de Krebs, la fumarate hydratase. Les mutations homozygotes du gène FH sont par ailleurs responsables du déficit en fumarase hydratase (OMIM 606812), une affection récessive caractérisée par un retard mental, une encéphalopathie et un décès avant l'âge de 10 ans. Quarante-cinq mutations distinctes ont été décrites jusqu'à présent sans corrélation génotype-phénotype évidente.

Dans le cadre de l'organisation du réseau national « Cancers du rein héréditaires » financé par la DHOS depuis 2004, nous avons mis en place la recherche de mutations germinales du gène FH par séquençage direct des 10 exons du gène chez 23 patients incluant 15 proposants dont 9 de familles avec léiomyomatose caractéristique et 6 avec cancer papillaire sporadique, après recueil de leur consentement. Une mutation ponctuelle du gène FH a été mise en évidence chez 7 des 9 cas index avec forme familiale de léiomyomatose (78 %) et chez 1 des 6 patients avec cancer du rein sporadique (15 %). Nous avons identifié trois nouvelles mutations dans la séquence codante du gène (2 mutations faux-sens et une mutation d'un site d'épissage). Dans une famille, la présence de la mutation a déjà été confirmée chez trois autres patients et exclue chez deux apparentés asymptomatiques. La léiomyomatose héréditaire avec cancer papillaire du rein est une affection dont le pronostic, lié à l'agressivité des tumeurs rénales, est potentiellement grave. L'analyse génétique peut apporter la preuve du diagnostic, permettre un dépistage des personnes à risque de l'entourage familial et mettre en place une surveillance rénale précoce.

Mots-clés : gène *FH*, léiomyomatose cutanéo-utérine, cancer papillaire du rein.

■P488 / 1019. PRÉDISPOSITIONS GÉNÉTIQUES AUX CANCERS DU SEIN ET DE L'OVAIRE : ÉTUDE PROSPECTIVE DE SUJETS PORTANT UNE MUTATION DES GÈNES BRCA (COHORTE GENEPSO)

C. Noguès (1), M. Gauthier-Villars (2), A. Chompret (3), C. Lasset (4), J.-P. Fricker (5), P. Berthet (6), E. Luporsi (7), H. Sobol (8) et le Groupe Génétique et Cancer de la FNCLCC (9)
(1) Centre René Huguenin, Saint Cloud ; (2) Institut Curie, Paris ; (3) Institut Gustave Roussy, Villejuif ; (4) Centre Léon-Bérard, Lyon ; (5) Centre Paul-Strauss, Strasbourg ; (6) Centre François-Baclesse, Caen ; (7) Centre Alexis-Vautrin, Nancy ; (8) Institut Paoli-Calmettes, Marseille, France ; (9) Groupe Génétique et Cancer incluant Stoppa-Lyonnet D., Frenay M., Faivre L., Bonadona V., Gesta P., Longy M., Gladieff L., NGuyen T.D., Lortholary A., Guimbaud R., Vennin P., Eisinger F., Jacquemont S., Chevrier A., Barba, Bignon Y.J., Dreyfus H., Limacher J.M., Dugast C., Demange L., Huiart L., Cohen-Haguenauer O., Zattara-Cannoni H., Adenis C., Venat-Bouvet L., Rossi A., Coupier I.

Objectifs. 5 % des cas de cancer du sein et de l'ovaire seraient dus à une prédisposition génétique transmise selon le mode autosomique dominant. Les mutations des gènes BRCA1 et BRCA2 sont responsables d'une partie de ces formes héréditaires. Plusieurs questions continuent à se poser pour améliorer la prise en charge des familles dans lesquelles une telle mutation a été identifiée : 1) Quel est le risque qu'un sujet porteur d'une mutation développe un cancer du sein et/ou de l'ovaire et/ou un autre cancer au cours de sa vie ? 2) Ces risques de cancer sont-ils modifiés par des facteurs environnementaux (en particulier les radiations d'origine médicale), des facteurs hormonaux, d'autres facteurs génétiques ? 3) Doit-on utiliser les mêmes paramètres pour évaluer le pronostic des cancers du sein et de l'ovaire associés à une altération des gènes BRCA que ceux utilisés pour les cancers communs ? 4) Quel est l'impact psychologique et social pour une personne de se savoir prédisposée au cancer du sein et/ou de l'ovaire ? Méthodes. Une cohorte nationale de femmes et d'hommes porteurs d'une mutation sur BRCA, atteints ou non de cancer, est constituée. Le suivi de ces personnes est organisé sur 10 ans. Les personnes de 18 ans et plus, sont incluses à partir des consultations d'oncogénétique. Elles complètent un questionnaire épidémiologique et psychologique d'inclusion. Une mise à jour active des facteurs de risques est organisée (à 1 an, 2 ans, 3 ans, 5 ans, 7 ans et 10 ans). Les arbres généalogiques sont collectés ainsi que des données sur la mutation en cause. Des livrets cliniques sont remplis par l'investigateur pour chaque cas de cancer (caractéristiques morphocliniques, traitements, évènements carcinologiques). Des informations sont recueillies sur les chirurgies prophylactiques. Des collaborations internationales ont été mises en place pour certains projets. Résultats : Les inclusions ont débuté en décembre 1999 et sont réalisées actuellement par 29 centres de consultation d'oncogénétique (36 investigateurs). À ce jour, 1 083 personnes font partie de cette cohorte (recul 5 ans et 10 mois) et représentent 704 familles distinctes et 354 mutations différentes des gènes BRCA. 62 décès, 8 perdues de vue et 8 sorties volontaires ont été enregistrés. Les femmes sont majoritaires (n = 964, 89 %) ainsi que les porteurs (H/F) de mutation de BRCA1 (n = 732, 67 %). Les âges moyens aux inclusions sont de 43 ans [18-98 ans] pour les personnes indemnes de cancer et de 50 ans [27-87 ans] pour les personnes atteintes de cancer. La proportion des personnes atteintes de cancer du sein et/ou de l'ovaire est de 56,7 % pour BRCA1 et de 56,1 % pour BRCA2. À l'inclusion, 591 femmes étaient atteintes de cancers du sein et/ou de l'ovaire. 17 cas de cancers incidents ont été enregistrés à ce jour auxquels il faut ajouter 31 patientes ayant développé un second cancer sein et/ou ovaire. Une description plus complète de la cohorte GENEPSO sera présentée ainsi que les liens établis au plan international.

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

■P489 / 1036. STRATÉGIE DE CRIBLAGE DES ANOMALIES D'ÉPISSAGE : APPLICATION À L'ÉTUDE DES UV BRCA 1 et 2

V. Caux-Moncoutier, S. Pagès-Berhouet, D. Michaux, C. Dehainault, A. Laugé, I. Coupier, M. Gauthier-Villars, D. Stoppa-Lyonnet, C. Houdayer
Service de Génétique, Institut Curie, Paris

Cinq à 10 % des cancers du sein et/ou de l'ovaire ont une origine génétique, liée principalement à des altérations des gènes BRCA, dont la majorité génère une protéine tronquée. De façon étonnante les mutations d'épissage ne représenteraient que 5 % du spectre mutationnel de *BRCA* contre 50 % pour *NF1* ou *ATM*. Cependant, près de 40 % des modifications identifiées sur *BRCA* (introniques, petites délétions respectant le cadre, neutres et faux sens) ne fournissent pas d'interprétation lisible en génomique et ont été rapportées comme unknown variants (UV). Après avoir montré l'importance d'une exploration de l'impact des UV BRCA sur l'épissage [Moncoutier *et al.*, ASHG meeting, 2004, A537], nous avons débuté une étude systématique sur 66 UV non sélectionnés (26 sur *BRCA1* et 40 sur *BRCA2*), identifiés chez des patientes atteintes de cancer du sein et/ou de l'ovaire, sans mutation de *BRCA1/2* détectée. L'objectif était la mise en place d'un criblage permettant de détecter les anomalies d'épissage délétères. Nous avons donc développé une approche de détection des déséquilibres alléliques car ces déséquilibres, induits par l'instabilité du messager, révèlent la présence d'une mutation tronquante. Cette approche a été combinée à la prédiction de l'impact des UV sur l'épissage par interrogation de 6 sites Web (splice site prediction, splice site finder, maxentscan score splice, genscan, ESE finder, rescue ESE). Les déséquilibres alléliques ont été recherchés en interrogeant par extension d'amorces (technique SnuPE) sur ADNc et en conditions semi-quantitatives des polymorphismes codants fréquents de *BRCA1/2* (SNPs : 2731C>T, 4427T>C et 4956A>G sur BRCA1, 1342C>A, 3624A>G, 4035T>C, et 7470A>G sur BRCA2). L'ARN de chaque patiente a été extrait de lignées lymphoblastiques puis traité à la DNAse et amplifié par RT-PCR. Un minimum de 2 SNPs par patiente a été interrogé à l'aide du kit SNaPshot (Applied Biosystems). Afin de corriger les valeurs des ratios alléliques obtenus sur ADNc, les SNPs ont aussi été interrogés sur ADN génomique et sur ADNc provenant de témoins normaux. Des échantillons portant des anomalies d'épissage déjà caractérisées ont été inclus pour valider la technique. Les témoins normaux ont montré des ratios alléliques sur ADNc reproductibles et homogènes, et un déséquilibre allélique (ratios corrigés de 1,4 à 4 selon les SNPs), voire un déséquilibre total ont bien été objectivés pour les témoins mutés. Deux déséquilibres alléliques ont été trouvés associés aux UV BRCA1 et six aux UV BRCA2. Les déséquilibres alléliques observés ne s'accompagnent pas toujours d'une prédiction informatique suggestive. De façon intéressante un déséquilibre intermédiaire (ratio corrigé à 1,2) a été trouvé pour l'UV BRCA2 IVS17-7C>G. L'anomalie, caractérisée, montre la coexistence de défauts d'épissage en phase (insertion intronique de 6 pb) et hors phase (saut des exons 17 et 18) expliquant ainsi ce discret déséquilibre et montrant par la même la sensibilité de l'approche. Afin de déterminer la responsabilité des UV dans les déséquilibres observés, le séquençage des régions flanquant les UV est en cours, à l'aide d'ADNc provenant de lignées traitées à la puromycine, ce qui permet la stabilisation des transcrits portant la mutation tronquante. Il reste possible que les déséquilibres observés ne soient pas liés aux UV, auquel cas un séquençage de l'ensemble de la région codante sera nécessaire. L'ensemble des résultats permettra de mieux appréhender la contribution des UV BRCA aux anomalies délétères de l'épissage, mais aussi de mieux cerner la valeur prédictive des modélisations bioinformatiques et, enfin, de définir une stratégie optimale combinant approches expérimentale et in silico, dans la perspective d'un possible transfert en criblage de routine. L'approche SNuPE pourra aussi être discutée pour un criblage rapide des patientes ne présentant ni mutation ni UV, mais dont l'histoire familiale évoque fortement une prédisposition sous-jacente.

Mots-clés : *BRCA,* UV, déséquilibres alléliques.

■P490 / 1042. LE GÈNE *MEN1* ET LA MÉNINE : UNE VOIE DE SIGNALISATION AUX MULTIPLES RAMIFICATIONS ET CONSÉQUENCES PATHOLOGIQUES – PRÉSENTATION DES ÉTUDES RÉALISÉES DANS LE CADRE DU RÉSEAU NATIONAL GDR CNRS N° 2906

A. Calender (1, 3), P. Gaudray (2), C.X. Zhang (3), M. Cordier (4), N. Porchet (5), C. Ebel (6), S. Dupasquier (1), A. Poisson (2), V. Rohmer (7), J.A. Chayvialle (4), M. Billaud (3)

(1) Service de Génétique médicale et Moléculaire, CHU de Lyon ; (2) CNRS FRE 2720, Faculté de Médecine, Nice ; (3) CNRS UMR 5201, Faculté de Médecine, Lyon ; (4) INSERM U45, Faculté de Médecine, Lyon ; (5) Laboratoire de Biochimie et Biologie Moléculaire, CHRU de Lille ; (6) Institut de Biologie Structurale J.P. Ebel, Grenoble ; (7) Service d'Endocrinologie, CHRU d'Angers

La Néoplasie Endocrinienne Multiple de type 1 (Multiple Endocrine Neoplasia type 1 – MEN1 – OMIM 131100) est un syndrome génétique à transmission autosomique dominante et avec une forte pénétrance qui prédispose au développement de tumeurs dans la majorité des glandes endocrines, mais aussi au niveau cutané et dans le système nerveux central. Le gène majeur de prédisposition à ce syndrome, *MEN1*, est localisé en position 11q13 et code la ménine, une protéine de 615 amino-acides qui ne possède pas d'homologie avec des familles de protéines connues. Sa fonction précise reste inconnue, mais plus de 22 partenaires d'interaction ont été décrits à ce jour. Des modèles murins ont été produits, en particulier par une équipe de notre réseau collaboratif et démontrent l'importance cruciale de la ménine pour l'embryogenèse. Les souris hétérozygotes développent une pathologie NEM1 similaire à celle de l'Homme et ces systèmes représentent un outil puissant d'analyse fonctionnelle et pré thérapeutique. Nous décrivons par ailleurs les résultats génétiques issus de l'analyse moléculaire des patients à travers le réseau clinique national GTE (Groupe d'étude des Tumeurs Endocrines), la plus grande série de mutations dans le monde, dont certaines, de nature substitutive et/ou isosémantique, agissent sur l'activation de sites cryptiques d'épissage avec effet drastique sur la transcription. Ces observations posent le problème de la limite entre polymorphisme et mutation. Les études du GDR CNRS n° 2906, réseau de laboratoires français en connexion internationale, se focalisent sur les données fonctionnelles de la ménine, qui interagit avec des facteurs impliqués dans la régulation de la transcription, le code des histones, la réplication et la réparation de l'ADN, la voie de signalisation du TGF-bêta, le contrôle du check point G1/S et des processus essentiels de la réponse des cellules aux stress physiologiques, via l'apoptose et la régulation de la prolifération. Le produit du gène MEN1 régule de nombreux promoteurs et également ses propres séquences régulatrices, et par ce biais se positionne comme un puissant gène suppresseur de la prolifération cellulaire, avec un intérêt thérapeutique à terme. Les données présentées sous forme synthétique intègrent également une approche in silico de la structure biophysique de la ménine, en relation avec ses capacités fonctionnelles. La réalisation de tests fonctionnels in vitro des mutations de type faux sens reste une priorité de notre réseau à partir de lignées cellulaires endocrines ou non, dont certaines issues des modèles murins d'inactivation. Un point clé de notre projet est l'étude des séquences régulatrices et promotrices du gène *MEN1*, à partir des données publiées de certaines équipes du réseau, pour la compréhension du mécanisme d'autorégulation en feedback de la ménine par elle-même. Enfin, le retour vers la clinique est un objectif majeur de nos études, avec des projets centrés sur la recherche des mutations atypiques chez des patients NEM1 sans altération décelable par les stratégies conventionnelles de séquençage. En définitive, cette présentation synthétique vise à faire le point bref et concis sur l'ensemble des recherches menées en France depuis 1997, actuellement dans un cadre de réseau national, sur le gène MEN1, les pathologies associées, les fonctions de la ménine en tant que facteur d'adaptation pléiotropique dans la cellule et les implications thérapeutiques potentielles en oncologie.

Mots-clés : tumeur endocrine, prédisposition, gène suppresseur.

■P491 / 1046. SYNDROMES MYÉLODYSPLASIQUES ET MONOSOMIE 7

I. El Kamel (1), A. Belghith (1), O. Kacem (1), I. Ouertani (1), N. Bouayed Abdelmoula (2), R. Smiti (1), M. Zribi (1), N. Ben Romdhane (3), A. Amouri

(1) Laboratoire de Cytogénétique, Institut Pasteur de Tunis, Tunisie ; (2) Laboratoire d'Histologie Embryologie, faculté de Médecine de Sfax, Tunisie ; (3) Laboratoire d'Hématologie, Hôpital LA RABTA, Tunis, Tunisie

Les syndromes myélodysplasiques (SMD) sont des désordres clonaux qui touchent la cellule souche hématopoïétique, et qui associent habituellement une cytopénie périphérique contrastant avec une moelle osseuse riche et souvent une dysplasie d'une des trois lignées hématopoïétiques. L'étude du caryotype au cours des SMD constitue un élément de diagnostic important et un paramètre pronostic primordial puisque les anomalies chromosomiques rencontrées entrent dans la définition d'un index pronostique international, l'IPSS, et certaines d'entre elles sont associées à un mauvais pronostic notamment la monosomie totale ou partielle du chromosome 7. Notre travail est une étude rétrospective ayant porté sur 40 patients atteints d'un syndrome myélodysplasique, pour lesquels un caryotype médullaire par cytogénétique conventionnelle a été réalisé dans notre laboratoire de Cytogénétique de l'Institut Pasteur de Tunis et chez qui nous avons appliqué des techniques d'hybridation in situ fluorescente (FISH) à la recherche d'une monosomie 7. Par la FISH utilisant la sonde centromérique du 7, nous avons d'abord pu confirmer une monosomie 7 chez 6 patients, et par la même occasion, mieux préciser la proportion du clone pathologique. Nous avons également décelé 3 patients ayant un petit clone monosomique passé inaperçu par la cytogénétique conventionnelle. Enfin, pour une patiente porteuse d'un anneau du 7, l'utilisation des sondes télomériques et de la sonde centromérique nous a permis de mieux préciser la structure et la répartition des différentes populations cellulaires contenant un ou deux anneaux ou ayant perdu le chromosome remanié. Notre étude confirme donc l'importance de l'application d'une Hybridation In Situ ciblée sur les préparations chromosomiques en complément d'un caryotype conventionnel afin de déceler des petits clones passés inaperçus et de préciser certaines anomalies de structure complexes.

Mots-clés : SMD, monosomie 7, IPSS.

■P492 / 1047. ANALYSE ET IDENTIFICATION PAR CYTOGÉNÉTIQUE CONVENTIONNELLE ET MOLÉCULAIRE DES CHROMOSOMES PHILADELPHIE VARIANTS DANS LA LEUCÉMIE MYELOÏDE CHRONIQUE

A. Belghith (1), I. El Kamel (1), R. Smiti (1), I. Ouertani (1), O. Kacem (1), M. Zribi (1), N. Ben Romdhane (2), A. Amouri (1)

(1) Laboratoire de Cytogénétique, Institut Pasteur de Tunis, Tunisie ; (2) Laboratoire d'Hématologie, Hôpital La Rabta, Tunis, Tunisie

La leucémie myéloïde chronique (LMC) est un syndrome myéloprolifératif caractérisé par une prolifération clonale de cellules pluripotentes conduisant à une expansion cellulaire principalement myéloïde. La LMC est caractérisée par un marqueur chromosomique spécifique, le chromosome Philadelphie (Ph) provenant d'une translocation équilibrée, translocation t(9;22)(q34;q11), retrouvée dans 95 % des LMC. La cytogénétique est indispensable au diagnostic en mettant en évidence la translocation t(9;22) classique ou variante. Dans certains cas, cette translocation associe d'autres chromosomes. Nous nous proposons d'étudier dans ce travail les caryotypes de 5 patients porteurs d'une LMC, explorés dans notre laboratoire de Cytogénétique de l'Institut Pasteur de Tunis, chez qui une translocation t(9;22) variante a été décelée par cytogénétique conventionnelle. Ces patients ont bénéficié d'une Hybridation In situ Fluorescente double couleur afin de mieux préciser la nature du réarrangement. Nos résultats seront discutés à la lumière des données de la littérature, en mettant l'accent sur l'importance de la FISH comme technique complémentaire pour le diagnostic et le suivi de la LMC.

Mots-clés : LMC, chromosome Philadelphie, FISH.

■P493 / 1063. RECHERCHE DE MUTATIONS DANS LE RÉCEPTEUR À ACTIVITÉ TYROSINE KINASE C-KIT

Fabienne Palmérini (2, 6)*, Christine Bodemer (3)*, Ying Yang (1)*, Laurent Nasca (2, 6), Frédéric Féger (4), Tetsuro Noguchi (1, 2), Violaine Bourdon (1, 2), Richard Sauvan (1, 2), Olivier Hermine (4, 5) Hagay Sobol (1, 2), Patrice Dubreuil (1, 6)

*(1) INSERM UMR599, Centre de Recherche sur le Cancer de Marseille, Marseille ; (2) Institut Paoli-Calmettes, Département d'Oncologie Génétique, Marseille ; (3) Service de Dermatologie, Hôpital Necker, 161, rue de Sèvres, 75743 Paris Cedex 15, France ; (4) CNRS UMR 8147, Hôpital Necker, Paris ; (5) Service d'Hématologie Adulte, Hôpital Necker, Paris ; (6) AFIRMM (Association pour des Initiatives de Recherche sur le Mastocyte et les Mastocytoses), Paris ; * Co premiers auteurs*

La physiopathologie des mastocytoses commence à être mieux connue et semble relever fréquemment d'anomalies impliquant le récepteur membranaire c-Kit, récepteur du facteur de croissance du mastocyte. En effet, d'après des données de la littérature portant sur un petit nombre de cas (25 cas), il apparaît qu'une proportion significative des patients atteints présente des mutations ponctuelles acquises du c-kit induisant une autoactivation en l'absence de ligand, ou une absence de régulation catalytique après fixation du ligand. Ces mutations sont pour la plupart situées au codon 816 et substituent une valine (V), ou une tyrosine (Y), à un aspartate (D). Concernant la pathologie pédiatrique, les données de la littérature sont quasi inexistantes et la nature de l'implication de c-Kit est encore discutée. Compte tenu du faible nombre de cas étudiés jusqu'à présent, l'AFIRMM a initié une étude physiopathologique à l'échelle nationale, afin de mieux caractériser les mutations de c-kit existantes dans des formes de mastocytoses variées. Par le biais de l'association à laquelle ils se sont inscrits, l'AFIRMM a pu identifier plus de 900 patients. Environ 50 enfants (pour

la plupart entre 0 et 3 ans) et 400 adultes ont été inclus dans le protocole d'étude physiopathologique et ont accepté de subir un prélèvement de peau et/ou de moelle osseuse, prélèvements effectués en vue de séquencer l'ARNm de c-kit. Ce recrutement représente la plus importante cohorte de patients dans le monde, pré-requis indispensable à une meilleure compréhension de la mastocytose. Le génotypage a été réalisé au sein de la plateforme d'oncologie génétique de l'institut Paoli-Calmettes. a) Protocole adulte 55 % des patients sont porteurs de la mutation D816V. les 45 % restant ne la portent pas. Le séquençage total de c-Kit a été réalisé sur 50 patients. Nous avons mis en évidence 11 mutations autres que D816V. Dans tous les cas ces mutations (substitution, délétion ou insertion) sont exclusives avec D816V. Elles sont réparties dans les exons 8 à 11. La caractérisation fonctionnelle et la nature transformante des nouvelles mutations est en cours. Enfin, nous ne détectons pas de mutations de c-Kit dans environ 35 % des patients. b) Protocole enfant Les résultats montrent qu'un taux de mutation D816V similaire est retrouvé dans cette cohorte (environ 40 %), 3 cas de substitution D816Y ont été retrouvés plus une nouvelle substitution D816I a été identifiée. De façon surprenante, de nombreuses mutations, insertions et délétions, exclusives avec D816V/Y/I, ont été identifiées dans les exons 8 à 11. Beaucoup de ces mutations ou les régions où elles sont localisées, ont déjà été rapportées dans des GIST et des LAM. L'absence de détection de mutation n'a été retrouvée que dans seulement 8 % des enfants. La nature et la liaison de ces mutations avec la pathologie pédiatrique seront discutées. Les premiers résultats laissent apparaître que la nature « systémique » de la pathologie n'est pas forcément reliée à la présence de la mutation 816, en revanche cette mutation est toujours reliée à l'infiltration et l'accumulation de mastocytes dans tous les tissus étudiés. Il semble donc que l'événement activateur « 816 » dans le récepteur KIT soit fortement corrélé à cette pathologie mais que d'autres sites de mutations dans ce récepteur ou dans sa voie de signalisation existent. Ces résultats ouvrent de nouvelles perspectives quant au traitement spécifique de cette pathologie orpheline. En effet, le Glivec (Imatinib mésylate) est un médicament utilisable dans les cas des patients ne présentant pas la la mutation D816 (insensibilité à cet inhibiteur de la kinase « mutée »). Il devient donc impératif pour un traitement ciblé de connaître la nature et la localisation de la mutation affectant ce récepteur. Dans le cas de nouvelles mutations décrites comme activatrices, il conviendra également de connaître leur sensibilité par rapport à ce type de drogue.

Mots-clés : mastocytose systémique, c-kit, mutation D816V.

■P494 / 1078. LES MUTATIONS CONSTITUTIONNELLES SONT RARES DANS *AXIN2*, MAIS FRÉQUENTES DANS *MUTYH* CHEZ LES PATIENTS AVEC POLYPOSE MULTIPLE

Sophie Lejeune (1), François Guillemot (2), Jean-Pierre Triboulet (3), Christine Mouton (4), Nicole Porchet (4), Sylvie Manouvrier (1), Marie-Pierre Buisine (4) et PAFNORD

(1) Service de génétique clinique, CHRU de Lille ; (2) Service de gastroentérologie, CH de Roubaix ; (3) Service de chirurgie digestive et générale, CHRU de Lille ; (4) Service de biochimie-biologie moléculaire, CHRU de Lille

La polypose adénomateuse familiale (PAF) est une affection héréditaire autosomique dominante liée dans 90 % des cas à une mutation constitutionnelle du gène suppresseur de tumeurs APC. Le substratum génétique des formes classiques ou atténuées non liées au gène APC reste encore imprécis. Récemment, des mutations constitutionnelles du gène AXIN2 qui code un autre composant de la voie Wnt ont été associées à un syndrome associant agénésie dentaire, polypes et cancer colorectal. Par ailleurs, des mutations bialléliques du gène MUTYH (gène de réparation de l'ADN par excision de bases) ont été associées à certaines polyposes adénomateuses et certains cancers colorectaux. Notre travail a eu pour but d'étudier la contribution de AXIN2 et de MUTYH dans les prédispositions héréditaires aux cancers colorectaux. Nous avons recherché des mutations constitutionnelles des gènes AXIN2 et MUTYH chez 35 patients présentant une PAF classique ou atténuée sans mutation du gène APC identifiée ou un cancer colorectal avec des antécédents familiaux de polypes ou de cancer coliques non liés aux gènes MMR. L'ensemble des séquences codantes des gènes AXIN2 et MUTYH ont été analysées par PCR et séquençage direct. Deux nouveaux variants du gène AXIN2 ont ainsi pu être identifiés chez une patiente avec adénomes multiples, mais aucune mutation clairement délétère. Par ailleurs, aucune mutation n'a été identifiée chez un patient présentant de multiples adénomes et des agénésies dentaires. En revanche, neuf mutations différentes du gène MUTYH dont six nouvelles, ont été détectées chez huit patients. Sept patients étaient porteurs de mutations bialléliques : un homozygote et six hétérozygotes composites. Les mutations bialléliques n'ont été mises en évidence que chez des patients présentant de multiples adénomes (7/21 (33 %)). De façon intéressante, quatre des patients porteurs de mutations de MUTYH avaient une histoire familiale compatible avec une transmission dominante. Par ailleurs, deux mutations de MUTYH ont été identifiées chez notre patient présentant de multiples adénomes et des agénésies dentaires sévères. Ainsi, nos résultats montrent que les mutations constitutionnelles du gène MUTYH sont fréquentes, mais celles du gène AXIN2 sont rares chez les patients présentant de multiples polypes adénomateux. De plus, ils incitent à analyser MUTYH non seulement chez les patients ayant une histoire familiale apparemment compatible avec une transmission récessive, mais également chez ceux ayant une histoire familiale suggérant une transmission dominante. Enfin, il semble que le syndrome agénésie dentaire – cancer colorectal (OMIM # 608615) ne soit pas restreint au gène AXIN2.

Mots-clés : *MYH*, *AXIN2*, polypose.

■P495 / 1079. CARACTÉRISATION D'UN NOUVEAU VARIANT DU GÈNE *MSH2* (C.1022T>C, P.LEU341PRO) DANS 9 FAMILLES DU NORD-PAS-DE-CALAIS PRÉSENTANT UN SYNDROME HNPCC

Sophie Lejeune (1), Agnès Wacrenier (2), Fabienne Escande (3), Marie-Paule Delescaut (3), Nicole Porchet (3), Sylvie Manouvrier (1), Marie-Pierre Buisine (3) et PAFNORD

(1) Service de génétique clinique, CHRU de Lille ; (2) Service d'anatomie-pathologie, CHRU de Lille ; (3) Service de biochimie-biologie moléculaire, CHRU de Lille

Nous avons identifié dans 9 familles du registre HNPCC de la région Nord-Pas-de-Calais un nouveau variant du gène MSH2, c.1022T>C qui n'a pour conséquence prédite que la substitution d'un résidu de Leucine par un résidu de Proline au niveau du codon 341. Cette mutation faux-sens n'est pas décrite dans les bases de données internationales et n'a été rapportée qu'une seule fois dans un autre laboratoire français. En revanche, elle représente près de 40 % des mutations du gène MSH2 identifiées dans les familles HNPCC de la région Nord-Pas-de-Calais. Cette mutation représente un véritable problème de conseil génétique pour le syndrome HNPCC dans la population du Nord-Pas-de-Calais. Notre travail a donc eu pour but de préciser le caractère délétère de cette mutation afin de pouvoir l'utiliser comme base d'un test génétique chez les apparentés : 1) en étudiant sa fréquence dans la population générale ; 2) en étudiant le phénotype tumoral ; 3) en recherchant d'autres mutations associées des gènes MMR ; 4) en analysant les conséquences prédites sur la protéine par des études d'alignement ; 5) enfin, en faisant des études de co-ségrégation. Nous avons ensuite tenté de mettre en évidence un effet fondateur de cette mutation en étudiant les haplotypes liés à la mutation dans chaque famille. Ce variant a été identifié dans 7,1 % (9/127) des familles HNPCC du registre de la région et chez aucun des individus témoins testés (0/103). Aucune mutation délétère de MSH2, MSH6 et MLH1 n'a été associée à ce variant. La substitution touche une région hautement conservée et importante pour la structure de la protéine. Toutes les tumeurs colorectales testées (3/3) ont révélé une instabilité microsatellitaire ainsi qu'une perte d'expression de MSH2. Enfin, la mutation ségrège parfaitement avec la maladie. Ainsi, sur les 9 familles, 17 sujets malades sont porteurs de la mutation, aucun sujet malade testé n'est pas porteur du variant et enfin 4 sujets de plus de 50 ans indemnes de toute pathologie tumorale ne sont pas porteurs du variant. Par ailleurs, l'étude de microsatellites localisés dans la région a permis de mettre en évidence un haplotype en commun fortement évocateur d'un effet fondateur dans la région Nord-Pas-de-Calais. Ainsi, à ce jour, tous les arguments clinico-biologiques dont nous disposons sont en faveur du caractère délétère de cette mutation et nous incitent à proposer des tests présymptomatiques aux apparentés, et ce, même en l'absence de test fonctionnel disponible.

Mots-clés : HNPCC, mutation faux-sens, mutation fondatrice.

■P496 / 1087. CORRÉLATIONS GÉNOTYPE-PHÉNOTYPE DANS LE RÉTINOBLASTOME FAMILIAL

C. Dehainault (1), M. Taylor (2), L. Desjardins (3), C. Levy (3), F. Doz (2), X. Sastre (4), J. Couturier (1), D. Stoppa-Lyonnet (1), C. Houdayer (1) and M. Gauthier-Villars (1)

Services de (1) Génétique, (2) Pédiatrie, (3) Ophtalmologie et (4) Anatomo-Pathologie, Institut Curie, Paris, France

Le rétinoblastome (RB) est une tumeur maligne embryonnaire de l'enfant, développée aux dépends des cônes rétiniens, dont l'incidence est estimée à 1 pour 15 000 naissances. L'inactivation bi-allélique du gène RB1 est un élément clé du processus tumoral. Environ 40 % des patients sont porteurs d'une prédisposition génétique, c'est-à-dire une altération constitutionnelle d'un allèle RB1. Ainsi on décrit dans 10 à 15 % des cas une histoire familiale de RB compatible avec la transmission d'un facteur de

prédisposition sur le mode autosomique dominant, associé à une pénétrance quasi-complète. Si la plupart de ces patients développent une atteinte bilatérale, il existe aussi des formes unilatérales, des rétinomes (cicatrice visible au fond d'œil) et certains restent indemnes. Afin d'explorer cette variabilité phénotypique et rechercher des corrélations entre génotype et phénotype, nous avons entrepris l'analyse de la transmission du trait morbide dans 61 familles RB regroupant 187 porteurs d'une mutation constitutionnelle. Il s'agit de la première étude génotype-phénotype pour le RB s'appuyant sur des formes familiales, les études antérieures reposant sur l'étude de cas isolés. Tous les patients ont été suivis à l'Institut Curie et les familles ont été rencontrées en consultation de génétique. Les formes familiales ont été définies par la présence d'au moins deux porteurs de la mutation constitutionnelle RB1 dans la famille. Les porteurs ont été identifiés par le diagnostic de rétinoblastome ou par la recherche systématique de la mutation chez les apparentés. Tous les porteurs n'ayant pas exprimé de tumeur ont bénéficié d'un fond d'œil à la recherche d'un rétinome. Les données recueillies ont été le statut (atteint/indemne), l'age au diagnostic, le type d'atteinte (bilatérale, unilatérale, rétinome), le type de mutation constitutionnelle, le sexe du patient atteint ainsi que celui du parent transmetteur et, enfin, le le disease-eye-ratio (DER). Le DER est le rapport du nombre d'yeux atteints sur le nombre de porteurs dans une famille. C'est un bon reflet de la pénétrance et de l'expressivité. Les techniques utilisées pour la recherche des mutations ponctuelles et des grands réarrangements ont été la DHPLC et la QMPSF, respectivement. Les mutations stop et décalant le cadre de lecture (31 familles) sont responsables d'une pénétrance complète ou quasi complète (DER moyen à 1,85), à l'exception des mutations de l'exon 1. Les mutations d'épissage (16 familles) sont associées à un DER moyen plus faible (1,5) et, dans certains cas, à une importante variabilité intrafamiliale avec présence de cas bilatéraux et indemnes dans une même famille. C'est par exemple le cas de la mutation IVS6+1G>T qui montre aussi une importante variabilité interfamiliale. Pour cette mutation, il faut noter que contrairement aux données de la littérature, les porteurs indemnes avaient reçu l'allèle morbide de leur père. Des grands réarrangements (délétions totale ou partielle du gène) ont été retrouvés dans 10 familles, associés à un DER moyen plus faible (1,3), mais là encore d'importantes variations intra- et interfamiliales (pour une même mutation) ont été observées. Nous rapportons des résultats similaires pour les anomalies du promoteur (3 familles). La mutation R661W, identifiée dans une famille de 15 porteurs, a été retrouvée associée à un DER faible, comme décrit dans la littérature. Enfin, ni le sexe, ni le phénotype des enfants porteurs ne semblent influencés par le sexe du parent transmetteur. Ces résultats montrent que le phénotype peut être influencé par le type de mutation. Cependant, le fait remarquable est la grande variabilité intrafamiliale observée pour une même mutation, et ce pour tous les types de mutations, bien que dans une proportion moindre pour les mutations stop ou décalant le cadre. Il apparaît donc que d'autres facteurs individuels viennent moduler le phénotype, dont l'identification sera précieuse dans le cadre du conseil génétique.

Mots-clés : rétinoblastome, génotype, phénotype.

■P497 / 1095. PHÉNOTYPAGE MOLÉCULAIRE SYSTÉMATIQUE DES ADÉNOCARCINOMES COLO-RECTAUX

JNemeth (1), HSoliman (2), ALavergne (1), Hde Thé (2), PValleur (3), FCornélis (4)

(1) Anatomie-pathologique, Hôpital Lariboisière, Paris ; (2) Biochimie B, Hôpital Saint-Louis, Paris ; (3) Chirurgie Viscérale, Hôpital Lariboisière, Paris ; (4) Unité de Génétique Clinique Adulte, Oncogénétique, Hôpital Lariboisière, Paris

Objectif : la classification pronostique TNM est la seule validée pour l'adénocarcinome colo-rectal (ACR). L'instabilité génétique par altération d'un gène MMR (Mis-Match Repair), dans 10 à 15 % des tumeurs (T), pourrait contribuer à préciser le pronostic. Dans environ 80 % des cas, ce phénotype instable est causé par la méthylation du gène MLH1, notamment pour des T. du côlon droit après 60 ans. Dans environ 20 % des cas, il révèle une mutation constitutionnelle d'un gène MMR dans le cadre HNPCC (Hereditary Non-Polyposis Colon Cancer, 3 % des cancers colo-rectaux), exposant à un risque d'ACR (60 %), endométrial pour les femmes (40 %) et d'autres T du « spectre HNPCC » (< 10 %). L'identification des porteurs de ces mutations pour un dépistage familial optimisé est un objectif du Plan Cancer. Notre but était d'identifier par phénotypage systématique les ACR avec instabilité génétique tumorale. Matériel et Méthodes : 62 ACR opérés à Lariboisière en 2003 ou 2004 ont été phénotypés (âge moyen : 69 ans). Le phénotypage moléculaire a utilisé le panel recommandé de 5 marqueurs micro-satellites monomorphes, le phénotype MSI-H (Micro-Satellite Instability-High) étant défini par la présence d'au moins 2 marqueurs instables. Une immuno-histochimie (IHC) pour MLH1 et MSH2 a été réalisée pour les T MSI-H. Résultats : 6 T étaient MSI-H (10 %). L'IHC montrait la perte d'expression de MLH1 dans 6 cas, associée à une perte d'expression de MSH2 dans 1 cas. Le côlon droit était significativement sur-représenté (5/6 des T MSI-H versus 9/56 pour les T non MSI-H, P < 0,001). Les T du côlon droit concernaient dans 4 cas sur 5 des personnes âgées de 77 à 82 ans, et dans 1 cas une femme de 57 ans. La 6e T MSI-H était une tumeur rectale, avec double perte d'expression en IHC (MLH1 et MSH2), chez un homme de 62 ans opéré avec résection iléo-rectale après deux cancers du côlon droit à 53 ans et du côlon gauche à 54 ans. Conclusion : la proportion de T instables et leur localisation colique droite préférentielle sont concordantes avec la littérature. Une consultation d'onco-génétique est indiquée à la recherche d'antécédents familiaux du spectre HNPCC chez les 6 patients. La recherche d'une mutation d'un gène MMR est d'emblée indiquée pour 2 patients, la femme atteinte avant 60 ans et l'homme dont c'est le troisième cancer. Pour ce dernier, l'IHC est compatible avec une mutation constitutionnelle de MSH2 associée à une inactivation somatique de MLH1 par méthylation. L'aspect systématique de ce phénotypage va permettre son évaluation pour contribuer à préciser le pronostic.

Mots-clés : cancer colo-rectal, genes MMR, phenotype MSI.

■P498 / 1100. PRONOSTIC DU CANCER DU SEIN CHEZ LA FEMME JEUNE EN FONCTION DU STATUT BRCA1/2 : RÉSULTATS D'UNE ÉTUDE PROSPECTIVE EN POPULATION DANS LE RHONE

Valérie Bonadona (1), Nicolas Voirin (1), Sophie Moser (1), Olga M Sinilnikova (2, 3), Hervé Mignotte (1), Patrice Mathevet (2), Alain Brémond (1, 4), Alain Martin (5), Pascale Romestaing (6), Daniel Raudrant (6, 7), René-Charles Rudigoz (8), Gilbert Lenoir (3, 9), Christine Lasset (1, 10)

(1) Centre Léon Bérard, Lyon ; (2) Hôpital Édouard-Herriot, Hospices Civils de Lyon, Lyon ; (3) Centre International de Recherche sur le Cancer, Lyon ; (4) Registre du cancer du sein du Rhône, Lyon ; (5) Clinique Jeanne-d'Arc, Lyon ; (6) Centre Hospitalier Lyon-Sud, Hospices Civils de Lyon, Pierre-Bénite ; (7) Hôpital de l'Hôtel-Dieu, Hospices Civils de Lyon, Lyon ; (8) Hôpital de la Croix-Rousse, Hospices Civils de Lyon, Lyon ; (9) Institut Gustave-Roussy, Villejuif Cedex ; (10) Université Claude Bernard Lyon I, Lyon

État des lieux & Objectif : La question du pronostic des cancers du sein associés à une mutation germinale des gènes BRCA1/2 est encore largement débattue, devant les résultats discordants des études publiées qui sont toutes susceptibles de comporter des biais. Nous proposons d'étudier la survie des femmes atteintes d'un cancer du sein de survenue précoce selon leur statut BRCA1/2, à partir d'une série prospective de cas de cancer du sein recrutés sur une base populationnelle (registre du cancer du sein du Rhône). Patients & Méthodes : Entre 1995 et 1997, 232 femmes atteintes d'un cancer du sein avant l'âge de 46 ans ont accepté de participer et de réaliser des analyses génétiques dans un délai médian de 10 mois depuis leur diagnostic. Le suivi médian de la cohorte est de 82 mois. Nous avons comparé les taux de survie à 5 ans entre les 21 femmes identifiées porteuses d'une mutation délétère de BRCA1/2 et les 211 femmes non mutées. Résultats : Les cancers du sein associés à une mutation de BRCA1/2, comparés aux cancers sporadiques, sont plus souvent de type médullaire (14 % versus 2 %, p = 0,02), sont de grade histopronostique plus élevé (60 % versus 34 % de grade SBR III, p = 0,02) et sont plus souvent non hormonodépendants (82 % versus 43 % de RE-, p = 0,002 et 72 % versus 34 % de RP-, p = 0,002). Les taux de survie spécifique et sans récidive métastatique sont respectivement de 95,0 % et 94,7 % pour les femmes porteuses d'une mutation BRCA1/2 (93,3 % et 93,3 % pour les seules femmes mutées BRCA1) contre 89,6 % et 78,2 % pour les femmes non mutées (différences non significatives). Les taux de survie sans récidive ipsilatérale et sans cancer du sein controlatéral sont respectivement de 100 % et 90,0 % pour les femmes porteuses d'une mutation BRCA1/2 (100 % et 86,7 % pour les seules femmes mutées BRCA1) contre 89,6 % et 78,2 % pour les femmes non mutées (différences non significatives). Nous discutons de l'impact possible sur les différents taux de survie des options thérapeutiques et préventives dont ont bénéficié les femmes de l'étude. Conclusion : À notre connaissance, il s'agit de la première étude pronostique conduite en population générale. Dans cette série où les biais de sélection liés à la survie et/ou l'histoire familiale sont limités, nous observons des taux de survie similaires entre les cas héréditaires et les cas sporadiques. En particulier, nous ne montrons pas un pronostic plus péjoratif des cas de cancer du sein associés à une mutation de BRCA1 et ce, malgré des caractéristiques histologiques reconnues comme défavorables. Ces données de population sont essentielles pour guider au mieux les femmes porteuses d'une mutation d'un gène de prédisposition dans leurs choix de prise en charge thérapeutique et préventive.

Mots-clés : cancer du sein, *BRCA1/2*, pronostic en population.

■P499 / 1109. CHROMOSOME Y ET CANCER DES CELLULES GERMINALES MALES

S. Chantot-Bastaraud (1, 2, 3), C. Ravel (1, 2, 3), J.P. Siffroi (2, 3), E. Rajpert-DeMeyts (4), N. Skakkebaek (4), K. McElreavey (1)
(1) Unité de Reproduction, Fertilité et Développement, département de Biologie du Développement, Institut Pasteur, Paris ; (2) Service d'Histologie, Biologie de la Reproduction et Cytogénétique, Hôpital Tenon, Faculté de Médecine Pierre et Marie Curie, Paris, AP-HP ; (3) EA1533, Génétique et Reproduction Humaine, Faculté de Médecine Pierre et Marie Curie, Paris, AP-HP ; (4) Department of Growth and Reproduction, Rigshospitalet, Copenhagen, Denmark

Le cancer du testicule est le cancer le plus fréquemment diagnostiqué chez l'homme jeune dans les pays industrialisés, notamment en Europe. Son incidence varie considérablement d'un pays à l'autre avec une fréquence particulièrement élevée dans certaines populations scandinaves. Ainsi au Danemark, 1 % des hommes développera un cancer du testicule alors qu'en France, l'incidence de ce cancer varie en fonction des régions de 2,8 à 7,9/100 000. L'incidence de ce cancer a considérablement augmenté au cours de ces dernières décennies au sein des populations européennes soulignant l'importance des facteurs environnementaux dans la survenue de ces cancers. Des études épidémiologiques danoises suggèrent que cette augmentation de l'incidence du cancer testiculaire et la diminution de la qualité des paramètres spermatiques peuvent avoir une origine commune. Plus de 97 % des cancers du testicule sont des cancers des cellules germinales, séminomes et non séminomes, et de nombreux arguments plaident en faveur du rôle des facteurs génétiques dans leur apparition. Le risque de développer un tel cancer est 8 à 10 fois plus élevé dans la fratrie d'un sujet atteint et 4 fois plus élevé dans sa descendance. Plusieurs gènes suppresseurs de tumeurs ont été étudiés mais ne semblent pas avoir de rôle dans la survenue de cette pathologie. En revanche, certains gènes portés par le chromosome Y, impliqués dans le maintien et le développement des cellules germinales, sont des gènes candidats pour une susceptibilité accrue au cancer du testicule. Le fait que la majeure partie du chromosome Y ne soit pas soumise à des recombinaisons génétiques avec l'autre gonosome permet d'utiliser les haplogroupes pour des études d'association avec des phénotypes morbides. Toute mutation prédisposant au cancer testiculaire sera en déséquilibre de liaison complet avec l'ensemble de ces marqueurs polymorphes. En conséquence, la distribution des haplogroupes au sein de la population étudiée sera différente de celle retrouvée dans la population témoin d'origine ethnique identique. Nous avons déjà montré un relation entre un haplogroupe du chromosome Y et une susceptibilité à l'infertilité dans le population danoise. Ceci nous a conduit à rechercher une association entre un haplogroupe particulier et un risque accru de développer un cancer du testicule dans cette population. Nous avons analysé 7 polymorphismes biallélíques liés au chromosome Y de façon à comparer la répartition des haplogroupes du chromosome Y chez 80 patients danois atteints de cancer du testicule, séminomateux ou non, et chez 128 témoins d'origines géographique et ethnique identiques. Aucune différence de répartition significative de ces haplogroupes n'a été observée. La comparaison des haplogroupes en fonction du type histologiques des cancers n'a pas non plus montré d'association préférentielle. Ces résultats sont donc en faveur de l'absence d'association entre chromosome Y et ce type de cancer de cellules germinales mâles. Néanmoins, on ne peut pas exclure l'existence d'autres sous-groupes de chromosome Y prédisposant à la survenue d'un tel cancer qui ne seraient identifiables qu'à l'aide de techniques quantitatives permettant de mesurer le nombre de copies géniques.

Mots-clés : cancer des cellules germinales mâles haplogroupe chromosome Y.

■P500 / 1115. INTÉRÊT DE LA GÉNÉTIQUE SOMATIQUE DANS LA PRISE EN CHARGE DES TUMEURS SOLIDES ET DES HÉMOPATHIES MALIGNES

T. Noguchi (1, 2), N. Vey (1, 3), R. Boubdallah (1, 3), M.-J. Mozziconacci (1, 4), G. Monges (1, 4, 5), J. Jacquemier (1, 4, 5), C. Arnoulet (1, 4, 5), A. Charbonnier (1, 6), T. Aurran (3), A. Murati (1, 4), A. Gonçalves (1, 5, 6), F. Bertucci (1, 5, 6), C. Chabannon (1, 7), P. Dubreuil (1, 2), V. Bourdon (1, 2), D. Sainty (1, 4), H. Sobol (1, 2, 5), L. Xerri (1, 4, 5)
(1) UMR 599, Marseille ; 2) Département d'Oncologie Génétique de Prévention et Dépistage, Institut Paoli-Calmettes (IPC) ; (3) Département d'hématologie, IPC ; (4) Biopathologie, IPC ; (5) UFR de Médecine, Université Aix-Marseille II ; (6) Département de médecine Marseille, IPC ; (7) Département de Thérapie Cellulaire et CRB, IPC

Outre la recherche de mutations germinales des gènes de prédisposition pour le dépistage des sujets à haut risque de cancer dans les familles, la recherche de mutations somatiques de certains gènes en particulier à visée diagnostique, pronostique ou de prédiction de la réponse au traitement tend à se développer dans la prise en charge de patients atteints de tumeurs solides ou d'hémopathies malignes. Dans les LMC, BCR-ABL est le résultat d'une translocation spécifique qui fusionne BCR avec ABL (chromosome Ph). La protéine de fusion BCR-ABL conférant à ces cellules porteuses un avantage prolifératif. La découverte du glivec (imatinib mésylate), petite molécule inhibitrice spécifique des tyrosines kinases KIT, ABL, PDGFRA et B a révolutionné le traitement de ces patients du fait de sa spécificité. Parallèlement, il a été observé dans près de 89 % des GIST, des mutations dans le gène c-kit codant un récepteur membranaire tyrosine kinase. Ces mutations somatiques entraînant une activation constitutive du récepteur indépendamment du ligand engendrent sa dimérisation et une auto-phosphorylation de certaines tyrosines dans le domaine kinase du récepteur, point de départ de plusieurs voies de transduction de signal. Il a été montré que dans les 10 % de GIST non mutés pour c-kit, 5 à 7 % présentaient une mutation de PDGFRA. Ces mutations sont mutuellement exclusives. Les études des patients atteints de LMC ou de GIST et traités par le glivec montrent que cette thérapie ciblée est très efficace et bien tolérée. Cependant, des résistances au traitement ont été observées, elles seraient dues à des mutations dans le domaine tyrosine kinase de c-kit ou de BCR-ABL. Dans le cadre d'une collaboration étroite entre les départements de médecine, d'hématologie, de biopathologie et d'oncogénétique nous avons conjointement implémenté cette approche en pratique clinique. Ainsi, nous avons testé des sujets atteints de GIST ou de LMC suivis à l'IPC afin d'orienter leur prise en charge médicale. Nous avons étudié 15 cas de GIST et 26 cas de LMC résistants à l'imatinib. Pour les GIST, nous avons identifié 3 délétions différentes (1668del6, 1661del15, 1649del15), une insertion (1510ins6) et une substitution (V559D) de c-kit. Parmi les 8 cas c-kit négatifs, l'analyse du gène PDFGRA a révélé une mutation (D842V). Parmi, les 26 cas de LMC, nous avons identifié 4 substitutions différentes (L387M, F359V, E459K et A380T) associées à une résistance à l'imatinib. L'identification de ces mutations permet d'adapter le traitement et/ou d'orienter vers d'autres statégies thérapeutiques. Pour les LLC-B, la recherche de mutations somatiques peut être appliquée à des fins pronostiques. Il s'agit d'une maladie classiquement indolente sur de nombreuses années, avec cependant une grande variabilité d'évolution allant jusqu'à des formes très agressives conduisant au décès en quelques mois. L'identification de facteurs pronostiques précoces est donc un enjeu majeur de cette maladie. Récemment, de nouveaux facteurs pronostiques ont été proposés parmi lesquels le statut mutationnel somatique du locus des chaînes lourdes des immunoglobulines (IGH). L'analyse des gènes Ig a montré l'existence de 2 groupes de LLC, de fréquence équivalente (50 %), l'une avec de nombreuses mutations somatiques dans les séquences VH (bon pronostic), l'autre dans lequel ces séquences sont en configuration germinale (mauvais pronostic). Nous avons étudié 32 patients en stade A, 19 cas mutés ont été identifiés. Ces données couplées à celles d'autres facteurs pronostics tels l'étude de la kinase Zap-70 constituent un outil essentiel pour l'établissement d'une stratégie thérapeutique, en particulier chez des patients pouvant bénéficier d'un traitement agressif à visée curative. En conclusion, ces travaux démontrent la part croissante de la recherche de mutations somatiques dans l'aide à la prise en charge des patients atteints de tumeurs solides ou d'hémopathies malignes.

Mots-clés : génétique somatique, tumeurs solides, hémopathies.

■P501 / 1118. PRÉDISPOSITION GÉNÉTIQUE AUX LEUCÉMIES AIGUËS : ANALYSE MOLÉCULAIRE DU GÈNE *AML1* DANS UNE FAMILLE MULTIPLEXE

M.-J. Mozziconacci (1, 2), C. Preudhomme(3), A.-M. Stoppa (2, 4), D. Sainty (4), S. Blanche (5), Noguchi T. (2, 6), R. Sauvan (2,6), V. Bourdon (2, 6), N. Philip (7, 8), F. Picard (9), G. Mareynat (10), L. Huiart (2, 6), C. Chabannon (2, 11), P. Dubreuil (2, 6), F. Eisinger (2,6 , 8), H. Sobol (2, 6, 8)
(1) Biopathologie, Institut Paoli-Calmettes (IPC), Marseille ; (2) UMR 599, Marseille ; (3) CHU de Lille ; (4) Département d'hématologie, IPC, Marseille ; (5) Hôpital Necker, Paris ; (6) Département d'Oncologie Génétique de Prévention et Dépistage, IPC, Marseille ; (7) Département de génétique, Hôpital de la Timone, Marseille ; (8) UFR de Médecine, Université Aix-Marseille II ; (9) Hôpital Cochin, Paris ; (10) Hôtel-Dieu, Clermont-Ferrand ; (11) Département de Thérapie Cellulaire et CRB, IPC, Marseille

Les hémopathies malignes (HM) représentent près de 10 % de l'ensemble des néoplasies. Ce terme générique recouvre en fait un grand nombre de pathologies différentes (lymphomes, leucémies, myélomes) pouvant évoluer dans un contexte aigu ou chronique, pédiatrique ou adulte, de bas ou haut grade. Des états précancéreux ont été décrits pouvant jouer un rôle important pour le dépistage dans les familles. Cette diversité et la rareté

des différentes entités cliniques constitutives a été pendant longtemps et contrairement aux tumeurs solides un frein au développement des études familiales. Avec les progrès spectaculaires obtenus dans le traitement de ces pathologies (survie et agressivité moindre des traitements, possibilité d'une descendance), en particulier chez l'enfant, on a pu aborder le contexte familial. Plusieurs gènes ont été retrouvés associés au développement des HM prédisposant en particulier aux leucémies aiguës. Ces gènes de prédisposition ont d'abord été identifiés dans un contexte de mutations somatiques et par leur rôle clé dans la carcinogenèse ou l'hématopoïèse. Le gène AML1 est de ceux-ci. Il appartient à la famille des gènes ayant un domaine « RUNT », il code la sous-unité alpha du facteur de transcription hétérodimérique PEBP2/CBF. AML1 est normalement exprimé dans toutes les lignées hématopoiétiques et agit en régulant l'expression de nombreux gènes de l'hématopoïèse. Il est localisé en 21q22, s'étend sur 260 kb, et est constitué de 12 exons. Ce gène est fréquemment dérégulé dans les leucémies, via généralement des translocations. Récemment, il a été rapporté un autre mécanisme d'inactivation d'AML1 dans les leucémies myéloïdes aiguës par des mutations somatiques dans le domaine fonctionnel RUNT. De plus, bien que les formes familiales de leucémies aiguës soient rares, moins d'une dizaine de familles présentant une mutation germinale d'AML1 ont été rapportées dans le cadre d'un syndrome appelé : « Familial platelet disorder » syndrome avec anomalie familiale des plaquettes sanguines se compliquant de leucémies aiguës. Nous rapportons ici la plus grande famille jamais décrite de ce syndrome avec cinq sujets ayant développé une leucémie aiguë myéloïde (transmission autosomique dominant) et un enfant indemne présentant une thrombopénie asymptomatique. Une analyse moléculaire du gène AML1 a tout d'abord été réalisée chez notre proposante qui a présenté une LAM0 (avec trisomie 21 acquise) à l'âge 41 ans. Nous avons identifié une mutation constitutionnelle de ce gène dans le domaine RUNT touchant l'exon 4 (386C>A ; Ala 129 Glu ; anomalie jamais rapportée). Nous avons recherché cette mutation chez les trois autres sujets atteints de LAM (LAM5 à 25 ans, LAM5 à 24 ans, LAM4 à 8 ans) pour lesquels du matériel a pu être collecté et le sujet atteint de thrombopénie (9 ans) ainsi que sa mère indemne (43 ans). Tous ces apparentés étaient porteurs de la mutation de l'exon 4 d'AML1. Nous avons ensuite démontré par sous-clonage que c'était bien l'allèle muté d'AML1 qui était dupliqué dans le cadre de la trisomie acquise de la LM0 de notre proposante. Cet élément, le type de mutation identifié (domaine fonctionnel RUNT) ainsi que la ségrégation de la mutation permettent d'établir le rôle central d'AML1 dans la prédisposition aux leucémies aiguës. Cependant comme il s'agit d'un phénomène complexe (LAM et anomalies des plaquettes) l'analyse d'autres partenaires d'AML1 et d'autres gènes candidats au niveau somatique est en cours chez notre proposante et ses apparentés (c-Kit, PDGFRA, Ras, FLT3). Ce travail est le résultat d'un partenariat inter-institutionnel et s'inscrit dans le cadre d'un réseau national sur les formes familiales d'hémopathies malignes, pour lequel une labellisation DHOS/INCA a été demandée. Ce réseau aura pour objectif de faciliter l'identification des familles d'HM, d'améliorer la prise en charge des membres de ces familles (stades précancéreux, thrombopénies) tant sur le plan clinique que moléculaire.

Mots-clés : leucémies myéloïdes aiguës, gène *AML1*, mutation constitutionnelle.

■P502 / 1123. INFLUENCE DE LA MÉTHYLATION DU GÈNE DE *SOCS1* (SUPPRESSOR OF CYTOKINE SIGNALLING 1) SUR SON NIVEAU D'EXPRESSION DANS LA LEUCÉMIE LYMPHOÏDE CHRONIQUE

S. Poulain (1), C. Bénard (1), M. Merchez (1), A. Saudemont (2), P. Morel (3), B. Quesnel (2), P. Duthilleul (1)

(1) Service d'Hématologie Immunologie Cytogénétique, CH de Valenciennes ; (2) Service des Maladies du Sang, CHRU de Lille, U524 ; (3) Service d'Hématologie Clinique, CH de Lens

Dans la physiopathologie de la leucémie lymphoïde chronique (LLC), une dérégulation du microenvironnement cytokinique a été évoqué. SOCS1 est un régulateur négatif de la transduction du signal de cytokines. Le gène codant pour SOCS1, localisé en 16p12-p13.1 possède différentes régions, au niveau du promoteur et de l'exon 2, riches en ilôts CpG. L'hyperméthylation de ces régions a été associée dans différents cancers à une diminution de l'expression du transcrit SOCS1. L'objectif de cette étude est d'analyser le profil d'expression et de méthylation du gène SOCS1 dans la LLC. Matériel et Méthodes : 86 patients atteints de LLC ont été inclus dans l'étude : 53 % stade A, 18 % stade B et 29 % stade C. Les cellules mononucleées (CMN) de 17 témoins sains ont été isolées par technique de gradient de densité ; les lymphocytes CD19 + ont été triés par sélection positive à l'aide de billes magnétiques (MACSâ). L'expression de SOCS1 a été mise en évidence par immunocytochimie (ICC) (ImmunoCruz Staining System ; anticorps anti SOCS1, Santa Cruz Biotechnology). La quantification relative du transcrit SOCS1 au sein des CMN des patients LLC a été évaluée par PCR en temps réel en utilisant une sonde Taqmanâ, les CMN des témoins sains servant de calibrateur, le gène TBP de transcrit de référence endogène. Après une étape de bisulfitation de l'ADN (CpGenome DNA Modification Kit, Chemicon) le statut de méthylation des motifs CpG de l'exon 2 ainsi que ceux du promoteur du gène SOCS1 a été étudié par Méthylation Specifique PCR (MSP). Résultats : Dans le groupe des témoins sains, un niveau d'expression élevé de SOCS1 est observé dans 100 % des lymphocytes par technique d'ICC. Dans le groupe des LLC, le pourcentage de lymphocytes exprimant SOCS1 varie de 0 à 100 % (moyenne : 49 % +- 36,6). Chez 93 % des patients, le niveau d'expression de SOCS1 dans les lymphocytes est diminué par rapport à celui des lymphocytes CD19+ des sujets sains soit en terme de pourcentage de lymphocytes positifs soit en terme d'intensité d'expression. Chez 40,7 % des patients, moins de 30 % des lymphocytes expriment la protéine SOCS1. Parallèlement, une hétérogénéité du niveau de transcription du gène SOCS1 a été mise en évidence (0,11-8,14, moyenne : 1,15). Dans 56,8 % des cas, le niveau de transcription est inférieur à celui des CMN des sujets sains. Aucun cas de méthylation dans la région du promoteur de SOCS1 n'a été mis en évidence. Un seul cas de profil de méthylation partielle a été détecté parmi les 67 patients atteints de LLC analysés par MSP de l'exon 2 du gène SOCS1. Une diminution du niveau de transcription du gène SOCS1 ainsi que de la protéine SOCS1 a été observée chez ce patient. En conclusion, le niveau d'expression de la protéine SOCS1 dans les lymphocytes est diminué chez les patients atteints de LLC. Ce profil d'expression n'est pas lié à un processus de méthylation du gène SOCS1. La valeur pronostique clinique de cette diminution du niveau d'expression de la protéine SOCS1 dans la LLC reste donc à évaluer.

Mots-clés : LLC, methylation, *SOCS1*.

■P503 / 1131. LEUCÉMIE AIGUË À BASOPHILE ET EXCEPTIONNEL TRANSCRIT DE FUSION BRC-ABL E6A2

Marie-José Grégoire (1), Véronique Latger-Cannard (2), Brigitte Léotard (1), Anne Stal (3), Serge Bologna (4), Jean-Philippe Rault (5), Philippe Jonveaux (1)

(1) Laboratoire de génétique, CHU de Nancy ; (2) Laboratoire d'hématologie, CHU de Nancy ; (3) Laboratoire d'hématologie, CHR de Metz ; (4) Service des maladies du sang, CHU de Nancy ; (5) Laboratoire de biochimie, CHR de Metz

La translocation t(9;22)(q34;q11) conduisant à la formation du chromosome Philadelphie (Ph) est observée dans plus de 95 % des cas de leucémie myéloïde chronique (LMC), dans 25 à 30 % des cas et 2 à 10 % des cas de leucémie aiguë lymphoblastique (LAL) de l'adulte et de l'enfant respectivement, et dans de rares cas de leucémie aiguë myéloblastique (LAM). Le chromosome Philadelphie conduit au niveau moléculaire à la formation d'une protéine de fusion entre la partie 5' du gène BCR en 22q11 et la partie 3' du gène ABL situé en 9q34. On distingue classiquement plusieurs points de cassure au sein du gène BCR. M-bcr (Major breakpoint cluster region) est observé au cours de la majorité des cas de LMC et 2/3 des cas de LAL Ph+ avec des jonctions e13a2 ou e14a2 et moins fréquemment e13a3 ou e14a3. Dans de rares cas de LMC et de LAL Ph+, il s'agit du point de cassure m-bcr (minor breakpoint cluster region) avec des jonctions e1a2 ou e1a3. De très rares cas (actuellement six cas rapportés dans la littérature) montrent une fusion en dehors de ces régions habituelles avec une jonction e6a2. Nous rapportons le cas d'un homme âgé de 71 ans chez lequel le diagnostic de leucémie aiguë à basophile est porté sans période préalable de syndrome myéloprolifératif chronique. L'examen cytologique sanguin révèle la présence de 30 % de cellules blastiques avec de gros granules basophiles, 8 % de précurseurs basophiles et 5 % de basophiles matures (5 %). Le myélogramme montre un envahissement de type cellulaire identique avec une métachromasie au bleu de toluidine au niveau des granules basophiles des cellules blastiques. L'immunophénotypage confirme la présence de marqueurs myéloïdes (CD13, CD33 et CD11c) en présence de CD203c, marqueur spécifique des cellules basophiles. L'analyse cytogénétique du prélèvement médullaire détecte la présence en mosaïque de la translocation t(9;22)(q34;q11), confirmée en hybridation in situ en fluorescence à l'aide d'une sonde double couleur BCR et ABL (VYSIS) avec en outre une délétion de la partie 5' du gène ABL. L'étude moléculaire par RT-PCR ne détecte aucun produit d'amplification correspondant aux fusion de type p210 ou p190 BRC-ABL. En revanche, un transcrit de taille inhabituel est identifié et dont la séquence permet de confirmer une fusion de type e6a2. L'association leucémie aiguë à basophile, entité cytologique rare, et transcrit BCR-ABL e6a9 est confrontée aux six autres descriptions de transcrit e6a2 décrits dans la littérature, et tout particulièrement la réponse à l'imatinib mesylate

(Glivec), compte tenu du fait que la protéine de fusion de type e6a2 a perdu spécifiquement le domaine guanine exchange factor(GDF)/dbl-like.

Mots-clés : leucémie aiguë à basophile, BCR-ABL e6a2, imatinib mesylate.

■P504 / 1133. RISQUE DE CANCER CHEZ LES PERSONNES ASYMPTOMATIQUES PORTEUSES D'UNE ALTÉRATION CONSTITUTIONNELLE DU GÈNE *MSH2* OU *MLH1*

Réseau Français des laboratoires d'oncogénétique moléculaire : Bezieau S. (2), Bressac B. (3), Buisine M.P. (4), Caron O. (5), Coulet F. (6), Frébourg T. (7), Gorry P. (8), Lidereau R. (9), North M.O. (10), Philippe C. (11), Rey J.M. (12), Toulas C. (13), Wang Q. (14), Uhrhammer N. (15), Olschwang S. (1)

(1) Institut Paoli-Calmettes, Marseille ; (2) CHU, Nantes ; (3) Institut Gustave-Roussy, Villejuif ; (4) CHU, Lille ; (5) CHU, Strasbourg ; (6) CHU Pitié-Salpétrière, Paris ; (7) CHU Rouen ; (8) Institut Bergonié, Bordeaux ; (9) Centre René-Huguenin, Saint-Cloud ; (10) CHU Cochin, Paris ; (11) CHU, Nancy ; (12) CHU, Montpellier ; (13) Institut Claudius-Regaud, Toulouse ; (14) Centre Léon-Bérard, Lyon ; (15) Centre Jean-Perrin, Clermont-Ferrand

Introduction : Les personnes porteuses d'une altération constitutionnelle du gène MSH2, MLH1 ou MSH6 ont un risque élevé de développer un cancer au cours de leur vie, avec une localisation prédominante dans le côlon, le rectum et l'endomètre. Cette prédisposition héréditaire majeure, à transmission autosomique dominante, est dénommée syndrome de Lynch ou HNPCC (Hereditary Non-Polyposis Colon Cancer). But : Grâce à un recueil systématique des informations phénotypiques des personnes ayant eu une analyse génétique prédictive pour l'altération responsable du syndrome HNPCC dans leur famille, nous proposons une évaluation précise du risque de cancer en fonction de l'âge et selon le sexe, pour les 2 gènes MSH2 et MLH1. Patients et méthodes : Parmi 274 familles non liées génétiquement, dans lesquelles une altération délétère du gène MSH2 ou MLH1 avait été identifiée, 861 personnes indemnes de cancer ont eu une analyse génétique prédictive. Elles étaient âgées de 18 à 84 ans, et se répartissaient en 406 hommes et 455 femmes ; 375 étaient porteuses et 486 non porteuses de l'altération constitutionnelle, qui concernait le gène MSH2 dans 418 cas et le gène MLH1 dans 443 cas. Les calculs de risque ont porté sur le risque cumulé en fonction de l'âge selon ces différents paramètres, en utilisant une méthode non biaisée sur les critères de recrutement du cas index, décrite antérieurement [1]. Résultats : Aucune différence de risque cumulé de cancer, indépendamment de sa localisation, n'a été mise en évidence selon le sexe ou le gène altéré. Ce risque est de 5 % à 25 ans et augmente linéairement à partir 40 ans pour atteindre 65 % à 80 ans. Conclusion : Cette observation renforce : i) l'hypothèse d'une importante surestimation du risque dans les travaux initialement publiés, dans lesquels le biais dû au recrutement des cas intervenait de manière importante ; ii) les positions prises par le groupe de travail sur le syndrome HNPCC coordonné par la DHOS en 2003 [2], en particulier concernant la prise en charge chirurgicale [3].

Mots-clés : syndrome HNPCC, risque cumulé, mutation constitutionnelle.

Références

1. Parc *et al. J Med Genet* 2003 ; 40 : 208-213.
2. Olschwang *et al. Bull Cancer* 2004 ; 91 : 303-15.
3. Olschwang *et al. Gut* 2005 ; 54 : 169.

■P505 / 1136. LE CANCER DU SEIN DE TYPE MÉDULLAIRE : UNE ORIGINE BASALE/MYOÉPITHÉLIALE ?

Jacquemier J. (1, 2), Padovani L. (2, 3, 4), Rabayrol L. (1, 3), Hassanein M. (1, 3), Lakhani S.R. (5, 6) Penault-Llorca F. (7), Denoux Y. (8), Fiche M. (9), Figueiro P. (10), Maisongrosse V. (11), Ledoussal V. (12), Martinez Penuela J. (13), Udvarhely N. (14), El Makdissi G. (2, 3), Ginestier C. (1), Geneix J. (1), Charafe-Jauffret E. (1, 2), Bourdon V. (1, 3), Xerri L. (1, 2, 15), Eisinger F. (1, 3, 15), Birnbaum D. (1), The European Working Group for Breast Screening Pathology, the Breast Cancer Linkage Consortium et Sobol H. (1, 3, 15)

(1) UMR599 INSERM, Marseille, France ; (2) Département de Biopathologie, Institut Paoli-Calmettes (IPC), Marseille, France, (3) Département d'Oncologie Génétique, Prévention et Dépistage, IPC, Marseille, France ; (4) Département d'Oncologie-Radiothérapie, Centre Hospitalier Universitaire La Timone, Marseille, France ; (5) The Breakthrough Tony Robins Breast Cancer Research Centre, London, UK ; (6) Molecular and Cellular Pathology, School of Medicine, University of Queensland, Brisbane, Australia ; (7) Département de Pathologie, Centre Jean-Perrin, Clermont-Ferrand, France ; (8) Département de Pathologie, Centre François-Baclesse, Caen, France ; (9) Département de Pathologie, Hôpital Laennec, St-Herblain, France ; (10) Département de Pathologie, Centre Régional d'Oncologie, Coimbra, Portugal ; (11) Département de Pathologie, Centre Claudius-Regaud, Toulouse, France ; (12) Département de Pathologie, Centre René-Huguenin, St-Cloud, France ; (13) Département de Pathologie, Hôpital de Navarre, Pamplona, Espagne ; (14) Pathology Department, National Cancer Institute, Budapest, Hungary ; (15) UFR de Médecine, Université d'Aix-Marseille II, Marseille, France

Le cancer du sein médullaire (CM) est un type histologique rare de diagnostic difficile, associé à un excellent pronostic en dépit de son haut grade histologique. Nous avons montré de plus, que les patientes atteintes par ce cancer avaient un risque élevé d'être porteuses d'une mutation germinale de BRCA1. Une simplification diagnostique du CM faciliterait grandement l'identification de sujets à haut risque de bilatéralisation de leur cancer, voire de développer un cancer de l'ovaire car potentiellement porteuses d'une mutation de BRCA1 et ainsi d'envisager une thérapeutique différente (chimiothérapie non obligatoire de par leur bon pronostic ; propositions de stratégies de prévention et dépistage). Le but de notre étude était d'améliorer l'établissement du diagnostic de CM par l'établissement d'un profil d'expression protéique spécifique en utilisant la technique de tissu microarray (TMA). Pour cela, dans le cadre d'une collaboration internationale, nous avons constitué une série de 779 cancers mammaires (set EC) diagnostiqués initialement comme médullaires. Nous avons ensuite procédé à une double lecture réalisée par un groupe de pathologistes, experts européens reconnus, pour établir le diagnostic de certitude de CM selon les 5 critères de Rudolfi. Enfin, nous avons retenu pour notre étude les cas de CM typiques opposés à des cancers du sein grade 3 non médullaires pour lesquels des blocs étaient disponibles, pour que l'étude TMA puisse être entreprise. Ainsi 44 CM et 160 cancers du sein grade 3 non médullaires ont été inclus. Pour valider les résultats obtenus dans le premier set, une série de cas témoin de CM (n = 17) provenant de l'IPC a également été constituée et étudiée. Dix huit protéines ont été explorées en immunohistochimie portant sur les différents niveaux de différenciation des cellules mammaires et certaines fonctionnalités importantes. En analyse multivariée ont été retenus les paramètres suivants : P. Cadherine (RR = 2,29), MIB1>50 (RR = 3,80), ERBB2 negatif, (RR = 2,24) et P53 positif (RR = 1,45) comme étant les éléments permettant de discriminer les CM des cancers du sein de type canalaire infiltrants grade 3 non médullaires. En outre, nos résultats sont en faveur d'une origine basale/myoépithéliale du CM, origine différente de la majorité des cancers du sein qui pourrait expliquer son histoire naturelle si particulière (phénotype de type tumeur de mauvais pronostic et excellente survie). D'autres études sont en cours pour explorer l'association de ce profil et ses liens avec la présence d'une mutation du gène BRCA1. Cette étude est la première approche TMA réalisée sur cette entité rare de cancer du sein et des implications pratiques en termes de prise en charge médicale sont attendues.

Mots-clés : cancer du sein médullaire, TMA, prise en charge.

■P506 / 1137. LE SYNDROME HNPCC DANS LA RÉGION NORD-PAS-DE-CALAIS : EXPÉRIENCE D'UNE ÉQUIPE MULTIDISCIPLINAIRE SUR 151 FAMILLES REÇUES ENTRE 1997 ET 2004

Sophie Lejeune-Dumoulin (1), Marie-Pierre Buisine (2), Agnès Wacrenier (3), Carole Fantini (1), François Guillemot (4), Stéphane Cattan (5), Nicole Porchet (2), Jean-Pierre Triboulet (6), Sylvie Manouvrier-Hanu (1) et PAFNORD

(1) Service de Génétique Clinique, Hôpital Jeanne-de-Flandre, CHRU de Lille ; (2) Laboratoire de Biochimie et Biologie moléculaire, Eurasanté, CHRU de Lille ; (3) Laboratoire d'Anatomie et Cytologie Pathologiques, Eurasanté, CHRU de Lille ; (4) Service de Gastro-Entérologie, CH de Roubaix ; (5) Service de Gastro-Entérologie, Hôpital Claude Huriez, CHRU de Lille ; (6) Service de Chirurgie Digestive et Générale, Hôpital Huriez, CHRU de Lille

Le syndrome HNPCC est un syndrome de prédisposition héréditaire au cancer, autosomique dominant, responsable d'environ 3 à 5 % des cancers coliques. Sur le plan moléculaire, il est dû à une altération constitutionnelle d'un des gènes du système MMR (MisMatch Repair), système de réparation de l'ADN intervenant dans la réparation des erreurs post-réplicatives. De 1997 à 2004 nous avons reçu en consultation d'oncogénétique 151 familles pour lesquelles nous avons retenu l'hypothèse diagnostique de syndrome HNPCC en nous basant sur les critères d'Amsterdam et/ou les recommandations de Béthesda. 127 « cas index » ont pu bénéficier d'une analyse des gènes MMR, une mutation délétère d'un des gènes MMR a été identifiée chez 45 d'entre eux (35 %) : 21 familles présentent une mutation de MLH1, 23 familles une mutation de MSH2 et 1 seule famille une mutation de MSH6. Par ailleurs des mutations « faux-sens » dont le caractère délétère n'est pas démontré ont été retrouvées chez 7 cas index (4 mutations de MLH1 dont une retrouvée dans deux familles, et 2 mutations de MSH2), ce qui porterait à 41 % le taux d'identification mutationnelle, si nous pouvions démontrer leur caractère délétère. Les mutations

identifiées seront détaillées. L'étude des données épidémiologiques et cliniques de nos familles nous montre que : – Elles nous ont été essentiellement adressées par les gastro-entérologues et chirurgiens et jamais par les gynécologues malgré la fréquence des tumeurs de l'endomètre, d'où l'importance de sensibiliser ces spécialistes. – Dans 17 cas, l'analyse génétique n'a pas pu être réalisée en raison du décès du ou des « cas index » et de l'absence de disponibilité de prélèvements notamment tumoraux, d'où l'utilité de sensibiliser nos collègues à l'aspect potentiellement génétique de ces pathologies. –Les corrélations « génotype-phénotype » sont imparfaites. Néanmoins, en accord avec la littérature, nous notons une plus grande sévérité des mutations MSH2 versus MLH1 (Survenue des cancers du spectre étroit avant 50 ans : 66 %/56 % ; Cancers coliques avant 50 ans : 71 %/59 %) et un spectre clinique plus large pour les mutations MSH2 versus MLH1 notamment pour les tumeurs des voies urinaires que nous n'avons observées qu'en cas de mutation MSH2. Ces données seront détaillées. L'identification des mutations nous a permis de proposer un « diagnostic prédictif » aux sujets non malades des 45 familles concernées, dans le strict respect de la loi du 23 juin 2000. De 1997 à 2004, 126 personnes sont allées au bout de la démarche, 54 d'entre elles se sont révélées porteuses de la mutation et ont entamé un protocole de surveillance, 72 (et leurs 128 descendants) ont pu être rassurées.

Mots-clés : HNPCC, gènes MMR, prise en charge.

■P507 / 1148. LA GLIOMATOSE CÉRÉBRALE : À PROPOS DE 3 OBSERVATIONS PÉDIATRIQUES

C. Tréguier (1), B. Bruneau (1), M. Le Calvé (5), M. Rambeau (1), B. Carsin-Nicol (1), P. Darnault (1), L. Riffaud (2), C. Edan (3), S. Saikali (4), L. Pasquier (5), S. Odent (5)
(1) Département de Radiologie et d'Imagerie Médicale ; (2) Service de Neuro-chirurgie ; (3) Département de médecine de l'enfant et de l'adolescent ; (4) Département d'Anatomie et Cytologie pathologiques ; (5) Département Cytogénétique, Biologie cellulaire CHU Pontchaillou, 2, rue Henri-Le Guilloux, 35033 Rennes Cedex 3

Objectif : La gliomatose cérébrale (GC) se définit par une infiltration diffuse de l'encéphale par des cellules néoplasiques gliales. Le but de cette présentation est de rapporter 3 observations pédiatriques récentes et de les confronter à une revue de la littérature. Matériel et Méthodes : 3 enfants âgés de 3, 5, 13 ans sont adressés en urgence pour crises comitiales généralisées. L'IRM – Siemens 1,5 T (2 cas), Philips 3 T (1 cas) – associe les séquences pondérées T1, sans et avec gadolinium, T2, FLAIR ainsi que l'imagerie de diffusion avec cartographie ADC. La spectroscopie par résonance magnétique est réalisée dans 1 cas. Les biopsies chirurgicales (1 cas) ou stéréotaxiques (2 cas) cortico-sous-corticales et thalamiques sont effectuées chez les 3 patients permettant l'étude anatomopathologique et immunohistochimique par 2 lecteurs référents ainsi que l'étude cytogénétique par FISH du statut chromosomique 1p et 19q. Résultats : L'épilepsie est le signe clinique révélateur chez nos 3 patients. L'IRM met en évidence dans les 3 cas un hypersignal T2 et Flair cortico-sous-cortical diffus plurilobaire, bilatéral dans 2 cas, avec extension aux noyaux gris de la base dans 3 cas et au tronc cérébral dans 2 cas. Dans 1 cas, le diagnostic différentiel de leucoencéphalite virale est évoqué. Les biopsies confirment le diagnostic de GC dans sa forme oligodendrogliale (stade III OMS 2 cas – stade II OMS 1 cas) à index prolifératif élevé. L'étude cytogénétique initiale en FISH révèle dans 1 cas une polysomie 19q ainsi qu'une polysomie 1p associée à une délétion 1p. Dans 1 cas aucune polysomie ou délétion 1p ou 19q n'est repérée, dans le 3e cas il existe une délétion 1p sans anomalie 19q. L'évolution clinique est péjorative chez 2 patients. Conclusion : la GC est une entité neuro-oncologique rare et spécifique (moins de 300 cas dans la littérature dont 20 cas pédiatriques). L'IRM conventionnelle oriente le diagnostic – atteinte bilatérale de la substance blanche ou multi lobaire associée à une infiltration des noyaux gris, du tronc cérébral – La spectroMR (myoinositol et choline) et l'imagerie de diffusion en suggèrent le caractère glial et agressif et permettent de guider la biopsie chirurgicale ou stéréotaxique. Le diagnostic de GC de présentation clinique trompeuse et de diagnostic histologique difficile impose des confrontations cliniques, radiologiques, anatomopathologiques et cytogénétiques. Il est admis chez l'adulte que la chimiosensibilité des oligodendrogliomes est corrélée à la délétion 1p. L'étude pédiatrique de Raghavan et Perry en 2003 concernant 26 oligodendrogliomes pédiatriques rapporte la rareté des délétions 1p (20 %) ou 19q (12 %) et l'absence de polysomie dans 72 % des cas. Leur chimiosensibilité n'est pas évaluée.
Une étude multicentrique du profil génétique de cette pathologie tumorale pédiatrique rare est proposée aux centres de référence en oncologie pédiatrique.

Mots-clés : gliomatosis cerebri, fluorescence in situ hybridation, MRI, child, biopsy.

■P508 / 1157. ÉVALUATION À MOYEN TERME DES RÉPERCUTIONS PSYCHOSOCIALES DU RÉSULTAT POSITIF DES ANALYSES GÉNÉTIQUES INITIALES CHEZ DES PATIENTS CAS INDEX DE FAMILLES À RISQUE HÉRÉDITAIRE DE CANCER DU SEIN OU DU COLON NON POLYPOSIQUE

C. Lasset (1, 2), N. Voirin (1), P. Saltel (1), F. Desseigne (1), S. Gobet (1), H. Mignotte (1), V. Bonadona (1)
(1) Centre Léon-Bérard, Lyon ; (2) Université Claude-Bernard Lyon 1

Le développement récent de l'activité d'oncologie génétique implique l'évaluation des répercussions psychiques et sociales chez les personnes concernées par le résultat des analyses génétiques initiales (patients cas index).
Nous réalisons au Centre Léon Bérard une étude prospective chez les personnes atteintes de cancer et reconnus porteuses d'une prédisposition héréditaire au cancer du sein ou du côlon non polyposique. L'évaluation de l'impact psychosocial, effectuée à court et moyen terme repose sur la conduite d'entretiens semi-structurés « de visu » et des auto-questionnaires de type HADS et PQVS, proposés un mois puis un an après la consultation de rendu de résultat.
Nous présentons ici les résultats préliminaires relatifs à l'évaluation à un an dont ont bénéficié 26 patients sur les 72 actuellement inclus dans l'étude. L'âge médian des patients était de 49,5 ans avec 69,2 % de femmes, 15 cas de cancers du sein et 11 cas de cancer du côlon.
Pendant les mois qui ont suivi l'annonce du résultat positif, 92,3 % des patients ont rapporté avoir été préoccupés par cette information. Parmi eux, 19,2 % y ont pensé souvent, 42,3 % de temps et temps et 30,8 % rarement. Depuis leur dernière consultation de génétique, 34,6 % disent avoir ou avoir eu recours à des prises de somnifères ou tranquillisants dont 33,3 % précisent que cela était en rapport avec le résultat. Au total, 19,2 % ont bénéficié d'un soutien psychologique mais aucun ne signale une relation avec la connaissance de la prédisposition héréditaire.
Les scores médian d'anxiété, évaluée avant l'annonce du résultat, 1 mois après et à 1 an étaient respectivement de 10, 10 et 9 alors que les scores médian de dépression étaient respectivement de 4, 3 et 2,5 et les scores globaux HADS de 15,5, 13 et 12 ; cette baisse au cours du temps n'était pas statistiquement significative.
Concernant les relations à l'entourage, 13,0 % notent un changement de l'ambiance familiale mais peu relié au résultat du test génétique. Si 19,2 % pensent que le résultat a eu des répercussions psychologiques sur les membres de leur famille, aucun patient ne s'est senti exclu ou abandonné par son entourage et 52,1 % ont remarqué des sentiments d'affection ou de soutien de leur famille.
Un an après l'annonce du résultat, 84,6 % redoutaient la survenue d'un second cancer, 53,8 % sont inquiets pour leur avenir personnel et 50,0 % pour l'avenir de leurs enfants. Par ailleurs, 38,5 % pensent qu'il y a plus d'avantages que d'inconvénients à connaître le résultat des analyses génétiques et 15,4 % disent regretter d'avoir réalisé le test.
Ces résultats doivent être confirmés sur un échantillon plus large de patients.
Cependant, ils peuvent indiquer que malgré une baisse de l'anxiété au cours du temps après l'annonce du résultat positif des analyses génétiques, les patients restent préoccupés par l'information transmise, pour eux mêmes et leur entourage.
Il convient donc de leur proposer dans le cadre de la consultation d'oncogénétique un suivi leur ouvrant un espace de parole et pouvant leur donner accès, si besoin, à un soutien psychologique.

Mots-clés : impact psychosocial, cancer du sein, cancer du colon.

■P509 / 1169. NEUROFIBROMATOSE DE TYPE 1 : RÔLE DES GÈNES *TNC* ET *TNXB* – DEUX MEMBRES DE LA FAMILLE DES GÈNES CODANT LES TENASCINES – DANS LA PHYSIOPATHOLOGIE DES NEUROFIBROMES ET DES NEUROFIBROSARCOMES

P. Lévy (1), V. Lazar (2), I. Laurendeau (1), V. Laville, B (2). Parfait (1), K. Leroy (3), J. Wechsler (3), P. Wolkenstein (4), P. Dessen (5), M. Vidaud (1), D. Vidaud (1), I. Bièche (1, 6)
(1) Laboratoire de Génétique Moléculaire EA 3618, Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, Paris ; (2) Unité de Génomique fonctionnelle, Institut Gustave-Roussy, Villejuif ; (3) Département d'Anatomo-Cytopathologie, Hôpital H.-Mondor, AP-HP, Créteil ; (4) Service de Dermatologie, Hôpital H.-Mondor, AP-HP, Créteil ; (5) CNRS UMR 8125 Unité de bioinformatique, Institut Gustave-Roussy, Villejuif ; (6) Laboratoire d'Oncogénétique, INSERM U735, Centre René-Huguenin, St-Cloud

Le neurofibrome est une tumeur bénigne caractéristique de la neurofibromatose de type 1, maladie héréditaire de transmission autosomique dominante. On distingue classiquement les neurofibromes cutanés et les

neurofibromes plexiformes qui seuls possèdent la capacité de se transformer en tumeurs malignes des gaines nerveuses (neurofibrosarcomes). Les mécanismes moléculaires régulant le développement, la taille, le nombre et l'évolution des neurofibromes chez les patients atteints ne sont pas encore entièrement élucidés, ce qui constitue un obstacle majeur à la mise en place de nouveaux traitements. Dans le but d'identifier de nouveaux gènes impliqués dans la transformation maligne des neurofibromes plexiformes, nous avons analysé par cDNA microarray et RT-PCR quantitative en temps réel une série de neurofibromes cutanés, plexiformes et de neurofibrosarcomes. Nous avons ainsi pu identifier deux gènes (TNC et TNXB) impliqués dans la tumorigenèse liée à NF1 : le gène TNC codant la Ténascine C est surexprimé tandis que le gène TNXB codant la Ténascine X est sous-exprimé au cours de la progression tumorale. L'augmentation de l'expression du gène TNC est principalement associée à la surexpression de variants d'épissage de grande taille et cette activation transcriptionnelle est principalement médiée par le complexe transcriptionnel AP-1. Les anticorps anti-TNC, déjà utilisés avec succès dans des essais cliniques de phase 2 pour le gliome malin, pourraient donc constituer une nouvelle stratégie thérapeutique dans la neurofibromatose de type 1.

Mots-clés : neurofibromatose de type 1, ténascines, tumeurs malignes des gaines nerveuses.

■P510 / 1504. ÉTUDES CYTOGÉNÉTIQUES ET MOLÉCULAIRES CHEZ 30 CAS D'OLIGODENDROGLIOMES

Macoura Gadji (1), David Fortin (2), Ana-Maria Tsanaclis (3), Régen Drouin (1)*

(1) Service de Génétique, Département de Pédiatrie ; (2) Service de neurochirurgie, Département de Chirurgie ; (3) Département de pathologie, Faculté de Médecine et des Sciences de la Santé, Université de Sherbrooke, Sherbrooke, Québec, Canada

Les avancées récentes des études moléculaires sur les gliomes ont permis d'identifier certains profils d'altérations moléculaires dont certains ont pu être corrélés avec les données histologiques et cliniques de sous-groupes tumoraux. Ainsi, les tumeurs oligodendrocytaires sont associées à des pertes fréquentes des chromosomes 1p et 19q. Ces altérations sont considérées comme des marqueurs de bon pronostic et de bonne sensibilité à la chimiothérapie. Nous avons mené une étude rétrospective et prospective sur les patients atteints d'oligodendrogliomes qui sont suivis dans notre cohorte (30 patients environ). Ces patients ont subi les traitements standards de chirurgie et/ou radiothérapie et/ou chimiothérapie. Le traitement par la chimiothérapie a été effectué à l'aide d'une nouvelle approche qui consiste à ouvrir la barrière hémo-encéphalique afin de permettre une meilleure accessibilité aux drogues. Des études immuno-histochimiques ont été effectuées sur les blocs de tissus enchâssés dans la paraffine pour déterminer l'indice de prolifération (IP) et l'expression du gène EGFR (Epidermal Growth Factor Receptor). L'indice de prolifération variait entre 1 et 90 % sur 15 tumeurs dont 8 avaient un IP > 20 %. EGFR était exprimé au niveau de 6 tumeurs sur 16. Des études de cytogénétique moléculaire par FISH (hybridation in situ observée en fluorescence) en utilisant les sondes LSI 1p36/LSI 1q25 et LSI 19q13/LSI 19p13 sur 20 blocs de tissus enchâssés dans la paraffine ont montré une délétion de 1p/19q combinée au niveau de 13 tumeurs, de 1p seul au niveau de 2 tumeurs, de 19q seul au niveau de 1 tumeur et 1 tumeur sans délétion 1p/19q. Trois tumeurs présentaient trois signaux d'hybridation ou plus correspondant aux chromosomes 1p et/ou 19q. Des études de perte d'hétérozygotie (LOH : Loss of Heterozygosity) en utilisant des marqueurs microsatellites spécifiques des chromosomes 1p et 19q seront effectuées sur de l'ADN extrait des blocs de tissus enchâssés dans la paraffine de la moitié des patients. Tous ces résultats seront corrélés avec les données de la clinique et de nouvelles stratégies thérapeutiques seront dégagées.

■P511 / 1540. PRÉDICTION DU PRONOSTIC DES CANCERS DU COLON STADE II PAR LES PROFILS D'EXPRESSION GÉNOMIQUE DE LA TUMEUR

A. Barrier (1, 2), A. Lemoine (1), D. Brault (4), S. Houry (2), A. Flahault (2), S. Dudoit (5), B. Debuire (1)

(1) Service be biochimie, INSERM U602 ; Biochemistry Departement, Hôpital Paul-Brousse ; Université Paris XI, 94800 Villejuif ; (2) Service de Chirurgie Digestive ; Hôpital Tenon ; Université Pierre et Marie Curie ; Assistance Publique, 75020 Paris ; (3) INSERM U444 ; Faculté de Médecine Saint-Antoine ; Université Pierre et Marie Curie ; 75571 Paris Cedex 12 ; (4) Service de Biochimie ; Hôpital Tenon ; Université Pierre et Marie Curie ; Assistance Publique, 75020 Paris ; (5) Division of Biostatistics ; School of Public Health ; University of California, Berkeley, California 94720-7360

But. Les buts de cette étude étaient : 1) d'établir un prédicteur pronostique, basé sur les profils d'expression génomique du tissu tumoral, pour les cancers du côlon stade II et d'en évaluer les performances ; 2) d'évaluer les performances d'un prédicteur pronostique analogue proposé par Wang *et al.* [1].

Matériel et Méthodes. Les ARNm de 50 malades opérés d'un cancer du côlon stade II (25 malades avec métastase hépatique métachrone, 25 malades sans récidive dans les 5 premières années postopératoires) ont été étudiés sur des puces à ADN Affymetrix. Dans une première partie, les 50 malades ont été subdivisés aléatoirement en un groupe d'apprentissage et un groupe de validation comprenant chacun 25 malades. Trente gènes informatifs ont été sélectionnés sur le groupe d'apprentissage (test t de Student) et leur valeur de prédiction pronostique a été testée sur le groupe de validation (analyse discriminante linéaire). Dans une deuxième partie, trente gènes informatifs ont été sélectionnés sur l'ensemble des 50 malades. Leur valeur de prédiction pronostique a été estimée par validation croisée de Monte-Carlo : les 50 malades ont été subdivisés 100 fois en des groupes d'apprentissage d'effectif n et de validation d'effectif (50-n), n variant de 10 à 40 ; pour chacune des 1600 subdivisions considérées, une signature pronostique de 30 gènes a été établie sur le groupe d'apprentissage puis testée sur le groupe de validation correspondant. La signature de 23 gènes proposée par Wang *et al.* [1] a été évaluée sur les mêmes groupes d'apprentissage et de validation.

Résultats. Dans la première partie, la signature pronostique de 30 gènes, établie sur le groupe d'apprentissage, a permis de prédire correctement le pronostic de 80 % des malades du groupe de validation. Dans la deuxième partie, l'estimation de la valeur de prédiction pronostique a augmenté progressivement avec la taille du groupe d'apprentissage : de 66 % de bonnes prédictions pour des groupes d'apprentissage d'effectif 10 à 83 % pour des groupes d'apprentissage de taille 40. Pour un nombre n donné, les performances de prédiction des 100 signatures ont été très variables : de 25 à 40 % d'écart entre les valeurs minimale et maximale observées ; en terme de composition, les 100 signatures étaient très différentes. Évaluée sur les mêmes groupes d'apprentissage et de validation, la signature pronostique proposée par Wang et coll 1 a été un peu moins performante (de 63 à 69 % en fonction de la taille du groupe d'apprentissage).

Conclusion. 1) Il apparaît possible de prédire l'évolution des cancers du côlon stade II par l'étude des profils d'expression génomique du tissu tumoral. 2) Une validation croisée de Monte-Carlo permet de mieux appréhender la variabilité des résultats et donc de donner une estimation plus réaliste de la performance prédictive d'une signature que le schéma classique d'un unique groupe d'apprentissage et d'un unique groupe de validation.

Référence

1. Wang *et al. J Clin Oncol* 2004 ; 27 : 1564-71.

■P512 / 1541. DE L'ANDROGENÈSE (MOLES HYDATIFORMES) AU CANCER (CHORIOCARCINOMES)

Ph. Coullin (1, *), H. Jammes (2), J.L. Janneau (3), C. Ferretti (3), D. Bellet (3), H. Poaty (4), A. Bernheim (4), J.J. Candelier (5), A.L. Diatta (6), J.M. Afoutou (6), J.C. Moreau (6), M. Adjagba (7), A. Laleye (7), C. Gombé N'Balawa (8), V. Siani (9), R. Slim (10), J.M. Dupont (11), J. Tost (12), I. Gut (12), H. Fernandez (1), A. Coulomb (1), S. Prévot (1), J.Y. Picard (1)

(1) INSERM U493, Endocrinologie et génétique du développement et de la reproduction, 32, rue des Carnets, F92140 Clamart ; (*) Tél. : 01 45 37 40 84, courriel : philippe.coullin@inserm.ipsc.u-psud.fr ; (2) INSERM U361, Hôp. Cochin, F75014 Paris ; (3) Lab. Immuno. Fac. Pharmacie, F75006 Paris ; (4) UMR 8125, IGR, F94805 Villejuif ; (5) INSERM U504, F94807 Villejuif ; (6) Hôp. Le Dantec, Dakar, Sénégal ; (7) Cytogénétique, Cotonou, Bénin ; (8) Cancérologie, Brazzaville, Congo ; (9) Anatomo pathologie, F65013 Tarbes ; (10) Université Mac Gill, Montréal, Canada ; (11) INSERM U709, F75014 Paris ; (12) Centre National de Génotypage, F91057 Évry

Les môles hydatiformes complètes (CHM) dont 80 % sont d'origine androgénique (diploïdes mais dont tous les chromosomes sont d'origine paternelle) sont caractérisées par l'absence d'embryon et la dégénérescence villeuse totale du placenta. Du fait de l'origine monoparentale des chromosomes (ou d'une mutation dans les cas des CHM bi-parentale), le profil d'expression des gènes soumis à empreinte est de type « paternel ». Ce double déséquilibre (gènes « d'expression paternelle » exprimés par les deux allèles et gènes « maternels » réprimés), puis par effet cascade, la régulation anarchique d'un grand nombre de gènes, sont à l'origine du phénotype môlaire.

Une part importante des môles hydatiformes, peut devenir invasive et évoluer en choriocarcinome dont le pronostic varie de la régression spontanée au décès de la patiente. Le dérèglement des gènes soumis à empreinte, élément initiateur, est-il le seul moteur de cette dérive tumorale ? Est-il amplifié ou relayé par l'acquisition et/ou la perte secondaire d'oncogènes ou d'anti-oncogènes, au hasard de la dérégulation des autres gènes ou de l'émergence de mutations et d'anomalies chromosomiques, durant la phase de développement anarchique et de prolifération intense du « conceptus » ? Nous explorons ces diverses voies, sur une collection de CMH, de môles invasives, de choriocarcinomes et de lignées.

Nous avons observé qu'au niveau de certains gènes soumis à empreinte, le profil de méthylation de « type paternel » n'était pas conservé d'une façon homogène chez les choriocarcinomes ainsi que chez les lignées cellulaires.
Sur une sélection de gènes impliqués dans la croissance du placenta, nous avons constaté une évolution anormale de l'expression de la majorité d'entre eux. La répression de Kiss et de Kiss ir pourrait être spécifique de l'évolution maligne de la môle.
Enfin la cytogénétique a révélé que, si les CHM sont bien diploïdes, les 2/3 des choriocarcinomes présentent des anomalies chromosomiques dont certaines, impliquant les chromosomes 5, 7 et 8, sont récurrentes et/ou retrouvées sur les lignées.
Si dans les domaines explorés nous avons constaté des évolutions ou anomalies qui semblent spécifiques de l'évolution cancéreuse des CHM, aucune ne représente la totalité des cas. Ceci souligne, tout comme pour l'étiologie des CHM, l'hétérogénéité du phénomène. L'étude d'un plus grand nombre de cas est requise pour tenter d'établir des corrélations entre ces différents marqueurs et l'agressivité.

Mots-clés : môles hydatiformes, choriocarcinome, oncogenèse.

■P513 / 1546. SYNDROME DE TURCOT ET GÈNES MMR : À PROPOS DE SIX OBSERVATIONS

Françoise Desseigne (1), Qing Wang (1), Jean-Christophe Saurin (2, 3), Valérie Bonadona (1), Sandrine Handallou (1), Alain Puisieux (1, 3), Christine Lasset (1, 3)
(1) Centre Léon-Bérard, Lyon ; (2) Centre Hospitalier Lyon-Sud, Hospices Civils de Lyon ; (3) Université Claude-Bernard, Lyon I

Le syndrome de Turcot est une affection héréditaire rare associant au sein d'une même famille des tumeurs cérébrales et des tumeurs colorectales parfois dans un contexte de polypose adénomateuse sous-jacente plus ou moins profuse.
Deux entités cliniques et biologiques sont actuellement individualisées :
– L'une associe cancers colorectaux (CCR) et gliomes (astrocytome, oligodendrogliome, glioblastome) de survenue précoce avec sur le plan génétique mise en évidence d'une mutation des gènes MMR responsables du syndrome HNPCC.
– L'autre associe médulloblastome et polypose adénomateuse diffuse avec sur le plan génétique mise en évidence d'une mutation du gène APC.
Nous rapportons à partir du recrutement de la consultation d'oncogénétique du Centre Léon-Bérard de 1994 à 2004 six observations qui correspondent cliniquement à ce syndrome. Nous avons mis en évidence les corrélations clinico-biologiques présentées ci-dessous :
– Dans 2 familles, les tumeurs cérébrales sont des médulloblastomes et dans 4 familles des glioblastomes.
– Le nombre de cas de CCR va de 1 à 13 selon la famille, avec un âge au diagnostic le plus jeune de 20 à 43 ans.
– Pour une famille, il existe une polypose diffuse typique.
– 5 familles présentent des cancers du côlon ayant une instabilité des micro-sattellites (MSI-H) et 4 familles ont une perte d'expression de l'une des protéines MMR.
– Pour 5 familles, une mutation clairement délétère a été mise en évidence : au niveau du gène APC pour une famille, au niveau du gène MLH1 pour 2 familles et du gène MSH2 pour 1 famille, au niveau du gène PMS2 pour une famille ; la recherche de mutations de PMS2 est en cours pour une dernière.
Le syndrome de Turcot reste donc une entité clinicobiologique très hétérogène. Hormis la forme la plus fréquente en relation avec une mutation du gène APC, caractérisée par l'association PAF – médulloblastome, d'autres formes pourraient correspondre à des variants phénotypiques du syndrome HNPCC. Comme le soulignent d'autres auteurs, une entité propre liée au gène PSM2 conférant des risques de cancer du côlon précoce pourrait exister (confère famille 3) et justifierait une prise en charge spécifique (similaire à la PAF ?).

8. Erratum/Développement

■P514 / 484. IDENTIFICATION DE SUPPRESSEURS DE LA DÉGÉNÉRESCENCE MUSCULAIRE, DANS UN MODÈLE DROSOPHILE DE LA DYSTROPHIE MUSCULAIRE OCULO-PHARYNGÉE (OPMD)

A. Chartier, M. Simonelig
Génétique du Développement de la Drosophile, Institut de Génétique Humaine, 141, rue de la Cardonille, 34396 Montpellier Cedex 5

La dystrophie musculaire oculo-pharyngée (OPMD) est une dystrophie musculaire autosomique dominante qui se caractérise par une atrophie progressive des muscles releveurs des paupières, ceux impliqués dans la déglutition et des muscles des membres. L'OPMD provient de l'expansion d'une région polyalanine dans la protéine PABPN1 *(poly(A) binding protein nuclear 1)* qui s'agrège sous forme d'inclusions nucléaires dans les muscles squelettiques des patients. Nous avons établi un modèle drosophile de l'OPMD qui reproduit les caractéristiques de la maladie : une dégénérescence musculaire progressive, avec la présence d'inclusions nucléaires contenant, comme les inclusions nucléaires des patients, PABPN1 mutante, HSP70 et l'ubiquitine.
Chez la drosophile, les défauts musculaires observés dépendent du nombre d'alanines dans le poly-alanine, cependant ce domaine n'est pas absolument requis car les défauts peuvent apparaître après expression de PABPN1 délétée de ce domaine. En revanche, un autre domaine de PABPN1, le domaine de liaison à l'ARN est absolument requis pour induire les défauts musculaires. Ceci indique que le domaine poly-alanine n'est pas lui-même toxique, mais pourrait agir pour stabiliser la protéine PABPN1 dont la surexpression est toxique.
Nous avons identifié génétiquement plusieurs suppresseurs de la dégénérescence musculaire dans le modèle drosophile de l'OPMD. De plus, nous utilisons ce modèle pour identifier des anticorps anti-PABPN1 (anticorps simple chaîne) dont l'expression dans les muscles *in vivo* pourrait atténuer les phénotypes musculaires.

9. Erratum/Génétique Moléculaire

■P515 / 405. MUTATIONS DE ATP1A2 DANS LA MIGRAINE HÉMIPLÉGIQUE FAMILIALE

Florence Riant (1, 2), Anne Ducros (2, 3), Claire Ploton (1), Florence Marchelli (1, 2), Jacqueline Maciazek (2), Marie Germaine Bousser (2, 3), Giorgio Casari (4), Elisabeth Tournier-Lasserve (1, 2)
(1) Laboratoire de Génétique Moléculaire, Hôpital Lariboisière, Paris ; (2) INSERM U 740, Paris ; (3) Service de Neurologie, Hôpital Lariboisière, Paris ; (4) Dibit-San Raffaele Scientific Institute, Milan

Introduction : La migraine hémiplégique familiale (MHF) est un sous type de migraine avec aura qui se caractérise par la présence d'une hémiplégie pendant les crises. La transmission est autosomique dominante, mais la pénétrance clinique est incomplète et les manifestations peuvent être variables d'un individu à l'autre au sein une même famille. Trois gènes impliqués dans cette affection ont été identifiés : CACNA1A (19p13) en 1996, code pour un canal calcique, ATP1A2 (1q23) en 2003, code pour un ATPase Na+/K+, et récemment, SCN1A (2q24), code pour un canal sodium.
Objectifs : établir le spectre mutationnel (nature et distribution des mutations) dans le gène ATP1A2 chez les patients atteints de MHF, et établir une carte des polymorphismes.
Matériel et méthodes : 148 index non apparentés ont eu un criblage du gène ATP1A2. Pour 49 patients, on disposait du prélèvement d'au moins un apparenté atteint, ou du prélèvement des 2 parents (sains ou malades). Un panel contrôle de 100 individus sains d'origine française était disponible. Le criblage de ATP1A2 a été fait par séquençage des 23 exons et des jonctions exon-intron, pour les index et le panel contrôle. Le caractère délétère de la mutation a été établi selon les critères suivants : absence de la mutation dans le panel contrôle, présence chez les apparentés atteints, acide aminé impliqué dans la mutation conservé chez les autres espèces et les autres ATP1A. Dans les formes d'allure sporadique, le caractère de novo de la mutation a été un argument en faveur du caractère délétère.
Résultats : 28 mutations différentes ont été identifiées chez 32 individus : 22 mutations faux sens dont une trouvée 2 fois et une 3 fois, 3 insertions/délétions en phase dont une trouvée 2 fois, une délétion de 2 nucléotides entraînant l'apparition d'un codon stop prématuré et une mutation au niveau d'un site consensus d'épissage. Les mutations sont réparties sur l'ensemble du gène mais plus largement dans les exons 8 et 9 (18 %) et les exons terminaux (71 % des mutations sont situées dans les exons 12 à 22). Aucune de ces mutations n'a été retrouvée chez les 200 chromosomes contrôles. Pour 4 patients, la mutation identifiée n'a été retrouvée chez aucun des 2 parents cliniquement sains.
23 polymorphismes ont été identifiés chez les patients et les chromosomes contrôles. La plupart sont introniques. Seulement 6 polymorphismes sont exoniques, 3 sont silencieux. 3 autres entraînent un changement d'acide aminé mais ne répondent pas aux critères définis pour établir le caractère délétère.
Conclusion : 28 mutations différentes chez 32 patients non apparentés atteints de MH ont été identifiées dans notre laboratoire. Une quinzaine d'autres ont été publiées par différentes équipes de recherche. Les mutations sont dans la majorité des cas des mutations faux sens ou de petites insertions/délétions sans changement du cadre de lecture. Le caractère délétère de ces mutations doit toujours être interprété avec précaution. Deux mutations cependant entraînent vraisemblablement l'apparition d'un codon stop prématuré (délétion de 2 nucléotides et mutation du site consensus d'épissage). La présence de mutations de novo a été détectée dans plusieurs cas de migraine hémiplégique sporadiques.

Mots-clés : migraine hémiplégique familiale, ATP1A2, mutations.

Index des auteurs soumissionnaires

Cette liste est éditée afin de vous permettre de retrouver votre communication, orale ou affichée dans le recueil. (C : conférence ; CO : communication orale ; P : poster).

A

Abdelmoula, P94, P95
Aboura, P152, P153, P155
Allanore, P260
Altieri, P329
Amati-Bonneau, P347
Amouri, P143, P491, P492
Amram, P217
Anczuków, CO49
André, P77
Andrieux, CO53, P139, P464
Angeard, P219
Arveiler, P25
Attié-Bitach, CO41
Aymé, C12
Azzedine, P431, P433

B

Bakkour, P426
Bannwarth, P335, P395
Bardel, P277
Baujat, P226
Beaumont, P408
Bellanné-Chantelot, P342
Bellenguez, CO59
Ben jemaa, P108
Ben Yaou, P237
Benassayag, P70
Bendavid, CO20
Bensalem, P308
Bernard, P362
Bernard-Beufe, P147
Bernheim, P163
Béroud, P332
Biancalana, P204, P355
Biau, CO42
Bibi, P423
Bienvenu, P304
Bieth, P242, P296, P439
Bitoun, M., CO13
Bitoun, P., P202
Blanchet, P89
Blard, CO37
Blayau, P452
Boceno, P110
Bohers, P382
Boisseau, P389
Bonadona, P498, P513
Bondurand, P298
Bonnet, C., P181
Bonnet, D., C2
Bonnet-Dypeyron, P134, P358
Bornes, P448
Bou, P39
Bouchet, P90
Bouffard, CO66
Bougacha-Elleuch, P180, P293
Bougeard, CO44, P305, P459
Bourdon, A., P367
Bourdon, V., P484, P493
Bourthoumieu, P133
Brisset, P83
Brivet, P390,P391
Buckingham, C1
Bucourt, P52
Burlet, P64, P80

C

Caillaud, P430, P434
Calender, P490
Callier, P125
Cantagrel, P75, P351
Cardot-Leccia, CO57
Cardus, P54
Carelle, P118
Caron, CO45
Cavaciuti, P450
Chaabouni, P107
Chalabi, P449
Chalabreysse, P402
Chantot-Bastaraud, P149
Chappuis, P188
Charfeddine, P12, P13
Charlier, P32, P170
Charron, C4, CO60, P215
Chassaing, P245, P246
Cherif, P71
Chhin, P361
Chibon, P321
Choufi, P468
Clément-Ziza, P325
Clot, P364
Colas, CO63, P165, P486
Colleaux, CO39, P283
Collet, P189, P303
Colman, P453
Colombani, P167, P178
Combes, P393
Corcia, P274
Costa, P43, P323
Couet, P203
Coulet, P443, P444
Coullin, P162, P512
Coupier, CO48
Crétolle, CO29
Cusin, P306

D

D'Almeida, P447
Dagoneau, P300
Dahoun, P109
Daoud, P250
De Becdelievre, P290
De Braekeleer, CO54
De Fréminville, P148
De La Rochebrochard, P38, P214
De Pontual, P266
De Sandre-Giovannoli, P359
De Santa Barbara, P50
De Sario, P363
Debuire, P511
Delahaye, P112
Delaloy, P385
Delezoide, P247
Delort, P469, P470
Delrue, P55
Demeer, P85
Depienne, P371
Devisme, P33
Devriendt, CO8
Dieudé, P257, P258, P273
Doco-Fenzy, P142
Dollfus, P195, P340
Doray, P227
Douet-Guilbert, P104
Drouin, P159, P160, P510
Drouin-Garraud, P185
Drunat, P415
Dugast, P458
Dupont, P349
Dürr, P403

E

Echenne, P169
Edery, P198, P199
El Houate, P416
El Mouatassim, P58
Elghezal, P136, P154
Esclaire, P124
Ewbank, C5
Eymard-Pierre, P380

F

Failly, P254
Faivre, CO7, P166
Fakhfakh, P253
Fallet-Bianco, P42, P46
Faugère, P330
Fauquembergue, P460
Fédirko, P372
Feldman, P288
Fellous, P445
Fernandez, P53
Feuillet-Fieux, P265
Flori, P72
Foiry, P370
Fokstuen, CO21
Francès, P48, P103
Frederic, P336, P339
Fredouille, P78
Fressart, P405
Froissart, P442

G

Gad, P467
Gaillard, P222
Gandemer, P474
Gardie, P487
Gargiulo, CO65
Garnier, P275
Ged, P37
Gendrot, P404
Genevieve, P429
Gérard, P225
Gérard-Blanluet, P36
Germain, C9, P279
Geromel, P221, P243, P337
Giannesini, P328
Gigarel, P66
Gilbert-Dussardier, P9
Gimenez-Roqueplo, CO47, P24, P281
Girard, CO24
Girard-Lemaire, P57
Girardet, P73
Giraud, G., P381
Giraud, S., CO46
Giuliano, P228
Giurgea, P99
Gmidène, P100, P101
Goldenberg, P213
Gorisse, P457
Gosselin, CO30
Gouas, P256
Goumy, P157
Gribaa, P8
Gribouval, CO12
Gruchy, P117, P123
Guerrier, P22
Guevel, P348
Guichard, P92
Guiraud-Dogan, P61
Guittard, P324
Guyant-Maréchal, P183, P302

H

Hamel, P313
Hanna, P436, P438
Haquet, P343
Hardouin, P482
Hassid, CO43
Héron, CO33
Hibert, P3
Hmani-Aifa, P182
Hoffmann, C6
Holder-espinasse, P84, P236
Houdayer, P496
Huber, CO1, P317
Huiart, P483
Huon, CO58

I

Ingster, P397
Iourov, P97
Italiano, P161

J

Jacquemier, P505
Jacquemont, M.L., CO4
Jacquemont, S., CO32
Jacquette, P212
Jamar, P126
Janin, P386
Jardel, P384
Jéru, P422
Joly, P4
Jonard, P251
Jonveaux, P62, P120, P319, P503
Journel, P18, P138
Julia, P74, P233, P234

K

Ka, P410
Kalhor, P387
Kanafani, P113
Karmous-Benailly, P119
Keren, P144, P145
Khau Van Kien, A., P174, P175
Khau Van Kien, Ph., CO10, P209
Killian, CO18, P456
Klaus, P398
Kotti, P259

Koubi, P69
Krahn, P417, P418, P419

L

Lahlou-Laforêt, P16
Laleye, P331
Lasset, P508
Laudier, P34
Laugé, P297
Laurent, P446
Le Ber, P206
Le Caignec, P135
Le Gac, P271
Le Guédard, P295
Le Marec, C3
Le Maréchal, P421
Le Mée, P51
Le Merrer, P224
Le Meur, P476
Lebbar, P102
Lefebvre, P485
Lefranc, P267
Legeai-Mallet, P412
Legendre, P353
Leheup, P218
Lejeune, P494, P495, P506
Leporrier, P44
Leprince, P316
Leroy, P140
Lesage, CO61
Lesca, CO64, P1, P5, P286
Leturcq, P427
Leutenegger, P272
Lévy, P509
Lévy-Mozziconacci, P86, P87
Lidereau, P481
Lœuillet, P63
Loget, P28
Loizzo, P383
Longy, P291
Lossi, P409
Luciani, CO55

M

Maalej, P249
Maazoul, P56
Malan, P114, P121
Malinge, P244, P466
Mallet, P376, P379
Maltret, P261
Malzac, P7
Manouvrier-Hanu, P177, P235
Marcorelles, P29, P47
Marle, P127
Martin-Coignard, P196
Martinet, P105
Martinovic, P93
Maschat, P35
Masmoudi, P318
Masson, P352
Matthijs, CO23
Maurin, P156, P45
Mazereeuw-Hautier, P208
Mc Elreavey, P232, P413, P499
Melki, C10
Menassa, P229
Mercier, P187
Messaoud, P424
Michel-Calemard, P350
Michou, P269, P270
Mignon-Ravix, CO52
Millat, P425
Miné, P301
Missirian, P128
Mkaouar Rebai, P407
Mochel, P192, P193
Molina Gomes, P129
Molinari, P284
Mollet, P365
Moncla, CO51, P406
Moncoutier, P489
Monino, P375
Monnot, P471, P472
Montagnon, CO36, P88
Moore, CO22
Moradkhani, P106
Morin, P240, P278
Mornet, CO62, P289
Mortemousque, P197
Mosca, P122
Mousson de Camaret, P179
Moutou, P30
Mozziconacci, P501
Mugnier, P401
Mutesa, P111
Muti, P6

N

Navarro, P248
Nemeth, P497
Nguyen, K., P220, P231, P420
Nguyen, T.D., P451
Nicole, P333
Niel, P315, P322
Noguchi, P500
Nogues, P488

O

Olschwang, CO6, P504
Ouechtati, P378
Ouldim, P132
Ouragini, P14, P15

P

Parfait, P437
Pasquier, CO3
Paubel, P67
Pêcheux, P360
Pelet, CO11
Pellissier, P79
Peoc'h, P184, P255
Perez, P82
Pescia, P91
Petit, F., P168, P211
Petit, S., P31
Pham-Nguyen, P374
Philip, P216
Pinson, P326, P327
Pipiras, P115
Poitelon, CO26
Poulain, P462, P475, P502
Prieur, P200
Puccio, C8
Pucéat, C11
Pujo, P411

Q

Quilichini, P480

R

Rack, P146
Ratbi, P299
Raverot, P461
Raynaud, P399
Redonnet-Vernhet, P345
Rene, P396
Reynier, CO19
Riant, P373, P515
Ribaï, CO34
Richard, B., P173
Richard, P., P309, P310, P311, P312
Rio, P230
Rooryck, P341
Rouault, P263, P268
Roume, P40, P60
Roux, CO2
Rouzier, P171, P338
Rovelet-Lecrux, CO5
Ruiz-Pallares, P356
Russaouen, P285

S

Sabbagh, P264
Sacquet, P17
Saint Martin, P262
Sanlaville, CO28
Sarda, P238, P239
Sarret, P440
Sarzi, P210, P366
Saugier-Veber, CO56, P432
Saulnier, P207
Savagner, P478, P479
Saywell, P68
Scheffer, P441
Schluth, P23, P137
Schneider, P141
Schott, P294
Scotet, P19, P276
Sénéchal, P314
Serre, P368
Siala, P428
Sigaudy, CO27
Simonelig, P514
Sobrier, P307
Sole, CO38
Soufir, P282, P454, P455
Stef, P346
Steffann, CO15
Stevanin, P49, P334
Stoll, P26, P27
Sznajer, P186

T

Tabagh, P252
Tabet, P151
Tanguy, P354
Tardy, P10, P65
Tarrade, P76
Taulan, P388
Tchernitchko, P292, P320
Teillet, C7
Telvi, P116
Thauvin, P98, P164, P172
Thibaudeau, C12
Thorel, P357
Tinat, P59
Titeux, CO17
Touitou, CO9
Touraine, P414
Tournier, CO50, P477
Tournier-Lasserve, P369
Toutain, CO14
Treguier, P507
Triau, CO35
Trochet, CO25
Tuffery-Giraud, P377

U

Uhrhammer, P463, P465

V

Vago, P81
Valaeys, P287
Valleix, P400
Van Esch, CO31
Vanier, P435
Vargas-Poussou, P392, P394
Varret, P280
Veillette, P11
Vennin, P21
Verloes, P41, P190, P191, P194, P223
Verny, P241
Vezain, P344
Vialard, CO40, P130, P131
Vigouroux, P150
Viguie, P473
Vincent-Delorme, P205
Viot, P201
Voelckel, P2
Vogt, CO16
Voirin, P20
Vorsanova, P96
Vu, P158

W

Whalen, P176

3èmes Assises de Génétique Humaine et Médicale
MONTPELLIER LE CORUM
26 - 28 janvier 2006

COMITÉ LOCAL D'ORGANISATION
Présidente : Mireille CLAUSTRES - Co-Présidents : Jacques DEMAILLE, Pierre SARDA

Ounissa AIT-AHMED, Christophe BEROUD, Philippe BERTA, Patricia BLANCHET, Gwenaelle COLLOD-BEROUD, Christine COUBES, Albertina DE SARIO, Marie DES GEORGES, Anne GIRARDET, Philippe KHAU VAN KIEN, Geneviève LEFORT, Gérard LEFRANC, Franck PELLESTOR, Pascal PUJOL, Anne-Françoise ROUX, Naomi TAYLOR, Jamal TAZI, Isabelle TOUITOU, Sylvie TUFFERY-GIRAUD.

COMITÉ SCIENTIFIQUE
Présidente : Sylvie ODENT

Laurent ABEL, Ségolène AYME, Alain BERNHEIM, Dominique BONNEAU, Alexis BRICE, Mireille CLAUSTRES, Jérôme COUTURIER, Thierry FREBOURG, Marie GONZALES, Didier LACOMBE, Annie LAQUERRIERE, Martine LE MERRER, Nicolas LEVY, Joël LUNARDI, Stanislas LYONNET, Sylvie MANOUVRIER, Catherine NOGUES, Henri PLAUCHU, Marie-France PORTNOI, Pierre SARDA, Hagay SOBOL, Dominique STOPPA-LYONNET, Isabelle TOUITOU, Catherine TURLEAU.

FÉDÉRATION DE 9 ASSOCIATIONS DE GÉNÉTIQUE HUMAINE ET MÉDICALE (FAGHEM)
Président : Arnold MUNNICH

Société Française de Génétique Humaine. Présidente : Ségolène AYME
Collège National des Enseignants et Praticiens de Génétique Médicale. Président : Didier LACOMBE
Association des Cytogénéticiens de Langue Française. Président : Philippe JONVEAUX
Association Nationale des Praticiens en Génétique Moléculaire. Président : Michel GOOSSENS
Groupe de Génétique Médicale des 3èmes Jeudi. Président : Henri PLAUCHU
Club de Conseil Génétique de Langue Française. Présidente : Christine VERELLEN-DUMOULIN
Société Française de Foeto-pathologie. Président : Férechté ENCHA-RAZAVI
Groupe Français de Cytogénétique Oncologique. Président : Alain BERNHEIM
Groupe Génétique et Cancer. Présidente : Catherine NOGUES

Remerciements

Le Comité d'Organisation des Assises de Génétique souhaite remercier les Associations de Malades pour s'être déplacées afin de faire connaître leurs actions :
AFM, AFSR, ALLIANCE MALADIES RARES, AMMi, APTEPF, ASSOCIATION NATIONALE DE L'X FRAGILE, ASSOCIATION COLINE, ASTB, FAIT21, FMO, FRANCE CHOROIDEREMIE, GENERATION 22, GENESPOIR, HNPCC, ORPHANET, PRADER-WILLI France, PXE France, SOS RETINITE, VLM

Nous remercions également les partenaires industriels pour leur participation active aux Assises de Génétique 2006 :
ABBOTT, AGILENT TECHNOLOGIES, ALPHELYS, APPLIED BIOSYSTEMS, AMPLITECH SARL, APPLIED IMAGING Ltd, ARRAY GENOMICS, SAURAMPS & ELSEVIER, EPPENDORF, GENIAL GENETIC, GENZYME, ERDITI, HC FORUM, LEICA MICROSYSTEMS, METASYSTEMS GmbH, MP BIOMEDICALS, PERKINELMER, PFIZER, PROMEGA, ROCHE DIAGNOSTICS, STRATAGENE, TECAN France SAS, TEPNEL, TKT EUROPE, TRANSGENOMIC.

AFM
CHU MONTPELLIER CENTRE HOSPITALIER UNIVERSITAIRE
FACULTÉ MÉDECINE Montpellier-Nîmes
FONDATION DE FRANCE
Inserm Institut national de la santé et de la recherche médicale
Liberté • Égalité • Fraternité RÉPUBLIQUE FRANÇAISE
MINISTERE DE LA RECHERCHE
la Région Languedoc Roussillon
UM1 Université Montpellier 1
Ville de Montpellier

m/S MEDECINE SCIENCES

> 1985-2005, depuis 20 ans, grâce à *m/s*, vous vivez en direct les progrès des sciences biologiques et médicales

- Des articles rédigés par des médecins et des chercheurs reconnus sur la scène internationale qui posent avec rigueur les bases des débats scientifiques.
- Des synthèses, éditoriaux, dossiers techniques et analyses toujours replacés dans leur contexte pour que l'information soit la plus exacte, intelligible et objective.
- La dimension humaine privilégiée, avec l'analyse des retombées diagnostiques, thérapeutiques, la prévention et l'éthique liées aux nouvelles avancées.
- Un panorama clair et concis de l'actualité scientifique : des nouvelles, des brèves, des données chiffrées, des repères et perspectives pour qu'aucun fait significatif ne vous échappe.

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

Chaque jour,
sur www.medecinesciences.org

Médecine/Sciences
est indexé dans
Index Medicus/Medline

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

m/S MEDECINE SCIENCES

Tarifs d'abonnement pour M/S - 2006

Abonnez-vous à Médecine/Sciences

Je souhaite m'abonner à M/S :
Nom : ..... Prénom : .....
Adresse : .....
Code postal ..... Ville : .....
Pays : .....
E-mail obligatoire : .....

Je choisis l'abonnement :

	Particuliers		Institutions			Étudiants*		Enseignants*	
	Papier + Électronique	Électronique seul	Papier + Électronique	Électronique seul	Papier	Papier + Électronique	Électronique seul	Papier + Électronique	Électronique seul
France	☐ 158 €	☐ 110 €	☐ 350 €	☐ 220 €	☐ 342 €	☐ 73 €	☐ 57 €	☐ 105 €	☐ 80 €
UE + autres	☐ 208 €	☐ 110 €	☐ 425 €	☐ 220 €	☐ 406 €	☐ 105 €	☐ 57 €	☐ 158 €	☐ 80 €

* Joindre un justificatif

Mon règlement :
☐ Par mail edk@edk.fr
Uniquement pour les paiements par carte bancaire
☐ Par fax en envoyant ce bulletin au 05 61 37 16 01
Uniquement pour les paiements par carte bancaire
N° ☐☐☐☐ ☐☐☐☐ ☐☐☐☐ ☐☐☐☐
Date d'expiration ☐☐ ☐☐ Signature :
☐ Par chèque à l'ordre de Médecine/Sciences, en envoyant ce bulletin à :
Interconnexion-Éditions EDK
BP 78
31151 Fenouillet Cedex, France

Pour recevoir une facture, cochez cette case ☐

Tarifs Canada-USA-Mexique :
Contactez
Médecine/Sciences
500, rue Sherbrooke Ouest,
bureau 800, Montréal, Québec H3A 3C6, Canada
medecine.sciences@bellnet.ca

Choose your genome. Choose your SNP.

Ready-to-use TaqMan® SNP Genotyping Assays.

Make your disease-research mapping and screening efforts more productive—and more reliable—with single-tube, ready-to-use TaqMan® assays for the mutations of your choice. For unprecedented genomic coverage, select from our library of human mapping and coding SNP assays or have custom assays built for any possible SNP in any genome. A simple, scalable workflow runs on Applied Biosystems real-time PCR systems and gives you the accurate and reproducible results you're looking for. Your SNP assays are ready when you are at: **http://www.allsnps.com**

Applied Biosystems

For Research Use Only. Not for use in diagnostic procedures. The PCR process and the 5' nuclease process are covered by patents owned by Roche Molecular Systems, Inc., and F. Hoffman-La Roche Ltd. Applied Biosystems is a registered trademark and AB (Design) is a trademark of Applera Corporation or its subsidiaries in the US and/or certain other countries. TaqMan is a registered trademark of Roche Molecular Systems, Inc. © 2005 Applied Biosystems. All rights reserved.

Février 2006 • Hors série N° 2 • P 1 > 190 • VOLUME 22

MEDECINE / SCIENCES

m/s MEDECINE SCIENCES

FÉVRIER 2006
Hors série n° 2
p 1 > 190
volume 22

> www.medecinesciences.org

3èmes ASSISES DE GÉNÉTIQUE HUMAINE ET MÉDICALE

Présidente,
Comité d'Organisation :
Pr. Mireille CLAUSTRES
Montpellier

Présidente,
Comité Scientifique :
Pr. Sylvie ODENT
Rennes

26-27-28 JANVIER 2006

LE CORUM - MONTPELLIER

Recueil des Abstracts

www.assises-genetique.org

EDK
EDITIONS MÉDICALES ET SCIENTIFIQUES